

УДК [611.917:547.953]597.551.2

М. О. Миронюк<sup>1</sup>, В. О. Арсан<sup>2</sup>

### ВПЛИВ ФІПРОНІЛУ НА ВМІСТ МАКРОЕРГІЧНИХ ФОСФОРНИХ СПОЛУК У ТКАНИНАХ КОРОПА

Досліджено вплив хлорорганічної речовини (фіпронілу) на вміст АТФ, АДФ, АМФ, їх суму та величину аденілатного енергетичного заряду у печінці і зябрах коропа. Наслідком дії речовини на вміст макроергічних фосфорних сполук є інгібування аеробних процесів в печінці риби.

**Ключові слова:** хлорорганічна речовина, фіпроніл, аденілові нуклеотиди, аденілатний енергетичний заряд, печінка, зябра, короп.

Фіпроніл — 5-аміно-1-[2,6-дихлор-4-(трифлуорметил)феніл]-4-[(трифлуорметил)-сульфініл]-1Н-піразол-3-карбонітрил [7], належить до групи хлорорганічних речовин (ХОР) і є діючою речовиною низки пестицидів: Регент 25, Регент 30, Регент 80 GW, Адоніс 40 ЕС, Принц 200 КС, які широко використовуються в сільському господарстві для боротьби із шкідниками культурних рослин. Значна кількість використаних пестицидів потрапляє у ґрунті та поверхневі води, де відбувається їх акумуляція і біодеградація, що негативно впливає на водні екосистеми. У зв'язку з цим виникає проблема оцінки токсичності нових пестицидів для гідробіонтів, включно риби.

Даних про вплив пестицидів з діючою речовиною фіпроніл на життєдіяльність водяних тварин відносно мало. Встановлено, що  $LC_{50}$  (96 г) пестициду Регент 25 для японського коропа становить 0,34 мг/дм<sup>3</sup> [7]. Однак питання стосовно енергозабезпечення процесу адаптації гідробіонтів до токсичної дії ХОР на рівні вмісту макроергічних фосфорних сполук залишаються нез'ясованими. Тому мета нашої роботи полягала у дослідженні дії фіпронілу в концентрації 50, 75 та 100 мкг/дм<sup>3</sup> [1] на енергозабезпечення зябрового апарату та печінки коропа. Енергозабезпечення визначали за вмістом аденілових нуклеотидів (АТФ, АДФ і АМФ), їх суми (АД) та величиною аденілатного енергетичного заряду (АЕЗ).

**Матеріал і методика досліджень.** Об'єктом досліджень були дволітки коропа (*Cyprinus carpio* L.) масою 250—300 г, вирощені на Білоцерківській експериментальній гідробіологічній станції Інституту гідробіології НАН України.

© Миронюк М. О., Арсан В. О., 2012

До дослідів риб протягом місяця утримували у басейні об'ємом 1 м<sup>3</sup> при температурі води 18—20°C. Вміст кисню у воді підтримували на рівні 5,8—6,4 мг/дм<sup>3</sup>. У цей період їх годували гранульованим рибним кормом К-III-10.

При постановці експерименту риб по 5 екз. поміщали в акваріуми об'ємом 100 л з відстояною водопровідною водою, обладнані термо- та газорегуляторами для підтримання стандартного рівня гідрохімічних показників. Під час проведення дослідів температуру води підтримували автоматично на рівні 20—22°C — продовжували годування.

Фіпроніл вносили безпосередньо у воду акваріумів, інтенсивно перемішуючи. Період адаптації риб становив 14 діб, що вважається достатнім для формування адаптивних захисних механізмів [5]. З метою запобігання впливу на риб екзометаболітів та залишків комбікорму і для підтримання постійної концентрації фіпронілу воду в акваріумах змінювали що два дні з додаванням відповідної кількості цієї речовини. Як контроль використовували величини досліджуваних показників у тканинах риб, що перебували у воді акваріумів без додавання фіпронілу.

