

**СОДЕРЖАНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И БИОИНДИКАТОРЫ СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ  
НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ЧЕРНОМОРСКИХ РЫБ****Дорохова И.И., Кузьминова Н.С., Руднева И.И.**

Институт биологии южных морей НАН Украины, г. Севастополь

**Болдырев Д.А.**

Крымская опытная станция Национального научного центра «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины», г. Симферополь

Насыщение водной среды различными загрязнителями приводит к крайне негативным последствиям для морских экосистем и их обитателей. Рыбы, являясь верхним трофическим звеном, наиболее уязвимы к действию токсикантов, которые попадают в их организм в основном с пищей. Многие ксенобиотики как органического происхождения (пестициды, ПХБ), так и неорганические компоненты (прежде всего тяжелые металлы) способны накапливаться в тканях рыб, включаться в метаболические реакции, взаимодействовать с биологическими молекулами, нарушая их структуру и функции, что приводит к интоксикации и развитию различных патологических состояний [1, 7]. Для выяснения состояния организма рыб в загрязненной среде обитания важно определить индикаторы различного уровня, которые бы позволили выявить ранние токсические эффекты, оценить их последствия и адаптационные возможности организма.

Известно, что ключевым органом детоксикации в организме является печень, где не только накапливаются различные ксенобиотики, но и происходят процессы их биотрансформации и обезвреживания [6]. В связи с этим, основные морфофизиологические и биохимические параметры печени могут дать адекватную информацию о состоянии органа и его функциональной способности. Кроме того, у рыб эти характеристики во многом зависят от экологических и биологических особенностей вида, что необходимо учитывать при интерпретации результатов влияния состояния среды на водные организмы.

На этом основании целью настоящей работы явилось исследование содержания тяжелых металлов в печени трех видов черноморских рыб, а также морфофизиологических и биохимических характеристик этого органа.

**Материалы и методы исследований.** Объектами исследования служили морской ерш *Scorpaena porcus* L., мерланг *Merlangius merlangus euxinus* (Nordmann) и кефаль-сингиль *Mugil cephalus* L., отловленные в весенний период 2011 г. в прибрежных водах Севастополя. Проводили полный биологический анализ рыб, извлекали печень, определяли ее массу и рассчитывали индекс печени (ИП) по формуле [4]:

$$\text{ИП} = \text{Вес печени} \cdot 1000 / \text{Вес тушки} [\%]$$

Печень замораживали и хранили при температуре - 20° С. Содержание химических элементов Zn, Cu, Fe, Mn, Pb, Sr определяли в печени атомно-абсорбционным методом на спектрофотометре С-600 [2]. Для этого использовали суммарные образцы тканей, полученные от пяти-десяти особей. Исследования проводили в трех-пяти повторностях. Расчет вели на сухую массу, выражая содержание элементов в мг на кг сухой массы.

Определение активности аминотрансфераз проводили в экстракте тканей печени, который получали путем гомогенизации в физиологическом растворе на холоде и центрифугирования при 5000 g 15 минут. Активность ферментов анализировали согласно методу Райтмана-Френкеля с использованием стандартных наборов «Філісіт»-«АсАт» и «АлАт» (Украина). Коэффициент де Ритиса рассчитывали как отношение активности АсАт к активности АлАт.

Результаты обрабатывали статистически, вычисляли среднее значение и ошибку средней, корреляционный анализ проводили методом наименьших квадратов [3].

**Результаты и их обсуждение.** Результаты исследований позволили установить, что у исследуемых видов рыб существенно различается масса печени и ИП (рис. 1), что является видовым признаком и зависит от биологии и экологии вида. Как можно видеть, ИП значительно превалирует у кефали-сингиля, у мерланга он меньше и минимальные значения установлены у морского ерша.

Содержание тяжелых металлов в печени рыб убывает в следующей последовательности Fe> Sr> Zn> Mn> Cu> Pb у ерша и у мерланга, Fe> Zn> Sr> Cu> Mn> Pb у кефали (табл.). Между содержанием различных элементов в печени рыб установлены определенные зависимости: высокий коэффициент корреляции отмечен между уровнем меди, марганца и свинца (r=0.70 и r=0.91 соответственно), а также между содержанием железа и стронция (r=0.89) и марганца и стронция (r=0.73). Умеренная зависимость отмечена между концентрацией марганца, железа и свинца (r=0.36 и r=0.35 соответственно). Установлена тесная связь между содержанием цинка в печени и ИП (r=0.96), в остальных случаях корреляции между индексом печени и уровнем тяжелых металлов не отмечены.

Как можно видеть, содержание цинка достоверно выше (p<0.01) в печени мерланга по сравнению с двумя другими видами, уровень меди превалирует в печени кефали, а железа и марганца – в печени ерша. Содержание свинца и стронция варьирует в меньшей степени. Концентрация всех исследуемых элементов (за исключением железа) в печени рыб не превышает принятых на Украине ПДК.

