

Шифр: «CONTAMINANTS WATER»

Назва роботи:

**«ОЦІНКА ЕКОЛОГІЧНОГО СТАНУ МАЛИХ РІЧОК  
ЗАХІДНОГО ПОДІЛЛЯ НА ОСНОВІ ПОКАЗНИКІВ  
ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТКАНИН РИБ»**

## ЗМІСТ

ВСТУП .....	3
I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	6
1.1. Вплив антропогенного забруднення водойм на фізіолого-біохімічні показники риб.....	6
1.1.1. Види забруднення природних вод та їх вплив на гідробіонтів.....	7
1.1.2. Вплив антропогенного забруднення водного середовища на фізіологічні показники гідробіонтів .....	11
1.2. Реакція системи антиоксидантного захисту тварин на несприятливі чинники середовища.....	13
II. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	17
2.1. Матеріали та методи досліджень .....	17
2.2. Порівняльна характеристика вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів у тканинах риб з малих річок Західного Поділля .....	19
2.2.1. Кароп.....	19
2.2.2. Карась.....	23
2.2.3. Окунь.....	25
2.2.4. Щука.....	27
ВИСНОВКИ.....	30
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ .....	31

## ВСТУП

Невід'ємну частину фонду водних ресурсів України становлять малі річки. В Україні близько 22 тис. малих річок, довжина яких понад 100 тис км. 50 % міського та 90 % сільського населення проживає на територіях їх басейнів [33]. Основне джерело водопостачання промислових, комунальних, сільськогосподарських підприємств саме малі річки, які поповнюють свої запаси з підземних вод. Їх використовують для риборозведення, відпочинку людей.

Разом з тим, ці річки є дуже чутливими до антропогенного впливу. Особливо гострою є проблема забруднення малих річок стічними водами промислових та сільськогосподарських підприємств, комунального господарства [18]. У воду та донні відклади потрапляє значна кількість нафтопродуктів, сполук Фосфору та Нітрогену, пестицидів, важких металів, детергентів, сульфатів тощо [15].

Зростання антропічного пресу на малі річки України загострило проблему виживання гідробіонтів у стресових умовах, які первинно створюються накопиченням токсичних речовин. Будь-яка зміна хімічного складу водного середовища неминуче веде до зміни функціональних показників метаболізму гідробіонтів взагалі та риби зокрема [16].

Риби існують в надзвичайно різних умовах і зазнають впливу великої кількості екологічних чинників. Їх важлива роль у гідроекосистемах в поєднанні з великим різноманіттям, робить їх інформативними моделями для вивчення окисного стресу в екології. Дослідження біомаркерів окисного стресу у риби дозволяє опосередковано оцінити ступінь контамінації водних екосистем [20].

Механізми антиоксидантного захисту в риби включають ферментативні системи та низькомолекулярні антиоксиданти. Продуктами пероксидного окиснення є гідропероксиди, дієнові кон'югати, кетокислоти та низка інших дериватів. За їх концентрацією можна оцінити інтенсивність перекисного

окиснення у різних системах організму, що робить можливим використання їх в якості фізіолого-біохімічних маркерів [24].

Саме вивченню екологічного стану трьох малих річок Західного Поділля на основі показників пероксидного окиснення ліпідів у тканинах риб присвячена дана робота.

**Мета та завдання дослідження.** Вивчити можливість використання показників пероксидного окиснення ліпідів як біологічних маркерів окисного стресу у риб для оцінки комплексного забруднення річок Серет, Стрипа та Золота Липа.

Досягнення мети здійснювалось вирішенням **таких завдань:**

- дослідити вміст гідропероксидів ліпідів у тканинах печінки, зябер та м'язів коропа, карася, щуки та окуня із малих річок Західного Поділля;
- провести порівняльну характеристику вмісту ТБК-активних продуктів у тканинах риб для порівняння рівня забрудненості річок Серет, Стрипа та Золота Липа.

**Об'єкт дослідження:** екологічний стан прісних водойм.

**Предмет дослідження:** використання показників пероксидного окиснення ліпідів для оцінки стану гідроекосистем.

**Методи дослідження** - загальноприйняті методи відбору досліджуваних тканин, центрифугування, спектрофотометрія, статистичні методи.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше встановлено особливості використання показників пероксидного окиснення ліпідів у тканинах коропа, карася, щуки та окуня для біоіндикації екологічного стану малих річок Західного Поділля.

**Практичне значення одержаних результатів.** Одержані дані щодо показників пероксидного окиснення ліпідів можуть бути використані для розробки експрес-методів оцінки комплексного забруднення водного середовища у ставковому рибництві, а також для з'ясування оптимальних умов вирощування риб. Окрім того, результати роботи можуть бути використані при

читанні навчальних дисциплін “Водна токсикологія”, “Фізичні та хімічні процеси в природному середовищі” та “Експериментальна екологія”.

**Структура роботи.** Робота викладена на 36 сторінках і складається з вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, обговорення власних результатів досліджень, висновків, списку використаних літературних джерел (всього 56 найменування, з них 33 кирилицею та 23 латиницею). Робота проілюстрована 13 рисунками.

## I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Вплив антропогенного забруднення водойм на фізіолого-біохімічні показники риб

Згідно з даними ООН близько 80 % всіх стічних вод у світі скидаються у навколишнє середовище (Всесвітня програма оцінки водних ресурсів ООН 2017 р.) [45]. В Україні, та зокрема у Тернопільській області, загальна екологічна ситуація характеризується високим ступенем техногенного забруднення [5] нафтопродуктами, СПАР, важкими металами, фенолами, пестицидами та іншими токсикантами [23].

Найчастіше джерелами забруднення водойм стають промислові скиди, стічні води з житлових районів, автострад, кооперативів, автомийки та ін., що несуть у собі сполуки різної хімічної природи, зокрема СПАР, які є у складі синтетичних миючих засобів. Надходження СПАР у значних концентраціях може призводити до утворення стійкої плівки і модифікації фізико-хімічних властивостей водойм [28].

Як один із прикладів забруднення водойм можна навести ті, що представлено в результатах багаторічних досліджень води із ставків дендропарку «Олександрія» (1995, 2003–2004 рр. та 2015 р.), які підлягають тривалій дії високих концентрацій неорганічних сполук, зокрема амонійного азоту, хлоридів, органічних сполук, мають високу мінералізацію води, дефіцит розчиненого кисню та відносно низьку концентрацію фосфору і сульфатів. Це призводить до істотного впливу на біоту цих ставків, що відобразилось у видовому складі гідробіонтів, зокрема угруповань фітопланктону [52].

Приклади локального впливу токсичних речовин на природні екосистеми важливі для вирішення глобальних проблем, оскільки «Індекс Живої планети», який відстежує чисельність понад 14 000 популяцій 3706 видів хребетних, показує, що в період між 1970 та 2012 рр. відбулося зниження чисельності цих видів на 58 %. Значна частина видів – прісноводні тварини (88 %) [56]. З огляду на це, є гостра необхідність у моніторингу якості води прісноводних водойм,

особливо річок з невеликими обсягами води, які найбільш вразливі до токсичного забруднення. Таких річок в Україні налічується десятки тисяч.

У цьому контексті методи екологічного моніторингу (фізіолого-біохімічного стану гідробіонтів) були розроблені для забезпечення достовірної оцінки якості навколишнього середовища [51]. Негативні чинники зовнішнього середовища зазвичай викликають у гідробіонтів суттєві зміни у функціонуванні життєво важливих фізіологічних процесів, які супроводжуються збільшенням використання розчиненого у воді кисню та більшою кількістю аміаку, що виробляється в процесі розкладу органічних сполук азоту. В кінцевому підсумку такі процеси викликають у гідробіонтів токсичний стрес, який призводить до заміщення нестійких груп організмів резистентними видами, які можуть пристосуватись до змінених умов існування та зберегти здатність до відтворення. Це наголошує на тому, що риби здатні виробляти специфічні адаптивні механізми [42] на фізіолого-біохімічному рівні, які необхідні для забезпечення процесів нормальної життєдіяльності [41].

Важливим є те, що у кожного виду існують свої межі адаптивних можливостей, і в разі, якщо гідробіонти не здатні перебудувати метаболічні процеси, вони звужують межі ареалу або зникають зовсім.

З огляду на це, дослідження адаптаційних механізмів риб на фізіолого-біохімічному рівні за тривалої дії антропогенних чинників є актуальною проблемою сьогодення.

#### 1.1.1. Види забруднення природних вод та їх вплив на гідробіонтів

**Нафта і нафтопродукти** – найбільш поширені токсиканти водного середовища, їх характерною особливістю є те, що ці речовини повільно руйнуються у природних умовах, іноді змінюють хімічну форму та поступово накопичуються в різних компонентах екосистеми [43]. У воді нафтопродукти сприяють фізико-хімічним перетворенням, наприклад: плівковий ефект (1 дм<sup>3</sup> нафти при розливі на 1 га формує плівку завтовшки 0,10–0,01 мм). Нафтопродукти можуть піддаватися процесам: асиміляції організмами,

повторній седиментації, емульгуванню, утворенню нафтових агрегатів, окисленню, розчиненню та випаровуванню. Таким чином, нафта та нафтопродукти здатні викликати біодеградацію водойми [30].

Нафта негативно позначається на метаболізмі риб, пригнічуючи активність різних за локалізацією ферментів, які здійснюють гідроліз білкових і вуглеводних компонентів їжі, що призводить до зростання вмісту загального білка. Водорозчинні поліциклічні вуглеводні накопичуються в печінці риб, діють на серце, змінюючи в риб темп дихання, викликають збільшення розмірів печінки, уповільнення темпу росту та впливають на загальну поведінку риб. До того ж, нафта знищує комах на різних стадіях розвитку, які слугують кормом для риб [19].

**Важкі метали (ВМ).** Згідно з даними Європейської екологічної комісії ООН до числа важких металів (ВМ) належать: Hg, Cd, Zn, Cu, Pb, Ni, Co, Cr та As. Джерелами надходження ВМ у водойми, насамперед є металургія, виробництво енергії, вантажний транспорт, використання речовин та хімікатів, корозія технічних будівель, гірничі розробки та складування відходів. ВМ потрапляють у навколишнє середовище переважно через пил та його відкладення на ґрунті [49].

Низкою авторів були проведені дослідження впливу токсичного забруднення поверхневих вод України на місцеву іхтіофауну і показано, що за вмістом іонів свинцю в рибі понад 15% водойм перевищують допустимі норми. Основна кількість іонів ВМ потрапляє до організму риб через зябра (до 70%), дещо менша через шкіру (до 20%), а решта через органи травлення, зокрема кишківник [17]. Акумуляція ВМ в організмі риб може спричиняти значні порушення клітинного метаболізму, спричиняючи оксидативне пошкодження білків і нуклеїнових кислот. Ступінь накопичення ВМ в організмах риб залежить від водного об'єкта, функціонального стану організму, сезону та статі риб [12].

