

УДК 591.05: 597.556. 331.1(591.11:591.044)

М.В. ПРИЧЕПА, О.С. ПОТРОХОВ, О.Г. ЗІНЬКОВСЬКИЙ

Інститут гідробіології НАН України
пр. Героїв Сталінграда, 12 Київ–210, 04210, Україна

МЕТАБОЛІЧНІ СТРЕС-РЕАКЦІЇ В ОКУНЯ *PERCA FLUVIATILIS L.* ТА ЙОРЖА *GUMNOCEPHALUS CERNUA L.* ЗА ДІЇ ФЕНОЛУ ТА БІХРОМАТУ КАЛІЮ

Проаналізовано вплив фенолу та біхромату калію на метаболічні показники окуня та йоржа. Показано, що дія токсикантів спричинила зростання активності лактатдегідрогенази, лужної фосфатази та вмісту кортизолу у плазмі крові риб. Дія токсикантів викликала зниження вмісту тироксину та глюкози у плазмі риб. Встановлено, що за досліджуваними параметрами йорж є більш чутливим щодо ксенобіотиків, ніж окунь.

Ключові слова: окунь, йорж, токсичність, адаптація, біохімічні показники, метаболізм

Одними з найпоширеніших у водному середовищі токсикантів є фенол та сполуки шестивалентного хрому, що впливають на гормональну систему регулювання перебігу метаболічних процесів в організмі. Риби, як і інші гідробіоти, які мешкають у водному середовищі, реагують на надходження у водойми токсичних сполук зміненням їх фізіолого-біохімічного статусу. Адекватність і своєчасність їх відповіді на дію несприятливих чинників залежить від ступеня адаптованості окремого виду до змінення умов середовища та умов в його екологічній ніші [4, 15, 16, 20]. Суттєва роль у забезпеченні адаптивних процесів до дії токсинів належить гормонам інтерренальної [7, 9, 19] та щитоподібної залоз [5, 13, 18], ферментам енергетичного та фосфорного обміну [2, 6, 11, 14, 17, 20], а також глюкозі як найбільш доступному енергоресурсу у тварин [10, 12]. Однією з найперших реакцій на стрес є виділення інтерренальною залозою кортизолу у плазму крові [6, 8]. Саме він відповідає за посилення чи пригнічення загальної інтенсивності перебігу метаболічних процесів за дії стрес-агентів різної природи. Завдяки швидкості змінення фізіологічного стану і формується пластичність видів щодо умов існування.

Останнім часом відбуваються зміни у іхтіоценозів природних водойм. Дослідження аборигенних видів можуть показати зміни в межах видового складу, які відбуваються в наслідок дії ксенобіотиків при забрудненні екосистем [20]. Безперечно необхідним є вибір найбільш доступних біохімічних показників фізіологічного стану риб для оцінки якості водного середовища. Такі результати можуть бути використані для розуміння екологічної пластичності аборигенної іхтіофауни в умовах мінливості чинників середовища [1].

Метою цього дослідження є визначення ступеня токсичності фенолу та біхромату калію на фізіолого-біохімічні показники окуня та йоржа та подальшого їх використання для біоіндикації стану водних екосистем.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводились на Білоцерківській експериментальній гідробіологічній станції Інституту гідробіології НАН України. Риб утримували у 60-літрових акваріумах при постійній аерації води. Вміст розчиненого кисню був не меншим, 7,5 мг О/дм³. Середня температура води становила 20,5°C, рН – 7,8. Концентрація фенолу в експерименті становила 0,2; 0,5 та 2,0 мг/дм³, біхромату калію – 2,5; 5,0; 10,0 та 12,5 мг/дм³. Тривалість експозиції риб в розчинах токсикантів становила 96 год. Після закінчення відбирали кров із серця риб гепаринізованим шприцом. Кров центрифугували для виділення плазми протягом 15 хв. при 6 тис./хв. Потім плазму крові зберігали при температурі –18°C. У лабораторних умовах визначали активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) і лужної фосфатази (ЛФ) та вміст глюкози глюкозооксидазним методом спектрофотометрично з використанням стандартних комерційних наборів «Філісіт-Діагностика» (Україна) та спектрофотометру СФ-26. Вміст кортизолу та тироксину визначали імуноферментним методом з використанням наборів реагентів «ДС-ИФА-Стероид-Кортизол» (Науково-виробниче об'єднання «Діагностичні системи», Росія) та Т4-ИФА (Науково-виробнича лабораторія «Гранум», Україна) та

ІФА-аналізатора Rayto RT-2100С. Статистичну обробку даних проводили з використанням програми Statistica 5.5.

