

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНО-ЕКОНОМІЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ

Біотехнологічний факультет

Спеціальність 207 «Водні біоресурси та аквакультура»

Другий (магістерський) рівень вищої освіти

Допускається до захисту:

Завідувач кафедри водних біоресурсів

та аквакультури

д. б. н., професор Роман НОВІЦЬКИЙ

„ ____ ” _____ 2023 р.

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на здобуття освітнього ступеня магістра на тему:

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ЖИВЛЕННЯ РИБ НА ЯКІСТЬ
РИБОПРОДУКЦІЇ ТА РОЗРОБКА МЕТОДІВ ДЛЯ ПОЛПШЕННЯ
ХАРЧОВИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ РИБИ

Здобувач вищої освіти

Ростислав НЕБОРАК

Керівниця дипломної роботи,

к. б. н., доцентка

_____ Алла БУЛЕЙКО

Дніпро – 2023

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ДНІПРОВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНО-ЕКОНОМІЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ

Біотехнологічний факультет

Кафедра водних біоресурсів і аквакультури

Спеціальність 207 «Водні біоресурси та аквакультура»

ЗАТВЕРДЖУЮ:

Завідувач кафедри, д. б. н.,

професор Р. О. Новіцький

“ ___ ” _____ 2023 р.

ЗАВДАННЯ НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ МАГІСТРА

Ростиславу НЕБОРАКУ

НА ТЕМУ:

«Дослідження впливу живлення риб на якість рибопродукції та розробка методів для поліпшення харчових властивостей риби»

Затверджена наказом ректора університету від “ ___ ” _____ 2023р. № _____

1. Термін здачі здобувачем завершеної роботи до “30” грудня 2023 р.

2. Вихідні дані до кваліфікаційної роботи: Диплона роботи викладена на 57 сторінках, містить 3 таблиці і 5 малюнків, складається з наступних розділів: анотація, вступ, дослідження забруднення водного середовища важкими металами та їх вплив на процеси метаболізму гідробіонтів, матеріали і методику виконання роботи, зміни в органах карпових риб на різних рівнях життя під впливом солей важких металів, охорона навколишнього середовища, охорона праці та безпека в надзвичайних ситуаціях, висновки, пропозиції і список літератури, що містить 42 джерела.

3. Зміст розрахунково-пояснювальної записки, перелік питань, що розробляються в роботі: Дослідити та охарактеризувати як впливає

живлення риб на якість рибопродукції, розробити методи поліпшення харчових властивостей риби.

4. Консультанти по роботі, із зазначенням розділів проекту

Розділ	Консультант	Підпис, дата	
		Завдання видав	Завдання прийняв
1,2,3,4, 5	Булейко А. А.	15.11.2023	16.11.2023

5. Дата видачі завдання: “ _____ ” _____ 20__ р.

Керівник(ця) _____ (підпис)

Завдання прийняв(ла) до виконання _____ (підпис)

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ п/п	Етапи дипломної роботи	Термін виконання етапів роботи	Примітка
1.	Вибір теми та формулювання мети роботи	Вересень	Виконано
2.	Визначення методів дослідження та постановка експерименту	Вересень	Виконано
3.	Пошук наукових статей	Жовтень	Виконано
4.	Збір і обробка даних	Жовтень	Виконано
5.	Підготовка середовища для риб	Жовтень	Виконано
6.	Проведення експериментів	Жовтень	Виконано
7.	Збір та систематизація даних	Листопад	Виконано
8.	Статистичний аналіз	Листопад	Виконано
9.	Написання дипломної роботи	Листопад	Виконано

Студент-дипломник

Керівниця роботи

Ростислав НЕБОРАК

Алла БУЛЕЙКО

АНОТАЦІЯ

кваліфікаційної роботи на здобуття освітнього ступеня «Магістр» студента II курсу групи МгВБА-1-22 кафедри водних біоресурсів та аквакультури денної форми навчання біотехнологічного факультету ДДАЕУ

Ростислава НЕБОРАКА

на тему: «Дослідження впливу живлення риб на якість рибопродукції та розробка методів для поліпшення харчових властивостей риби»

Мета роботи – визначення впливу живлення риб на якість рибопродукції та розробка методів для поліпшення харчових властивостей риби.

Об'єкт дослідження — однорічки та дворічки коропа.

Для дослідження даної теми було поставлено наступні задачі:

- Вивчення харчових звичок риб;
- Визначення біохімічного складу тіла риб;
- Оцінка росту та розвитку риб;
- Оцінка якості м'яса риби;
- Розробка рекомендацій щодо оптимального харчування риб.

Дипломна робота містить 57 сторінок тексту, вміщує 3 таблиці, 5 рисунків та 42 джерела літератури (20 з яких англomовні), і складається з розділів: вступ, аналіз забруднення водного середовища важкими металами і їх вплив на процеси метаболізму гідробіонтів, матеріали і методи виконання роботи, визначення змін в органах карпових риб на різних рівнях життя під впливом солей важких металів, охорона навколишнього середовища, охорона праці та безпека в надзвичайних ситуаціях, висновок, пропозиції щодо поліпшення ситуації і список використаних джерел.

ЗМІСТ

ВСТУП.....	7
РОЗДІЛ 1. ЗАБРУДНЕННЯ ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА ТЯЖКИМИ МЕТАЛАМИ ТА ЇХ ВПЛИВ НА ПРОЦЕСИ МЕТАБОЛІЗМУ ГІДРОБІОНТІВ.....	11
1.1. Забруднення водного середовища кадмієм та свинцем.....	11
1.2. Накопичення важких металів в організмі риби.....	15
1.3. Молекулярні та клітинні механізми токсичної дії важких металів.....	22
1.4. Роль білків в організмі риби.....	26
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИКА ВИКОНАННЯ РОБОТИ.....	30
2.1. Об'єкт дослідження.....	30
2.2. Постановка експерименту.....	31
2.2.1. Умови утримання риби.....	31
2.2.2. Умови інтоксикації водного середовища та проведення аналізів.....	31
2.3. Біохімічні методи дослідження.....	32
2.3.1. Визначення загального білка по Лоурі.....	32
2.3.2. Визначення білкових фракцій турбідиметричним (нефелометричним) методом.....	33
2.4. Статистична обробка даних.....	35
РОЗДІЛ 3. ЗМІНИ В ОРГАНАХ КАРПОВИХ РИБ НА РІЗНИХ РІВНЯХ ЖИТТЯ ПІД ВПЛИВОМ СОЛЕЙ ТЯЖКИХ МЕТАЛІВ.....	36
3.1. Вплив хлориду кадмію та ацетату свинцю на склад білків печінки, нирок, червоних та білих м'язів цьоголіток коропа.....	36
3.2. Вплив хлориду кадмію та ацетату свинцю на склад білків печінки, нирок, червоних та білих м'язів дволіток коропа.....	40
РОЗДІЛ 4. ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА.....	43
РОЗДІЛ 5. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ.....	46
ВИСНОВКИ	50
ПРОПОЗИЦІЇ.....	52
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....	53

СПИСОК СКОРОЧЕНЬ

АТФ - аденозинтрифосфорна кислота

АЛТ - аланінамінотрансфераза

АСТ - аспартатамінотрансфераза

A/G - альбуміно-глобуліновий індекс

ЕБХМ - екологобіохімічний моніторинг

МДА - малоновий діальдегід

ММР - матриксні металопротеїнази

ГДК - гранично-допустима концентрація

ПОЛ - перекисне окиснення ліпідів

САНП - сумарна активність нейтральних протеаз

СОД - супероксиддисмутаза

ТХУ - трихлороцтова кислота

ЦНС – центральна нервова система

ВСТУП

Актуальність теми. Широке використання хімічних речовин в промисловості, енергетиці, транспорті, сільському господарстві, розвиток недосконалості очисних споруд та інші причини призводять до поступового забруднення водного середовища і порушення умов проживання риб та інших водних організмів. Водні екосистеми в більшості районів нашої країни знаходяться в дуже критичному стані.

Безконтрольне скидання у водойми токсикантів призводить до скорочення кормової бази, загибелі молоді риб, погіршення та обмеження вилуплюваності ікри, міграції та скороченню нерестовищ. У результаті все це призводить до зменшення промислових запасів і якості риби, що видобувається і розводиться [1].

Серед забруднювачів водних екосистем перше місце посідають важкі метали [11]. З них найбільш токсичними є кадмій та свинець.

При вивченні водних екосистем великий інтерес дослідників до важких металів не випадковий. По-перше, багато сполук цих металів є каталізаторами біохімічних процесів, що протікають в організмах. По-друге, ці ж сполуки у вищих концентраціях надають негативний вплив на гідробіонтів, що призводить до порушення гомеостазу на всіх рівнях - від молекулярного до організмового [29].

Перебуваючи у природних водах навіть у малих концентраціях, важкі метали надають на водні організми токсичну дію та призводять до ураження фізіологічних систем. При цьому поряд із можливою загибеллю організмів спостерігається зниження плодючості, що відбивається на відтворенні біологічних ресурсів. У зв'язку з цим виникає реальна загроза порушення рівноваги водних екосистем і, в першу чергу, тих, що мають рибогосподарське значення [37].

У біоценозах водних екосистем риби займають верхній трофічний рівень і, як рівні нижче, відіграють виключно важливу роль у поведінці важких

металів. Основними «воротами» попадання в організм та місцями накопичення важких металів є дихальна, травна та видільна системи; крім того відбувається накопичення їх у шкірних покривах, м'язах, скелеті та селезінці [27].

Важкі метали акумулюючись у тканинах і включаючись у харчові ланцюги гідробіонтів, істотно впливають на фізіолого-біохімічні показники риб, мають канцерогенні, гонадо- та ембріотоксичні властивості [26].

Механізм дії важких металів заснований на їх здатності утворювати в живих тканинах міцні зв'язки з лігандами, що містять сірку, джерелом яких можуть бути білки і низькомолекулярні тіоли [23].

Тяжкі метали знижують активність металоферментів, порушуючи при цьому багато метаболічних процесів, змінюють співвідношення формених елементів крові, проникність мембран, інгібують окисне фосфорилування, синтез нуклеїнових кислот та білків [30].

У зв'язку з цим для розкриття механізмів видимих деградаційних змін в організмах та популяціях риб виникає потреба в ранній, швидкій та найбільш точній інформації про забруднення водного середовища важкими металами та біологічну відповідь організмів на неї. Найбільш важливі при цьому біохімічні дослідження впливу важких металів на гідробіонтів, особливо на промислові види риб. Перевагою використання біохімічних маркерів є майже миттєва їхня реакція на погіршення стану морських акваторій, а також можливість комплексної оцінки забруднення [32].

Біохімічні методи дозволяють глибше зрозуміти механізми адаптації на молекулярному рівні у відповідь на швидкий вплив стресових факторів, порушень у ланках обмінних процесів задовго до появи морфологічних, фізіологічних та інших відхилень від норми [32, 39].

У літературі накопичилося багато відомостей про виборчу акумуляцію важких металів у різних органах риб [2, 6, 36]. Однак їхній вплив на обмін речовин у внутрішніх органах слабо вивчений. Знання особливостей впливу токсикантів на риб представляє інтерес для оцінки небезпеки тих чи інших

забруднювачів водного середовища для людини [38].

У зв'язку з цим, однією з актуальних проблем останніх років є пошук методів оцінки впливу різних токсичних речовин на внутрішні водойми та пошук маркерів стану гідробіонтів, що їх заселяють [8].

Найбільш швидкими та ефективними тестами, які дозволяють провести ранню діагностику змін у живих організмах під впливом токсикантів, можуть служити процеси тканинного обміну речовин [4]. Система протеолітичних ферментів є одним з основних інструментів у механізмах клітинного захисту при впливі токсичних факторів середовища [18]. Протеолітичні ферменти діють на першому, ключовому етапі мобілізації білкових резервів клітини, і тому їх роль у механізмах біохімічних адаптацій неможливо переоцінити. Дуже чутливими індикаторами на зміну екологічної обстановки є ферменти лізосом [3]. Система лізосомальних ферментів на 90% представлена катепсинами, що має значення для адаптації білкового складу клітин до умов, що змінюються в навколишньому середовищі [3, 4].

Реакція білкового обміну риб на токсичну дію недостатньо вивчена. Тому дослідження характеру зміни показників білкового обміну при впливі важких металів є дуже актуальними для прогнозування наслідків забруднення важкими металами водних екосистем, а також для ранньої діагностики та проведення ефективних природоохоронних заходів у рибогосподарських водоймах.

Мета і завдання дослідження. Мета досліджень – визначити як впливають важкі метали на фізіологічний стан корошових риб різних етапів онтогенезу.

В зв'язку з метою поставлено наступні завдання:

1. визначити динаміку активності катепсину Д у печінці, кишечнику, скелетних м'язах та головному мозку цьогорічного та дворічного коропа під впливом хлориду кадмію та ацетату свинцю.

2. встановити активність сумарних нейтральних протеаз у печінці, кишечнику, скелетних м'язах та головному мозку цьогорічного та дворічного

коропа під впливом хлориду кадмію та ацетату свинцю.

3. дослідити вплив хлориду кадмію та ацетату свинцю на зміну вмісту білка в тканинах цьогорічного та дворічного коропа.