ВМ впливають практично на всі системи організму, здійснюючи токсичну, канцерогенну, гонадотропну та мутагенну дії [7]. Наприклад, вплив



кадмію призводить до ураження нирок, провокуючи утворення некрозів у тканинах, та здатен відобразитись на ліпідному обміні й провокувати оксидативний стрес. Наслідком цього може бути затримка росту та розвитку риб [10].

**Біогенні елементи.** Відомо, що в разі незбалансованого використання мінеральних добрив у сільському господарстві, через скиди промислових та комунальних відходів може підвищуватись вміст сполук азоту та фосфору у водоймах. Унаслідок цього посилюються процеси евтрофікації водойм, особливо у літній період. Такі явища можуть призводити до розбалансування продукційно-деструкційних процесів у водоймі, насамперед у водоймах з низьким рівнем водообміну (озера та водосховища) [4].

У результаті порушення екологічної рівноваги (зміни видового складу альгофлори, зростання щільності популяцій мікотрофних видів тощо) відбувається вторинне забруднення водойм продуктами життєдіяльності гідробіонтів та їх відмерлими рештками. Розкладання цих решток призводить до зниження вмісту кисню у воді та підвищення вмісту сірководню, збільшення концентрації аміака, особливо за низької чисельності детритофагів [6]. Зазначені процеси можуть спровокувати отруєння риб від комплексу діючих чинників. Це також може знайти своє відображення у порушенні процесів росту, розвитку, розмноження та позначитись на загальній здатності риб до виживання [35]. В окремих випадках нітритний азот може надходити до організму риб та накопичуватись у шлунково-кишковому тракті після чого потрапити в русло крові. Це впливає на зміни вмісту гемоглобіну, що, зі свого боку, може стати причиною летальних наслідків [48].

Аміак та йони амонію здатні вільно проникати з навколишнього середовища в організм риб та накопичуватись у ньому – це може стати причиною отруєння риб [37]. Механізм впливу аміаку полягає у локальному ураженні зябрового епітелію, внаслідок чого в риб порушуються процеси дихання, одночасно відбувається гемоліз еритроцитів.

У концентрації від 0,2 мг/дм<sup>3</sup> до 1,0 мг/ дм<sup>3</sup> аміак уражає нервово-мускулярний апарат, а через кілька годин або днів (залежно від витривалості виду) він призводить до летальних випадків для більшості видів риб [8].

Сполуки азоту надходять до організму через зябровий апарат та кишківник риб, пошкоджуючи їх епітеліальний шар. Крім того, вони здатні негативно впливати на інші внутрішні органи, зокрема печінку, нирки та селезінку риб. У подальшому це може призвести до порушення обмінних процесів, які можуть відобразитись на нейрогуморальній регуляції метаболізму та ферментативній активності, змінюючи вміст енергоємних сполук. Це може вплинути на виживання риб, на якість та кількість статевих клітин, а отже і на видовому різноманітті іхтіофауни. Зі свого боку, під впливом фосфору фосфатів у риб знижується активність окисних процесів у організмі риб – інгібування сукцинатдегідрогенази у печінці та залозистому апараті зябер риб [26].

**Феноли** відносяться до найбільш розповсюджених поллютантів водних екосистем поряд із нафтопродуктами та важкими металами, вони здатні змінювати вміст біогенних сполук та розчинених газів (кисню, вуглекислого газу) у воді. Феноли здатні до посилення своєї дії при коливанні рН середовища як у кислу, так і лужну сторони. Вони не мають кумулятивного ефекту [41].

Токсична дія сполук фенолів на організм риб проявляється у порушенні біосинтезу білків, бар'єрних функцій мембран та ін., що позначається на процесах рівноваги, дихання, рухової активності, у риб він викликає занепокоєння, а згодом судоми та смерть. Саме тому феноли відносять до токсикантів нервово-паралітичної дії [53].

На противагу фенолу сполуки хрому мають кумулятивний ефект та здатні передаватись через трофічні ланцюги. Сполуки трьох- і шестивалентного хрому потрапляють до водойм у процесі розкладання організмів та рослин із ґрунтів. В значній кількості вони можуть надходити зі стічними водами, з фарбувальних цехів, текстильних підприємств, шкіряних заводів і підприємств хімічної промисловості [27].

Загалом хром має довгостроковий вплив на функціональний стан органів та тканин у різних видів риби на різних функціональних рівнях. В риби цей токсикант може пошкодити зябровий епітелій, порушити осморегуляційну функцію, змінити кров'яний тиск тощо. Разом з тим риби, які знаходяться під тривалим впливом Хрому (VI) мають високу здатність до протидії зазначеному токсиканту [55].

Феноли та хром можуть знаходитися як у товщі води, так і у донних відкладах. Саме завдяки специфічним властивостям впливу фенолу та хрому на організм риби, їх часто використовують у токсикологічних дослідженнях як референтні токсиканти, проте останній у вигляді дихромату калію [21].

#### 1.1.2. Вплив антропогенного забруднення водного середовища на фізіологічні показники гідробіонтів

За несприятливих екологічних умов, рибиам необхідно здійснити низку пристосувальних перебудов у організмі задля виживання виду, внаслідок чого формуються нові резистентні популяції [31]. Тому дія токсичних речовин на організм риби передусім позначається на імунній, ендокринній та на центральній нервовій системі, спричиняючи широкий спектр функціональних розладів. Згодом, внаслідок накопичення токсикантів у тканинах, відбуваються істотні зміни, які можуть спричинити в риби низку патологічних процесів, пов'язаних зі змінами структури клітин та тканин [11].

Дослідження внутрішніх органів, зокрема печінки та селезінки дають змогу отримати об'єктивну інформацію, яка може бути критерієм визначення загального фізіологічного стану організму. З урахуванням фізико-хімічних параметрів водного середовища, можна встановити наявність патологій в організмі гідробіонтів [13].

Відомо, що печінка – важливий орган метаболізму. Серед основних її функцій можна виділити процеси травлення та процеси білкового обміну (синтез та розпад). Розщеплення білків до амінокислот у подальшому

підлягають розщепленню, з утворенням аміаку чи сечовини, або включаються у білково-синтетичні процеси [3].

Катаболізм білків може відбуватись і за надмірних потреб у енергетичних сполуках, зокрема при надмірному впливові токсичних сполук на тканини печінки, що характеризує посилення процесів детоксикації. Завдяки високій інтенсивності обмінних процесів печінка раніше за інші органи реагує на дію зовнішніх та внутрішніх несприятливих чинників. Поряд з активними реакціями біосинтезу й катаболізму, в клітинах печінки активно протікають процеси знешкодження та біоаккумуляції ксенобіотиків. Це пов'язано з тим, що печінка депонує більшість токсичних речовин у концентраціях в десятки разів вищих за інші тканини. Наприклад, у печінці карася сріблястого основна кількість цинку зменшується через 3 доби після введення металу в організм [32]. Такі процеси відбуваються завдяки ферментам антиоксидантної системи, що посилюють детоксикаційні процеси токсичних речовин. Тому одним зі способів оцінки рівня забруднення водних екосистем є вимірювання біохімічних параметрів у тканинах печінки риб [37].

Печінка, за токсичного впливу реагує однотипно – відбувається розвиток жирової дистрофії, судини переповнюються кров'ю, що супроводжується зниженням включень глікогену в гепатоцитах. Також за впливу токсичних речовин у риб посилюються процеси фізіологічної регенерації та функціональної активності тканин печінки [25].

Зазначені зміни можуть використовуватись з метою діагностики загального санітарного стану водойми. Разом з тим варто брати до уваги те, що розміри внутрішніх органів можуть варіювати не лише через особливості місця перебування виду (інтенсивність та тривалість антропогенного забруднення), а й можуть залежати від віку, статі, метаболізму, наявності достатньої кількості корму, а також від його калорійності [44].

Індекс селезінки, як і індекс печінки, здатен відображати загальний стан органу. Селезінка передусім відповідає за формування елементів крові та депо крові, що є важливим при існуванні риб у незадовільних умовах. Маса цього

органу варіює у великих межах та залежить від зовнішніх факторів, зокрема, від концентрації розчиненого кисню у воді, а також від статі та фізіологічної активності конкретних видів риби [9].

Зябра – орган дихання, осморегуляції, екскреції та своєрідні «ворота» крізь які до організму можуть надходити токсиканти, що можуть спричинити у деяких випадках викривлення та роздвоєння зябрових тичинок. Загалом зябра доволі чутливі до змін якості води, саме тому, їх часто використовують як біохімічні індикатори при оцінці загального стану оточуючого середовища за впливу антропогенного забруднення [36].

## **1.2. Реакція системи антиоксидантного захисту тварин на несприятливі чинники середовища**

Антиоксидантна система захисту організму контролює і гальмує всі етапи вільнорадикальних реакцій, починаючи від їх ініціації і закінчуючи утворенням гідроперекисів та малонового діальдегіду. Основний механізм контролю цих реакцій пов'язаний з ланцюгом оборотних окисно-відновних реакцій іонів металів, глутатіону, аскорбату, токоферолу та інших речовин, значення яких особливо важливо для збереження довго існуючих макромолекул нуклеїнових кислот і білків, деяких складових мембран. Невипадково рівень активності антиоксидантної системи організму досягає максимальних значень до початку S-фази, коли ДНК деспіралізується і особливо уразлива до продуктів ВРПО. Більш того, є підстави думати, що тривалість життя макромолекул у клітині багато в чому визначається саме їх стійкістю до атаки вільнорадикальних продуктів. Еволюція до високої надійності і лабільності антиоксидантної системи організму тварин, імовірно, визначило властиву їй надмірність, дубльованість і взаємозамінність елементів. Включення окремих ланок антиоксидантної системи відбувається за принципом зворотного зв'язку з участю "гормонівтригерів". Даний принцип дозволяє не очікувати небезпечного для життєдіяльності клітини зниження активності антиоксидантної системи, а попереджати виникнення порушень по типу позитивного зворотного зв'язку.

Роль таких систем, очевидно, дуже велика при виникненні різних патологічних станів організму (онкологія, різні види ішемії та ін.) та при знаходженні біологічних об'єктів у несприятливих умовах існування, зокрема, екологічних. За даних умов існування та дії несприятливих чинників на організм активність ендогенних антиоксидантів різко зростає. Залежно від того на яку ланку метаболізму спрямована дія вільнорадикального перекисного окиснення, систему антиоксидантного захисту можна умовно розділити на певні групи [38, 39].