В дальнейшем представляло интерес определить функциональное состояние печени с помощью характерных биомаркеров – активности аминотрансфераз (рис. 2). Активность АлАт и АсАт одинакова в печени морского ерша и кефали, тогда как в печени мерланга активность АлАт достоверно снижена по отношению к показателям двух других видов, а активность АсАт – достоверно повышена. Коэффициент де Ритиса почти в 2 раза выше в печени мерланга по сравнению с соответствующими значениями морского ерша и кефали. Результаты исследования позволили установить высокую зависимость (r=0.95) между активностью ферментов и содержанием цинка в печени рыб, в остальных случаях корреляции отсутствовали.

Таким образом, результаты исследований показали существенные различия содержания тяжелых металлов и активности аминотрансфераз в печени трех видов черноморских рыб. Несмотря на то, что Zn, Fe, Cu и Mn являются биофильными элементами, и их уровень в организме регулируется физиологическими механизмами [5], содержание этих компонентов значительно варьирует в печени рыб.

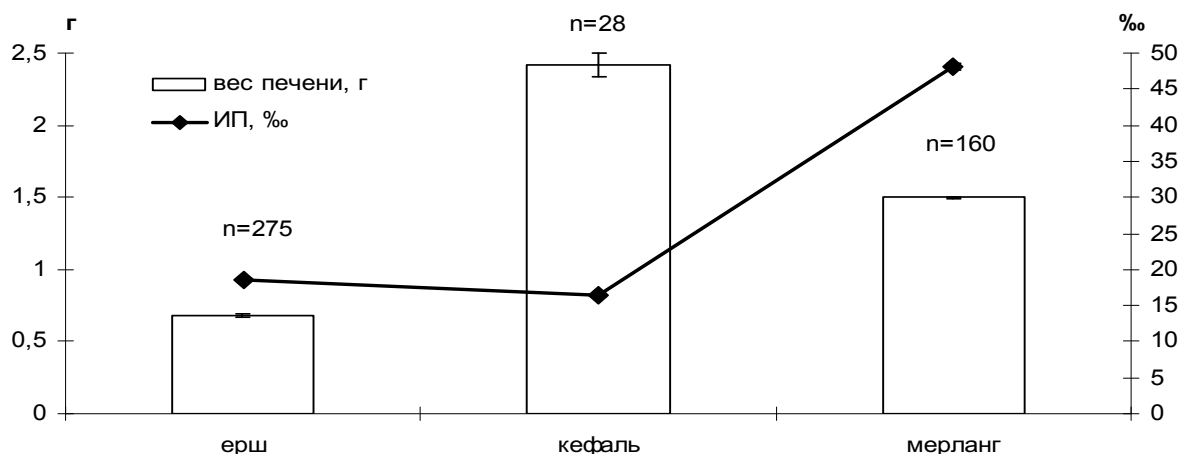


Рис. 1 Масса и индекс печени трех видов черноморских рыб ( $M \pm m$ )

Таблица – Содержание тяжелых металлов (мг / кг,  $M \pm m$ ) в печени рыб

| Виды           | Содержание неорганических элементов, мг/кг |           |              |           |           |            |
|----------------|--|-----------|--------------|-----------|-----------|------------|
|                | Цинк                                       | Медь      | Железо       | Марганец  | Свинец    | Стронций   |
| морской ерш    | 22,36±0,04                                 | 4,4±0,02  | 1498,91±0,05 | 5,64±0,05 | 0,46±0,2  | 24,08±0,01 |
| кефаль-сингиль | 23,16±0,04                                 | 7,94±0,02 | 69,75±0,005  | 2,16±0,05 | -         | 18,8±0,01  |
| мерланг        | 33,97±0,01                                 | 3,99±0,04 | 280,88±0,05  | 4,57±0,04 | 0,66±0,04 | 20,73±0,01 |
| ПДК            | 40,0                                       | 10,0      | 30,0         | 10,0      | 1,0       | 35,0       |

Исходя из данных таблицы видно, что у донного ерша концентрация железа в печени на порядок и более превосходит этот показатель у придонно-пелагических видов, равно как и ПДК. Можно предположить, что столь высокий уровень железа у донного вида обусловлен его питанием бентосными организмами, загрязненными этим металлом, который по пищевым цепям с эффектом концентрирования накапливается в печени ерша. Этим же можно объяснить увеличение содержания цинка в печени мерланга. Концентрация других элементов варьировала в меньшей степени.

Обращает на себя внимание высокая корреляция между активностью аминотрансфераз в печени рыб и содержанием цинка: у мерланга, содержащего наибольшую концентрацию цинка, отмечена повышенная активность ферментов, что может быть обусловлено реакциями биотрансформации на накопление этого металла или же патологическими процессами, происходящими в этом органе, что отмечено и другими исследователями [7].

