



УДК 577.352.38:577.64

МЕТАЛОАКУМУЛЮВАЛЬНА ЗДАТНІСТЬ ТКАНИН КАРАСЯ СРІБЛЯСТОГО *CARASSIUS AURATUS GIBELIO* ЗАЛЕЖНО ВІД ІСТОРІЇ ЕКСПОЗИЦІЇ *IN SITU*

Г. І. Фальфушинська, Л. Л. Гнатишина, І. В. Гоч,
А. Є. Мудра, Г. В. Денега, О. І. Горин, О. Б. Столяр

Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка,
науково-дослідна лабораторія порівняльної біохімії і молекулярної біології,
вул. М. Кривоноса, 2, Тернопіль 46027, Україна
e-mail: Oksana.Stolyar@gmail.com; <http://biochemlab.tnpu.edu.ua>

Досліджували вплив іонів міді (0,005 та 0,05 мг/л), марганцю (0,17 та 1,7 мг/л), тіокарбаматного (ТАТТУ, 9,1 і 91 мкг/л) і тетразінового (Аполло, 2 і 10 мкг/л) пестицидів протягом 14 діб на вміст металів у печінці та зябрах карася сріблястого *Carassius auratus gibelio* з двох водойм, умовно чистої (З) та забрудненої (Б). У риб із чистої водойми вміст міді, цинку та (у печінці) марганцю був вищим, ніж у риб із забрудненої водойми, а кадмію та (у зябрах) марганцю – нижчим. Відношення вмісту есенціальних металів міді, цинку та марганцю до вмісту неесенціального кадмію було удвічі більшим у тканинах карася із чистої водойми. Доведено вірогідний вплив як місцевості, так і експериментальних чинників на вміст металів у тканинах риб. Згідно з результатами центроїдного групового аналізу встановлено відмінність між характеристиками груп тварин із різних водойм за дії одного і того ж чинника, незалежно від його концентрації. Лише за дії міді у карася із забрудненої водойми встановлено залежність характеристики групи від концентрації чинника. Збільшення концентрації діючого металу у тканинах спостерігалось для міді за дії 0,005 мг/л (у зябрах риб групи Б) та марганцю за дії 0,17 мг/л (у печінці риб групи З) і 1,7 мг/л (за винятком зябер риб групи Б). Відношення вмісту міді, цинку та марганцю до вмісту кадмію зменшувалося за впливу всіх чинників у зябрах риб із чистої місцевості, а за дії Аполло – у всіх групах і тканинах. Методом лінійного регресійного аналізу встановлено негативний взаємозв'язок між вмістом цинку та кадмію у тканинах риб.

Ключові слова: *Carassius auratus gibelio*, мідь, цинк, марганець, кадмій, пестициди.

ВСТУП

Мідь, цинк і марганець відіграють важливу роль у біологічних процесах. Вони входять до складу активних центрів ферментів, регуляторних білків, стабілізують конформацію макромолекул [6]. Тому нестача цих іонів у клітинах і порушення

розподілу між специфічними молекулярними лігандами може суттєво впливати на рівень експресії білків і каталітичну активність метаболічних процесів. З іншого боку, надлишок металу, особливо неесенціального кадмію, може призводити до токсичних проявів у результаті неспецифічного лігандування та генерації окисно-відновних процесів, що доведено як для редокс-активних міді та марганцю, які безпосередньо ініціюють реакцію Фентона, так і для іонів цинку та кадмію зі стабільною валентністю, зв'язування яких визначає реакційну активність клітинних тіолів [19].

Вважається, що водні тварини ефективно акумулюють надлишок металу із забрудненого ним середовища та за експериментального впливу, що робить вміст металів у тканинах адекватним біомаркером забруднення певними діючими металами [4, 22]. Разом із тим, у світовій науковій літературі починає створюватися база даних, яка свідчить про залежність акумуляції металів у організмі не лише від рівня цих металів у середовищі, але й від фізіологічних потреб і впливу інших складників середовища, зокрема і численних органічних забруднювачів – стійких органічних речовин та пестицидів тощо, присутність яких може модулювати металоакумулювальну здатність організмів. Зокрема, велика кількість вимірів, проведених у різних місцях біля узбережжя в Південній Атлантиці на двох видах риб, показала, що забруднення води органічними речовинами різної природи (поліциклічними ароматичними вуглеводнями, поліхлорованими біфенілами тощо) призводить до втрати печінкою життєво важливих мікроелементів, у першу чергу цинку, пропорційно до рівня забруднення води. Поряд із цим спостерігається акумуляція ртуті та срібла. Отже, детоксикація органічних забруднень у печінці здійснює негативний вплив на зв'язування у ній металів, – втрачаються есенціальні елементи й акумулюються забруднювальні та потенційно токсичні [15].

У дослідженнях впливу якості середовища на вміст цинку в тканинах організму людини встановлено, що внутрішньоклітинний вміст цинку може бути інформативним показником стану клітинного метаболізму та порушень, викликаних екзогенними поліюгантами. А саме, вдихання забрудненого повітря призводить до зменшення вмісту цинку в цинкоакумулювальних клітинах людини і тварин [1]. Поряд з цим, порівняння тварин із різних популяцій доводить, що у організмів можуть виробитися певні адаптивні реакції, спрямовані на зменшення токсичності середовища, у тому числі й уникнення акумуляції зі середовища металів [14, 16, 18, 23].