Результати досліджень та їх обговорення

Встановлено достовірне зниження вмісту тироксину в плазмі крові окуня за дії фенолу в концентрації від 0,2 до 2,0 мг/дм³ в 1,63–3,70 рази відповідно щодо контролю. Це свідчить про пригнічення метаболічних процесів у відповідь на фенольну інтоксикацію. У йоржа виявлена подібна картина. Однак вміст гормону знизився більше, ніж у окуня, і зменшувався в 1,85–4,74 рази щодо контролю (рис. 1).

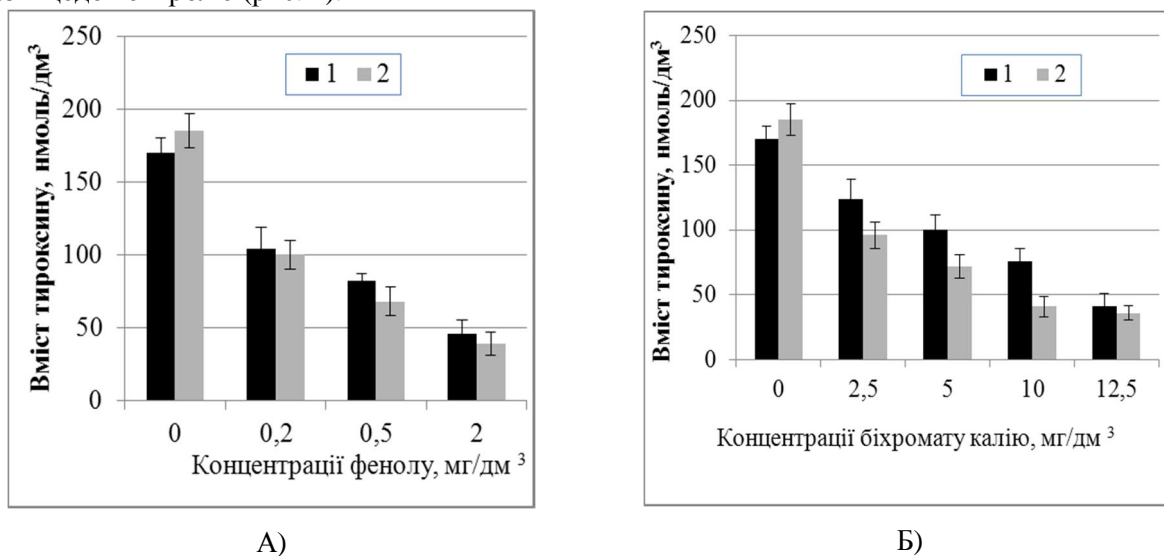
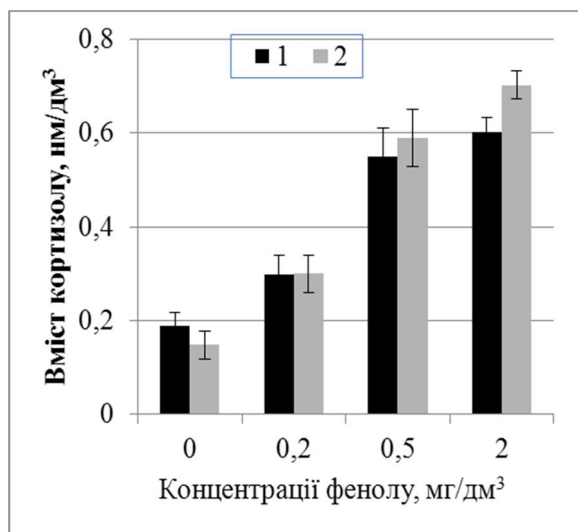


Рис. 1. Вміст тироксину в плазмі крові окуня (1) та йоржа (2) за дії фенолу (А) та біхромату калію (Б), $M \pm m$, $n = 6$.