4. описати фракційний склад білків тканин цьогорічного та дворічного коропа при хронічній інтоксикації іонами кадмію та свинцю.

Об'єкт і предмет. Об'єктом дослідження є вивчення та порівняння впливу хлориду кадмію та ацетату свинцю на зміну вмісту білка в тканинах цьогорічного та дворічного коропа.

Предмет дослідження - печінка, кишечник, скелетні м'язи та головний мозок цьогорічного та дворічного коропа під впливом хлориду кадмію та ацетату свинцю.

РОЗДІЛ. 1 ЗАБРУДНЕННЯ ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА ВАЖКИМИ МЕТАЛАМИ ТА ЇХ ВПЛИВ НА ПРОЦЕСИ МЕТАБОЛІЗМУ ГІДРОБІОНТІВ

1.1 Забруднення водного середовища кадмієм та свинцем

У зв'язку з проблемою забруднення навколишнього природного середовища продуктами техногенезу, об'єктом уваги екологічного моніторингу стали важкі метали, що потрапляють у водоймища зі стоками та змивами з територій промислових підприємств, сільгоспугідь, міст та дрібних населених пунктів. Тяжкі метали не розкладаються в природних водах, а лише змінюють форми свого існування, перерозподіляючись між біотичними та абіотичними ланками [1].

У роботах, присвячених проблемам забруднення навколишнього природного середовища та екологічного моніторингу, нині до важких металів належать понад 40 елементів періодичної системи Д.І. Менделєєва з атомною масою понад 50 атомних одиниць. До найнебезпечніших відносяться: кадмій, цинк, ртуть, свинець, хром, марганець, нікель, молібден, кобальт, мідь, олово, титан та ін. [16].

Усі джерела надходження важких металів у довкілля поділяються на дві групи - природного та техногенного характеру. До джерел природного характеру належать - ерозійні процеси, вулканічна діяльність, землетрус, вивітрювання гірських порід та мінералів, катастрофічні повені, пожежі. Збільшення концентрацій металів у поверхневих водах також може відбуватися в результаті кислотних дощів, що призводять до розчинення мінералів та порід, що омиваються водами. Всі ці джерела забруднення викликають у біосфері (повітря, воді, ґрунтах, живих організмах) збільшення вмісту металів - забруднювачів у порівнянні з природним, так званим фоном рівнем [28].

До джерел техногенного характеру надходження важких металів належать видобуток і переробка корисних копалин, спалювання палива,

діяльність сільського господарства, рух транспорту [35].

Частина техногенних викидів, що у довкілля надходить у вигляді аерозолі, переноситься на великі відстані і викликає глобальне забруднення. Інша частина надходить у безстічні водоймища, де важкі метали накопичуються і стають джерелом вторинного забруднення в ході фізико-хімічних процесів, що йдуть безпосередньо в середовищі [40].

Потрапивши у водойму метали розподіляються між компонентами водної екосистеми. Різні поверхневі води по-різному реагують на іони металів, надходження яких суттєво не порушує природного характеру функціонування всієї екосистеми, що вивчається. При цьому самі метали – токсиканти розподіляються на такі складові: 1) метали у розчиненій формі; 2) метали сорбовані та акумульовані фітопланктоном, тобто рослинними мікроорганізмами; 3) метали, що утримуються донними відкладеннями в результаті седиментації зважених органічних і мінеральних частинок з водного середовища; 4) метали, адсорбовані на поверхні донних відкладень безпосередньо з водного середовища в розчинній формі; 5) метали, що знаходяться в адсорбуючій формі на частках суспензії [37].

Багато металів утворюють досить міцні комплекси з органічними речовинами; ці комплекси є однією з найважливіших форм міграції елементів у природних водах [39].

Токсичність металу залежить не тільки від його природи та концентрації, а й від багатьох інших факторів: кислотності, температури, вмісту у воді кисню, жорсткості води, тривалості дії, синергізму та антагонізму іонів. Наприклад, підвищення концентрації заліза та марганцю у водному середовищі зазвичай відбувається при високих показниках кислотності, внаслідок забруднення промисловими викидами [1]; а для накопичення свинцю в організмі коропа велике значення має температурний фактор [14].

Кадмій. Важкі метали мають високий індекс акумуляції і навіть у малих концентраціях впливають на метаболізм гідробіонтів, що негативно позначається на рибних ресурсах. До найбільш токсичних важких металів для

риб відносять кадмій, вміст якого у природних водах варіює від 0,1 до 10 мг/л, а антропогенне навантаження збільшує його концентрацію до 50 мг/л. Кадмій здатний викликати незворотні функціональні порушення, деформації, які можуть іноді спричинити смерть гідробіонтів. З хімічних властивостей кадмію небезпечними є порівняно високий тиск парів, який зумовлює легке його випаровування, наприклад, при плавленні або при згорянні вугілля, і висока розчинність у воді, особливо при невисоких значеннях рН [7].

Основна частина кадмію (90-98%), що надходить у водні екосистеми, має антропогенне походження. Це або локальні викиди, пов'язані з промисловими комплексами, що виробляють або використовують кадмій (гірничодобувні та металургійні заводи, гальванічні цехи та ін.), або дифузійно-розсіяні джерела різного ступеня потужності, починаючи від теплових електростанцій і комунальних стоків і закінчуючи мінеральними добривами і табачним димом. З'єднання кадмію у водоймах, не піддаються деструкції і не виводяться природним шляхом з водного середовища. Вони накопичуються у воді та донних відкладеннях, що, зрештою, веде до зниження біопродуктивності водних екосистем та потенційної небезпеки для людини [5].

У рибогосподарських водоймах ГДК за кадмієм становить 0,005 мг/дм³ [7].

У тканинах гідробіонтів накопичення кадмію здійснюється з великою швидкістю. Однак, навіть значне накопичення металу в тканинах риб не призводить до загибелі. Причиною цього можуть бути процеси зв'язування катіонів кадмію амінокислотами, пептидами та білками [3].

За своїми хімічними властивостями кадмій подібний до цинку і може заміщати його в активних центрах металовмісних ферментів, приводячи тим самим до різкого порушення функціонування ферментативних процесів [10]. Результати багатьох досліджень показали, що вже через 30 днів перебування в токсичному середовищі у риб встановлюється рівновага між вмістом кадмію у водному середовищі та тканинах [9].

Переважаючими формами міграції кадмію є розчинені сполуки, що

зумовлено його зв'язуванням у комплекси з природними органічними лігандами, особливо у водоймах з високою біопродуктивністю. Розподіл кадмію серед зважених та розчинених форм залежить від інтенсивності процесів комплексоутворення та адсорбції, які у свою чергу, визначаються каламутністю води та компонентним складом зважених частинок та розчинених органічних речовин. У прісноводних річках і водоймах вміст кадмію коливається не більше 20-400 нг/л [25]. А у водоймах, схильних до прямого антропогенного впливу, вона може досягати кілька міліграмів в 1 літрі [27].

Атмосферні опади у промислових та густонаселених районах характеризуються підвищеним вмістом кадмію. Концентрація кадмію у яких становить 0,2-0,8 мкг/л [42]. Згідно з діючими нині нормативними документами ГДК Cd (II) у водоймах культурно-побутового призначення не повинна перевищувати 10, а в рибогосподарських - 5 мкг/л [19].

Кадмій накопичується і в тканинах внутрішніх органів риб: у печінці, зябрах, нирках, шлунково-кишковому тракті та м'язах. Поріг гострої токсичності кадмію варіює в межах від 0,09 до 105 мкг/л для прісноводних риб [20].

Свинець. Свинець також відноситься до найбільш токсичних важких металів. За порівняно короткий історичний період вміст цієї небезпечної хімічної речовини у навколишньому середовищі збільшився в десятки та сотні разів [38]. Він широко застосовується у виробництві електричних кабелів, свинцевих акумуляторів, емалей, замазок, сірників, піротехнічних виробів, пластмас, кришталю тощо [17].

Обсяг сучасного виробництва свинцю становить понад 2,5 млн.т. на рік. До природних водойм в результаті виробничої діяльності щорічно надходить 500-600 тис.т. свинцю, а через атмосферу на поверхню Землі осідає близько 400 тис.т. Основна частина свинцю (250 тис.т.) у повітря викидається з вихлопними газами автотранспорту, менша частина (30 тис.т.) - при спалюванні кам'яного вугілля [42].

У водних системах свинець в основному пов'язаний із зваженими частинками або знаходиться у вигляді розчинних комплексів з гуміновими кислотами [40].

Свинець присутній як нормальний компонент органів і тканин. В організмі риб цей метал акумулюється незначно, тому для людини в цій ланці трофічного ланцюга вона менш небезпечна [38]. За даними П.А. Попова (2002) середній вміст свинцю у м'язах риб становить 0,012 – 0,06 мг на 100 г свіжого м'яса. Зазначено, що зі зростанням риб його вміст збільшується. Цей мікроелемент легко проникає в організм і концентрується в нирках та печінці [22].

У незабруднених поверхневих водах суші вміст свинцю зазвичай не перевищує 3 мкг/л. У регіонах з промисловими викидами накопичення у тканинах риб свинцю протікає швидко та ефективно. При рівні забрудненості 0,1-0,5 мкг/л настає гостра і хронічна дія свинцю [2].

Проблема накопичення важких металів у біоті водою вимагає більш детального вивчення можливих механізмів їх впливів. Ступінь небезпеки інтоксикації важкими металами залежить від ефективності захисних та відновлювальних механізмів організму. Про них можна судити щодо змінності клітинного метаболізму. Своєчасне виявлення пошкоджень, що відбуваються під впливом важких металів, розробка ефективних заходів захисту організму від її впливу особливо актуальна в даний час, коли екологічна ситуація в різних регіонах продовжує погіршуватися, а кількість важких металів та їх похідних у навколишньому середовищі зростає.

Слід відмітити, що у літературі зустрічається мало досліджень із накопиченням важких металів у тканинах риб та водної екосистемі загалом, не кажучи вже про вивченість механізмів клітинної відповіді водних організмів на забруднення середовища проживання.

1.2 Накопичення важких металів в організмі риб

Небезпека важких металів полягає в тому, що вони мають здатність

накопичуватися в живих організмах, втручатися в метаболічні процеси, утворюючи при цьому токсичні металовмісні органічні сполуки [22].

Для екологічної оцінки рівня кумуляції важких металів у гідробіонтах, а також ступеня їх впливу на водних тварин важливо знати закономірності їх накопичення та включення до біологічного кругообігу [3].

Риба - це основний мешканець водойм, продукт, який використовується людиною, і є завершальною ланкою трофічних ланцюгів у своєму середовищі а саме тому й відрізняється найбільшим накопиченням металів у своєму організмі.

За здатністю до акумуляції важкі метали в органах риб розташовуються в наступному порядку: печінка - селезінка - нирки - кишечник - мозок - гонади - серце - м'язи, які збігаються з інтенсивністю метаболізму, що протікає в них [11].

В результаті досліджень показано, що накопичення металів у тканинах самців та самок калкана великого (*Scophthalmus maximus*) відбувалося неоднаково. Найбільша їх кількість відмічена у гонадах. Концентрації Ci і Zn були вищими в гонадах самок, а Pb , Cd і Cr - самців. У печінці самок акумулювалися Pb і Cd , в м'язах самців - вище за концентрацію Cr і Zn [28].

Окунів, що мешкають в озері, забрудненому важкими металами, піддавали в експерименті впливу підвищених концентрацій Cd і Ci . В результаті у риб було зафіксовано підвищений рівень цих металів у печінці та зниження коефіцієнта вгодованості, а у покривних тканинах було виявлено високу активність нуклеозидтрифосфату, що вказує на високий темп обороту протеїнів і біоенергетичну вартість забруднення металами [25].

У вмісті важких металів у цілого ряду риб (салака, корюшка, кілька, сиртина, сиг, річкова камбала, язь, тріска, окунь, щука, річкова мінога) встановлені також сезонні та видові відмінності. Сезонні зміни концентрацій металів у рибі мають місце як в організмі в цілому, так і в окремих органах, в яких вони навіть більш виражені [27]. Крім того, потреба риб у тому чи іншому хімічному елементі може суттєво змінюватися на різних стадіях розвитку

організму, залежно від його фізіологічного стану та наявності інших елементів [24].

Згідно з літературними даними, вміст свинцю в рибах змінюється залежно від пори року. Найменше свинцю виявлено у сопача (*Percarina demidoffii*) (від 2,5 навесні до 8,7 мкг/кг) у зимовий період. Високі значення свинцю зафіксовані для краснопірки (*Scardinius erythrophthalmus*): від 16,3 мкг/кг навесні до 95,0 мкг/кг у період [31, 34].

Встановлено локальну дію свинцю на зябровий апарат, яка виражалася збільшенням дихального ритму з відсутністю підвищення споживання кисню [33]. При тривалому знаходженні в розчинах зі свинцем у риб цей елемент виявляється не тільки в зябрах, але і в печінці, кишечнику та м'язах [14]. Так, при отруєнні токсичними розчинами він виявляється у м'язах у кількості від 0,04 до 5,0 мг/г м'язів. При хронічному отруєнні солі свинцю руйнують еритроцити [2].