Ці реалії потребують системної оцінки можливостей використовувати металоакумулювальні властивості організму як неспецифічний показник токсичності природного та експериментального середовища.

Серед прісноводних риб карась сріблястий *Carassius auratus gibelio* визнається одним із найбільш толерантних до умов існування видів завдяки унікальним морфологічним і біохімічним механізмам адаптації цієї риби до гіпоксичних станів [3]. Тому становило інтерес порівняти акумулювальну здатність щодо металів у карася із умовно чистої та забрудненої водойми і вплив на неї експериментальних чинників. До найбільш типових забруднювачів водойми Західного Поділля належать іони міді та пестициди, а в урбанізованих місцевостях – і кадмій [20, <http://www.menr.gov.ua/content/article/7789>]. Іони марганцю заслуговують на окрему увагу у зв'язку із найбільш мінливим вмістом у воді серед іонів металів і потенційною нейротоксичністю, особливо у незакомплексованому стані [5]. Для дослідження було обрано карася із двох місцевостей, що відрізняються за рівнем антропогенного навантаження [10–12].

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проводили на самцях карася сріблястого (*Carassius auratus gibelio* (Bloch), Cyprinidae) довжиною 23 ± 2 см та масою 276 ± 24 г. Екземпляри тварин відбирали із референційної місцевості у верхній течії річки Серет (урочище Залізці, $49^{\circ}49'$ пн.ш., $25^{\circ}23'$ сх.д. (групи 3) [8] і на антропогенно навантаженій ділянці – став у нижній течії річки Нічлава ($48^{\circ}48'$ пн.ш., $26^{\circ}00'$ сх.д.), нижче м. Борщів, у якому не працюють очисні споруди, в районі відносно високої аграрної активності (групи Б). Згідно зі звітом Тернопільського регіонального відділення Мінприроди „Регіональна доповідь про стан навколишнього природного середовища в Тернопільській області у 2009 році“, річка Нічлава належить до найбільш забруднених в області (<http://www.menr.gov.ua/content/article/7789>).

Риб відбирали траловим методом і доставляли в лабораторію, де адаптували до умов лабораторії протягом 7 діб. Експериментальні умови для риб створювали в басейнах об'ємом 200 л з відстояною водопровідною водою з розрахунку 1 особина на 40 л води. Вміст розчиненого кисню у воді підтримували на рівні $7,0\text{--}8,0$ мг/л, вуглекислого газу – $2,2\text{--}2,8$ мг/л, аміаку ($\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$) та нітритів нижче $0,1$ мг/л, рН – $7,6\text{--}8,0$. Температура води коливалася в межах $15^{\circ}\text{C}\text{--}18^{\circ}\text{C}$. Воду змінювали щодві доби, поновлюючи вміст досліджуваних сполук. Тварин годували комерційним кормом фірми „Акваріус“ (Харків, Україна). Температуру води, рН та рівень розчиненого кисню контролювали щодві доби з використанням аналізатора MP 525, ULAB (Україна).

У кожному лабораторному досліді одна група з кожної місцевості була контрольною, іншим у воду додавали досліджувані чинники. Вміст у воді Cu^{2+} (CuSO_4) становив за катіоном $0,005$ (Cu1) та $0,05$ (Cu2) мг/л; Mn^{2+} (MnCl_2) $0,17$ (Mn1) та $1,7$ (Mn2) мг/л. Вміст металу у воді створювали додаванням солі фірми „Реахим“ кваліфікації „хч“ і контролювали за допомогою атомно-абсорбційної спектроскопії. Досліджувана концентрація металів була близькою або нижчою, ніж їх середній вміст у прісних водоймах України [2]. Препарат Татту, діючими речовинами якого є пропамокарб-гідрохлорид (248 г/л), пропіл-N-[3-(диметиламіно)пропіл-1] карбамат, моногідрохлорид ($\text{C}_9\text{H}_{21}\text{ClN}_2\text{O}_2$) та манкоцеб (302 г/л), комплекс етилен-біс-дитіокарбамату цинку і марганцю [-SCSNH(CH₂)₂NHCSSMn-Jn (Zn)m з вмістом Zn і Mn $2,55\%$ і 18% відповідно, додавали у концентрації $9,1$ (Ta1) та 91 (Ta2) мкг/л. Під час підбору концентрації виходили з інформації про ГДК Татту у воді санітарно-побутового призначення та про ефективність впливу Татту на карася [11]. Препарат Аполло, діючою речовиною якого є клофентезин – 3,6-біс-2-хлорфеніл-1,2,4,5-тетразин (FBC, Schering) ($\text{C}_{14}\text{H}_8\text{Cl}_2\text{N}_4$, М.м. $303,2$), додавали у воду в концентрації 2 і 10 мкг/л (групи A1 та A2 відповідно). Інкубація риб у досліджуваних розчинах тривала 14 діб.

Експерименти на тваринах проводили у відповідності до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей (Страсбург, 1986), ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2000) та рішення комісії з біоетики Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського (протокол № 3, 2011 р.). Евтаназію тварин проводили під ефірним наркозом. Для визначення вмісту металів тканину висушували до постійної маси при 105°C протягом 6 год, зважували і мінералізували. Вміст металів (марганцю, цинку, міді та кадмію) у тканині вимірювали методом атомно-абсорбційної спектроскопії на спектрометрі з полум'яним або графітовим

детектором після спалювання зразків у перегнаній нітратній кислоті у співвідношенні 1:5 (маса:об'єм). Вміст марганцю, цинку і міді визначали на атомно-абсорбційному спектрометрі С-115, кадмію – на спектрометрі S-600 і виражали в мкг та/або нмоль на г сухої маси тканини.