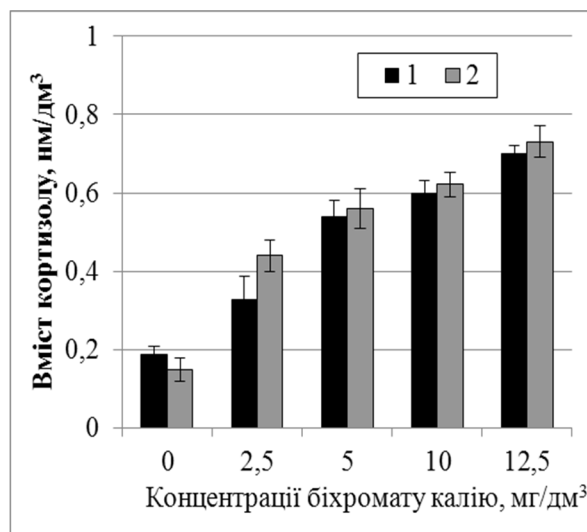
Дія біхромату калію викликала ще більше зниження вмісту тироксину у риб. Спостерігали зниження вмісту тироксину в плазмі крові за збільшення концентрації токсину у воді в 1,37–4,14 разів у окуня та в 1,92–5,14 разів у йоржа щодо контролю.

За дії вивчених токсинів відбувається зменшення вмісту тироксину. Звертає на себе увагу той факт, що два різних за хімічною природою токсиканта, яким властиві різні шляхи детоксикації та метаболізму в тканинах риб, викликають подібні зміни гормонального фону. Зокрема, вміст тиреоїдних гормонів негативно корелює з концентрацією обох токсикантів. Можна припустити, що зміни цього показника залежать не від хімічної природи токсиканта, а від концентрації. Отже, має місце розвиток реакції організму на діючі чинники за типом стресу. Адаптивна роль зниження вмісту тироксину полягає в уповільненні енерговитрат та зниженні обміну речовин між зовнішнім токсичним середовищем та тканинами риб.

Кортизол умовно можна вважати гормоном стресу. Швидке зростання його вмісту в крові на початкових етапах адаптації обумовлює посилення опірності організму та викликає адекватні зміни фізіологічного стану у відповідь на вплив несприятливих чинників середовища. Нами встановлено, що за дії фенолу залежно від його концентрації достовірно зростає вміст кортизолу в плазмі крові окуня у 1,6–3,2 рази, йоржа – в 2,0–4,7 рази порівняно з контролем (рис. 2). Дія біхромату калію також викликає збільшення вмісту кортизолу в плазмі у всіх досліджуваних концентраціях. Рівень цього показника сягав 0,328–0,700 нмоль/дм³ у окуня та 0,440–0,731 нмоль/дм³ у йоржа проти 0,188 нмоль/дм³ у контролі. Характерним є те, що вміст кортизолу в обох досліджених видів змінюється під дією стресового чинника незалежно від хімічної природи токсиканту, як і у випадку з тироксином. Однак спрямування цих змін є протилежним.

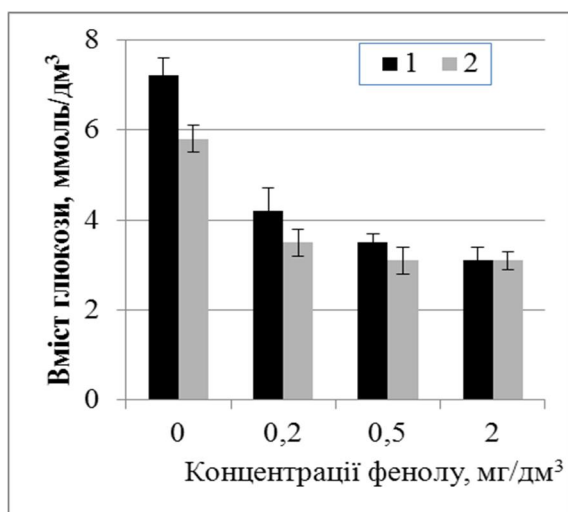


А)

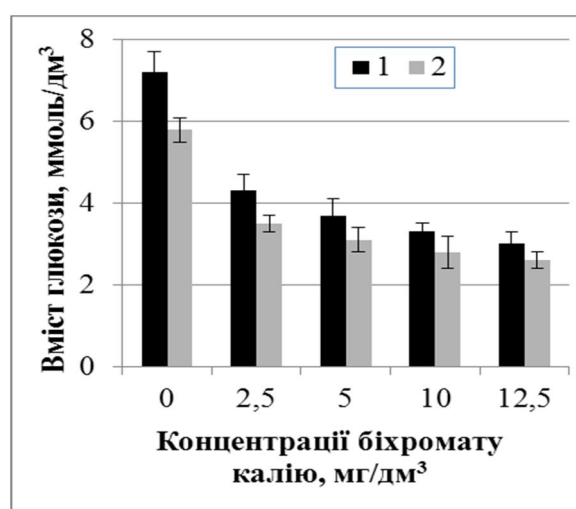


Б)

Рис. 2. Вміст кортизолу в плазмі крові окуня (1) та йоржа (2) за дії фенолу (А) та біхромату калію (Б), $M \pm m$, $n = 6$.