У високогірному озері Північна Тирель, Австрія, досліджували вміст кадмію та свинцю в печінці, нирках та вмісті шлунка арктичного гольця. Рівень рН в озері становить 4,8-6,4. Показано, що пік концентрації кадмію та свинцю у воді відрізняється у міру зменшення рН у період танення снігу. Найменші концентрації цих металів у печінці та нирках гольця відзначається наприкінці зими; протягом літа вони підвищуються. У складі їжі гольця вміст цих металів узимку вище ніж літом. Встановлено, що концентрація металу в тілі риб не корелює із сезонними варіаціями у концентрації цих металів у воді озера чи кормових організмах гольця. Підвищення температури води посилює акумуляцію металів у тілі гольця. У печінці та нирках гольця концентрація кадмію та свинцю позитивно корелює з віком риб [26].

В результаті досліджень у 2003 році у каспійських бичкових були виявлені випадки перевищення допустимо-залишкової концентрації по свинцю на 40-60%, по кадмію – на 40-90%, по цинку – на 4,5-14,5% у порівнянні з 2002 роком. У цей період відзначено збільшення свинцю у тканинах риб. У 60% проб кількість свинцю у внутрішніх органах вобли

змінювався від 1,0 до 20,9 мг/кг при середньому показнику 6,0 мг/кг, така ж картина спостерігалася і по кадмію [3]. У тканинах анчоусової кільки, виловленої в промислових районах Південного Каспію в зимовий період, було відзначено перевищення допустимо-залишкової концентрації по свинцю на 2-90%. В осінній період було зареєстровано підвищення рівня свинцю і особливо кадмію в тканинах анчоусовидної кільки та осетрових. Перевищення допустимо-залишкової концентрації свинцю в м'язовій тканині осетрових на 20-40% було зареєстровано в 25% проб.

Спостереження, які проводяться за ступенем аккумуляції токсикантів у тканинах та органах каспійського тюленя, як представника вищої ланки трофічного ланцюга Каспійського басейну, становить особливий інтерес. Каспійський тюлень приймає на себе максимальне антропогенне навантаження. Так, у зразках печінки, відібраних у дорослих особин влітку, було зафіксовано високі концентрації свинцю та кадмію. Таким чином, проведені дослідження виявили підвищення рівня вмісту свинцю, кадмію, марганцю та нікелю в гідробіонтах. При цьому були зафіксовані випадки перевищення допустимо-залишкової концентрації по цинку, свинцю, кадмію [35].

Дослідження розподілу металів у тканинах риб показало, що кадмій, залізо та ртуть у найбільших кількостях накопичуються у печінці. Цинк максимально накопичується в покривних тканинах у оселедця, наваги та мінтаю. Санітарно-гігієнічна оцінка 4-х видів риб показала, що в жодному разі концентрації токсичних металів у м'язових тканинах риб не перевищували ГДК. Концентрація кадмію в печінці оселедця та мінтаю перевищували нормовані величини в 2-4 рази [9].

Крамер і Кембел відзначали, що кадмій легко накопичується у різних органах риб. Після перенесення риб у чисту воду найбільш швидко його концентрація знижується в зябрах і кишечнику, тоді як у печінці та нирках зниження па 50% настає тільки відповідно на 75-ту та 52-гу добу [23]. У концентрації 0,01 і 0,1 мг/л кадмій підвищує частоту зустрічання мікроядер у

крові коропа [18]. Він викликає патологічні ушкодження гемопоетичної тканини та нефронів нирок, внаслідок чого знижуються їх осмотичні та іонорегулюючі функції, розвиваються запальні явища [30]. Печінка, як видно, бере участь у накопиченні та елімінації цього металу менше ніж інші органи [2].

Для дослідження механізму накопичення кадмію та ступеню його впливу на структуру тканин однорічок коропа піддавали впливу різних концентрацій кадмію (0,1, 1,0, 1,25, 2,25, 6,25 мкг/л) протягом 120 днів. Максимальні концентрації кадмію виявлені у нирках (від 3 до 41 мкг/г) та печінці (від 0,08 до 2,70 мкг/г). Патологічна зміна гістологічної будови нирок виражалась у порушенні гемодинаміки органу та різних дистрофічних процесах. У печінці відзначено білкову та жирову дистрофію, а також виявлено ділянки некрозу та некробіозу. Такі порушення в органах і тканинах риб свідчать про глибокі та незворотні патологічні процеси, що відбуваються при хронічній інтоксикації кадмієм [3].

Кадмій значно впливає на захисні системи організму риб. Він викликає посилення індукції С-реактивного білка та металу [14]. Змінюється і стан лейкоцитів у периферичній крові. За ступенем впливу на цей показник у коропа, кадмій, у ряді інших важких металів стоїть першим: кадмій-свинець-мідь-ртуть, а найчутливішим типом клітин є нейтрофіли [4, 18].

Точний механізм токсичної дії кадмію невідомий, хоча він, безумовно, складний та багатоступінчастий. Розчинні сполуки кадмію впливають насамперед па дихальні шляхи та шлунково-кишковий тракт, а після всмоктування в кров уражують центральну нервову систему. Потрапивши в організм, кадмій кров'ю переноситься до різних органів, де він зв'язується глутатіоном та гемоглобіном еритроцитів [4].

За літературними даними кадмій вибірково накопичується у печінці та м'язах [29], впливає на деякі ферменти і гормони і, можливо, необхідний вуглеводному обміну [10].

Кадмій викликає нефротоксикоз та порушує транспортну функцію

епітеліальних клітин [3].

При вмісті риб у воді з концентрацією кадмію 1,5 мг/кг виявлено гістопатологічні зміни в зябрах, специфічні для дії кадмію, такі як злиття вторинних зябрових пелюсток, гіперплазія хлоридних клітин та субепітеліальна запальна інфільтрація [7]. Дія кадмію на зябра проявляється також у зниженні активності окислювальних ферментів, що показано на прикладі срібного карася [26]. Кадмій також викликає зміну в структурі луски риб, що пов'язано зі зміною концентрації кальцію в плазмі крові і дає можливість використання луски як біомаркера забруднення [30].

Наприклад, утримування риб (гуппі, карась, короп та ін.) протягом доби у воді з кадмієм при концентрації 0,001-0,3 мг/л призводило до їхньої загибелі [41]. Хронічна інтоксикація кадмієм цьогорічок коропа призводила до пригнічення клітинних факторів імунітету крові коропа у вигляді лейкопенії. Після перенесення раніше отруєної риби в чисту воду відбувається практично відновлення початкових рівнів всіх розглянутих показників після 30 - денного отруєння кадмієм у концентрації 0,75 мг/л [11].

Одним із симптомів отруєння важкими металами у риб, відзначеного багатьма дослідниками, є анорексія – зниження інтенсивності харчування, яка часто призводить до відмови риб від їжі. Наприклад, тиляпії (*Orcochromis aureus*) через 5 днів утримання у воді з концентрацією хлористого кадмію 0,5 та 10 мг/л практично повністю припиняли харчуватися [27].

В результаті досліджень встановлено, що кадмій істотно впливає на характер і швидкість формування імунної відповіді у риб. При сублетальній концентрації кадмій виявляє імуносупресивну дію на антитілоутворення у канального соміка (*Ictalus punctatus*), що робить рибу більш вразливою до різних хвороб, а імунну відповідь - одним з чутливих біотестів хімічного забруднення водою [6].

Зазначено також, що кадмій впливає на різні ферментативні процеси. У малих концентраціях збільшуючи активність каталази печінки та крові, а у великих – гальмуючи їхню активність [29].

До особливо небезпечних токсичних металів також відноситься свинець, який має несприятливий екологічний вплив. Розчинені у воді сполуки свинцю передусім надходять у кишечник і зябра [40].

В результаті свинцевого отруєння у риб відзначені симптоми, які виявлялися у порушенні плавальної активності, значному прискоренні руху зябрових кришок, заковтування повітря [14].

Характерним показником свинцевої інтоксикації є розвиток феномена «чорного хвоста». При цьому спостерігається почорніння покривів тіла від хвостового плавця до анального. У райдужної форелі при концентрації металу у воді 120 ± 31 мкг/л це явище супроводжується, як правило, викривленням тіла [27]. Дефекти хребта (порушення форми та місця знаходження окремих хребців, деформації, викривлення) також характерні для свинцевої інтоксикації та здатні передаватися у спадок [10].

У процесах відкладення в живому організмі свинець подібний до кальцію. Підтвердженням цього є висока концентрація свинцю у скелеті. Наприклад, вміст металу в скелеті бичка - підкаменяра з р. Екклес-борі становить 8-18%, у плавцях - 4-23%, в зябрових покривах - 0-16% [26].

При концентраціях свинцю близьких до летальних, останній здатний пошкоджувати відтворювальну систему риб і надавати мутагенну дію на ікру та предличинки у чорноморського калкану (*Psetta macotiaes*) [36].

Дослідниками зазначено, що токсична дія свинцю в умовах хронічного експерименту проявляється у зниженні виживання та приросту маси тіла, розвитку свинцевої анемії, пошкодженні печінкової тканини, активації перекисного окиснення ліпідів, виснаженні системи антиоксидантного захисту [32];

Свинець, як і багато інших важких металів, блокує діяльність деяких ферментів, утворюючи незворотні комплекси «ензим-свинець», що призводять до блокади шкірних каналів та порушення механізму активного транспорту іонів. Внаслідок цього розвивається анемія, уражається кровотворна система, нирки [17] та мозок [37].

1.3 Молекулярні та клітинні механізми токсичної дії важких металів

Серед забруднювачів біосфери важкі метали належать до найважливіших, що пов'язано значною мірою з їх біологічною активністю. Для нормальної життєдіяльності організмів потрібна наявність важких металів у оптимальних співвідношеннях. При порушенні цих співвідношень у бік збільшення важких металів у середовищі чи організмі, вони починають діяти як токсиканти.

Провідне місце за масштабами забруднення належить водним екосистемам. В останні десятиліття це стало причиною якісних змін умов проживання гідробіонтів. Зростання масштабів забруднення важкими металами робить актуальною проблему вивчення їхньої токсичності для риб. Потрапивши в організм, в основному через воду метали-токсиканти практично не зазнають будь-яких істотних змін, включаються в біохімічний цикл, вкрай повільно його залишають [14].

Незважаючи на значний експериментальний матеріал, накопичений у попередні роки, продовжують залишатися нерозкритими окремі аспекти вивчення молекулярних і клітинних механізмів інтоксикацій важкими металами.

Як провідні механізми порушення клітинного метаболізму при експонуванні біооб'єктів ТМ виділяють ферментотоксичну, мембранотропну дію та оксидативний стрес (рис. 1.1).



Рис. 1.1 Клітинні механізми токсичної дії важких металів

Молекулярними мішенями, тобто об'єктами атаки важких металів, служать:

- 1) ферменти та білки, що містять гему;
- 2) системи перекисного та вільнорадикального окислення ліпідів та білків;
- 3) системи антипероксидного та антиоксидантного захисту;
- 4) ферменти транспорту електронів та синтезу ЛТФ;
- 5) білки клітинних мембран та іонні канали мембран.

Іони Pb, Cd, Hg, Co утворюють міцні комплекси з амінокислотами та іншими молекулами, що містять тіо-(HS-) або алкілтіоугруповання (RS-). Інший механізм токсичної дії полягає у заміні біометалів у металовмісних біокомплексах, що викликає втрату останніми біологічної активності. Наприклад, в результаті заміни іона Zn на Pb відбувається дезактивація ферментів карбоангідрази та амінолевуліпатдегідрогенази, що беруть участь у синтезі гему. Крім того, іони свинцю, кобальту та кадмію активують фермент гемокіназу, що розкладає гем. Втрата гамми призводить до розвитку анемії. Токсичний ефект важких металів пов'язаний також із порушенням синтезу цитохрому P-450, відповідального за детоксикацію ксенобіотиків.

Порушення цієї системи призводить до накопичення органічних токсикантів у тканинах та органах. Проте цитохром P-450 бере участь у метаболізмі як ксенобіотиків, так й ендогенних біологічно активних речовин: гормонів, катехоламінів, вітамінів групи Д, холестерину [30]. Тому порушення їх синтезу чи зниження активності може призвести до глибоких порушень у метаболізмі [23].

Комплекси ртуті та кадмію можуть зв'язуватися з азотистими основами та фосфатними групами нуклеїнових кислот, змінюючи, таким чином, їх структуру та фізико-хімічні властивості [14].

У випадку іонів свинцю, кадмію, ртуті, хрому та інших важких металів відзначено активацію перекисного та вільнорадикального окислення [3]. Внаслідок цього ушкоджуються деякі білки, нуклеїнові кислоти, ліпіди, а

також мембрани. Пошкоджуючий ефект пояснюється пригніченням металами ферментів, що захищають організм від накопичення в ньому H_2O_2 . Пероксид водню, у свою чергу, може давати високоактивний вільний радикал гідроксиду в реакціях окислення, що має ушкоджуючу дію [4].

Токсична дія важких металів та риб багато в чому залежить від форми їх накопичення в середовищі. Органічні сполуки токсичніші, ніж неорганічні [42].