Результати вимірів металів тканини подані у вигляді $M \pm m$ для 8 особин. Вірогідність відхилення двох рядів значень обчислювали з використанням t -тесту Стьюдента. Вірогідною вважали відмінність між рядами за $p < 0,05$. Порівняльний аналіз біологічних параметрів здійснювали з використанням лінійного регресійного, дискримінантного та факторного (центроїдного групового) аналізу, використовуючи комп'ютерні програми Statistica v 7.0 та Exel для Windows-2000.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХНЄ ОБГОВОРЕННЯ

Результати визначення вмісту металів у тканинах (табл. 1–4) дають змогу розташувати метали за зменшенням концентрації у тканинах у ряді $Zn^{2+} \gg Cu^{2+} \approx Mn^{2+} > Cd^{2+}$. У контрольних тварин із чистої водойми (З-група) вміст міді, цинку та марганцю у печінці був вищим, ніж у риб із забрудненої водойми (Б-група). Вміст кадмію у печінці, а у зябрах і марганцю, був вищим у тканинах карася Б-групи.

Таблиця 1. Вміст міді у тканинах карася *Carassius auratus gibelio* з двох місцевостей за дії на організм експериментальних чинників, мкг/г сухої маси тканини, $M \pm SD$, $n = 8$

Table 1. Copper content in crucian carp *Carassius auratus gibelio* tissues from two sites under the effect of experimental factors, $\mu g \times g^{-1}$ tissue dry weight (DW), $M \pm SD$, $n = 8$

Експериментальна група	Печінка		Зябра	
	Група З	Група Б	Група З	Група Б
К	14,2±2,8	8,1±0,6 ^b	15,4±2,8	9,6±1,4 ^b
Cu1	9,7±1,5 ^a	6,4±0,6 ^a	8,0±1,5 ^a	19,9±2,3 ^a
Cu2	13,6±1,1	3,2±0,6 ^a	10,5±2,1 ^a	6,8±1,4
Mn1	18,0±2,2 ^a	8,1±1,2	6,6±1,1 ^a	13,9±2,1 ^a
Mn2	21,9±7,1	12,7±3,0 ^a	3,2±0,7 ^{a,c}	15,1±2,6 ^a
A1	8,8±1,7 ^a	5,8±0,5 ^a	10,5±0,7 ^a	5,9±0,5 ^a
A2	5,9±1,8 ^a	6,1±0,6 ^a	8,9±0,9 ^a	4,0±0,4 ^a
Ta1	2,9±0,4 ^a	9,5±1,3	12,9±1,5	19,9±2,9 ^a
Ta2	6,2±1,4 ^a	11,1±1,5 ^a	15,6±1,0	7,7±0,8

Примітка. Тут і в табл. 2–4: ^a – відмінності порівняно з відповідним контролем вірогідні; ^b – відмінності між показниками риб контрольних груп із двох місцевостей вірогідні, $p < 0,05$.

Comments. Here and in Tables 2–4: ^a – differences compared to correspondent control, ^b – differences between the indexes of control groups of fish from two sites are significant, $p < 0.05$.

За дії міді збільшення концентрації діючого металу у тканинах спостерігалось за дії 0,005 мг/л (у зябрах риб групи Б). Також за дії 0,05 мг/л міді в обох групах було відзначено зростання вмісту марганцю та кадмію у печінці та кадмію у зябрах.

Проте у печінці риб з груп Cu13, Cu1Б, Cu2Б та у зябрах риб групи Cu23 вміст міді зменшувався. Крім того, за дії міді у печінці риб груп Б та у зябрах груп З (Cu13) та Б (Cu2Б) зменшувався і вміст цинку. Вплив марганцю викликав зростання вмісту діючого та інших металів у тканинах риб обох груп або не призводив до змін. Лише у печінці риб групи Б спостерігалось зменшення вмісту цинку.

Таблиця 2. Вміст цинку у тканинах карася *Carassius auratus gibelio* з двох водойм за дії на організм експериментальних чинників, мкг/г сухої маси тканини, $M \pm SD$, $n = 8$

Table 2. Zinc content in crucian carp *Carassius auratus gibelio* tissues from two sites under the effect of experimental factors, $\mu\text{g} \times \text{g}^{-1}$ DW, $M \pm SD$, $n = 8$