Вміст АТФ, АДФ та АМФ в печінці і зябрах риб визначали методом тонкошарової хроматографії на силуфолових пластинках та спектрофотометричним методом [2, 4]. Величину АЕЗ визначали за Д. Аткінсоном [6] як співвідношення концентрацій окремих аденілових нуклеотидів:  $АЕЗ = (АТФ + 0,5АДФ) / (АТФ + АМФ + АДФ)$ . Отримані результати досліджень оброблено статистично з використанням *t*-критерію Стьюдента [3].

### *Результати досліджень та їх обговорення*

В результаті досліджень встановлено, що фіпроніл значною мірою впливав на вміст аденілових нуклеотидів в організмі коропа (табл. 1, 2).

Так, за дії фіпронілу в концентрації 50 мкг/дм<sup>3</sup> в зябрах коропа кількість АТФ, АДФ та АМФ зростала відповідно у 5,9, 5,8 та 4,6 разу порівняно з контролем. Подібна картина спостерігалась при дії фіпронілу в концентрації 75 мкг/дм<sup>3</sup>: вміст АТФ збільшувався в 5,2, АДФ — у 3,1 та АМФ — у 5,2 разу. Це свідчить про посилення окисного фосфорилування, в результаті чого зростає синтез аденілових нуклеотидів в зябрах коропа та достатнє забезпечення клітин зябер макроергічними фосфорними сполуками. На це також вказувало збільшення їх суми в 5,3 разу за дії 50 мкг/дм<sup>3</sup> фіпронілу та у 4,5 разу за дії 75 мкг/дм<sup>3</sup>.

Аналогічна картина змін вмісту АТФ, АДФ і АМФ спостерігалась в зябрах коропа за дії максимальної з досліджуваних концентрацій фіпронілу — 100 мкг/дм<sup>3</sup>. Так, вміст АТФ зростав в 4,9, АДФ — у 3,6, а АМФ — в 7,3, а сума аденілатів — в 5,5 разу порівняно з контролем. Це свідчить про достатнє забезпечення зябрового апарату риб макроергічними сполуками. При цьому відсутність вірогідних змін АЕЗ порівняно з контролем за дії усіх досліджених концентрацій фіпронілу вказує лише на значне взаємоперетворення макроергічних сполук між собою та їх інтенсивну участь в обміні речовин.

**1. Вміст аденілових нуклеотидів (АТФ, АДФ, АМФ), їх суми (АД) (мкмоль/г сирової маси) та АЕЗ в зябрах коропа за дії фіпронілу ( $M \pm m, n = 3$ )**

Вміст фіпронілу, мкг/дм <sup>3</sup>	АТФ	АДФ	АМФ	АД	АЕЗ
Контроль	0,18±0,01	0,21±0,02	0,27±0,02	0,66±0,03	4,30±0,06
50	1,06±0,01*	1,21±0,09*	1,24±0,09*	3,50±0,16*	4,80±0,15
75	0,93±0,04*	0,64±0,14*	1,40±0,06*	2,97±0,21*	4,20±0,11
100	0,89±0,22*	0,76±0,17*	1,97±0,13*	3,62±0,48*	3,40±0,37

П р и м і т к а. Тут і в табл. 2: \* результат вірогідний.

**2. Вміст аденілових нуклеотидів (АТФ, АДФ, АМФ), їх суми (АД) (мкмоль/г сирової маси) та АЕЗ в печінці коропа за дії фіпронілу ( $M \pm m, n = 3$ )**

Вміст фіпронілу, мкг/дм <sup>3</sup>	АТФ	АДФ	АМФ	АД	АЕЗ
Контроль	4,08±0,34	2,69±0,15	3,04±0,61	9,71±0,36	5,60±0,50
50	2,26±0,18*	3,07±0,05*	3,65±0,96	8,98±1,02	4,30±0,40
75	2,69±0,09*	5,54±0,16*	9,34±0,28*	17,56±0,40*	3,10±0,10*
100	5,25±1,00	2,37±0,21	2,91±0,71	10,52±1,58	6,10±0,50

Дія фіпронілу на процеси генерування енергії у печінці коропа мала деякі особливості (див. табл. 2). Аналіз отриманих результатів показав, що фіпроніл призводив до зниження вмісту АТФ та зростання вмісту АДФ в цьому органі порівняно з контролем.