До першої групи антиоксидантної системи захисту організму відносять жиророзчинні ендогенні антиоксиданти: вітаміни групи Е (токофероли), убіхінон, вітаміни групи А та провітаміни групи А ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$  - каротини), вітаміни групи D (кальцефероли), К (філохінони), ліпоєву кислоту, деякі стероїдні гормони та інші. Механізм антиоксидантної дії вказаних сполук обумовлений зменшенням кількості вільного кисню в клітині, шляхом активації його утилізації, підвищення активності процесів окиснення і фосфорилування та здатністю відновлювати ліпідні радикали.

До другої групи антиоксидантної системи захисту організму відносять захисні ферменти: супероксиддисмутазу, каталазу, глутатіонредуктазу, а також низько- та високомолекулярні сполуки, що містять тіолові та селенові групи, зокрема, метіонін, цистеїн та інші. Ці захисні ферменти запобігають надлишковому утворенню активних форм кисню та беруть участь у нерадикальному розкладі перекисів ліпідів.

Третя група антиоксидантної системи захисту організму представлена двома ферментами: глутатіонпероксидазою, яка каталізує розклад гідроперекисів ліпідів нерадикальним шляхом за допомогою глутатіону відновленого та глутатіонтрансферазою, яка є важливим компонентом системи дезінтоксикації токсичних метаболітів та ксенобіотиків [40].

Для дезінтоксикації  $Fe^{2+}$  в організмі наявна четверта система: для окиснення та зв'язування іонів  $Fe^{2+}$ . У плазмі крові ця система представлена ферментом церулоплазміном (фероксидазою), що окиснює  $Fe^{2+}$  до  $Fe^{3+}$  киснем

без утворення вільних радикалів, та білком трансферином, який зв'язує і переносить у кров'яному руслі іони  $Fe^{3+}$ . У клітинах іони Феруму можуть відновлюватися аскорбіною кислотою та іншими відновниками, але потім окиснюються і депонуються всередині ферментного білкового комплексу феритину. За механізмом дії антиоксидантна система поділяється на:

- пряму – антирадикальні чинники. Ферментативні – супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза, глутатіонтрансфераза, та інші. Не ферментативні – вітаміни А, Е, С, убіхінон, тріольні сполуки,  $\beta$ -каротин, нікотинова кислота;

- опосередковану – інгібітори генерації кисневих радикалів та активатори вільнорадикальних реакцій, а також інгібітори фосфоліпаз, активатори синтезу ферментів та сполук, що володіють антиоксидантною дією. Механізм дії антиоксидантів полягає у взаємодії їх з продуктами та ініціаторами перекисного окиснення, тобто з радикалами R, ROO, з активними формами кисню, гідропероксидами жирних кислот, каталізаторами перекисного окиснення – іонами металів змінної валентності, результатом чого є гальмування процесів ферментативного і не ферментативного ПОЛ [54].

Водні тварини, як і всі інші організми, повинні мати рівновагу між виробництвом АФК і антиоксидантним захистом. Гідробіонти представляють особливий інтерес, оскільки вони відчувають вплив багатьох стресових факторів, на відміну від ссавців, таких як коливання температури, осмотичний стрес (у випадку з анадромних видів), зміни в концентрації кисню, забруднення та інші антропогенні наслідки, які можуть безпосередньо впливати на утворення вільних радикалів [46].

Щоб захистити себе від АФК, організми розвинули систему для попередження або відновлення наслідків окислювального стресу або антиоксидантну систему (АОС). Запобігання до дії АФК може забезпечуватися антиоксидантами, які можуть бути або ферментативними (наприклад, супероксиддисмутазою (СОД), каталазою та глутатіонпероксидазою або

неферментативними молекулами (наприклад, аскорбінова кислота (вітамін С), глутатіон,  $\alpha$ -токоферол (вітамін Е), каротиноїди та інші дрібні молекули [54]).

Підсумовуючи вищесказане, необхідно підкреслити, що наявність багатоступеневої антиоксидантної системи захисту клітини від вільнорадикального перекисного окиснення, яка склалася в ході філогенетичного розвитку, зумовлює складність причинно-наслідкових відносин серед про- та антиоксидантами і направлена, в першу чергу, на встановлення балансу поміж ними, і внаслідок цього — збереження оптимального метаболічного балансу клітини. З відомих в цьому плані даних необхідно виділити декілька найважливіших аспектів. По-перше, ця багатоступеневість визначається чітким поділом систем антиоксидантного захисту на ферментативні та неферментативні. Перші є, якби, "вбудованими" у клітинний метаболізм та набагато складніше та повільніше піддаються екзогенному впливу різних біологічно активних речовин. Другі є набагато більш автономними і складаються, окрім ендогенних, також і з екзогенних елементів, що робить ці системи набагато гнучкішими, дозволяючи регулювати до певних меж про- та антиоксидантний статус клітин організму.



## II. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

### 2.1. Матеріали та методи досліджень

Дослідження проведено на коропах лускатих – *Cyprinus carpio* L., щуках звичайних – *Esox lucius* L., карасях сріблястих – *Carassius gibelio* Bloch та окунях звичайних – *Perca fluviatilis* L. масою 290–330 г, 300–350 г, 150–230 г та 170–230 г відповідно. За типом живлення короп та карась є бентофагами, щука та окунь – хижаки.

Риб відбирали із трьох малих річок Західного Поділля: Серету, Стрипи та Золотої Липи. Річки знаходяться в трьох зонах відмінних за характером антропогенного впливу. Так, річка Золота Липа - урбанавантажена зона, Серет - сільсько-господарсько навантажена зона, Стрипа – умовно чиста зона [29] (рис.2.1).

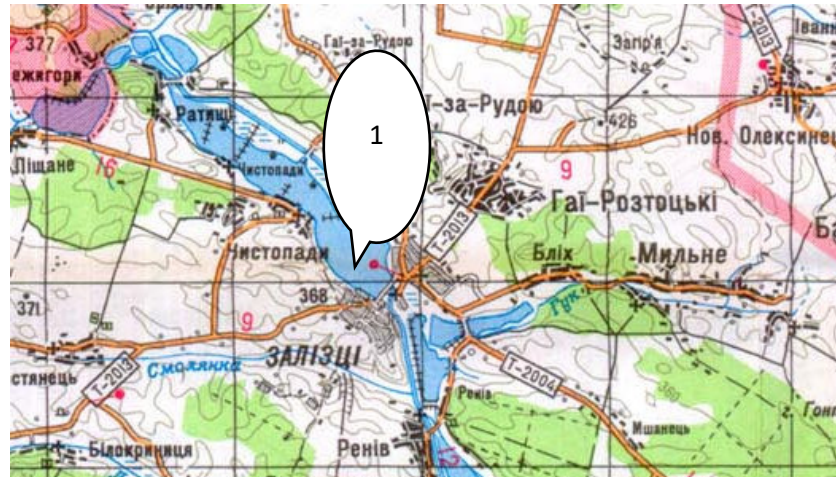
Після відбору риб транспортували в лабораторію, де відбирали зразки тканин для досліджень. Досліджували тканини зябер, передньої долі печінки та білих м'язів спини. Після препаратії органів риб, проби на холоді розтирали і використовували для приготування гомогенатів. При необхідності тканини промивали в охолодженому до 4<sup>0</sup>С розчині Рінгера для холоднокровних.

В отриманих гомогенатах визначали вміст гідропероксидів ліпідів та малонового діальдегіду.

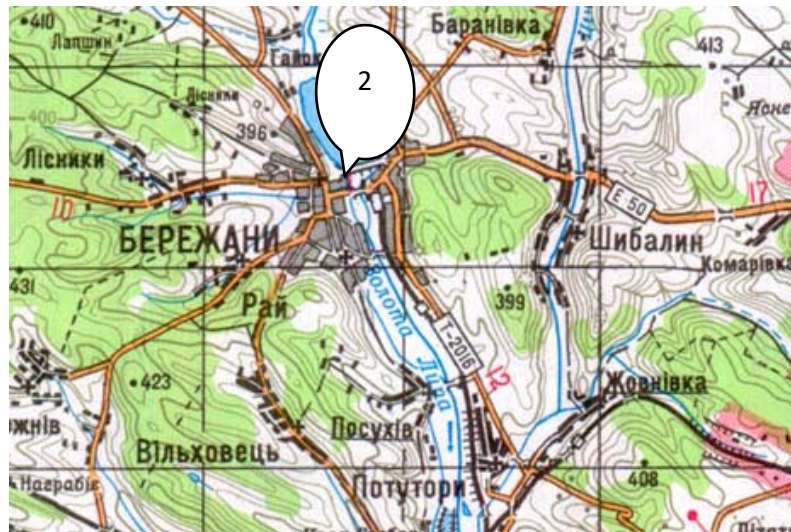
Концентрацію гідропероксидів ліпідів у гомогенаті тканини визначали за методом, принцип якого полягає в осадженні протеїну трихлороцтовою кислотою (ТХО) з наступним внесенням у середовище тіоціанату амонію [1].

До 0,2 мл гомогенату тканини додавали 2,8 мл етанолу та 0,05 мл 50%-го розчину ТХО і струшували протягом 5 хв. Відбирали 1,5 мл супернатанту і до нього додавали 1,2 мл етанолу, 0,02 мл концентрованої HCl, 0,03 мл 1%-го розчину солі Мора в 3%-му розчині HCl, струшували і через 30 с додавали 0,2 мл 20%-го розчину тіоціанату амонію.

А)



Б)



В)

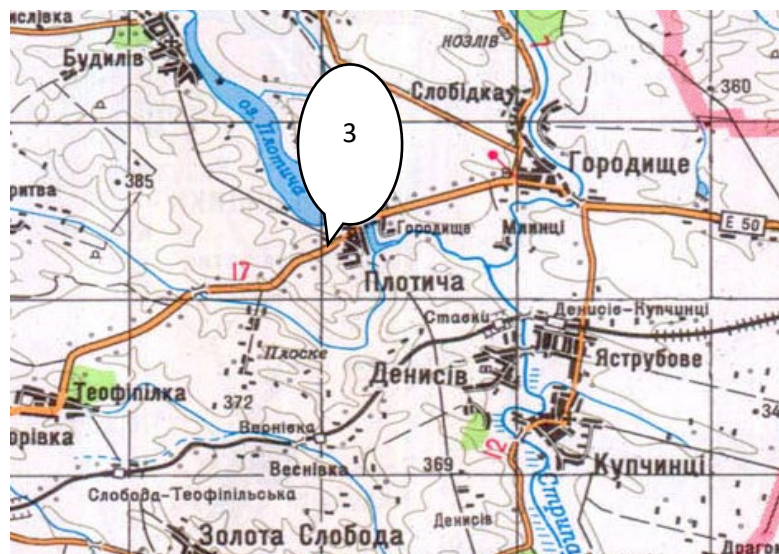


Рис. 2.1. Місця відбору риб для дослідження: (А) - р. Серет р. Стрипа; Б)- р. Серет; В)- р. Золота Липа)

Абсорбцію вимірювали при  $\lambda = 480$  нм. Вміст гідропероксидів ліпідів визначали за різницею між дослідним зразком і контролем, в який замість гомогенату тканини додавали відповідну кількість бідистильованої води.