Експериментальна група	Печінка		Зябра	
	Група З	Група Б	Група З	Група Б
К	168,3 \pm 23,2	139,7 \pm 7,9	712,5 \pm 39,3	601,7 \pm 25,1
Cu1	153,1 \pm 14,9	67,2 \pm 4,5 ^a	612,2 \pm 114,1 ^a	761,3 \pm 82,3 ^a
Cu2	159,4 \pm 31,5	90,6 \pm 9,2 ^a	655,2 \pm 47,8	291,9 \pm 40,1 ^a
Mn1	265,7 \pm 32,0 ^a	105,6 \pm 13,3 ^a	686,8 \pm 125,4	837,0 \pm 81,8 ^a
Mn2	351,6 \pm 129,4 ^a	194,2 \pm 26,6 ^a	880,1 \pm 201,8	791,2 \pm 92,5 ^a
A1	135,9 \pm 15,7	79,5 \pm 5,5 ^a	554,6 \pm 54,8 ^a	235,1 \pm 30,2 ^a
A2	100,8 \pm 24,4 ^a	101,8 \pm 9,4 ^a	560,6 \pm 51,4 ^a	227,5 \pm 16,6 ^a
Ta1	77,9 \pm 9,7 ^a	101,3 \pm 12,2 ^a	483,0 \pm 50,2 ^a	527,3 \pm 52,8
Ta2	113,4 \pm 19,1 ^{a,i}	156,5 \pm 13,8	680,8 \pm 82,7	541,6 \pm 44,5 ^a

Таблиця 3. Вміст марганцю у тканинах карася *Carassius auratus gibelio* з двох водойм за дії на організм експериментальних чинників, мкг/г сухої маси тканини, $M \pm m$, $n = 8$

Table 3. Manganese content in crucian carp *Carassius auratus gibelio* tissues from two sites under the effect of experimental factors, $\mu\text{g} \times \text{g}^{-1}$ DW, $M \pm SD$, $n = 8$

Експериментальна група	Печінка		Зябра	
	Група З	Група Б	Група З	Група Б
К	6,2 \pm 1,3	2,1 \pm 0,3 ^b	14,1 \pm 2,9	25,2 \pm 1,0 ^b
Cu1	3,4 \pm 0,4 ^a	3,1 \pm 0,2 ^a	15,6 \pm 1,4	15,8 \pm 0,8 ^a
Cu2	8,4 \pm 1,4	7,3 \pm 0,7 ^a	15,3 \pm 3,2	10,0 \pm 0,5 ^a
Mn1	9,5 \pm 1,7 ^a	2,3 \pm 0,2	14,9 \pm 1,0	17,3 \pm 2,1 ^a
Mn2	18,2 \pm 5,6 ^a	3,4 \pm 0,2 ^a	23,3 \pm 4,8 ^a	19,9 \pm 2,9 ^a
A1	2,4 \pm 0,6 ^a	7,6 \pm 0,7 ^a	6,4 \pm 0,5 ^a	13,2 \pm 0,9 ^a
A2	2,3 \pm 0,4 ^a	9,9 \pm 1,0 ^a	4,8 \pm 0,4 ^a	12,2 \pm 0,7 ^a
Ta1	1,8 \pm 0,3 ^a	3,3 \pm 0,2 ^a	4,2 \pm 0,3 ^a	21,9 \pm 2,7
Ta2	3,3 \pm 0,5 ^a	3,0 \pm 0,3 ^a	6,6 \pm 0,7 ^a	20,6 \pm 1,6 ^a

Таблиця 4. Вміст кадмію у тканинах карася *Carassius auratus gibelio* з двох водойм за дії на організм експериментальних чинників, мкг/г сухої маси тканини, $M \pm m$, $n = 8$

Table 4. Cadmium content in crucian carp *Carassius auratus gibelio* tissues from two sites under the effect of experimental factors, $\mu\text{g} \times \text{g}^{-1}$ DW, $M \pm SD$, $n = 8$

Експериментальна група	Печінка		Зябра	
	Група 3	Група Б	Група 3	Група Б
К	5,2±0,8	7,7±0,8	3,8±0,9	7,3±0,6
Cu1	4,2±1,3	3,5±0,2 ^a	8,3±1,6 ^a	6,6±1,1
Cu2	3,7±1,0	19,2±4,5 ^{a,b}	9,4±1,1 ^a	33,1±3,3 ^{a,b}
Mn1	5,7±0,8	5,8±0,6 ^a	5,2±0,8 ^a	7,6±1,1
Mn2	6,5±2,8	6,4±1,2	9,1±1,1 ^{a,c}	8,1±1,7
A1	4,7±1,4	27,1±4,7 ^a	8,2±0,8 ^a	34,1±2,1 ^a
A2	6,2±0,7 ^a	37,7±4,3 ^{a,h}	9,4±1,1 ^a	37,3±6,3 ^a
Ta1	4,8±0,8	5,1±0,8 ^a	5,6±0,4 ^a	4,9±0,6 ^a
Ta2	4,8±0,4	5,4±1,1 ^a	5,5±1,0 ^a	6,3±1,0 ^a

Вплив пестициду Аполло викликав найбільш подіюні серед усіх експериментальних чинників зміни – зменшення вмісту міді, цинку та марганцю (за винятком печінки риб групи Б). Вміст кадмію та, у печінці риб групи Б, марганцю за його дії збільшувався. За впливу Татту типовою ознакою було зменшення вмісту металів у печінці, за винятком риб групи Та2Б, у яких вміст міді та марганцю у печінці зростає. У зябрах вміст металів зменшувався, особливо цинку та марганцю. Лише для міді й в окремому випадку для кадмію відзначено зростання вмісту. Слід зазначити, що Татту як препарат, що містить у своєму складі цинк і марганець, не став джерелом їх посиленої акумуляції у тканинах.