Слід відмітити, що за дії фіпронілу в концентрації 50 мкг/дм<sup>3</sup> спостерігалось вірогідне зниження вмісту АТФ на 44,6% та зростання вмісту АДФ на 14,2% відносно контролю, при цьому величина АЕЗ клітин печінки не змінювалась. В той же час фіпроніл в концентрації 75 мкг/дм<sup>3</sup> зменшував енергозабезпечення клітин печінки риб АТФ, про що свідчило зниження АЕЗ на 44,6%. Незважаючи на зростання в цій тканині вмісту АДФ (вдвічі) та АМФ (втричі), вміст АТФ знижувався на 34,1% відносно контролю. Це може бути показником переважання гліколітичних процесів над аеробними.

Слід зазначити, що дія фіпронілу в концентрації 100 мкг/дм<sup>3</sup> не викликала вірогідних відхилень вмісту макроергічних сполук, їх суми та величини АЕЗ від контролю. Ці результати вказують на те, що за таких умов в печінці риб швидкість синтезу АТФ дорівнює швидкості його розпаду.

**Висновки**

Аналіз представленої матеріалу дозволяє припустити, що генерування енергії у зябрах коропа при його адаптації до різних концентрацій фіпронілу

здійснюється аеробним шляхом. Відомо, що зябровий апарат безпосередньо контактує з водним середовищем та виконує важливу роботу, пов'язану із забезпеченням організму риб киснем та абсорбцією різних речовин, в тому числі і фіпронілу. Енергозабезпечення при цьому здійснюється за рахунок аеробного шляху, який є найбільш енергоємним.

Натомість у печінці риб досліджені концентрації фіпронілу до певної міри інгібують аеробні процеси, що дозволяє припустити переважання в ній процесів гліколізу.

\*\*

*Исследовали действие фипронила на содержание АТФ, АДФ, АМФ, их сумму и величину АЭЗ в печени и жабрах карпа. Показано, что фипронил влияет на количество макроэргических соединений в тканях рыб, активирюя процессы гликолиза в печени и аэробные процессы в жабрах рыб.*

\*\*

*The content of adenosine mono-, di- and triphosphates was studied in gills and liver of carp. It is established that fipronil have an influence on quantity of macroergic compounds.*

\*\*

1. Беспмятнов Г. П., Кротов Ю. А. Предельно допустимые концентрации химических веществ в окружающей среде: Справочник. — Л.: Химия, 1985. — 304 с.
2. Калинин Ф. Л., Лобов В. П., Жигков В. А. Справочник по биохимии. — Киев: Наук. думка, 1971. — С. 156 — 160.
3. Лакин Г. Ф. Биометрия. — М.: Высш. шк., 1990. — 351 с.
4. Маляревская Ф. Я., Билык Т. И., Шестерюк В. В., Тугай В. А. Сезонная динамика макроэргических соединений в мышцах рыб // Гидробиол. журн. — 1985. — Т. 21, № 4. — С. 55 — 65.
5. Хлебович В. В. Акклимация животных организмов. — Л.: Наука, 1981. — 135 с.
6. Atkinson D. E. The energy charge of the adenylate pool as a regulatory parameter. Interaction with feedback modifiers // Biochemistry. — 1968. — Vol. 2, N 11. — P. 4030 — 4034.
7. Tomlin C. The pesticide manual, incorporating the agrochemicals handbook. — 10th edn. — UK, British Crop Protection Council, 1994. — 1341 p.

<sup>1</sup> Інститут гідробіології НАН України, Київ

<sup>2</sup> Національний університет біоресурсів та природокористування України, Київ