Концентрацію ТБК-активних продуктів у гомогенатах тканин вимірювали за допомогою кольорової реакції малонового діальдегіду (МДА) з тіобарбітуровою кислотою (ТБК) в умовах високої температури і кислого середовища, що приводить до утворення триметинового комплексу, котрий містить одну молекулу МДА і дві молекули ТБК [18]. Для осадження протеїнів до 1 мл гомогенату тканини додавали 4,5 мл 20%-ої фосфорновольфрамової кислоти і осад, що утворився, центрифугували при 2500 об/хв протягом 15 хв. Надосадову рідину зливали, а до осаду додавали 1,0 мл 0,8%-го розчину ТБК і витримували протягом 1 год на водяній бані при температурі 100 °С. Після цього пробірки охолоджували і центрифугували протягом 10 хв при 6000 об/хв. В одержаному центрифугаті вимірювали абсорбцію при 535 і 580 нм проти контрольної проби, яка замість гомогенату містила бідистильовану воду. Дворазове вимірювання абсорбції дозволяє виключити поглинання забарвлених комплексів ТБК-речовинами неліпідної природи. Концентрацію ТБК-активних продуктів у зразку виражали в нмоль МДА на грам тканини, використовуючи коефіцієнт молярної екстинції утвореного комплексу, який дорівнює  $0,156 \text{ мкмоль}^{-1} \cdot \text{мл}^{-1}$ .

Одержані результати піддавали статистичній обробці з використанням t-критерія Стьюдента для визначення достовірної різниці [14].

## **2.2. Порівняльна характеристика вмісту продуктів пероксидного окиснення ліпідів у тканинах риб з малих річок Західного Поділля**

### **2.2.1. Короп**

У процесі аеробного метаболізму в тканинах тварин можуть утворюватися активні форми кисню (АФК), що є проміжними продуктами неповного відновлення у дихальному ланцюзі [46].

Основним мішенями в клітинах для АФК (супероксидрадикал, гідрогенпероксид, гідроксил радикал) є ненасичені жирні кислоти. Пероксидне окислення ліпідів (ПОЛ) – типовий вільнорадикальний процес, один з найважливіших окисних процесів в аеробних організмів, у тому числі і риб.

Проте за дії стресових чинників різного генезису (радіація, температурний стрес, пестециди, важкі метали тощо), коли продукуються додактові кількості АФК, ПОЛ є основною причиною пошкодження ліпідів мембран [34].

Механізми атиоксидантного захисту у риб включають ферментні системи і низькомолекулярні антиоксиданти, подібні до тих, що існують у ссавців [38]. Продуктами перекисного окислення є дієнові кон'югати, гідроперекиси, окси-, кетокислоти та низка інших сполук. За їх кількістю можна судити про інтенсивність вільнорадикального перекисного окиснення у різних біологічних системах організму, що робить можливим використання цих сполук як фізіолого-біохімічних маркерів [22].

Баланс між прооксидантними екзогенними чинниками (тобто полютантами навколишнього середовища) та антиоксидантним захистом (ферментативний і неензиматичний) у біологічних системах може бути використаний для оцінки токсичних ефектів за стресових ситуацій, спричинених різними групами хімічних забруднювачів, у тому числі і перехідних металів [50]. Збільшення рівня активних форм кисню призводить до окисного пошкодження, включаючи перекисне окислення ліпідів, окиснення білків та ДНК, а також інактивацію ферментів. Компоненти антиоксидантного захисту використовуються як біохімічні маркери окислювального стресу [47].

Показники ПОЛ можуть об'єктивно відображати як стан організму риб, так і певною мірою ступінь антропогенного тиску на прісноводні екосистеми [50]. Тому враховуючи сказане, ми досліджували вміст окремих продуктів перекисного окиснення (ТБК-активні продукти, гідроперекиси ліпідів), які є важливими індикаторами окисного стресу в зябрах, печінці та м'язах риб, виловлених в малих річках Західного Поділля.

Одним із вторинних продуктів ПОЛ є малоновий діальдегід, який може утворюватися з гідропероксидів [2]. Негативна роль малонового діальдегіду полягає в тому, що він зшиває молекули ліпідів і знижує плинність мембрани. Аналіз отриманих результатів показав, що вміст ТБК-активних продуктів у зябрах коропа є найвищим у представників виловлених із річки Золота Липа і складає  $4,34 \pm 0,3$  нмоль/г. Нижчим є вміст цих продуктів пероксидації у представників р. Серет та найнищим у риб із р.Стрипа і складає відповідно  $3,48 \pm 0,53$  нмоль/г та  $2,63 \pm 0,28$  нмоль/г (рис. 2.2). Підвищений вміст МДА у метаболічно активних тканинах може бути свідченням окисного стресу в організмі риб [40], а також несприятливих екологічних умов у гідроекосистемах.

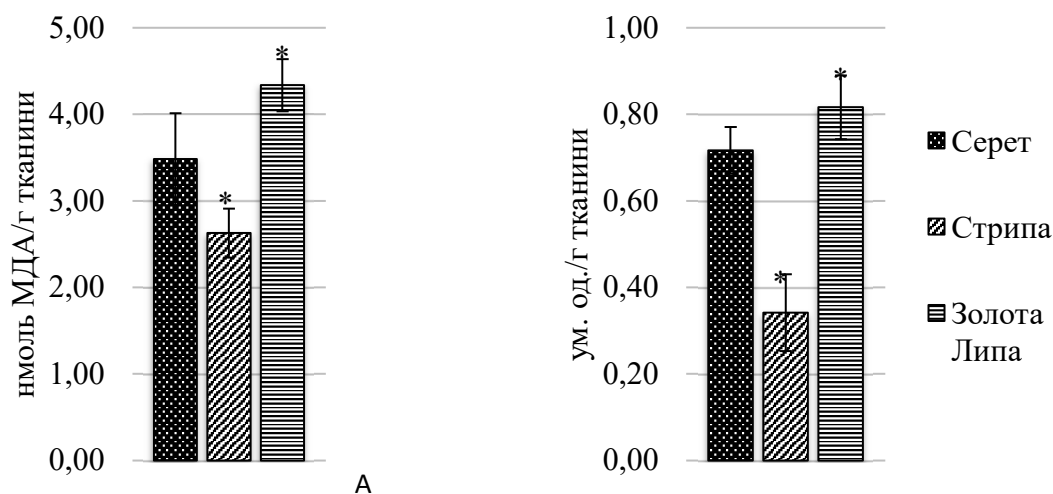


Рис. 2.2. Вміст ТБК-активних продуктів (А) та гідропероксидів (Б) ліпідів у зябрах коропа,  $M \pm m$ ,  $n=5$

Гідропероксиди ліпідів є первинними продуктами ПОЛ. Аналіз вмісту гідропероксидів ліпідів у риб з досліджених водойм показує виражений видовий та тканинний характер змін. Як із вмістом ТБК-активних продуктів має місце подібний характер змін концентрації гідропероксидів ліпідів у зябрах коропа (рис. 2.2). Вміст їх зменшується у низці представників із р.Золота Липа, р.Серет, р.Стрипа і становить  $0,82 \pm 0,05$  Е/г,  $0,72 \pm 0,04$  Е/г, та  $0,34 \pm 0,04$  Е/г відповідно.

Аналізуючи отримані дані вмісту ТБК-активних продуктів у печінці коропа видно, що достовірна відмінність спостерігається у досліджених нами

представників у порівнянні із коропом із р.Серет ( $6,84 \pm 0,44$  нмоль/г; рис. 2.3). Так, найбільший вміст малонового диальдегіду було відмічено у коропа з р. Золота Липа ( $7,74 \pm 0,71$  нмоль/г), а найменший у печінці риб із р.Стрипа ( $5,26 \pm 0,32$  нмоль /г).

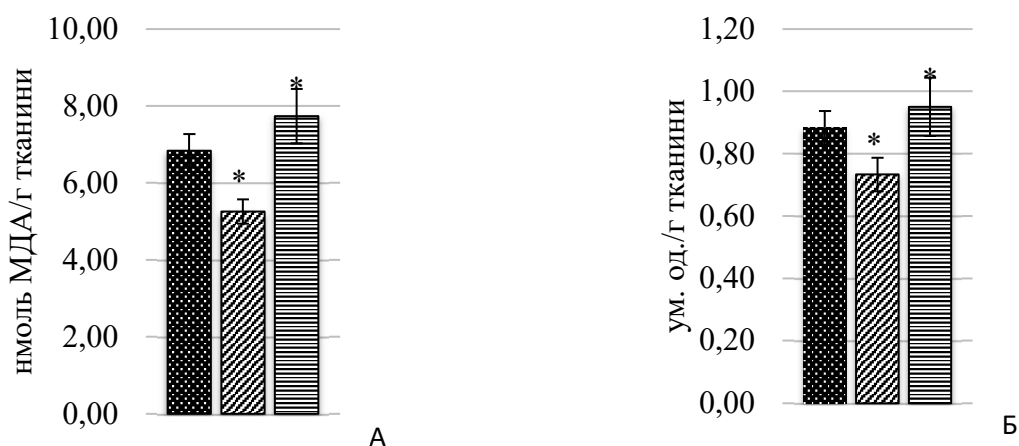


Рис.2.3. Вміст ТБК-активних продуктів (А) та гідропероксидів (Б) ліпідів у печінці коропа,  $M \pm m$ ,  $n=5$

Подібна картина спостерігалася у печінці коропа із вмістом продуктів ПОЛ, а саме гідропероксидів ліпідів. Тут відмічена тенденція до лінійного зменшення у представників низки р.Золота Липа – р.Серет – р.Стрипа і становить відповідно  $0,95 \pm 0,09$  Е/г,  $0,88 \pm 0,06$  Е/г та  $0,73 \pm 0,05$  Е/г.

Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у м'язах коропа має дещо відмінний характер порівняно із іншими дослідженими тканинами (рис. 2.4).