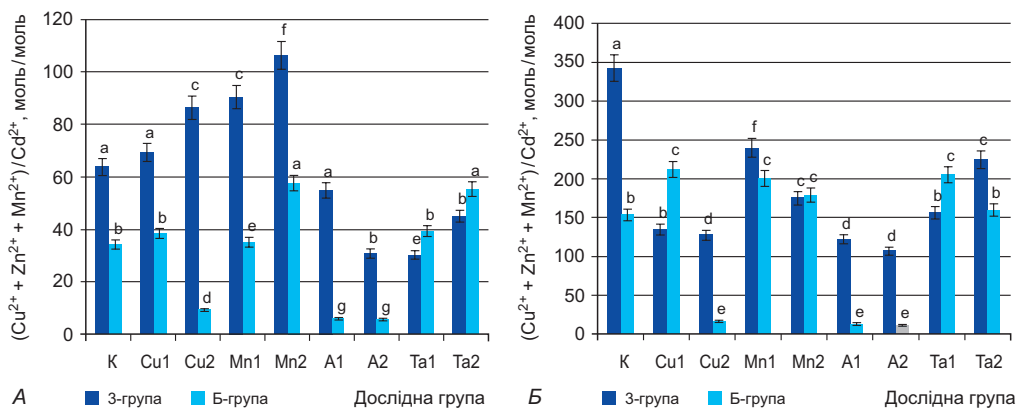


Рис. 1. Співвідношення вмісту есенціальних металів (Cu^{2+} , Zn^{2+} та Mn^{2+}) та неесенціального металу Cd^{2+} , виражених у нмоль на г сухого вмісту тканини, у печінці (А) та зябрах (Б) карася. Однакові букви відповідають значенням індексу, що не відрізняються вірогідно, $P > 0,05$

Fig. 1. The ratio of essential metals (Cu^{2+} , Zn^{2+} and Mn^{2+}) and toxic metal Cd^{2+} concentration expressed as $\text{nmol} \times \text{g}^{-1}$ DW in crucian carp liver (A) and gills (B). Same letters correspond to values of index that are not differing significantly, $P > 0.05$

Обрахунок співвідношення вмісту есенціальних металів і токсичного кадмію (рис. 1) свідчить, що у риб із забрудненої водойми Б воно приблизно удвічі нижче, ніж у групі 3. Зростання цього співвідношення спостерігається за впливу металів у печінці риб групи 3, у окремих випадках дії міді й Татту у тканинах риб групи Б. Проте у групі 3 за дії пестицидів, а у зябрах за дії всіх чинників цей показник зменшується. У групі Б його різке зменшення відзначено за дії міді й Аполло. Методом лінійного регресійного аналізу встановлено негативний взаємозв'язок між вмістом цинку та кадмію у тканинах риб (рис. 2).

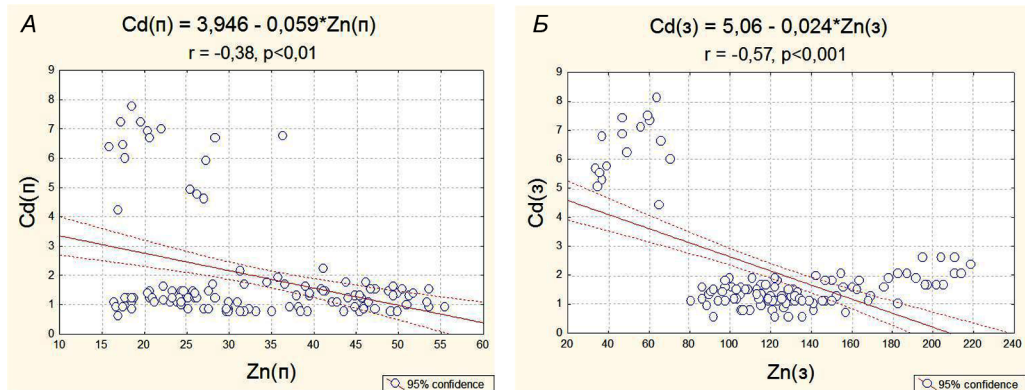


Рис. 2. Взаємозв'язок між концентрацією цинку та кадмію у печінці (А) та зябрах (Б) карася за умов експозиції, встановлений методом лінійної регресії

Fig. 2. Interrelation between zinc and cadmium concentration in liver (A) and gills (B) of crucian carp under exposures established by the linear regression method

Результати дискримінантного аналізу показали, що вплив і місцевості, і діючого чинника вірогідний ($F(8,51) = 182,77$, $p < 0,0001$ і $F(40,207) = 21,392$, $p < 0,0001$ відповідно). Згідно з результатами факторного (центроїдного групового) аналізу (рис. 3), риби поєднуються у кластерах відповідно до місцевості походження та природи токсиканта. Відмінність між впливом різних концентрацій виявлена лише для впливу міді у групі Б, причому в один кластер об'єднуються тварини груп А1Б, А2Б та С₁2Б, які зазнали найбільших змін вмісту металів. Відмінність на відповідь одного й того ж чинника у риб із різних місцевостей найбільше виражена за дії марганцю.