З літературних даних випливає, що при впливі важких металів розвивається токсичний стрес, який супроводжується комплексом специфічних та неспецифічних реакцій. Речовини, що надають неспецифічну дію, викликають зміни па шкірі, зябрах, слизовій оболонці рота та травного тракту. Вони називаються первинними подразниками, оскільки викликають локальні запальні реакції, іноді виразки та некротичні явища у риб. До неспецифічних реакцій відносяться: активація процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), пригнічення ферментів антиоксидантного захисту, зміна проникності клітинних мембран. У досліджах, щодо впливу свинцю та нікелю на коропа, в його крові встановлена активація ПОЛ та збільшення вмісту дієнових кон'югатів і малонового діальдегіду (МДА) [3].

Другий тип механізмів пов'язаний з так званими специфічними подразниками, які навіть у низьких дозах можуть викликати патологічні зміни у специфічних клітинах тканин та органів із наступними змінами їх функціонування. Ступінь шкідливості цих речовин залежить від ефективності захисних та відновлювальних механізмів тканини. Незворотньо пошкоджені клітини здатні перетворитися на фіброзну тканину, яка серйозно впливає на функції органів. Велике значення має захисна функція лізосом і ферментів, що містять в них, в першу чергу, протеїназ. Гідролази можуть брати участь в інактивації, перетворенні та екскреції хімічних сполук при руйнуванні речовини [10].

Іони свинцю посилюють перекисні процеси в крові, печінці та зябрах коропа [20], що супроводжується зменшенням активності антиоксидантних

ферментів [18].

Зниження активності каталази та супероксиддисмутази виявлено у риб під впливом кадмію та солей марганцю [15]. Відомо також, що свинець знижує масу головного мозку і мозочка, активність глутатіону, СОД [35] та каталази в обох органах [30].

Кадмій у концентрації 5,6 мг/л помітно знижує як активність антиоксидантних ферментів (СОД, каталаза), так і трансаміназ (АЛТ, АСТ) в печінці риб. Селен у концентрації 0,01 мг/л може значно послабити дію кадмію 5,6 мг/л і таким чином захистити клітини печінки за допомогою підвищення активності СОД та каталази від токсичної дії кадмію [15].

Окунів, що мешкають в озері, забрудненому металами, піддали в експерименті дії підвищених концентрацій кадмію і міді. У риб була зафіксована низька здатність до аеробного метаболізму, що визначається за активністю цитратсинтази і β -гідроксилацилкоензим-*a*-дегідрогенази - 2х мітохондріальних ферментів, що беруть участь в аеробному виробництві аденозинтрифосфата і, по критичній швидкості плавання.

Встановлено, що важкі метали мають лізосомотропні властивості, провокують вихід гідролаз внаслідок підвищення проникності мембран. Чутливість лізосом до дії важких металів змінюється залежно від видової приналежності риб, її фізіологічного стану, стадії життєдіяльності, сезону року, ензиматичної гетерогенності лізосом із різних тканин [24].

Досліджували також зміну біохімічних показників у зябрах, печінці та гонадах під впливом стоків мідно-нікелевого виробництва у різних видів риб (окунь, щука, сиг). Аналіз отриманих даних показує, що найбільші зміни досліджених біохімічних показників відбуваються у зябрах та гонадах окуня. При порівнянні числа та амплітуди мінливих біохімічних показників у різних видів при адаптації до життя в забрудненому водоймищі можна вказати на наступні моменти. У гонадах самок окунів відбувається збільшення β -глюкозидази, лужної фосфатази, альдолази та пригнічення кислої фосфатази. В органах щуки кількість зафіксованих змін біохімічних показників значно

більша, ніж у окуня. У печінці самок пригнічені нуклеази та знижений вміст білка, підвищена активність β -глюкозидази та лужної фосфатази; у гонадах - зниження активності багатьох ферментів; у м'язах – більш високий рівень β -глюкозидази і кислій фосфатази та знижений рівень лужної фосфатази. Такий самий рівень адаптативних змін виявлено й у тканинах самців щуки [26].

Ртуть викликає помітні зміни біохімічних показників крові: знижує рівень холестерину, ліпідів, кислій та лужної фосфатази, концентрації гемоглобіну, викликає анемію [29] і коливання вмісту загального білка та альбумінів [11].

Відомо, що марганець сприяє роз'єднанню окисного фосфорилування в мітохондріях печінки, що викликає збільшення кількості лейкоцитів та периферичної крові [2].

Експозиція коропів у летальних та сублетальних концентраціях нікелю та свинцю призводила до зміни вмісту в крові білкових компонентів та співвідношення різних форм гемоглобіну [10] та активації ПОЛ [22].

Досліджено вплив важких металів на активність ферментів внутрішньоклітинного протеолізу (катепсини Д і В) та вміст білка у сигів із водойм регіону мідно-нікелевого виробництва. Показано, що на тлі зниження вмісту білка в ряді тканин підвищена активність лізосомальних протеоліз (катепсинів Д і В), що забезпечують протікання обмінних процесів тканинних білків, у тому числі гідроліз дефектних макромолекул, в результаті дії забруднювачів, що розцінюється як прояв участі лізосом організму на клітинному рівні [4].

Таким чином, з літератури випливає, що риби, на присутність у воді забруднюючих речовин, як і вищі хребетні, реагують зниженням вмісту антиоксидантів, що призводять до порушення структури та проникності клітинних мембран, зростання активності лізосомальних ферментів, виходу гідролаз, перекисного гемолізу еритроцитів та порушення функції дихання.

1.4. Роль білків в організмі риб

Білки - це високомолекулярні азотовмісні органічні сполуки, до складу яких входить 20 амінокислот. Білки є основною складовою протоплазми і

найголовнішим життєвим субстратом: всі життєві процеси відбуваються або самими білками, або за безпосередньої участі білка. [7]

Специфічні каталізатори білкової природи - ферменти - прискорюють хімічні реакції у організмі. Різні сполуки білкової природи здійснюють транспортну функцію, забезпечуючи організм киснем та поживними речовинами. Розпад 1 г білка забезпечує організм енергією 17,1 кДж. Білок становить значну частину живого організму (до 48% сухої маси), входячи до складу всіх органів та тканин. Жодна речовина з усіх речовин біологічного походження не має такого великого значення і не має настільки багатогранних функцій у житті організму, як білки. [23]

Зміст білків у рибі дуже змінюється залежно від сімейства, роду та виду, віку, статі, часу улову, і навіть кормності водойми та умов довкілля [9].

Білки риб знаходяться в основному в колоїдному стані (у вигляді гелів і золів), що зумовлює нестійкість і мінливість властивостей білкових речовин при зміні умов середовища. Під впливом різних фізичних (нагрівання, високий тиск, ультразвук, ультрафіолетові промені тощо) і хімічних (органічні і неорганічні речовини) чинників змінюються фізичні, хімічні і біологічні властивості білків [17].

Сучасні дослідження в галузі біології дозволяють нам розкрити та зрозуміти важливі функції білків в організмі риб. Білки є ключовими молекулами, які виконують різноманітні завдання, сприяючи здоров'ю та правильному функціонуванню організму риб.

Однією з основних ролей білків в організмі риб є їхній внесок у структурну організацію тканин та клітин. Колаген, наприклад, є білком, який утворює структурний каркас тканин, таких як хрящі та кістки у риб. Білки також входять до складу м'язових волокон, забезпечуючи силу та еластичність. Така структурна підтримка допомагає рибам зберігати форму тіла та виконувати необхідні рухи для виживання та розвитку [30].

Багато білків в організмі риб виступають як каталізатори хімічних реакцій. Ферменти, які є підтипом білків, забезпечують швидке та ефективно

виконання хімічних процесів у клітинах. Наприклад, риб'ячий шлунок може виділяти певні ферменти для розщеплення білків на амінокислоти, які в подальшому використовуються для синтезу нових білків у різних частинах організму [32].

Білки також виконують важливу роль у транспорті різних речовин в організмі риб. Гемоглобін, наприклад, є білком, що містить залізо, і забезпечує транспорт кисню через кровоносну систему. Це важливо для забезпечення клітин організму риб достатньою кількістю кисню для ефективної діяльності та метаболізму [41].

Встановлено, що за перенесення більшості важких металів (кадмій, мідь, свинець, цинк, нікель та інші) відповідальні специфічні мембранні білки, здатні транспортувати лише певні різновиди металів [18].

За переміщення металів між різними компонентами клітини, зокрема, між плазматичною мембраною та лізосомами відповідають транспортні білки. Процес перенесення металів, який здійснюється цими білками, є енергозалежним і пов'язаний з активністю особливої транспортної «Р» АТФази [11]. Зокрема, в ендотеліальних клітинах нирок, гепатоцитах печінки та інших клітинах виявлено транспортний білок зі специфічністю до кадмію, міді та срібла. В епітеліальних клітинах кишечника ідентифікований універсальний білок - транспортер з широкою специфічністю для заліза, цинку, міді, кадмію та нікелю [3].

Білки виконують роль регуляторів у різних біологічних процесах в організмі риб. Наприклад, гормони білкового походження контролюють різноманітні аспекти фізіології та розвитку, таких як регуляція росту, розвитку репродуктивних органів та інші важливі аспекти життєдіяльності [7].

Антитіла, які також є білками, грають ключову роль у системі імунітету риб. Вони розпізнають та нейтралізують інфекції, захищаючи організм від хвороб. Білки також можуть брати участь у процесах коагуляції крові, забезпечуючи заживлення поранень та запобігаючи втраті крові.

Дія токсичних речовин змінює функціональний статус організму і,

зокрема, його білковий обмін. Зниження вмісту білка у риб відмічено після гіпоксії, у штучних умовах вирощування, а також під дії добрив та пестицидів [18], важких металів, альдегідів, органічних кислот та неорганічних сполук [20], промислових стоків [40], бурових розчинів, нафти [1].

Структурна роль білків є критичною, забезпечуючи міцність та еластичність тканин риб, необхідних для здійснення різноманітних фізіологічних функцій. Зокрема, колаген визначає структуру хрящів та кісток, а білки входять до складу м'язових волокон, забезпечуючи необхідну силу та еластичність [17].

У данному дослідженні було розглянуто вплив на білки в організмі коропових риб, виявлено їхню значущість для правильного функціонування клітин та тканин. Білки, як ключові молекули, здатні виконувати різноманітні завдання, від структурної організації тканин та клітин до каталізу хімічних реакцій та транспорту різних речовин.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИКА ВИКОНАННЯ РОБОТИ

2.1. Об'єкт дослідження

Роботу виконано на базі лабораторії кафедри водних біоресурсів та аквакультури Дніпровського державного аграрно-економічного університету. Експериментальні дослідження проводились у осінній час 2023 р.

Як об'єкти дослідження використані цьоголітки та дволітки коропа (*Cyprinus carpio* L.).

Короп (*Cyprinus carpio*) є широко поширеним об'єктом ставкової культури в Україні. Початково він вважається екзотичним видом, що походить з Азії. Але був інтродукований у багатьох частинах світу і успішно натуралізувався в європейських водах. Одомашнена форма цієї риби є однією з найпоширеніших промислових риб у рибних господарствах помірного поясу [13].

Крім зовнішнього вигляду, короп відрізняється швидким зростанням, кращим використанням корму, гарною м'ясистістю (близько 8,5% жиру та 16,5% білка) [4].

Дніпровське водосховище, з якого виловлювались риби, знаходиться на річці Дніпро у Запорізькій та Дніпровській областях України. Має площу 410 км², об'єм 3,3 км³, довжину 129 км, ширину 3,2 км, середню глибину 8,2 м. Довжина берегової лінії 550 км. Береги складені з лісоподібних суглинків та пісків, є виходи гранітів. Висота берегів — до 10 м. Водобмін у водосховищі відбувається 12—14 разів на рік. Коливання рівня води до 2,9 м [21].

Водосховища Дніпровських каскадів мають відносно невеликі глибини та великі мілководні ділянки. Через повільний водобмін Дніпровське водосховище поступово замулюється.

Дніпровське водосховище поділяється на дві частини: верхню «річну», між Кам'янським та Дніпром (80 км), і нижню — «озерну», між Дніпром і Дніпрогесом (90 км). Саме з нижньої ділянки і були виловлені риби.

2.2. Постановка експерименту

2.2.1. Умови утримання риб

Цьогорічні коропа, які досягли віку 6 місяців та маси тіла від 100 до 150 г, були вирощені на нижній ділянці Дніпровського водосховища, заради досліджень були виловлені та переміщені до акваріумів об'ємом 300 літрів, де у кожному було розміщено від 15 до 20 особин.

Дволітні коропа масою тіла від 250 до 450 г також були виловлені на нижній ділянці Дніпровського водосховища та переведені до лабораторії. Після цього їх помістили в акваріуми об'ємом 300 літрів, де кожний такий акваріум містив від 5 до 10 особин для подальших наукових спостережень та досліджень

2.2.2. Умови інтоксикації водного середовища та проведення аналізів

Моделювання хронічного забруднення водного середовища важкими металами проводили у лабораторних умовах. Контролем у всіх дослідах служили риби, що витримуються в чистій воді. Для адаптації до умов риб витримували протягом 7-10 діб в акваріумах, де воду змінювали щотижня. Зміну води в дослідних та контрольних акваріумах здійснювали, не пересаджуючи риб. Слідкували за збереженням концентрації токсиканту у піддослідних акваріумах. В акваріумах створювалися умови постійного температурного (19 - 21 °C) та газового режиму. Годували риб живим трубочником.