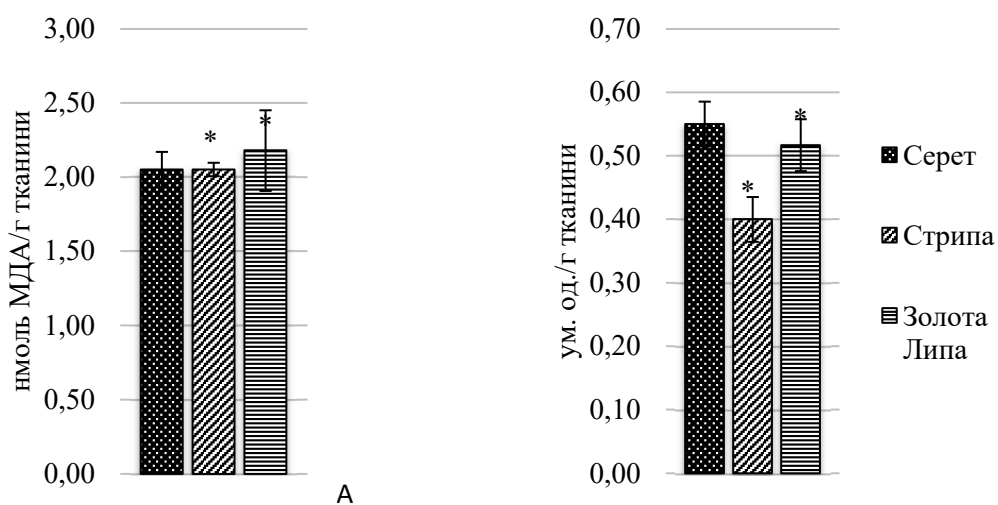


Рис.2.4. Вміст ТБК-активних продуктів (А) та гідропероксидів (Б) ліпідів у м'язах коропа,  $M \pm m$ ,  $n=5$

Так, вміст ТБК-активних продуктів у м'язах знаходиться практично на одному рівні у представників усіх досліджених водойм. Достовірна різниця спостерігалася лише у м'язах коропів із р.Золота Липа ( $2,18 \pm 0,27$  нмоль /г) у порівнянні із представниками з р.Серет ( $2,05 \pm 0,12$  нмоль /г).

Вміст гідропероксидів ліпідів у м'язах коропа носить дещо інший характер у порівнянні з іншими тканинами. Так вміст гідропероксидів найвищим був у м'язах коропа із р.Серет –  $0,55 \pm 0,04$  Е/г, дещо нижчим у риб із р.Золота Липа –  $0,52 \pm 0,04$  Е/г та найнижчий у представників із р.Стрипа –  $0,40 \pm 0,06$  Е/г.

Отже, ініціація вільнорадикального окиснення і утворення його продуктів у тканинах коропа залежить насамперед від екологічного стану досліджених водотоків.

### 2.2.2. Карась

Аналізуючи отримані дані вмісту ТБК-активних продуктів у з'ябрах карася спостерігали їх найвищий вміст у представників із р.Золота Липа ( $5,30 \pm 0,97$  Е/г), дещо нижчим він був у риб із р.Серет ( $4,81 \pm 0,69$  нмоль /г) та найнижчий – у карася із р.Стрипа ( $4,02 \pm 0,29$  нмоль /г; рис. 2.5).

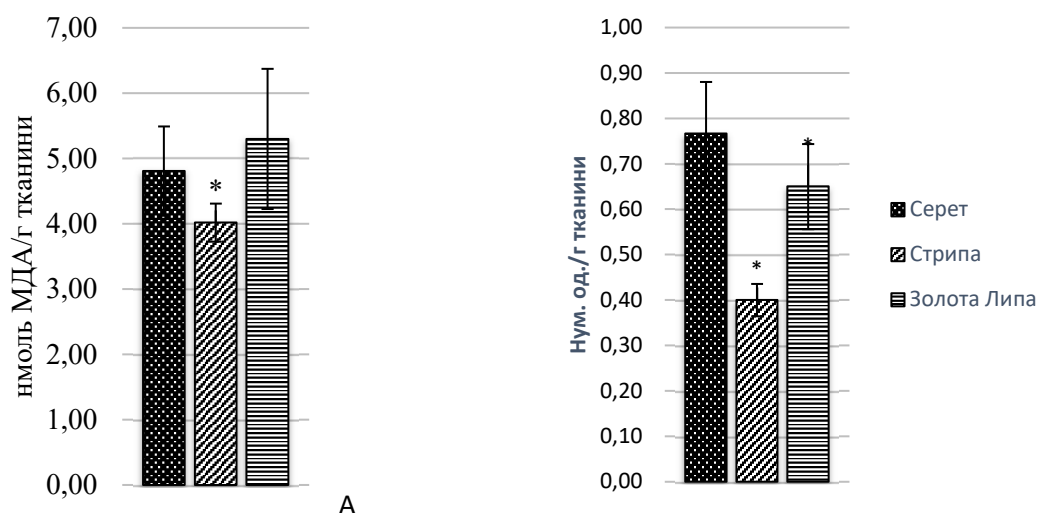


Рис.2.5. Вміст ТБК-активних продуктів (А) та гідропероксидів (Б) ліпідів у з'ябрах карася,  $M \pm m$ ,  $n=5$

Щодо вмісту гідропероксидів ліпідів в з'ябрах карася отримали такі дані: найбільший їх вміст був у риб із р.Серет ( $0,77 \pm 0,11$ Е/г), та практично вдвоє

нижчий у представників із р.Стрипа ( $0,40 \pm 0,04 \text{ E/г}$ ). Вміст гідропероксидів в зябрах карася із р.Золота Липа достовірно не відрізняється від представників р.Серет і становить  $0,65 \pm 0,09 \text{ E/г}$  (рис. 2.5).

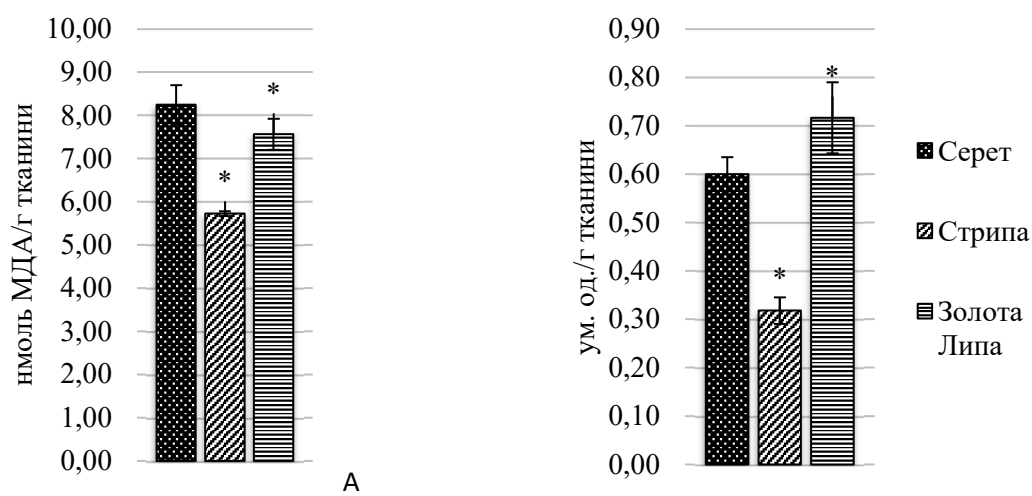


Рис.2.6. Вміст ТБК-активних продуктів (А) та гідропероксидів (Б) ліпідів у печінці карася,  $M \pm m$ ,  $n=5$

Вміст продуктів ПОЛ у печінці карася має дещо схожий характер з таким у зябрах (рис.2.6). Так вміст ТБК-активних продуктів знижується в низці предстаників р.Серет – р.Золота Липа – р.Стрипа та становить  $8,25 \pm 0,46$  нмоль /г,  $7,56 \pm 0,36$  нмоль /г та  $5,73 \pm 0,11$  нмоль /г відповідно.

Вміст гідропероксидів ліпідів достовірно відрізняється у представників всіх досліджених водойм у порівнянні з рибами р.Серет. Так найвищий їх вміст спостерігали у печінці карася із р.Золота Липа ( $0,72 \pm 0,07 \text{ E/г}$ ), нижчим він був у риб із р.Серет ( $0,60 \pm 0,04 \text{ E/г}$ ) та найнижчим у представників із р.Стрипа ( $0,32 \pm 0,03 \text{ E/г}$ ; рис. 2.6).

Вміст ТБК-активних продуктів у м'язах карася лінійно зменшується в низці представників із річок Золота Липа – Стрипа – Серет (рис. 2.7).



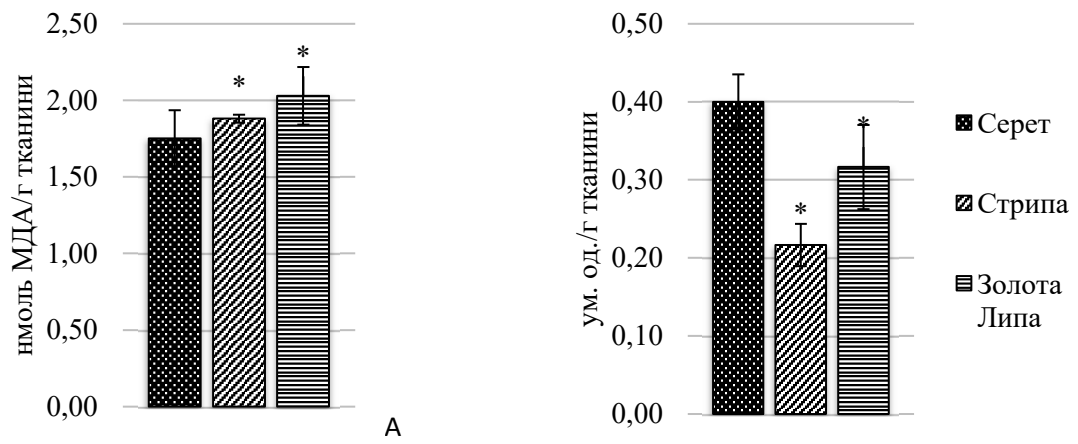


Рис. 2.7. Вміст ТБК-активних продуктів (А) та гідропероксидів (Б) ліпідів у м'язах карася,  $M \pm m$ ,  $n=5$

Вміст гідропероксидів ліпідів у м'язах карася найвищим у наших дослідженнях був у представників із р.Серет ( $0,40 \pm 0,05$  Е/г). Достовірно нижчі значення отримали із риб р.Золота Липа ( $0,32 \pm 0,04$  Е/г). Найнижчим він був у риб із р.Стрипа ( $0,22 \pm 0,03$  Е/г; рис. 2.7).