У літературі описано численні приклади ефективної біоаккумуляції металів із водного середовища [20]. Наприклад, дія міді на коропа в субтоксичних концентраціях і вигодовування сома *Clarias gariepinus* та нільської тиляпії збагаченням міддю кормом (1 500 та 2 000 мг/кг сухої маси) у тривалому експерименті (30–42 доби) призвели до збільшення накопичення міді у печінці (3–5 разів) та у зябрах (у 4 рази) [13]. У нашому дослідженні риби, які перебували у різних водоймах тривалий час, також відображають відмінність у складі середовища, яка проявляється навіть після 21 дня перебування у лабораторних умовах. При цьому вміст есенціальних металів виявився вищим у риб із чистої водойми, а вміст і частка кадмію – у риб із забрудненої водойми. Подібну закономірність ми спостерігали і у коропа та карася за їх дослідження протягом трьох сезонів [9, 10]. Зменшення вмісту і частки есенціальних металів щодо токсичних у комплексно забрудненому природному середовищі було

відзначено у морських риб [15], а також, стосовно цинку, у людей, що тривалий час мешкають у індустриальній зоні [1]. Токсичність середовища у місцевості Б була нами доведена раніше за допомогою мультимаркерного підходу [10–12].

Висока ймовірність спонтанного забруднення водойм робить актуальним прогнозування впливу додаткових чинників на характеристики риб залежно від історії їхньої популяції, тобто з'ясування діапазону їх адаптивної здатності у мінливих умовах середовища. Проте досвід дослідження таких ситуацій досить обмежений. Окремі повідомлення свідчать, що тварини, які протягом десятиліть існували у середовищі із підвищеним вмістом певного чинника, виявляють ознаки адаптації до нього, що проявляється у підвищеній народжуваності, вищій активності молекулярних стрес-респонсивних систем, а також толерантності до підвищеного вмісту у воді типового токсиканта, а саме іонів металу або певного чинника органічної природи [14, 16, 18, 22, 23]. Проявом цієї толерантності щодо забруднення металами було уникнення акумуляції металу-токсиканта. Так, за дії 10–400 мкг/л міді в окуня *Perca flavescens* із забрудненої металами водойми рівень накопичення міді у три рази був нижчий, ніж у тварин із контрольної ділянки [21].

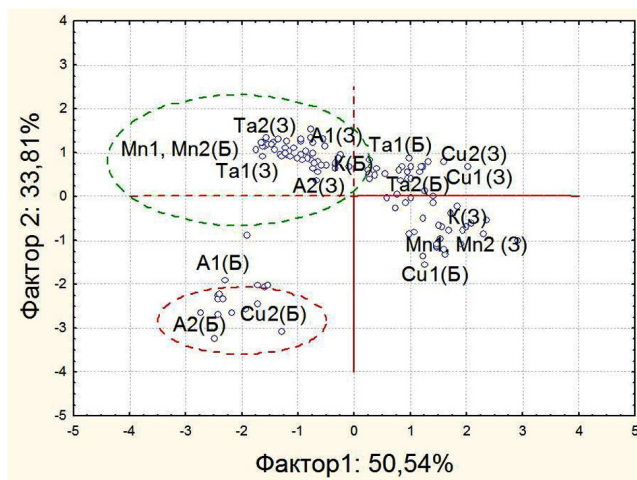


Рис. 3. Результати центроїдного групового аналізу вмісту металів печінки та зябер карася сріблястого з двох місцевостей (3 та Б) за впливу двох концентрацій (1 і 2) металів (Cu^{2+} , Mn^{2+}) та пестицидів (Аполло (А), ТАТТУ (Та))

Fig. 3. Centroid grouping analysis of metals concentration in liver and gills of crucian carp from two sites (3 and Б) under effect of metal (Cu^{2+} , Mn^{2+}) and pesticides (Apollo (A) and Tattoo (Ta)) in two concentrations (1 and 2)

У нашому дослідженні найбільш типовою відповіддю відомого високою толерантністю виду карася було не збільшення, а підтримання нормального або зниженого вмісту есенціальних металів у тканинах. Цікаво, що згачна зміна у зябрах риб із забрудненої водойми лише за дії міді й Аполло супроводжувалася різким зменшенням частки есенціальних металів до кадмію, тоді як у зябрах риб із чистої місцевості заміщення есенціальних металів на токсичний кадмій є спільною ознакою експериментального впливу. Цей факт можна пояснити вищим діапазоном толерантності карася, сформованим за хронічного перебування у субтоксичних умовах

[3, 17]. З іншого боку, у тканині печінки нездатність до акумуляції цинку, навпаки, властива риbam із забрудненої місцевості. Ця специфічність на рівні тканин була показана нами і за допомогою мультимаркерного аналізу [11, 12], у якому встановлено, що дія досліджуваних експериментальних чинників викликає у карася із забрудненої місцевості активацію системи антиоксидантного захисту, проте призводить до зменшення металоакумулювальної здатності білків металотіонеїнів печінки та значного генотоксичного ефекту, на відміну від реакції риб із чистої місцевості. Отже, рівень загального вмісту металів, зокрема цинку і кадмію, у тканинах карася може бути інформативним показником неспецифічної адаптаційної відповіді організму на несприятливі чинники середовища.

ВИСНОВКИ

Здатність карася сріблястого *Carassius auratus gibelio* підтримувати стабільний вміст есенціальних металів у тканинах суттєво залежить від умов існування у природній водоймі та природи діючого чинника. Показник співвідношення вмісту есенціальних металів і кадмію у збрах може бути рекомендований для оцінки токсичності водного середовища для карася.

Робота виконувалася за підтримки МОНмолодьспорт України в рамках спільних міжнародних науково-технічних проектів № М/256-2008, № М/567-2009, держбюджетної теми №118Б та, частково, за підтримки Західно-Українського біомедичного центру.