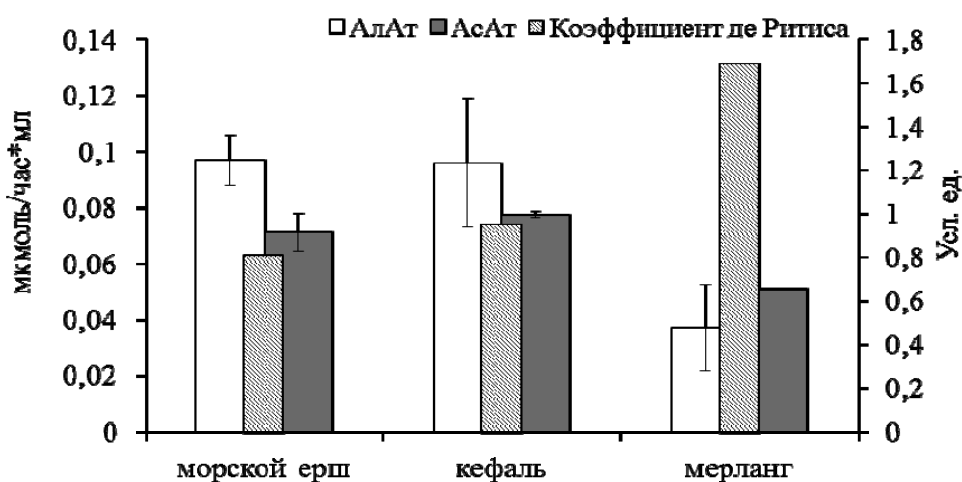


Рис. 2 Активность аминотрасфераз и коэффициент де Ритиса в печени некоторых видов черноморских рыб ( $M \pm m$ )

Результаты исследований продемонстрировали, что накопление тяжелых металлов в печени рыб существенным образом влияет на ее функциональное состояние, а ИП и активность ферментов могут быть использованы в качестве информативных биомаркеров этого состояния.

#### Список литературы

1. Голованова, И.Л. Влияние тяжелых металлов на физиолого-биохимический статус рыб и водных беспозвоночных // Биология внутренних вод. – 2008. – № 1. – С. 99-108.
2. Методика определения уровней токсичности поверхностных и глубинных вод для контроля пригодности их качества

установленным нормативным требованиям. – К.: Мин. экоресурсов Украины, – 2000. – 28 с. 3. Лакин, Р.Ф. Биометрия. – М: Высш. шк., – 1990. – 352 с. 4. Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. – М.: Пищ. пром., 1966. – 376 с. 5. Скальный, А.В. Химические элементы в физиологии и экологии человека. – М.: ОНИКС – Мир, – 2004. – 216 с. 6. Sole, M., Rodriguez, S., Papiol, V., Maynou, F., Cartes, J.E. Xenobiotic metabolism markers in marine fish with different trophic strategies and their relationship to ecological variables. // *Comp. Biochem. Physiol.*, – 2009 – 149C(1) – P. 83-89. 7. Oost, van der R., Beyer, J., Vermeulen, N.P.E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. // *Environmental Toxicology and Pharmacology*. – 2003 – V. 13. – P. 57-149.

## CONTENTS OF HEAVY METALS AND BIOINDICATORS OF LIVER CONDITION OF SOME BLACK SEA FISHES

*Dorohova I.I., Kuzminova N.S., Rudneva I.I.*

*Institute of Biology of Southern Seas, NAS of Ukraine, Sevastopol*

**Boldyrev D.A**

*Crimean Experimental Station of the National Scientific Centre "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Simferopol*

*Interspecies differences of HSI and hepatic transaminase activities in three Black Sea fish species depending on the peculiarities of their ecology and biology have been shown. High correlation between the level of Cu, Mn and Pb was indicated, and between Sr, Fe and Mn. A close relationship between Zn content in the liver and HSI, and Zn level and activity of aminotransferase has been found. Thus, the HSI and aminotransferase activity can be used as informative biomarkers of fish status in polluted environments.*

УДК 636.597.636.598:637.412

## ВПЛИВ ХІМІЧНИХ РОЗЧИНІВ НА ГАЗО- ТА ПАРПРОНИКНІСТЬ ШКАРАЛУПИ ЯЄЦЬ КАЧОК

*Дунаєв Ю.К., Бреславець В.О.*

*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків*

**Дунаєва О.В.**

*Харківський національний педагогічний університет ім. Г.С. Сковороди, м Харків*

У процесі штучної інкубації, з ростом ембріонів, шкаралупа яєць поступово тоншає, але її проникність, особливо в останні дні інкубації, не збільшується завдяки наявності неторканої за період інкубації кутикули [1, 2, 4]. У природних умовах ступінь розвитку та інтенсивність обмінних процесів ембріонів регулюються качкою. При цьому вона, повертаючи яйця, поступово стирає кутикулу і тим самим підвищує газо- та паропроникність шкаралупи. В інкубаторі це частково досягається шляхом збільшення повітрообміну. Однак, цього недостатньо, бо це не дає змоги уникнути в останній тиждень інкубації загибелі частини зародків від внутрішнього яйцевого перегріву та асфіксії [3]. Для того щоб зняти кутикулу в процесі штучної інкубації, потрібно обробити її відповідними розчинами в період переходу ембріона на живлення з жовткового мішка.