У хронічних лабораторних дослідах було випробувано такі забруднювачі:

- 1) хлорид кадмію (CdCl_2) із вмістом у водному середовищі 0,25 мг/л (ГДК - 0,005 мг/дм³);
- 2) ацетат свинцю ($\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$) із вмістом у водному середовищі 0,5 мг/л (ГДК - 0,1 мг/дм³) (Мініна, 2003; Волошина, 2006).

На 5, 15, 30 та 40 добу знаходження риб у водному середовищі з важкими металами, відбирали 6-8 риб та піддавали їх біохімічному аналізу. Паралельно вимірювання проводили на контрольній групі риб з акваріумів без додавання токсикантів. Для проведення досліджень брали тканини з таких органів:

печінки, кишківника, нирок, головного мозку та скелетних м'язів.

2.3. Біохімічні методи дослідження

Наважку тканини 1 г промивали 0,65 % розчином NaCl, потім за допомогою гомогенізатора готували 10 % гомогенат [7].

2.3.1. Визначення загального білка по Лоурі

Метод заснований на утворенні забарвлених продуктів ароматичних амінокислот (триптофан та тирозин) з реактивом Фоліна у поєднанні з біуретовою реакцією на пептидні зв'язки. Висока чутливість методу дозволяє визначити 10-100 мкг білка в пробі [14].

Реактиви та їх приготування.

1. Карбонат натрію - 2% розчин, приготовлений на 0,1Н NaOH.
2. Сірчаноокисла мідь - 0,5% розчин, приготований на 1% розчині цитрату натрію.
3. Робочий розчин – 1 мл розчину (2) + 50 мл розчину (1). Готують безпосередньо перед вживанням.
4. Реактив Фоліна.
5. NaOH - 0,1Н.

Хід визначення. Досліджуваний розчин, що містить до 100 мкг білка, доводили дистильованою водою до 0,4 мл. Приливали 2 мл робочого розчину (3), перемішували та залишали при кімнатній температурі на 10 хв. Потім додавали 0,2 мл реактиву фоліну. Вміст пробірки ретельно перемішували та через 30 хв колориметрували при довжині хвилі 750 нм. Попередньо будували калібрувальний графік за стандартним розчином білка. За калібрувальним графіком визначали вміст білка в дослідній пробі.

Побудова калібрувального графіка на білок. Готували стандартний білковий розчин. Для цього 10 мг бичачого сироваткового альбуміну розчиняли в невеликій кількості (2-3) 0,1Н NaOH і об'єм доводили до 50 мл цим же лугом.

У 1 мл цього розчину містить 200 мг білка. Склад проб визначення білка

в стандартних розчинах наведено в таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

Схема стандартних розчинів для побудови калібрувального графіка

№	Стандартний розчин білка	Вміст білка в мг	0,1Н р-р NaOH, мл	Примітка
1.	0,05	10	0,35	-
2.	0,1	20	0,3	-
3.	0,2	40	0,2	-
4.	0,3	60	0,1	-
5.	0,4	80	-	-
контроль	-	-	0,4	-

За результатами колориметрування будували калібрувальний графік, відкладаючи на осі абсцис кількість білка в пробірці, а на осі ординат оптичну щільність.

2.3.2. Визначення білкових фракцій турбідиметричним (нефелометричним) методом

Принцип. Різні білкові фракції сироватки крові здатні осідати фосфатними розчинами певної концентрації. При цьому утворюється дуже дрібна завесь і розчин мутніє. За ступенем каламутності розчинів, яка встановлюється за допомогою фотоелектроколориметра, судять про концентрацію білків у досліджуваній пробі [30].

Реактиви: основний фосфатний розчин 33,5 г гідроксиду натрію (чистий для аналізу, хімічно чистий) розчиняють в 400 мл дистильованої води, додають 226,8 г калію фосфату однозаміщеного (KH_2PO_4 , чистий для аналізу, хімічно чистий). Після розчинення охолоджують до кімнатної температури та додають дистильовану воду до об'єму 500 мл;

Робочі фосфатні розчини. У мірні колби на 100 мл беруть 92,4 мл (№ 1),

74,9 мл (№ 2), 58,8 мл (№ 3), 48,7 мл (№ 4) основного фосфатного розчину та доводять об'єм дистильованою водою до мітки. Ретельно розмішують шляхом струшування. При зберіганні розведених розчинів для запобігання бактеріального забруднення додають по 1-ій краплі хлороформу на 100 мл розчину.

Обладнання: фотоколориметр; хімічні пробірки; піпетки на 1, 2, 5, 10 мл, бюретка; мірні колби на 100 та 500 мл.

Хід визначення. На кожну пробу сироватки крові в штатив встановлюють по 6 пробірок, позначивши їх № 0, 1, 2, 3, 4 і 5. У пробірку № 0 вносять 10 мл дистильованої води, в пробірки № 1, 2, 3 і 4 - по 5 мл відповідних робочих фосфатних розчинів (№ 1-4). У пробірку № 5 вносять 0,5 л сироватки крові, 0,75 мл дистильованої води та 3,75 мл основного фосфатного розчину, закривають пробкою та перемішують шляхом перевертання її 5-6 разів. Після цього переносять по 0,5 мл суміші пробірки № 1, 2, 3, 4 і 1 мл в пробірку № 0. Вміст пробірок ретельно, але обережно перемішують, уникаючи утворення бульбашок повітря. Через 15 хв визначають ФЕКс оптичну щільність (Е) розчинів при червоному світлофільтрі в кюветі з товщиною шару 1 см проти контролю (проба № 0). Вимірюють у зворотній послідовності — спочатку в пробірці № 4, а потім у пробірках № 3, 2 і 1.

Розрахунок ведуть за схемою:

Е пробірки № 1 - Е пробірки № 2 = Е альбумінів;

Е пробірки №2 - Е пробірки №3 = Е α -глобулінів;

Е пробірки № 3 – Е пробірки № 4 = Е β -глобулінів;

Е пробірки №4 = γ -глобулінів.

Приймаючи суму Е альбумінів та Е всіх глобулінових фракцій за 100 % (ВП пробірки № 1) обчислюють частку вмісту кожної фракції у відносних відсотках.

Відсотковий вміст γ -глобулінів визначають за формулою:

$$\frac{ВПgg \times 100}{SUM ВП} = \%, \quad (1.1)$$

де ВПgg – γ – глобуліни (ВП – пробірки № 4);

SUM ВП - сума всіх білкових фракцій (ВП пробірки № 1);

100 - коефіцієнт переведення вмісту у - глобуліну у %.

Знаючи концентрацію загального білка в одиниці обсягу, можна зробити перерахунок абсолютної величини. Помилка методу становить $\pm 4\%$ [18].

2.4. Статистична обробка даних

Отримані дані піддавали варіаційно-статистичній обробці методом малої вибірки [7].

При визначенні ступеня відмінності середніх арифметичних двох варіаційних рядів, що порівнюються, обчислювали показники суттєвості різниці температури. Потім на підставі температурної таблиці Стьюдента визначали ймовірність відмінності Р. При $P < 0,05$ відмінність оцінюється як достовірне (ймовірність відмінності більше 95%).

Кореляційний аналіз проводили за допомогою комп'ютерної програми Statistica 5.0.

Побудова діаграм здійснена за допомогою Excel.

РОЗДІЛ 3. ЗМІНИ В ОРГАНАХ КАРПОВИХ РИБ НА РІЗНИХ РІВНЯХ ЖИТТЯ ПІД ВПЛИВОМ СОЛЕЙ ТЯЖКИХ МЕТАЛІВ

3.1. Вплив хлориду кадмію та ацетату свинцю на склад білків печінки, нирок, червоних та білих м'язів цьоголіток коропа.

Враховуючи важливу роль білків у метаболізмі риб, зростанні та розвитку, а також в адаптації представлялося цікавим дослідження складу тканинних білків цьоголіток коропа при інтоксикації кадмієм та свинцем.

Дослідження показали, що дія теплового шоку та гіпоксії індукує підвищення синтезу білків. Через 12 діб експозиції в сублетальних концентраціях нафти (50, 100 мг/л) у крові коропа вміст гемоглобіну, загального білка та глюкози був вищим, ніж у контролі, але чим вища концентрація нафти у воді, тим рівень білка був нижчим [1].

Таким чином, наведені матеріали підтверджують всю складність та різноманітність реакцій білкового обміну в процесі нормальної життєдіяльності організму риб та при дії антропогенних факторів середовища.

Результати дослідження представлені у таблиці 3.1 та на рис. 3.1 і 3.2.

Зміст білків піддається змін у тканинах коропа вже на початковому етапі інтоксикації. Так, якщо у контрольних риб у печінці вміст загального білка становить $31,05 \pm 1,1$ мг/г вологої тканини, то на 5-й день перебування коропів у середовищі з іонами кадмію призводить до зниження його кількості до $17,8 \pm 1,1$ мг/г вологої тканини, що нижче контролю на 42,7%, а в середовищі з іонами свинцю вона не відрізняється від контролю. У кишечнику білок знижується з $26,05 \pm 1,7$ мг/г вологої тканини (контролі) до $10,4 \pm 0,7$ мг/г вологої тканини (5 день експерименту), тобто на 60 і 18,6% як серед з іонами кадмію, і свинцю. У червоних та білих м'язах у контролі білок становить $30,2 \pm 0,5$ та $24,7 \pm 0,6$ мг/г вологої тканини. При 5-ти денній інтоксикації іонами кадмію та свинцю вона знижується у червоних м'язах на 42,4 та 9,3%, а у білих на 34,8 та 15,4%. У мозковій тканині у контролі білок дорівнює $34,3 \pm 0,6$ мг/г вологої тканини. На даному етапі інтоксикації кількість білка в мозку цьоголіток коропа знижується в середовищі з іонами кадмію на 31,8%, а в

середовищі з іонами свинцю не відрізняється від контролю.

На 15 день експерименту у середовищі з іонами кадмію кількість білка в печінці та кишечнику все ще нижче контролю на 33,6 і 40,9%, а в середовищі з іонами свинцю мало відрізняється від контролю.

У червоних і білих м'язах коропа білок продовжує знижуватися і становить серед іонами кадмію 58,3 і 46,9%, а у середовищі з іонами свинцю білок у червоних м'язах не відрізняється від контролю, тоді як у білих вона нижча на 13,4%.

У мозковій тканині риб кількість білка теж нижче контролю у середовищі з іонами кадмію на 36,4% та у середовищі з іонами свинцю на рівні контролю.

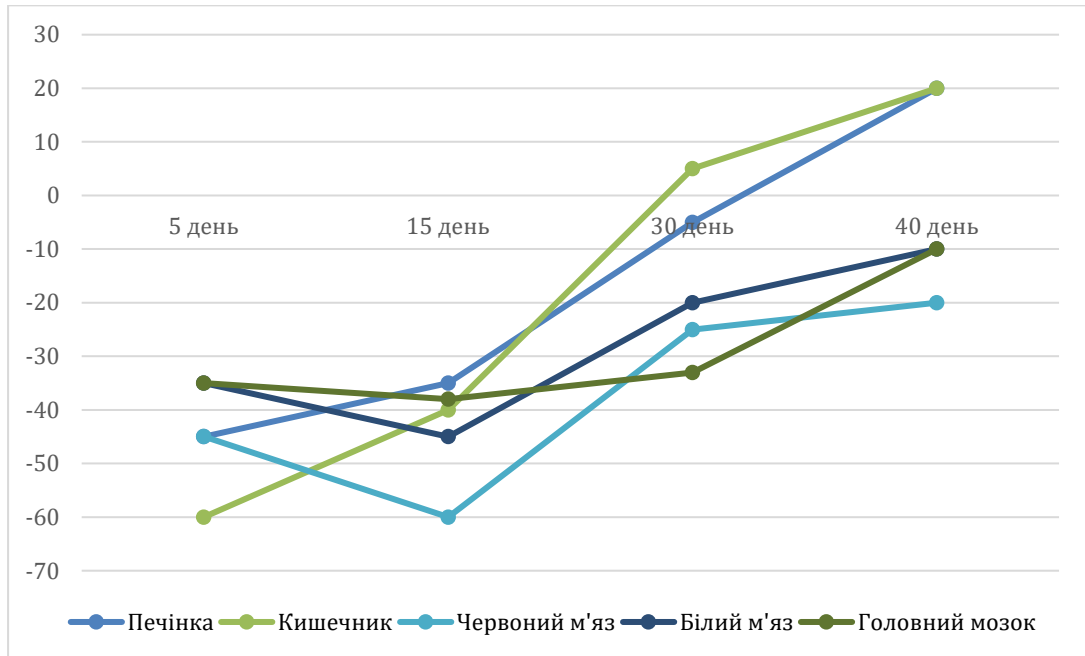


Рис. 3.1 Вміст білка в тканинах цьоголіток коропа при хронічній дії хлориду кадмію (в % до контролю).

Таблиця 3.1

Вміст загального білка в тканинах цьоголіток коропа під впливом хлориду кадмію та ацетату свинцю (мг білка/г вологої тканини) ($M \pm m$, $n=6$).