1. Важненко О.В., Єщенко Ю.В., Бовт В.Д., Єщенко В.А. Розвиток дефіциту цинку в гранулоцитах крові під впливом забруднення атмосферного повітря. **Питання біоіндикації та екології**, 2008; 13(1): 126–132.
2. Линник П.Н. Тяжелые металлы в поверхностных водах Украины: содержание и формы миграции. **Гидробиол. журнал**, 1999; 35(1): 22–41.
3. Луцак В.І. Біохімічні механізми адаптації видів *Carassius* до аноксії. **Біологія тварин**, 2004; 6(1–2): 35–38.
4. Цудзевич Б.О., Столяр О.Б., Калінін І.В., Юкало В.Г. **Ксенобіотики: накопичення, детоксикація та виведення з живих організмів**: монографія. Тернопіль: Вид-во ТНТУ ім. І. Пулюя, 2012. 384 с.
5. Barceloux D. G. Manganese. **J. Toxicol. Clin. Toxicol.**, 1999; 37(2): 293–307.
6. Bury N.R., Walker P.A., Glover C.N. Nutritive metal uptake in teleost fish. **J. Exp. Biol.**, 2003; 206(1): 11–23.
7. De Boeck G., Smolders R., Blust R. Copper toxicity in gibel carp *Carassius auratus gibelio*: importance of sodium and glycogen. **Comp. Biochem. Physiol.**, 2010; 152C(3): 332–337.
8. Falfushynska H., Stolyar O. Responses of biochemical markers in carp *Cyprinus carpio* from two field sites in Western Ukraine. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, 2009; 72(3): 729–736.
9. Falfushynska H., Stolyar O. Function of metallothioneins in carp *Cyprinus carpio* from two field sites in Western Ukraine. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, 2009; 72(5): 1425–1432.
10. Falfushynska H.I., Gnatyshyna L.L., Priyden C.V. et al. Variability of responses in the crucian carp *Carassius carassius* from two Ukrainian ponds determined by multi-marker approach. **Ecotoxicol. Environ. Saf.**, 2010; 73(8): 1896–1906.
11. Falfushynska H.I., Gnatyshyna L.L., Stolyar O.B. Population-related molecular responses on the effect of pesticides in *Carassius auratus gibelio*. **Comp. Biochem. Physiol.**, 2012; 155C(2): 396–406.

12. Falfushynska H.I., Gnatyshyna L.L., Stoliar O.B., Nam Y.K. Various responses to copper and manganese exposure of *Carassius auratus gibelio* from two populations. **Comp. Biochem. Physiol.**, 2011; 154C(3): 242–253.
13. Farombi E.O., Adelowo O.A., Ajimoko R. Biomarkers of oxidative stress and heavy metal levels as indicators of environmental pollution in African cat fish (*Clarias gariepinus*) from Nigeria Ogun River. **Int. J. Environ. Res. Public Health**, 2007; 4: 158–165.
14. Gale S.A., Smith S.V., Lim R.P. et al. Insights into the mechanisms of copper tolerance of a population of black-banded rainbowfish (*Melanotaenia nigrans*) (Richardson) exposed to mine leachate, using ^{64/67}Cu. **Aquat. Toxicol.**, 2003; 62(III): 135–153.
15. Hanson P.J. Response of hepatic trace element concentrations in fish exposed to elemental and organic contaminants. **Estuaries**, 1997; 20: 659–676.
16. Meyer J.N., Smith J.D., Winston G.W., Di Giulio R.T. Antioxidant defenses in killifish (*Fundulus heteroclitus*) exposed to contaminated sediments and model prooxidants: short-term and heritable responses. **Aquat. Toxicol.**, 2003; 65(4): 377–395.
17. Nilsson G.E., Renshaw G.M.C. Hypoxic survival strategies in two fishes: extreme anoxia tolerance in the North European crucian carp and natural hypoxic preconditioning in a coral-reef shark. **J. Exp. Biol.**, 2004; 207(18): 3131–3139.
18. Rainbow P.S., Blackmore G., Wang W.-X. Effects of previous field-exposure history on the uptake of trace metals from water and food by the barnacle *Balanus amphitrite*. **Mar. Ecol. Prog. Ser.**, 2003; 259: 201–213.
19. Stoliar O.B., Lushchak V.I. Environmental Pollution and Oxidative Stress in Fish. In Book: **Oxidative Stress – Environmental Induction and Dietary Antioxidants** / Ed. Lushchak V. InTech, 2012. 131–166.
20. Stolyar O.B., Loumbourdis N.S., Falfushynska H.I., Romanchuk L.D. Comparison of metal bioavailability in frogs from urban and rural sites of Western Ukraine. **Arch. Environ. Contam. Toxicol.**, 2008; 54(1): 107–113.
21. Taylor L.N., McFarlane W.J., Pyle G.G. et al. Use of performance indicators in evaluating chronic metal exposure in wild yellow perch (*Perca flavescens*). **Aquat. Toxicol.**, 2004; 67(4): 371–385.
22. Wang W.X., Rainbow P. Comparative approaches to understand metal bioaccumulation in aquatic animals. **Comp. Biochem. Physiol.**, 2008; 148C(4): 315–323.
23. Weis J.S. Tolerance to environmental contaminants in the mummichog, *Fundulus heteroclitus*. **Human Ecol. Risk Assess.**, 2002; 8: 933–953.