### 2.2.3. Окунь

Отримані дані щодо вмісту ТБК-активних продуктів у зябрах окуня вказують на найвищий їх вміст у риб, виловлених із р.Золота Липа ( $3,72 \pm 0,62$  нмоль /г), дещо нижчим їх вміст був у представників із р.Серет ( $2,99 \pm 0,33$  нмоль /г), та найнижчим у окуня із р.Стрипа та склав  $2,44 \pm 0,09$  нмоль /г. (рис.2.8).

Вміст гідропероксидів ліпідів у зябрах окуня носить схожий характер із кількістю ТБК-активних продуктів. Концентрація їх у риб, взятих із р.Серет, становила  $0,38 \pm 0,05$  Е/г, дещо нижчою вона була у представників із р.Стрипа і становила  $0,28 \pm 0,05$  Е/г. Було відмічено збільшення вмісту гідропероксидів ліпідів практично в 2 рази у риб із р.Золота Липа порівняно з дослідженими гідробіонтами із р.Серет (рис.2.8).

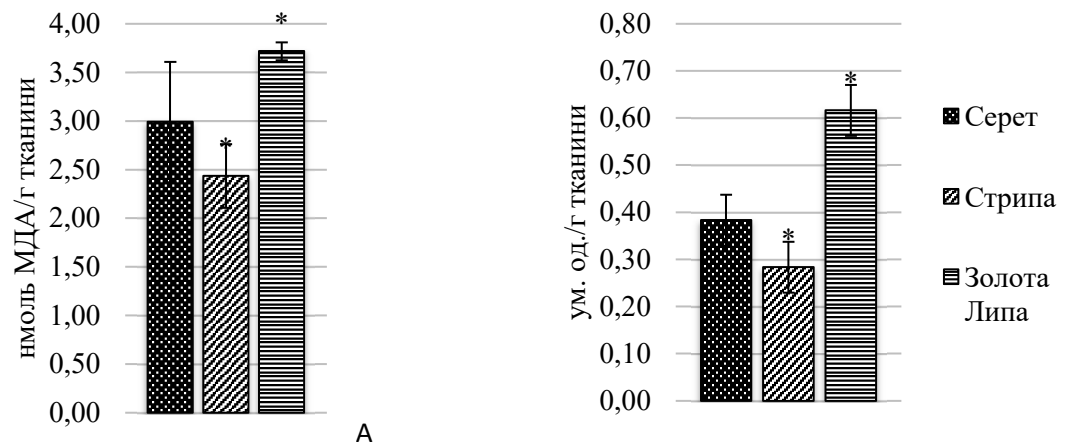


Рис.2.8 Вміст ТБК-активних продуктів (А) та гідропероксидів (Б) ліпідів у зябрах окуня,  $M \pm m$ ,  $n=5$

Досліджений вміст продуктів пероксидації ліпідів (ТБК-активні продукти) в печінці окуня становить:  $5,13 \pm 0,35$  нмоль /г – найвищий вміст у представників із р.Серет,  $4,25 \pm 0,29$  нмоль /г – дещо менше їх у риб із р.Золота Липа, та найменше у окуня із р.Стрипа –  $3,25 \pm 0,23$  нмоль /г (рис. 2.9).

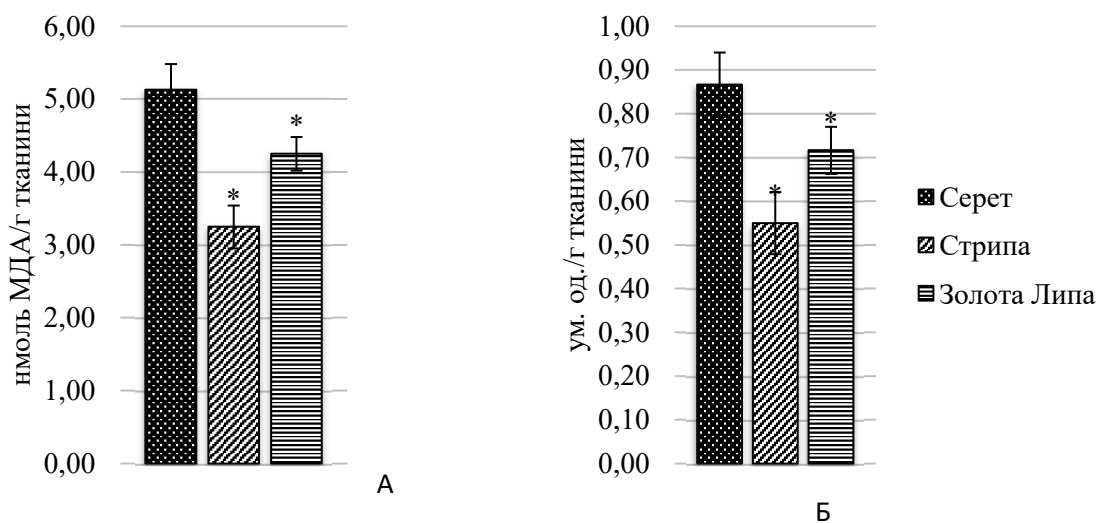


Рис.2.9. Вміст ТБК-активних продуктів (А) та гідропероксидів (Б) ліпідів у печінці окуня,  $M \pm m$ ,  $n=5$

Тенденція вмісту гідропероксидів ліпідів у печінці риб виловлених з різних біотопів має схожий характер із ТБК-активними продуктами. Спостерігали зниження їх вмісту в низці Серет – Золота Липа – Стрипа. Їх вміст становив  $0,87 \pm 0,07$  Е/г,  $0,72 \pm 0,07$  Е/г та  $0,55 \pm 0,05$  Е/г відповідно (Рис.2.9).

Вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у тканинах м'язів окуня кількісно значно менший ніж в інших досліджених тканинах. Найвищий вміст

ТБК-активних продуктів був у риб із р.Серет ( $1,84 \pm 0,11$  нмоль /г), дещо нижчий він був у риб із р.Золота Липа ( $1,73 \pm 0,09$  нмоль /г) та найнижчим їх вміст було відмічено у представників із р.Стрипа ( $1,52 \pm 0,15$  нмоль /г; рис.2.10).

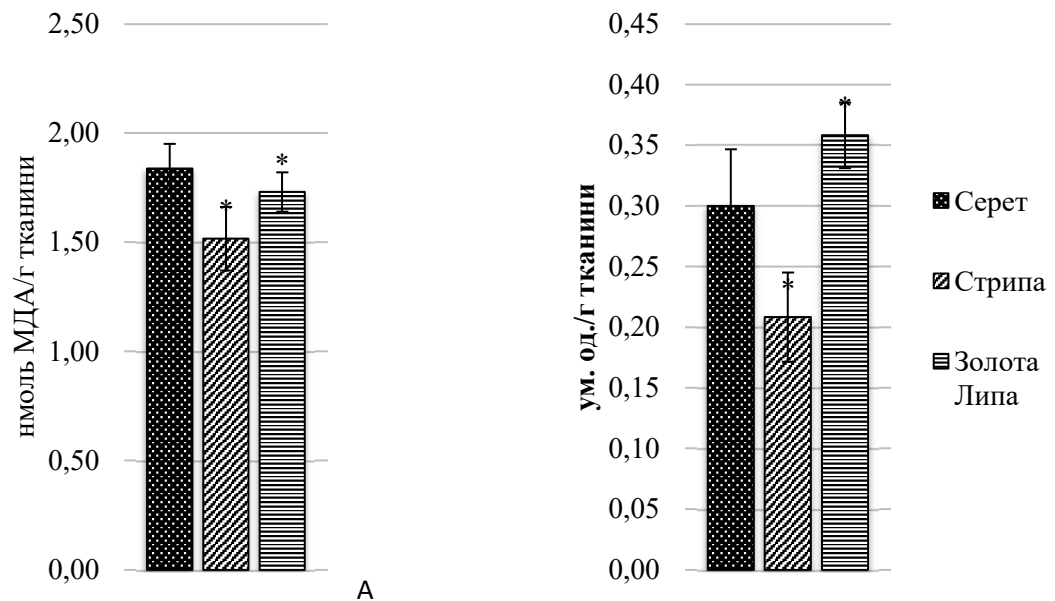


Рис.2.10. Вміст ТБК-активних продуктів (А) та гідропероксидів (Б) ліпідів у м'язах окуня,  $M \pm m$ ,  $n=5$

Вміст гідропероксидів у м'язах окуня найвищого значення набув у риб із р.Золота Липа ( $0,36 \pm 0,05$  Е/г) та достовірно зменшувався у окуня із р.Серет ( $0,30 \pm 0,04$  Е/г) та р.Стрипа ( $0,21 \pm 0,03$  Е/г; рис.2.10)

#### 2.2.4. Щука

Вміст продуктів ПОЛ у досліджених тканинах щуки має наступний характер. Кількість ТБК-активних продуктів значно відрізняється у представників всіх досліджених малих річок. Так, їх вміст в зябрах у представників із р.Золота Липа був найбільшим і становив  $6,26 \pm 0,96$  нмоль /г. Практично в три рази їх менше виявили у дослідженій тканині щуки із р.Стрипа –  $2,18 \pm 0,67$  нмоль /г. Вміст їх у представників із р.Серет становив –  $4,91 \pm 0,80$  нмоль /г (рис. 2.11).

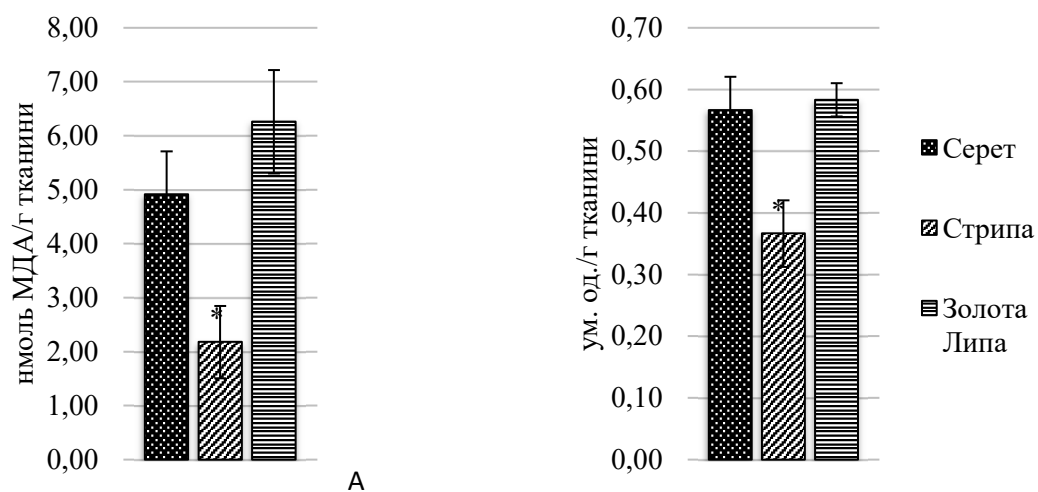


Рис.2.11. Вміст ТБК-активних продуктів (А) та гідропероксидів (Б) ліпідів у зябрах щуки,  $M \pm m$ ,  $n=5$

Вміст гідропероксидів ліпідів в зябрах у риб із р.Серет та р.Золота Липа був практично на одному рівні і становив  $0,57 \pm 0,05$  Е/г та  $0,58 \pm 0,05$  Е/г відповідно. Достовірна відмінність у вмісті гідропероксидів спостерігалася у риб із р.Стрипа і становила  $0,37 \pm 0,03$  Е/г (рис 2.11).