Токсиканти	Тканина	Контроль	Дні експозиції			
			5	15	30	40
Хлорид кадмію (0,25 мг/л)	Печінка	31,05±2,0	17,8±1,1 P<0,001	20,6±0,8 P<0,001	29,8±0,5	37,2±1,5 P<0,05
	Кишечник	26,05±1,7	10,4±1,6	15,4±0,8	26,9±0,6	30,4±0,5

			P<0,001	P<0,001	-	P<0,05
	Червоний м'яз	30,2±0,6	17,4±1,8 P<0,001	12,6±1,1 P<0,001	22,1±1,6 P<0,01	24,9±1,2 P<0,01
	Білий м'яз	24,7±0,6	16,1±1,5 P<0,001	13,1±1,2 P<0,001	19,6±0,6 P<0,001	21,5±0,6 P<0,01
	Головний мозок	34,3±0,6	23,4±1,6 P<0,001	21,8±1,9 P<0,001	23,4±1,8 P<0,001	30,9±0,8 P<0,01
Ацетат свинцю (0,5 мг/л)	Печінка	31,05±2,0	30,4±1,6 -	32,2±0,3 -	33,2±0,3 -	34,1±0,4 P<0,05
	Кишечник	26,05±1,7	21,2±0,4 P<0,05	24,6±0,4 -	25,7±0,2 -	27,7±0,5 -
	Червоний м'яз	30,2±0,6	27,4±0,3 P<0,01	29,6±2,1 -	31,3±0,5 -	32,6±0,4 P<0,01
	Білий м'яз	24,7±0,6	20,9±0,3 P<0,001	21,4±0,2 P<0,001	21,7±0,3 P<0,001	22,7±0,3 P<0,01
	Головний мозок	34,3±0,6	33,1±0,3 -	31,8±0,02 P<0,01	32,4±0,2 P<0,02	33,0 ±0,3 -

Примітка: P-ступінь достовірності результату щодо контролю

При перебуванні коропів у токсичному середовищі з іонами кадмію до 30 днів у печінці та кишечнику кількість загального білка не відрізняється порівняно з контролем. У червоних м'язах білок нижче за контроль на 26,8%. У ці ж терміни інтоксикації кількість загального білка в білих м'язах та мозковій тканині все ще нижча за контроль на 20,6 і 31,8% відповідно.

Під впливом іонів свинцю на 30 день експерименту в печінці, кишечнику, червоних м'язах та мозковій тканині коропа білок практично на рівні норми, а в білих м'язах він нижчий за контроль на 12%. До 40 дня експерименту кількість білка під впливом кадмію та свинцю вище контролю у печінці та кишечнику на 19,8 та 16,7%, а під впливом іонів свинцю спостерігається лише тенденція до підвищення. На даному етапі інтоксикації іонами кадмію в червоних та білих м'язах та мозковій тканині білок нижче контролю.

У ці терміни інтоксикації в середовищі з іонами свинцю в червоних м'язах білок все ще вищий за контроль, а в білих м'язах і мозковій тканині білок підвищується в порівнянні з 30 днем експерименту, але в порівнянні з контрольними значеннями нижче (рис. 3.2).

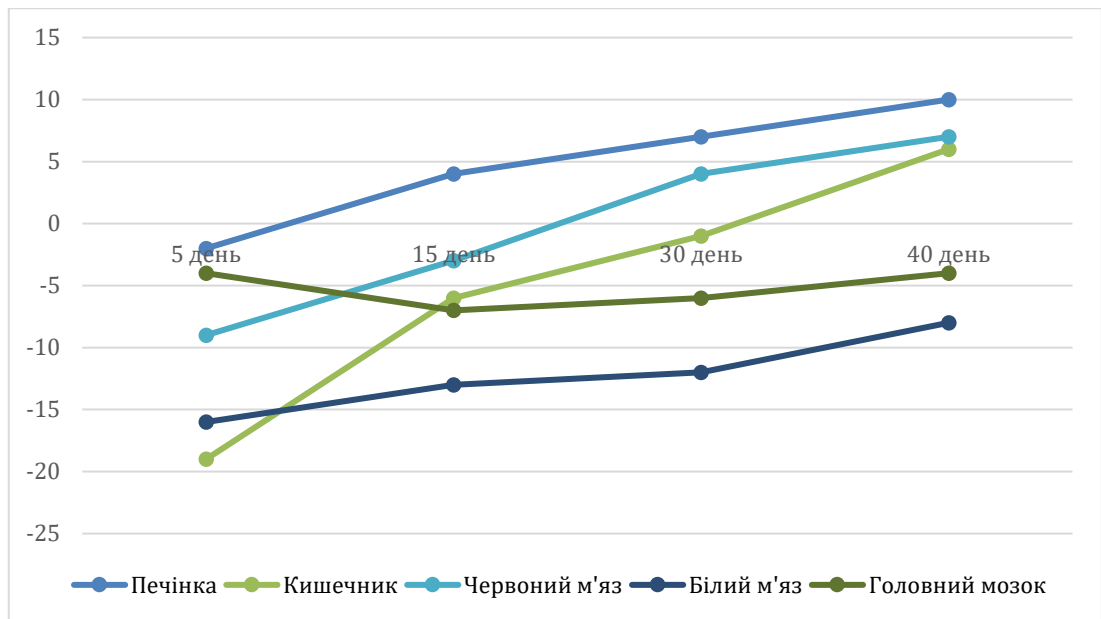


Рис. 3.2 Вміст білка в тканинах цьоголіток коропа при хронічному впливі ацетату свинцю (в % до контролю).

Таким чином, початкова стадія перебування цьоголіток коропа у водному середовищі з іонами свинцю до 5 діб характеризується різноспрямованими змінами залежно від типу тканини та тривалості експозиції. У печінці та кишечнику коропів максимальне зниження білка спостерігається на 5 день експозиції в токсичному середовищі, а в червоних, білих м'язах та в мозковій тканині білок продовжує знижуватися і на 15 день експерименту. До 30-го дня інтоксикації іонами кадмію спостерігається тенденція до підвищення вмісту білка у всіх тканинах. У печінці та кишечнику риб на 40 добу білок вищий за контрольні значення, а в інших тканинах залишається нижчим за контроль.

На відміну від іонів кадмію, іони свинцю практично не впливають на вміст білка в тканинах коропів.

Зниження вмісту білка в тканинах цьоголіток коропа при інтоксикації хлоридом кадмію та ацетатом свинцю може свідчити про інтенсифікацію використання білків для активації захисних реакцій організму. Підвищення білка в окремих випадках може бути пов'язане з посиленням синтезу різних стресових білків та металотіонеїнів – біомаркерів на присутність важких металів [4].

Оскільки з літературних даних відомо, що у риб на відміну від наземних

тварин асиміляційні процеси переважають над дисиміляційними протягом усього онтогенезу, можна зробити висновок, що вплив токсиканту на організм риб викликає зміни протягом обмінних процесів, пов'язані з розщепленням білка для забезпечення організму енергією, необхідною для захисту від дії несприятливого фактора [6].

3.2. Вплив хлориду кадмію та ацетату свинцю на склад білків печінки, нирок, червоних та білих м'язів дволіток коропа

На початковому етапі інтоксикації іонами кадмію та свинцю спостерігається тенденція до зниження загального білка у всіх тканинах двохрічок коропа.

Так, якщо у контрольних риб у печінці вміст загального білка становить $41,2 + 0,8$ мг/г вологої тканини, то на 5 день досліду у середовищі з іонами кадмію спостерігається його зниження до $36,5 + 0,7$ мг/г вологої тканини, що нижче контролю на 11,5%, а в середовищі з іонами свинцю, нижче контролю на 18,5%. У кишечнику двохрічок коропа білок також нижче контролю як у середовищі з кадмієм, і зі свинцем на 10,5 і 31,7% відповідно. Знижується білок у червоних та білих м'язах під впливом кадмію на 20 та 10%, а під впливом свинцю на 9 та 17,5% відповідно контролю. У мозковій тканині білок нижче контролю у середовищі з іонами кадмію на 30,1%, а у середовищі з свинцем на 19,2%.

Таким чином, вже на початковій стадії перебування двохрічок коропа у водному середовищі з токсикантами до 5 діб характеризується зниженням кількості загального білка у всіх досліджених тканинах.

Тенденція до зниження зберігається до 15 дня експерименту. Під впливом іонів кадмію та свинцю в печінці двохрічок коропа білок нижче контролю на 27%. У червоних і білих м'язах у середовищі з іонами кадмію білок нижче контролю на 31,3 і 13,4%, а у середовищі з свинцем на 20%. У ці терміни інтоксикації кадмієм і свинцем білок нижче контролю у мозковій тканині на 25,1 і 16,4% відповідно (рис. 3.3 і 3.4).

Пролонгування двохрічок коропа до 30 днів у середовищі з іонами кадмію призводить до подальшого зниження білка у всіх тканинах двохрічок коропа, крім червоних м'язів, де спостерігається невелике його підвищення, але порівняно з контролем все ще нижче на 28,3%.

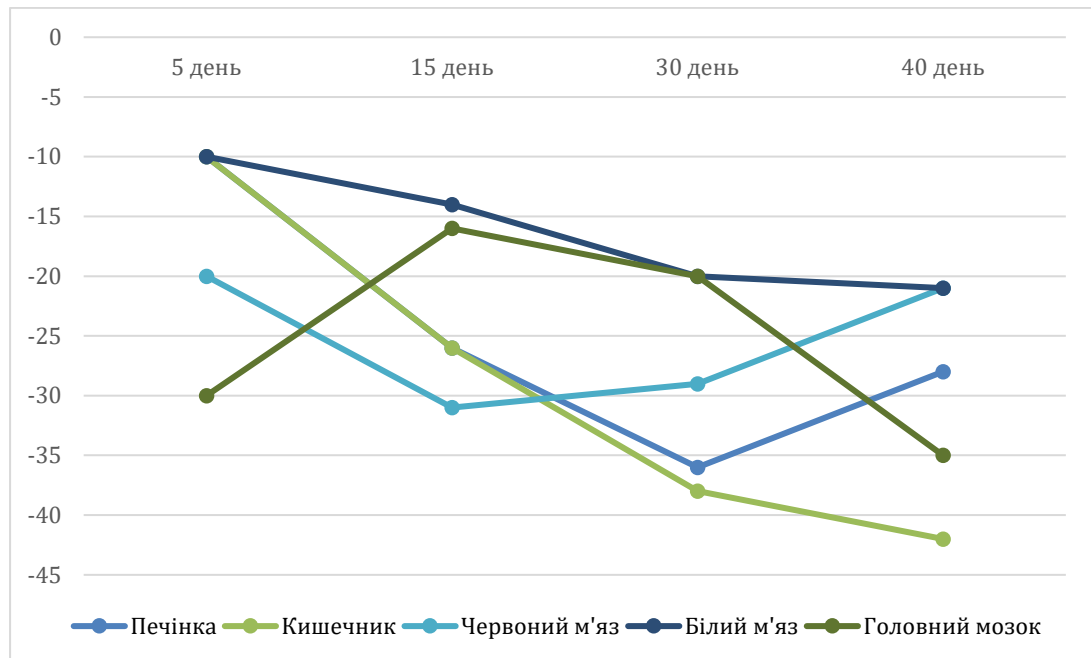


Рис. 3.3 Вміст білка в тканинах двохрічок коропа при хронічній дії хлориду кадмію (в % до контролю).

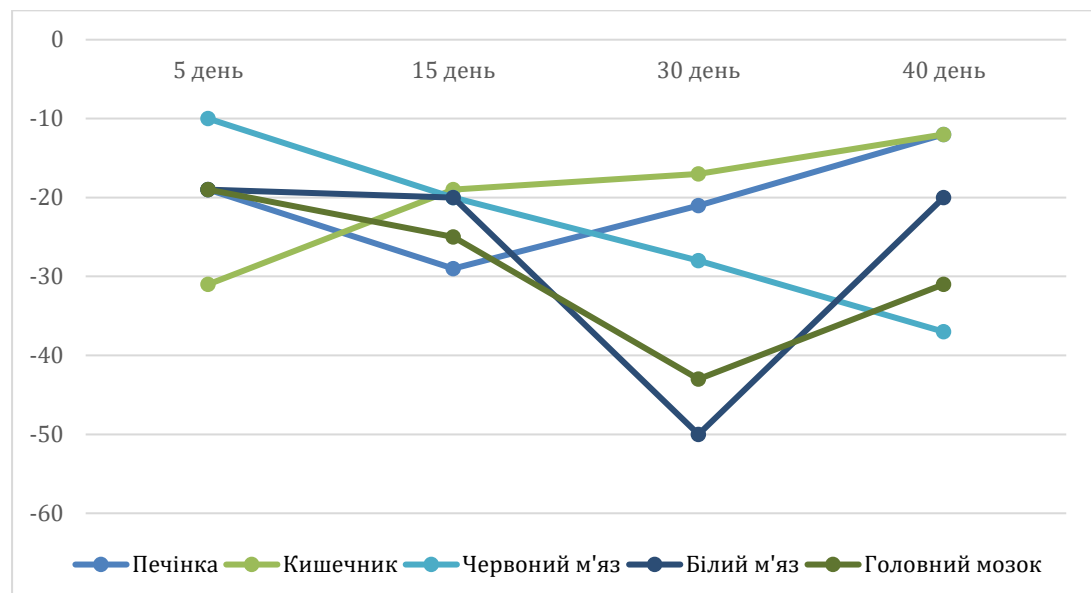


Рис. 3.4 Вміст білка у тканинах двохрічок коропа при хронічному впливі ацетату свинцю (в % до контролю).