DEPENDENCE OF METAL-ACCUMULATIVE CAPACITY IN TISSUES OF THE CRUCIAN CARP *CARASSIUS AURATUS GIBELIO* UP ON THE HISTORY OF EXPOSURE *IN SITU*

**H. I. Falfushynska, L. L. Gnatyshyna, I. V. Goch, A. E. Mudra,
H. V. Deneha, O. I. Goryn, O. B. Stoliar**

Volodymyr Hnatiuk Ternopil National Pedagogical University,
Research Laboratory of Comparative Biochemistry and Molecular Biology
2, M. Kryvonis St., Ternopil 46027, Ukraine
e-mail: Oksana.Stolyar@gmail.com; http://biochemlab.tnpu.edu.ua

The effect of copper (0.005 and 0.05 mg×L⁻¹) and manganese ions (0.17 and 1.7 mg×L⁻¹), thiocarbamate (Tatoo 9.1 and 91 ug×L⁻¹) and tetrazine (Apollo, 2 and 10 ug×L⁻¹) pesticides on metal content in the tissues of crucian carp *Carassius auratus gibelio* from two sites, relatively clean (Z) and polluted (B), under exposure during 14 days was

studied. In fish from the clean site the copper, zinc, and manganese (in liver) concentration has been higher than in fish from polluted site, whereas cadmium, and manganese (in gills) concentration, was lower. The ratio of essential metals copper, zinc and manganese concentration to nonessential cadmium concentration was twofold higher in tissues of crucian carp from clean site. Significant effect both of site and exposure on the metal content in the tissues of fish was proved. According to Principal Component Analysis, the distinctions between the groups of animals from different aquatic bodies under the same substance effect independently of its concentration was proved. Dependence on the concentration of acting substance was revealed only for copper in the gibel carp from polluted site. The concentration of acting metal increased for copper after treatment by $0.005 \text{ mg} \times \text{L}^{-1}$ (in the gills of fish from group B) and for manganese after the treatment by $0.17 \text{ mg} \times \text{L}^{-1}$ (in the liver of fish from group B) and $1.7 \text{ mg} \times \text{L}^{-1}$ (with exception of gills in fish from group B). The decreasing of the ratio of concentrations of copper, zinc and manganese to concentration of cadmium was shown in the gills of fish from clean site under all exposures and after the effect of Apollo in all cases. Negative interrelation was detected by the linear regression analysis for zinc and cadmium content in fish tissues.

Keywords: *Carassius auratus gibelio*, copper, zinc, manganese, cadmium, pesticides.

МЕТАЛЛОАКУМУЛИРУЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ ТКАНЕЙ КАРАСЯ СЕРЕБРИСТОГО *CARASSIUS AURATUS GIBELIO* В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИСТОРИИ ЭКСПОЗИЦИИ *IN SITU*

**Г. И. Фальфушинская, Л. Л. Гнатишина, И. В. Гоч, А. Е. Мудра,
Г. В. Денега, О. И. Горин, О. Б. Столяр**

Тернопольский национальный педагогический университет имени Владимира Гнатюка,
научно-исследовательская лаборатория сравнительной биохимии и молекулярной биологии
ул. М. Кривоноса, 2, Тернополь 46027, Украина
e-mail: Oksana.Stolyar@gmail.com; <http://biochemlab.tnpu.edu.ua>

Исследовали влияние ионов меди ($0,005$ и $0,05 \text{ мг/л}$), марганца ($0,17$ и $1,7 \text{ мг/л}$), тиокарбаматного (Татту, $9,1$ и 91 мкг/л) и тетразинового (Аполло, 2 и 10 мкг/л) пестицидов в течение 14 суток на содержание металлов в печени и жабрах карася серебристого *Carassius auratus gibelio* из двух водоемов, условно чистого и загрязненного. У рыб из чистого водоема содержание меди, цинка и (в печени) марганца было выше, чем у рыб из загрязненного водоема, а кадмия и (в жабрах) марганца ниже. Отношение содержания эссенциальных металлов меди, цинка и марганца и неэссенциального кадмия было вдвое выше в тканях карася из чистого водоема. Доказано достоверное влияние как местности, так и экспериментальных факторов на содержание металлов в тканях рыб. Согласно результатам центроидного группового анализа установлено отличие между характеристиками групп животных из разных водоемов при действии одного и того же фактора, независимо от его концентрации. Только для действия меди у карася из загрязненного водоема установлена зависимость от концентрации действующего вещества. Увеличение концентрации действующего металла в ткани на-

блюдалось для міді при діянні 0,005 мг/л (в жабрах риб групи Б) і марганця при діянні 0,17 мг/л (в печині риб групи З) і 1,7 мг/л (за виключенням жабер риб групи Б). Відношення вмісту міді, цинку і марганцю до вмісту кадмію зменшувалося в жабрах риб із чистої місцевості при діянні всіх факторів, а при діянні Аполло во всіх групах і тканинах. Методом лінійного регресійного аналізу встановлено від'ємна взаємозв'язок між вмістом цинку і кадмію в тканинах риб.

Ключеві слова: *Carassius auratus gibelio*, мідь, цинк, марганець, кадмій, пестициди.

Одержано: 10.07.2012