Концентрація продуктів пероксидації ліпідів у тканинах печінки щуки має дещо відмінний характер в порівнянні із тканинами зябер. Так вміст ТБК активних продуктів був практично на одному рівні у риб із річок Серет та Золота Липа і становив  $6,88 \pm 0,52$  нмоль /г та  $7,01 \pm 0,70$  нмоль /г відповідно. Найменше їх спостерігали в печінці у щуки із р.Стрипа –  $4,40 \pm 0,37$  нмоль /г (рис. 2.12).

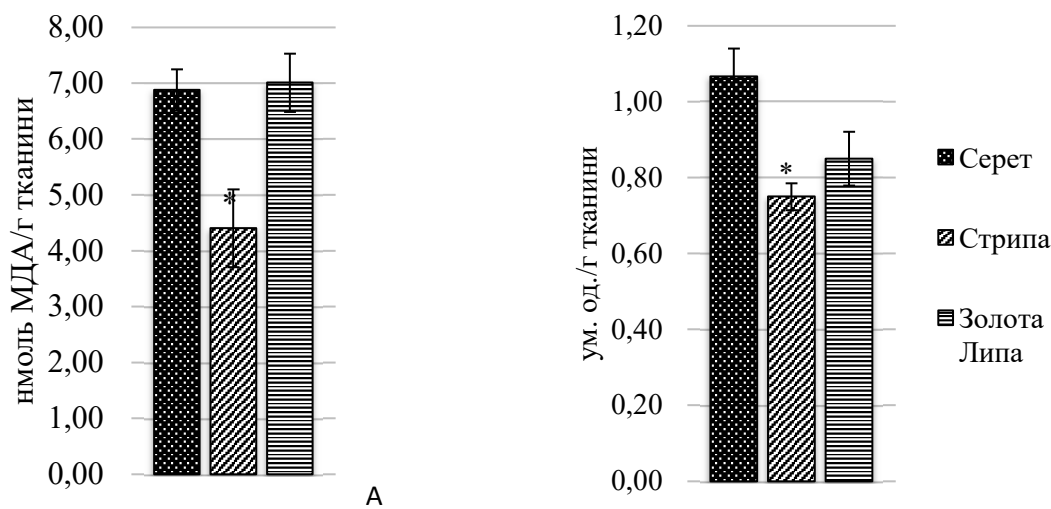


Рис. 2.12. Вміст ТБК-активних продуктів (А) та гідропероксидів (Б) ліпідів у печінці щуки,  $M \pm m$ ,  $n=5$

Вміст гідропероксидів ліпідів у тканинах печінки щуки найвищим був у риба із р.Серет –  $1,07 \pm 0,07$  Е/г. У представників із р.Стрипа і Золота Липа їх вміст був практично на одному рівні і становив  $0,75 \pm 0,04$  Е/г та  $0,85 \pm 0,07$  Е/г відповідно (рис. 2.12).

Вміст ТБК-активних продуктів у тканинах м'язів щуки був практично на одному рівні у представників всіх досліджених водойм, за винятком риба із р.Золота Липа, де він був дещо вищим і становив  $1,75 \pm 0,19$  нмоль /г (рис. 2.13).

Вміст гідропероксидів ліпідів у досліджених тканинах м'язів щуки був на одному рівні у риба із р.Серет та Золота Липа –  $0,50 \pm 0,05$  Е/г та  $0,52 \pm 0,07$  Е/г відповідно. Достовірно менше їх було знайдено у тканинах риба, взятих із р.Стрипа –  $0,35 \pm 0,04$  Е/г (рис. 2.13).

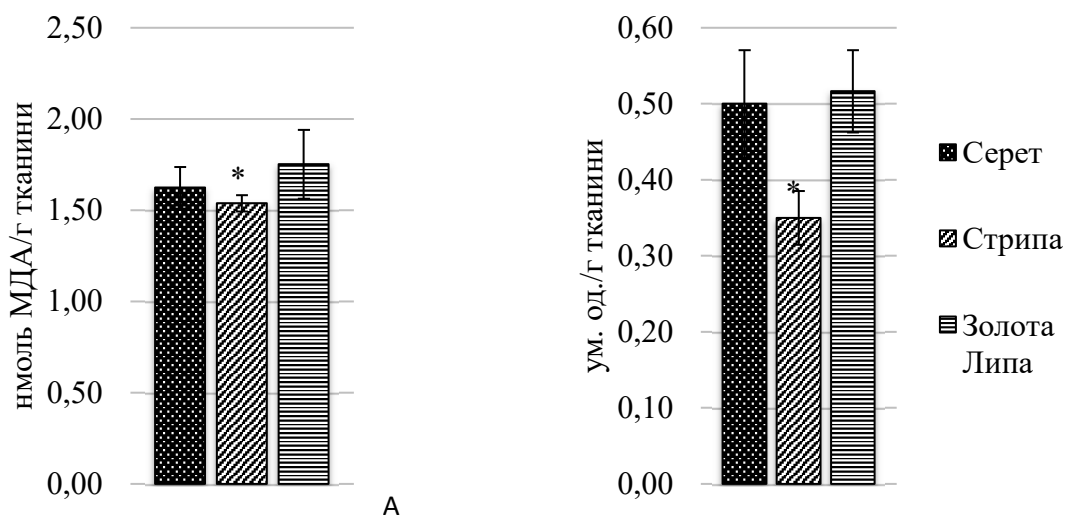


Рис.2.13. Вміст ТБК-активних продуктів (А) та гідропероксидів (Б) ліпідів у м'язах щуки,  $M \pm m$ ,  $n=5$

Отже, пероксидне окиснення ліпідів у риба із досліджуваних річок характеризується видовими та тканинними особливостями і залежить від екологічних умов існування гідробіонтів. В цілому, найвищими досліджені показники ПОЛ є у тканинах прісноводних риба, виловлених з р. Золота Липа, що вказує на несприятливі екологічні умови в даній річці. Найнижчим рівень ТБК-активних продуктів та гідропероксидів був відмічений у представників з р. Стрипа, що, очевидно, обумовлено найменшим антропогенним тиском на даний водотік.

## ВИСНОВКИ

На основі власних експериментальних досліджень можна стверджувати, що активність процесів пероксидного окиснення ліпідів визначається як особливостями метаболізму у різних видів прісноводних риб, так і екологічними умовами водного середовища їх існування.

1. У зябрах, печінці та м'язах коропа було відмічено найбільшу кількість ТБК-активних продуктів та гідропероксидів ліпідів у риб виловлених з р. Золота Липа, а найнижча концентрація вказаних метаболітів була відмічена у представників із річки Стрипа.
2. У тканинах карасів специфіка перебігу процесів вільнорадикального окиснення ліпідів у риб з різних малих річок має подібний характер. Разом з тим, максимальна кількість гідропероксидів ліпідів у зябрах ( $0,77 \pm 0,11$  Е/г) та м'язах ( $,40 \pm 0,05$  Е/г), ТБК-активних продуктів у печінці ( $8,25 \pm 0,46$  нмоль/г) була відмічена у особин з р. Серет.
3. У тканинах окуня максимальним вміст продуктів пероксидного окиснення був у особин виловлених із річки Золота Липа. Також відмічено високі концентрації ТБК активних продуктів ( $5,13 \pm 0,35$  нмоль/г) та гідропероксидів ліпідів ( $0,87 \pm 0,07$  Е/г) у печінці риб виловлених з р. Серет.
4. Специфіка ПОЛ в тканинах щуки має подібний характер з рештою досліджуваних риб, проте слід відмітити, що максимальна кількість гідропероксидів ліпідів ( $7,01 \pm 0,70$  Е/г) у печінці була ввідмічена у печінці риб із р. Серет.
5. В цілому, найвищими досліджені показники ПОЛ була у тканинах прісноводних риб, виловлених з р. Золота Липа, що вказує на несприятливі екологічні умови в даній річці. Найнижчим рівень ТБК-активних продуктів та гідропероксидів був відмічений у представників з р. Стрипа, що, очевидно, обумовлено найменшим антропогенним тиском на даний водотік.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. А.с. №1084681 СССР, МКИ 9"Способ определения гидроперекисей липидов в биологических тканях" / Мирончик В. В. — №3468369/28-13; заявл.08.07.82; опубл. 07.04.84 Бюл. № 13.
2. Абрамова Ж.И., Оксенгендлер Г.И. Человек и противомикробные вещества. Л.: Наука, 1985. 230 с.
3. Арсан В. О. Енергозабезпечення організму коропа при адаптації до змін концентрації іонів важких металів у водному середовищі.: автореф. дис. канд. біол. наук. Київ, 2004. 20 с.
4. Беспалова Л. Е. Водна токсикологія. Херсон, 2011. 131 с
5. Бияк В. Я. , Ляврін Б. З. , Хоменчук В. О. Аналіз окремих гідрохімічних показників деяких малих річок Західного Поділля. *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. 2010. № 4 (45). С. 115—121.*
6. Водяницький О. М., Потрохов О. С., Гриневич Н. Є. Зміна активності ферментів енергетичного обміну коропа за дії абіотичних чинників водного середовища. *Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. 2016. № 1. С. 10.*
7. Говоркова Л. К. Выявление факторов накопления тяжелых металлов в органах рыб различных трофических групп (на примере Куйбышевского водохранилища): Автореф. ... канд. биол. наук. Казань, 2004. 18 с.
8. Гончаренко Н. И. Проблемы сохранения биоразнообразия и некоторые аспекты массовой гибели рыб в природных водах. Материалы Международной конференции «Сохранение биоразнообразия бассейна Днестра» (7-9 окт., 1999, г. Кишинёв). Кишинёв, 1999. С. 50.
9. Дзюбук И. М., Клюкина Е. А. Морфофизиологический анализ ёрша (*Gymnoscephalus cernuus(L)*) района острова Раантасаари ладожского озера методами вариационной статистики. *Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. 2014, № 4 (1). 214 с.*