На даному етапі інтоксикації іонами свинцю відбувається незначне підвищення білка в печінці та кишечнику, але порівняно з контролем все ще

нижче на 21 та 16% відповідно.

У червоних та білих м'язах, а також у мозковій тканині двохрічок коропа відбувається подальше зниження білка на 26,4, 49,7 та 43,2%

Таблиця 3.2

Вміст загального білка в тканинах дворічок коропа під впливом хлориду кадмію та ацетату свинцю (мг білка/г вологої тканини) ($M \pm m$, $n=6$).

Токсиканти	Тканина	Контроль	Дні експозиції			
			5	15	30	40
Хлорид кадмію (0,25 мг/л)	Печінка	41,2±0,8	36,5±0,7 P<0,01	30,4±2,1 P<0,001	26,2±2,5 P<0,001	29,6±2,0 P<0,001
	Кишечник	31,2±1,1	27,9±1,3 -	22,8±1,5 P<0,01	19,2±1,8 P<0,001	18,1±2,3 P<0,001
	Червоний м'яз	20,1±0,8	16,1±1,1 P<0,02	13,8±0,7 P<0,001	14,4±0,8 P<0,001	15,9±1,1 P<0,02
	Білий м'яз	17,1±0,7	15,4±0,5 -	14,8±1,2 -	13,6±0,6 P<0,01	13,3±0,8 P<0,01
	Головний мозок	32,2±1,4	22,5±1,1 P<0,001	26,9±1,5 P<0,05	25,8±0,7 P<0,01	20,9±1,6 P<0,001
Ацетат свинцю (0,5 мг/л)	Печінка	41,2±0,8	33,6±1,0 P<0,001	29,7±2,0 P<0,001	32,6±2,6 P<0,02	35,6±1,9 P<0,05
	Кишечник	31,2±1,1	21,3±1,3 P<0,001	25,5±0,7 P<0,01	26,2±1,1 P<0,02	27,2±1,4 P<0,5
	Червоний м'яз	20,1±0,8	18,3±0,7 -	16,1±1,0 P<0,05	14,8±0,8 P<0,01	13,0±0,9 P<0,001
	Білий м'яз	17,1±0,7	14,1±1,6 -	13,6±0,8 P<0,02	8,6±1,3 P<0,001	13,7±0,9 P<0,02
	Головний мозок	32,2±1,4	26,0±0,6 P<0,01	24,1±1,1 P<0,01	18,3±2,0 P<0,001	22,2±1,4 P<0,001

Примітка: P - ступінь достовірності результату щодо контролю

До 40 дня експерименту в середовищі з токсикантами кількість білка не повертається до норми, вона все ще нижче контролю у всіх досліджених тканинах двохрічок коропа.

Значне зниження білка у всіх тканинах при інтоксикації іонами кадмію і свинцю, що спостерігається протягом всього експерименту є, мабуть, результатом порушення фізико-хімічної структури білкових молекул і підвищенням їх атакуємості внутрішньоклітинними протеїназами.

РОЗДІЛ 4. ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА

Дніпровське водосховище, розташоване на річці Дніпро, відіграє важливу роль у водозабезпеченні та енергетиці України. Проте, екологічний стан цього водоймища є предметом серйозної турботи через велику кількість промислових, сільськогосподарських та міських викидів [21].

Значна кількість тяжких металів, агрохімікатів та інших забруднюючих речовин потрапляє в водосховище через стоки з промислових підприємств та сільськогосподарських полів. Це може призводити до накопичення токсичних сполук у воді та донних осадах [12].

Забруднення води та донних осадів важкими металами може призводити до серйозних проблем для здоров'я та популяції коропа. Ці риби, які є ключовими для водної біорізноманітності, можуть накопичувати токсичні сполуки у своєму організмі через харчовий ланцюг, що може впливати на їхню життєздатність та репродукцію. Зміни в середовищі можуть впливати на структуру популяцій коропа. Перешкоди в міграції та зміни в умовах розмноження можуть призводити до зменшення чисельності та різноманіття цього виду риби [18].

Екологічний стан Дніпровського водосховища та його вплив на популяцію коропа вимагає комплексних заходів для забезпечення сталого використання водних ресурсів та збереження біорізноманітності в даному регіоні. Необхідно активно впроваджувати екологічні програми та моніторингові заходи для забезпечення ефективного управління водними ресурсами та охорони риб'ячих популяцій.

Охорона навколишнього середовища — це система заходів, стратегій та політичних рішень, спрямованих на збереження та поліпшення якості природного середовища для забезпечення здоров'я людей, збереження біорізноманіття та створення сталого розвитку. Ця тема охоплює широкий спектр питань, включаючи захист водних та повітряних ресурсів, збереження природних екосистем, використання альтернативних джерел енергії, управління відходами та багато іншого [21].

Охорона навколишнього середовища в контексті дослідження впливу живлення риб на якість рибопродукції та розробки методів для поліпшення харчових властивостей риби є ключовою для забезпечення сталого використання водних ресурсів та збереження біорізноманіття.

Основні аспекти охорони навколишнього середовища включають: очищення та збереження водних ресурсів, зменшення викидів та виливів, очищення стічних вод, захист водних екосистем, зменшення викидів та забруднення повітря, ефективне використання ресурсів, контроль за викидами промислових підприємств, збереження лісів, управління відходами, переробка та вторинне використання, зменшення використання пластику, збереження біорізноманіття, створення природоохоронних територій, відновлення втрачених екосистем, стале використання природних ресурсів, сприяння відповідальному використанню, запровадження екологічно чистих технологій [5].

Охорона навколишнього середовища є необхідним елементом для сталого розвитку та забезпечення довгострокового благополуччя планети. Збалансований підхід до використання ресурсів та захисту екосистем визначає майбутнє нашої планети та благополуччя всіх її мешканців.

Важливо використовувати методи збору та обробки даних, які не є шкідливими для довкілля. Наприклад, застосування нетоксичних речовин для вимірювання параметрів води та рибних організмів.

Задля збереження видового різноманіття необхідно розвивати стратегії управління рибними ресурсами, спрямовані на збереження видового різноманіття та підтримання природних популяцій риб, що забезпечує екосистемну стійкість. Встановлення квот на риболовлю та обмежень на вилов деяких видів сприяє утриманню здорових популяцій риб та відновленню їхніх популяцій.

Вживання заходів для збереження водних екосистем, включаючи заповідництво, рекреаційне використання та відновлення берегової зони, а також постійний моніторинг та контроль якості води для виявлення

забруднень та вчасного реагування на потенційні негативні впливи на рибний фонд та навколишнє середовище.

Продовження досліджень та розвиток сучасних методів аквакультури для створення стабільних та сталі рибниць, які не шкодять навколишньому середовищу та застосування екологічно чистих та ефективних кормів у рибницях для підтримання здоров'я риб та запобігання забруднення води хімічними речовинами.

Впровадження проектів екореставрації для відновлення природних середовищ, які постраждали від антропогенного впливу і збереження природних мінімумів річкових рівнів для підтримання здоров'я водних екосистем та рибниць.

Здійснення програм просвітництва та навчання для громадськості, спрямованих на важливість збереження водних ресурсів та усвідомлення екологічних аспектів й залучення громади до процесів прийняття рішень та виконання заходів, спрямованих на охорону навколишнього середовища та збереження рибних ресурсів.

РОЗДІЛ 5. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА БЕЗПЕКА В НАДЗВИЧАЙНИХ СИТУАЦІЯХ

В контексті дослідження впливу живлення на рибу та розробки методів для поліпшення харчових властивостей риби, особлива увага приділяється питанням охорони праці та забезпеченню безпеки у надзвичайних ситуаціях. Цей розділ враховує зміни, що відбуваються в органах карпових риб на різних рівнях життя під впливом солей тяжких металів та розробку заходів для мінімізації ризиків та забезпечення безпеки дослідників.

Перед початком досліджень проводиться комплексна оцінка можливих ризиків, пов'язаних з впливом токсичних речовин на здоров'я працівників. Визначаються можливі шляхи потенційної експозиції та приймаються заходи для мінімізації ризиків.

Були враховані стратегії та застосовані технічні засоби для забезпечення ефективного захисту від токсичних речовин у процесі досліджень, що включає в себе: використання високоякісних хімічних костюмів з полімерних матеріалів, що мають високий рівень стійкості до токсичних речовин та забезпечують повний захист тіла від проникнення токсинів; хімічностійкі рукавички та чоботи, які щільно облягають ділянки рук і ніг, запобігають контакту токсичних речовин з шкірою; спеціальні захисні окуляри та маски з фільтрами, які захищають очі та дихальні шляхи від небезпечних речовин; використання систем фільтрації повітря для очищення середовища від токсичних аерозолів та частинок; розташування душів та очисних станцій поруч з дослідною площадкою для негайного виведення токсичних речовин з тіла дослідників; чітке позначення аварійних виходів та евакуаційних маршрутів для оперативного виходу у випадку небезпеки; розташування повноцінних аптечок, що містять засоби для надання першої допомоги при можливому забрудненні; використання сигнальних пристроїв для швидкого повідомлення працівників про можливі надзвичайні ситуації.

Також були застосовані додаткові заходи з охорони праці та безпеки в надзвичайних ситуаціях, такі як можливість ізолювати дослідницьке

приміщення від інших зон лабораторії шляхом використання запірної системи або фізичних бар'єрів для обмеження поширення токсичних речовин, встановлення автоматичних систем сигналізації, які реагують на певні рівні токсичних речовин, та надсилають аварійні повідомлення персоналу та відповідним службам, регулярні тренування з евакуації, включаючи симуляції надзвичайних ситуацій, що дозволяють персоналу відповідати оперативно та ефективно у випадку аварії, установка спеціальних резервуарів чи систем для нейтралізації та утилізації токсичних речовин у разі їхнього викиду чи витоку, встановлення надійних систем екстреного зв'язку для швидкого та ефективного обміну інформацією серед персоналу під час надзвичайних ситуацій, спеціально обладнані зони для зберігання та обслуговування захисного одягу та обладнання з метою запобігання розповсюдженню забруднень.

Ці заходи спрямовані на максимальний рівень безпеки дослідників під час виконання досліджень в умовах, де може відбуватися експозиція до токсичних речовин, забезпечуючи ефективний контроль над ризиками та збереження здоров'я персоналу.

Були розроблені плани дій для випадків надзвичайних ситуацій, таких як аварії з речовинами, що загрожують здоров'ю. Евакуаційні маршрути, місця збору та процедури для надання першої допомоги чітко визначаються та відомі всьому персоналу.

Також були впроваджені системи моніторингу, які надають можливість вчасного виявлення змін в рівнях токсичних речовин та внутрішнього середовища. Це дозволяє оперативно реагувати на потенційні небезпеки та забезпечувати безпеку працівників.

Всі працівники, які беруть участь у дослідженнях, проходять навчання з питань безпеки та екстреної допомоги, що включають в себе ознайомлення з правилами використання захисного обладнання та дій у надзвичайних ситуаціях.

Дніпровське водосховище як об'єкт досліджень може бути потенційно

небезпечним для працівників, а також для природи, оскільки воно є місцем великого технічного та екологічного впливу [21]. Основні небезпечні чинники включають:

Хімічні речовини: забруднення водосховища хімічними речовинами з промислових та сільськогосподарських джерел може створювати токсичне середовище для риб та інших водних організмів, а також може мати шкідливий вплив на здоров'я людей, які працюють у цьому регіоні [18].

Фізичні фактори: великі технічні споруди та гідроелектростанції можуть створювати зони підвищеної небезпеки через фізичні чинники, такі як велика швидкість води, різкі зміни рівня води, ризик травм, гідродинамічний тиск, абразія та ерозія, затоплення, зміни в гідроекосистемах [40].

Біологічні чинники: зміни в біоценозі, вплив на розмноження риб, хвороби та паразити, мутації та генетичні зміни, а також втрата місць для розмноження, можуть впливати на біологічний склад водоймища, що в свою чергу може мати вплив на працівників, які працюють у цьому середовищі [12].

Джерела походження можливого небезпечного впливу включають в себе викиди з промислових підприємств можуть містити хімічні речовини, які небезпечні для здоров'я людини та природи, використання пестицидів та мінеральних добрив у сільському господарстві може призводити до забруднення води та водних організмів, роботи на гідроелектростанціях можуть створювати ризики внаслідок фізичних чинників та можуть викликати зміни в екосистемі.

Щоб зменшити негативний вплив та поліпшити охорону праці рекомендується впровадження системи моніторингу для постійного визначення рівнів та складу забруднень у воді, запровадження екологічно чистих технологій та оптимізація виробничих процесів для зменшення викидів, впровадження заходів для збереження та відновлення водно-болотного ландшафту для забезпечення біологічної різноманітності, навчання працівників щодо правил та процедур безпеки на робочому місці та у водоймі, розробка та впровадження планів надзвичайних ситуацій для негайного

реагування на можливі аварії чи загрози для безпеки працівників та довкілля.