Мета роботи полягає у вивченні впливу хімічних розчинів, нешкідливих для обладнання інкубаційної шафи, на газо- та паропроникність шкаралупи яєць качок.

**Матеріали та методи.** Для зняття кутикули в другу половину інкубації та підвищення повітропроникності шкаралупи яєць були випробувані наступні препарати: гіпохлорит натрію (0,6 %), оцтова (2,5 %) та соляна (5 %) кислоти. Від кожної породи та кросу на початку, у середині та наприкінці сезону яйцекладки качок відбирали по 10 яєць. Ураховували наступні показники: кількість пор на 1 см<sup>2</sup> поверхні шкаралупи, її газо- і паропроникність. Газопроникність шкаралупи визначали за методикою В. О. Бреславця, В. А. Захаренка і Ю. Р. Князева [3]. Для досліджень використовували шкаралупу яєць, без внутрішнього вмісту, а також шматочки шкаралупи без підшкаралупних оболонок. Паропроникність шкаралупи розраховували за формулою:

$$P = V \cdot P_n \cdot \mu \cdot \varphi / RT,$$

де V – газопроникність шкаралупи,  
 $P_n$  – тиск насиченої пари за даної температури,  
 $\mu$  – мас/ моль водяної пари ( $18 \cdot 10^{-3}$  кг/моль),  
 $\varphi$  – відносна вологість повітря,  
 R – газова стала (8,31),  
 T – температура за Кельвіном.

Визначення газо- та паропроникності шкаралупи проводили у декілька етапів: до та після обробки 5 % розчином соляної кислоти, 2,5 % – оцтової кислоти, 0,6 % – гіпохлориту натрію. Експозиція обробки складала 1, 5, 10 та 20 хвилин. Всі вимірювання проводили при висоті водяного стовпа 30 см.

Математичну обробку одержаних результатів проводили за методами варіаційної статистики.

**Результати досліджень.** Установлено, що газопроникність шкаралупи яєць залежить від ділянки яйця, породи та періоду яйцекладки качок. Тупий кінець шкаралупи яйця качок має найвищу проникність у порівнянні з середньою частиною та гострим кінцем. Дослідження міжпородних розбіжностей проникності шкаралупи показали, що найбільша величина цього показника ( $p < 0,01$ ) характерна для яєць качок української білої породи ( $2,4\text{--}3,3 \cdot 10^{-4}$  м<sup>3</sup>/м<sup>2</sup>с), а найменша – для яєць качок кросу «Благоварський» ( $0,7\text{--}1,7 \cdot 10^{-4}$  м<sup>3</sup>/м<sup>2</sup>с). Паропроникність шкаралупи змінюється аналогічно газопроникності (табл. 1.).

Обробка поверхні шкаралупи 5 %-м розчином соляної кислоти, 2,5 %-м розчином оцтової кислоти та 0,6 %-м розчином гіпохлориту натрію змінює її проникність залежно від складу, концентрації розчину та експозиції (табл. 2.).

Так, обробка 5 %-м розчином соляної кислоти з експозицією 1, 5, 10 та 20 хвилин значно підвищує газопроникність шкаралупи в усіх трьох групах та на всіх ділянках яйця. У яєць качок української білої породи після обробки соляною кислотою за експозиції від 1 до 20 хвилин газопроникність на тупому кінці яйця склала  $5,2\text{--}12,2 \cdot 10^{-4}$  м<sup>3</sup>/м<sup>2</sup>с, що вірогідно вище ( $p < 0,01$ ) у 1,1–2,7 рази порівняно з контролем ( $4,6 \cdot 10^{-4}$  м<sup>3</sup>/м<sup>2</sup>с). Тенденція до збільшення газопроникності шкаралупи після обробки змінюється так само, як і без обробки яєць, тобто від гострого кінця до тупого. Знайдені породні відмінності у яйцях качок, так газопроникність шкаралупи яєць качок української білої породи після обробки соляною кислотою в середньому вища ( $10,4 \cdot 10^{-4}$  м<sup>3</sup>/м<sup>2</sup>с), ніж у української сірої поро-