- 10.Добрянська Г.М., Мельник А.П., Янович Н.Є., Янович Д.О. Особливості накопичення важких металів в організмі різних видів промислових риб. *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З.Гжицького 2013. Т.15 №1(55) частина 4*. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/osoblivosti-nakopichennya-vazhkih-metaliv-v-organizmi-riznih-vidiv-promislovih-rib>
- 11.Дорохова И. Н.Особенности морфофизиологических и биохимических параметров печени морского ерша из бухт с различным уровнем загрязнения. *Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов. Том I. Экологическая физиология и биохимия водных организмов. сборник научных статей. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2010. С. 44–47.*
- 12.Евтушенко Н. Ю., Сытник Ю. М. Содержание тяжелых металлов в рыбах водоема охладителя Ладыжинской ГРЭС. *Всес. совещ. по рыбхоз. использ. тепл. вод. Москва, 1990. С. 237–238.*
- 13.Клименко О. М., Куновський Ю. В., Присяжнюк Н. М. Динаміка змін фізичних параметрів кровотворних органів коропа впродовж вегетаційного періоду. *Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. 2013. № 10 (105). С. 44–46.*
- 14.Лакин Г. Ф. Биометрия: Учебное пособие для биол. спец. Вузов. М.: Высш. шк., 1990. 352с.
- 15.Локтионова Е. Г., Болонина Г. В., Яковлева Л. В. Мониторинг загрязнения фенолами, нефтепродуктами и синтетическими поверхностно-активными веществами внутренних водоемов г. Астрахани. *Вестник ОГУ. 2012. № 6 (142). С. 112–116.*
- 16.Магомедгаджиева Д. Н. Токсическое воздействие среды на некоторые показатели липидного обмена и системы антиоксидантной защиты рыб. *Автореф. Дис. ... канд.биол.наук. Махачкала, 2002. 20 С.*
- 17.Марченко Н. Л. Тяжелые металлы в массовых видах рыб из водоемов южного Приморья.: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Владивосток, 2007. 20 с.



18. Матвеева А. Ю., Богатова О. В. Эколого-физиологическая характеристика рыб малых рек Южного Урала. Вестник Оренбургского государственного университета. 2015. № 4 (179). 240–243 с.
19. Миронюк М. О. Особливості метаболічних адаптацій риb до нафтового забруднення водного середовища.: автореф. дис. ... канд. біол. Наук. Київ, 2009. С. 17.
20. Немова Н. Н. Высоцкая Р. У. Биохимическая индикация состояния рыб. Москва, 2004. С. 215.
21. Орлов Д. С., Садовникова Л. К., Лазановская И. Н. Экология и охрана окружающей среды при химическом загрязнении. Москва, 2002. 334 с.
22. Особа І.А. Вміст продуктів вільнорадикального перекисного окиснення ліпідів у скелетних м'язах та печінці однорічок лускатих та рамчастих коропів несвицького зонального типу. *Біологія тварин*. 2012. Т. 14, № 1–2. С. 179–183.
23. Остроумов С.А. Загрязнение, самоочищение и восстановление водных экосистем. Москва, 2005. С. 63–89.
24. Потрохов О. С. Фізіолого-біохімічні механізми адаптації риb до змін екологічних чинників водного середовища.: автореф. дис. ... докт. біол. наук. Київ, 2011. 44 с.
25. Присяжнюк Н. М., Слободенюк О. І., Гриневич Н. Є., Бабень В. П., Кузьменко О. А., Горчанок А. В. Аборигенні види риb як тест-об'єкти для досліджень сучасного стану гідроекосистем. *Агроєкологічний журнал*. 2019. № 1. С. 97–102.
26. Романенко О. В., Арсан О. М., Кіпніс Л. С., Ситник Ю. М. Екологічні проблеми Київських водойм і прилеглих територій. Київ, 2015. 189 с.
27. Романова Е. М., Игнаткин Д. С., Романов В. В. Биологический контроль окружающей среды в зонах повышенной антропогенной загрузки. УГСХА. 2015. 240 с.
28. Ситник Ю., Осадча Н., Шевченко П., Забитівський Ю. Еколого-токсикологічна оцінка спрямованості гідрохімічних процесів в озері

- Пісочне Шадського парку. *Вісник Львів. УН-ТУ Серія біологічна. 2009. № 50. С. 59–66.*
29. Скиба О.І. Закономірності формування вмісту та розподілу сполук фосфору у річках Тернопільщини у зв'язку із ступенем антропогенного навантаження: автореф. дис. ... канд. біол. наук. Чернівці, 2017. 23 с. ]
30. Суржко Л. Ф., Финкельштейн З. И., Баскунов Б. П., Янкевич М. И., Яковлев В. И., Головлева Л. А. Утилизация нефти в почве и воде микробными клетками. *Микробиология. 1995. № 3. С. 393 – 398.*
31. Федоров Е. Ф. Эколого-морфологическая характеристика ихтиофауны реки Ишым на юге Тюменской области. *Вестник Тюменского гос. ун-та. 2011. № 6. 70–77 с.*
32. Хоменчук В. А., Симчук С. Р., Миронюк М. А., Курант В. З. Особенности распределения ионов цинка в организме карася (*Carassius carassius* L.). Материалы III международной конференции с элементами школы для молодых ученых, аспирантов и студентов «Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов» (22–26 июня 2010. г. Петрозаводск). Петрозаводск, 2010. 189–202 с.
33. Яцик А. В. , Бишовець Л. Б. , Богатов Є. О. Малі річки України: Довідник. К.: Урожай, 1991. 296 с.
34. Allen T., Singhal R., Rana S.V. Resistance to oxidative stress in a freshwater fish *Channa punctatus* after exposure to inorganic arsenic. *Biological Trace Element Research. 2004. Vol. 98. P. 63–72.*
35. Camargo J. A., Alonso A. Contaminación por nitrógeno inorgánico en los ecosistemas acuáticos: problemas medioambientales, criterios de calidad del agua, e implicaciones del cambio climático. *Ecosistemas. 2007. № 16 (2). P. 98–99.*
36. Cappello T., Brandão F., Guilherme S., Santos M. A., Maisano M., Mauceri A., Pereira P. Insights into the mechanisms underlying mercury-induced oxidative stress in gills of wild fish (*Liza aurata*) combining <sup>1</sup>H NMR metabolomics and conventional biochemical assays. *Science of The Total Environment. 2016. P. 548–549.*

37. Chew S. F., Ip Y. K. Excretory nitrogen metabolism and defence against ammonia toxicity in air-breathing fishes. *Journal of Fish Biology*. 2014. № 84 (3). P. 603–638.
38. Di Giulio R.T., Hinton D.E. Reactive oxygen species and oxidative stress. *The Toxicology of Fishes*. CRC Press, Taylor and Francis Group. 2008. P. 273–324.
39. Diguseppi J. The toxicology of molecular oxygen. *Critical Reviews in Toxicology*. 1984. Vol. 12. P. 315–342.
40. Doherty V.F., Ogunkuade O.O., Kanife U.C. Biomarkers of oxidative stress and heavy metal levels as indicators of environmental pollution in some selected fishes in Lagos, Nigeria. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci*. 2010. Vol. 7 (3). P. 359–365.
41. Ismail H. T. H., Mahboub H. H. H. Effect of acute exposure to nonylphenol on biochemical, hormonal, and hematological parameters and muscle tissues residues of Nile tilapia; *Oreochromis niloticus*. *Veterinary world*. 2016. № 9 (6). P. 616–625.
42. Kang A. Protection and management of urban lakes in India. Centre for Science and Environment, New Delhi. 2013. 14 p.
43. Kostiuk R. V., Grubinko V. V. Role of Membrane ATP-ases in Adaptation of Aquatic Organisms to Environmental Factors (a Review). *Hydrobiological Journal*. 2010. № 46 (6). P. 45–56.
44. Liu S., Vallejo R. L., Palti Y., Gao G., Marancik D. P. Hernandez A. G., Wiens G. D. Identification of single nucleotide polymorphism markers associated with bacterial cold water disease resistance and spleen size in rainbow trout. *Frontiers in Genetics*. 2015. № 6. [doi.org/10.3389/fgene.2015.00298](https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00298)
45. Lupiáñez J. A. Long-term nutritional effects on the primary liver and kidney metabolism in rainbow trout. Adaptive response to starvation and a high-protein, carbohydrate-free diet on glutamate dehydrogenase and alanine aminotransferase kinetics. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. № 30 (1). P. 55–63.
46. Lushchak V.I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic Toxicology*. 2011. Vol. 1. P. 13–30.

47. Mahboob S. Environmental pollution of heavy metals as a cause of oxidative stress in fish : a review. *Life Sci. J.* 2013. Vol. 10. P. 336–347.
48. Marco A. Contaminación global por nitrógeno y declive de anfibios. *Rev. Esp. Herp.* 2002. № 16 (5) P. 98–101.
49. Mason R. P. Laporte J.-M. Andres S. Factors Controlling the Bioaccumulation of Mercury, Methylmercury, Arsenic, Selenium, and Cadmium by Freshwater Invertebrates and Fish. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology.* 2000. № 38 (3). P. 283–297.
50. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants / Valavanidis Athanasios, Vlahogianni Thomais, Dassenakis Manos, Scoullou Michael. *Ecotoxicology and Environmental Safety.* 2006. Vol. 64. P. 178–189.
51. Sadoul B., Geffroy B. Measuring cortisol, the major stress hormone in fishes. *Journal of Fish Biology.* 2019. № 94 (4). P. 540–555.
52. Shcherbak V. I., Kravtsova O. V., Linchuk M. I. Assessment of the influence of high concentrations of nitrogen compounds on phytoplankton diversity in the ponds of the Oleksandriya Natural Park (the town of Bila Tserkva, Ukraine). *Hydrobiological Journal.* 2018. Vol. 54. №. 1. P.19–32.
53. Tripathi G., Verma P. Differential effects of thyroxine on metabolic enzymes and other macromolecules in a freshwater teleost. *Journal of Experimental Zoology.* 2003. № 296A (2). P. 117–124.
54. Valko M. Metals, toxicity and oxidative stress. *Current Medical Chemistry.* 2005. Vol. 12. P. 1161–1208.
55. Wepener V, Van Vuren J. H. J., Du Preez H. H. The effect of hexavalent chromium at different pH values on the hematology of *Tilapia sparrmanii* (Cichlidae). *Comp Biochem Physiol.* 1992. № 101 (2). P. 375–381.
56. Wood C.M., Peter P., Wright A. Ammonia and urea metabolism in relation to gill function and acid-base balance in a marine elasmobranch, the spiny dogfish (*squalus acanthias*). *The Journal of Experimental Biology.* 1995. P. 1545–1558.