Задля поліпшення стану охорони праці та безпеки в надзвичайних ситуаціях потребується визначення та аналіз існуючих заходів з охорони праці в господарстві та їх ефективності, виявлення проблем та недоліків у системі охорони праці на основі аналізу статистичних даних та відгуків працівників, та розробка конкретних рекомендацій та заходів для поліпшення стану охорони праці, включаючи вдосконалення процедур та технічних засобів, що зменшать вплив небезпечних чинників.

ВИСНОВКИ

Дослідження впливу живлення риб на якість рибопродукції та розробка методів для поліпшення харчових властивостей риби є важливою галуззю науки, яка об'єднує біологію риб, ґрунтове вивчення харчування та раціонального управління рибними ресурсами. За останні роки проведено значну кількість досліджень, спрямованих на розуміння взаємозв'язків між живленням риб, їх розвитком та якістю рибопродукції.

Аналізуючи дані було встановлено, що якість риб'ячого живлення впливає на ріст, розвиток та здоров'я риб. Враховуючи потреби в поживних речовинах, таких як білки, жири, вітаміни та мінерали, вдале живлення може покращити якість рибопродукції. Особливу увагу приділяють оптимальному співвідношенню основних компонентів харчування для розвитку риб та формування їхнього м'язового масиву.

Дослідження впливу живлення на рибу та розробка методів для поліпшення харчових властивостей риби стають ще актуальнішими, враховуючи зміни в органах карпових риб на різних рівнях життя під впливом солей тяжких металів. Детальний аналіз вказує на те, що врахування впливу токсичних речовин на живлення риб є необхідним для забезпечення їхнього здоров'я та оптимальної рибопродукції. Розробка нових стратегій живлення та використання спеціальних добавок стає ключовим аспектом не лише для покращення якості продукції, але і для забезпечення відповідності стандартам безпеки та екологічної стійкості у галузі аквакультури та рибного господарства. Такі дослідження визначають нові шляхи для створення стійких та здорових рибних популяцій, сприяючи в узгодженому розвитку агропромислового сектору та збереженню екосистем водних ресурсів.

У роботі також був фокус на вплив харчування риб на якість м'яса та інших частин тіла. Склад та якість живлення може визначати вміст жирів, амінокислот, вітамінів та інших поживних речовин у рибі. Наприклад, додавання спеціальних добавок до раціону може покращити вміст корисних жирів у рибі, таких як Омега-3, що має велике значення для здоров'я людини.

На основі досліджень були розроблені методи та технології для поліпшення харчових властивостей риби, що включають в себе використання нових кормових добавок, оптимізацію раціонів, а також управління умовами утримання риб. Технології вирощування риби можуть бути налаштовані для досягнення певних харчових стандартів та покращення якості продукції.

Дослідження впливу живлення на рибу та розробка методів для поліпшення харчових властивостей риби є важливими аспектами сучасної аквакультури та рибного господарства. Ці дослідження не лише дозволяють покращити ефективність вирощування риби, але і сприяють створенню більш здорової та поживної продукції для споживачів. Подальший розвиток цієї галузі досліджень має великий потенціал для забезпечення сталого та високоякісного рибного господарства у майбутньому.

ПРОПОЗИЦІЇ

Розробка ефективних фільтраційних систем, інтенсифікація досліджень та розробка нових, ефективних методів очищення вод, спрямованих на зменшення концентрацій важких металів та їхнього впливу на гідробіонтів.

Моніторинг і регулювання викидів, встановлення більш жорстких екологічних норм та стандартів для підприємств, що викидають важкі метали, та посилення моніторингу їхніх викидів.

Екологічна освіта, проведення комплексної кампанії з екологічної освіти серед громадськості та виробників, щоб підвищити усвідомленість та відповідальність у справі збереження водних ресурсів та здоров'я риб.

Розвиток біотестів, активне використання активності протеолітичних ферментів, як додаткового індикатора для комплексного екологічного моніторингу водних екосистем, для забезпечення вчасного виявлення токсичних впливів.

Наукові дослідження та інновації, збільшення інвестицій у наукові дослідження для розробки нових технологій та інноваційних методів боротьби із забрудненням важкими металами та підвищення стійкості популяцій риб до їхнього впливу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андрусяк Н.С. Особливості забруднення природних водойм нафтопродуктами / Актуальні проблеми дослідження довкілля. Зб. наук. праць СумДПУ. – Суми, 2011. – С. 294–297.
2. Антоняк Г.Л., Багдай Т.В., Першин О.І., Бубис О.Є., Панас Н.Є., Олексюк Н.П. Metали у водних екосистемах та їх вплив на гідробіонтів / Біологія тварин. – 2015. – Т. 17, № 2. – С. 9–24.
3. Багдай Т.В., Снітинський В.В., Антоняк Г.Л. Вплив кадмію на процес пероксидного окиснення ліпідів і стан антиоксидантної системи в клітинах крові коропа / Вісник Львівського національного аграрного університету: Агрономія. – 2013. – № 17 (2). – С.406-412.
4. Багдай Т.В., Снітинський В.В., Антоняк Г.Л. Процеси пероксидного окислення ліпідів і антиоксидантний метаболізм у клітинах крові коропа / Вісник Львівського національного аграрного університету: агрономія. – 2012. – № 16. – С. 645–650.
5. Біланюк В.І. Практикум із загальної гідрології. - Львів: Вид-во ЛНУ ім.І.Франка, 2004. – 60 с.
6. Вовк Н.І, Божик В.Й. Іхтіопатологія: підручник., К: Агроосвіта, 2014. 308 с.
7. Войтенко Л. В. Хімія з основами біогеохімії. Навчальний посібник. - Київ. – 2019. – С. 400.
8. Глебова Ю.А., Шкарупа О.В. Стан рибної галузі в Україні на початку її реформування. Науковий вісник НУБіПУ. 2017. (250). С. 7.
9. Глубоков А.І. Зростання трьох видів риб у ранніх періодах онтогенезу в нормі та в умовах токсичного впливу. Питання іхтіології. - 1990. - Т. 39. Вып. 1. - С. 137-143.
10. Грубінко В. В. Роль металів в адаптації гідробіонтів: еволюційно-екологічні аспекти / Наук. зап. Терноп. нац. пед. ун-ту. Сер. Біол. – 2011. – № 2 (47). – С. 237–262.

11. Гуменюк Г.Б. Порівняльна характеристика розподілу важких металів у гідроекосистемах різного типу / Наук. записки ТНПУ ім. В. Гнатюка. Сер. біол. Спец. вип.: Гідроекологія. – 2010. – № 2 (43). – С. 139–148.
12. Жуков О.В., Губанова Н.Л. Динамічна стійкість угруповання земноводних короткозаплавних лісових екосистем // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія. – 2015. – №23 (2). – С. 161–171
13. Заморов, В. В. Риби родини корошових (Cyprinidae) водойм України : довідник В. В. Заморов, Ю. В. Караванський, І. Л. Рижко; ОНУ ім. І.І. Мечникова, Біол. ф-т . – Одеса : Одеський нац. ун-т, 2015. – 120 с. : іл.
14. Коваль В.О. Зміни морфологічних та фізіолого-біохімічних показників коропа лускатого при дії іонів свинцю. Біорізноманіття та роль тварин в екосистемах: Матеріали VII Міжнародної наукової конференції. Дніпропетровськ : Адверта, 2013. С. 95-96.
15. Королюк М. А. Метод визначення активності каталази / М. А. Королюк, Л. І. Іванова, І. Г. Майорова, В. Є. Токарев Лаб. справа. - 1983. - № 10. - С. 16-18.
16. Лінник П.М., Васильчук Т.А., Лінник Р.П., Ігнатенко І.І. Існуючі форми важких металів у поверхневих водах України та роль органічних речовин у їх міграції / Методи та об'єкти хімічного аналізу - 2007. - Т. 2, № 2. - С. 130-146.
17. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія : підручник для студ. вищ. мед. навч. закладів / за редакцією В. П. Широбокова. 2-ге вид. Вінниця : Нова книга, 2011. 952 с.
18. Мехед О. Б. Мінливість біохімічних показників організму коропа за дії токсичних умов середовища. Екологічна безпека держави: тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. молодих учених та студ. редкол. О. І. Запорожець та ін. Київ: НАУ, 2013. С. 169–171.
19. Миськовець Н. П. Аналіз сучасного стану та перспективи розвитку рибного господарства України/ Бізнес Інформ. - 2020. - № 3. - С. 104–111.

20. Незнамов С.О. Якісна оцінка цьоголіток корошових риб, вирощених у ставах на низькопродуктивних ґрунтах Таврійський науковий вісник. Сільськогосподарські науки. 2016. Вип. 95. С. 172-177.
21. Романенко В.Д., Євтушенко М.Ю., Линник П.М. та ін. Комплексна оцінка екологічного стану басейну Дніпра – К., 2000. – 100 с
22. Янович Н. Є., Янович Д. О. Роль мікроелементів у життєдіяльності ставкових риб / Науковий вісник ЛНУВМ та БТ ім. С. З. Гжицького. 2014. Т.16. № 2 (59). С. 345–373.
23. Adams, S. M. (2002). Ecological role of lipids in the health and success of fish populations. In *Lipids in Freshwater Ecosystems* (pp. 253-276). Springer.
24. Bondarev, D., Fedushko, M., Hubanova, N. et al. Temporal dynamics of the fish communities in the reservoir: the influence of eutrophication on ecological guilds structure. *Ichthyol Res* 70, 21–39 (2023). <https://doi.org/10.1007/s10228-021-00854-x>
25. Chapman, L.J., Hefti, N., 2019. Metals in fish and sediments of Connecticut lakes: impacts of introduced alewife and resident yellow perch. *Environmental Monitoring and Assessment*, 191(12), 716.
26. Dural, M., Goksu, M. Z. L. (2004). Investigation of heavy metal levels in economically important fish species captured from the Tuzla lagoon. *Food Chemistry*, 85(4), 575-580.
27. Dural, M., Goksu, M.Z.L., Ozak, A.A., 2007. Investigation of heavy metal levels in economically important fish species captured from the Tuzla lagoon. *Food Chemistry*, 102(1), 415-421.
28. Esmaili Sari, A., Riyahi Bakhtiari, A., Yeganeh, S., 2010. Heavy metal concentrations in water, sediment, and tissues of *Psetta maxima* (Turbot) and *Solea* sp. (Sole) from the Southeastern Caspian Sea. *Environmental Monitoring and Assessment*, 170 (1-4), 85-98.
29. Jezierska, B., Witeska, M., 2006. The metal uptake and accumulation in fish living in polluted waters. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 15(5), 429-451.

30. Kim, S.- K. *Marine Proteins and Peptides: Biological Activities and Applications*; John Wiley & Sons: Hoboken, NJ, USA, 2013.
31. Kunakh, O. M., Bondarev, D. L., Gubanov, N. L., Domnich, A. V., & Zhukov, O. V. (2022). Multiscale oscillations of the annual course of temperature affect the spawning events of Rudd (*Scardinius erythrophthalmus*). *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 13(2), 180–188. doi:10.15421/022223
32. Moraes, B. S., & Loro, V. L. (2011). Biochemical and physiological responses of *Cyprinus carpio* L. exposed to a commercial formulation containing glyphosate. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 60 (4), 681-689.
33. Niyogi, S. (2001). Adapting to climate change: the potential role of photosynthesis in sustaining productivity of forest ecosystems. *Photosynthesis Research*, 70(1), 1-28.
34. Novitskiy R., Manilo L., Gasso V., Hubanova N. Invasion of the common percarina *Percarina demidoffii* (Percidae, Perciformes) in the Dnieper River upstream // *Ecologica Montenegrina*. 2019. Vol. 24. P. 66–72
35. Palaniappan, P. L. R. M., & Karbassi, A. R. (2006). Heavy metal concentration in surficial sediments from the northern part of the Persian Gulf. *Environmental Monitoring and Assessment*, 120 (1-3), 413-426.
36. Pourang, N. (1995). The study of heavy metals in water, plankton, and fish of Khadkaneh area of Sefidrood. *Iranian Journal of Natural Resources*, 48(2), 123-137.
37. Rainbow, P. S., & Luoma, S. N. (2011). Metal bioavailability, detoxification, and ecological sensitivity. In *Metal Ions in Life Sciences* (Vol. 8, pp. 403-451). Springer.
38. Soltani, N., Keshavarzi, B., Moore, F., & Tavakol, T. (2015). Ecological and human health hazards of heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in road dust of Isfahan metropolis, Iran. *Science of the Total Environment*, 505, 712-723.

39. Tchounwou, P. B., Yedjou, C. G., Patlolla, A. K., & Sutton, D. J. (2012). Heavy metal toxicity and the environment. In *Molecular, Clinical and Environmental Toxicology* (pp. 133-164). Springer.
40. Voegborlo, R.B., Osae, S., Lokpo, S., 2005. Heavy metal contamination in an urban stream receiving untreated domestic effluent. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 9 (3), 29-34.
41. Vutukuru, S. S. (2005). Chromium-induced alterations in some biochemical profiles of the Indian major carp, *Labeo rohita*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 20 (1), 115-121.
42. Wang, X., Sato, T., Xing, B., Tao, S., 2005. Health risks of heavy metals to the general public in Tianjin, China via consumption of vegetables and fish. *Science of The Total Environment*, 350 (1-3), 28-37.