А)

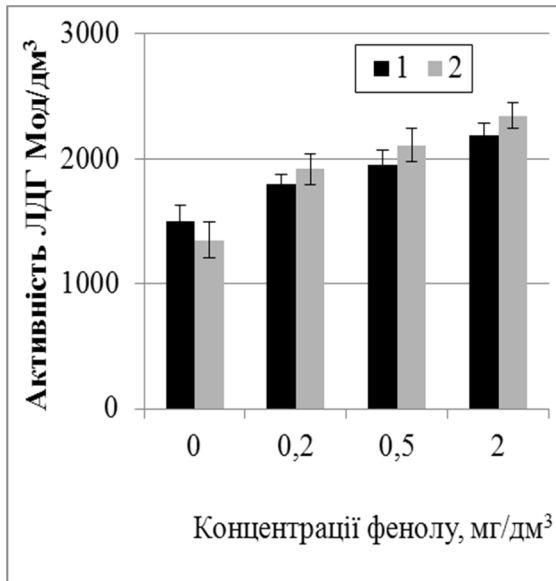


Б)

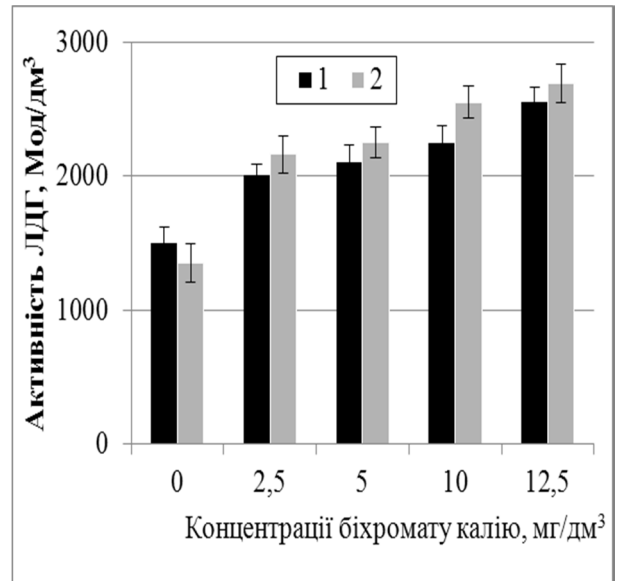
Рис. 3. Вміст глюкози у плазмі окуня (1) та йоржа (2) за дії фенолу (А) та біхромату калію (Б), $M \pm m$, $n = 6$.

У свою чергу відзначено негативну кореляцію між вмістом кортизолу та глюкози у плазмі крові риб. Під впливом фенолу та біхромату калію у окуня та йоржа зменшується вміст глюкози при підвищенні вмісту цього гормону. Глюкоза використовується рибами для енергетичного забезпечення адаптації, що ініціює підвищення вмісту кортизолу. Додаткові енерговитрати забезпечують детоксикацію та екскрецію токсикантів (рис. 3).

Відмічено зростання активності ЛДГ у плазмі крові за дії біхромату калію в окуня на 20,0–70,0%, у йоржа – на 60,0–99,2% порівняно з контролем (рис. 4). Вплив фенолу був меншим бо активність ЛДГ становила для окуня 1800–2010 МОД/дм³, а у йоржа – 1950–2250 МОД/дм³ проти 1500 МОД/дм³ у контролі. Токсиканти викликають зростання гліколітичних процесів у організмі обох досліджуваних видів риб. Вірогідно, що через безпосередню дію токсинів на респіраторний апарат зябер відбувається послаблення їх функціонування і недостатність кількості кисню у крові компенсується посиленням анаеробного дихання. Додаткова енергія отримується при окисненні пірувату до лактату, що і підтверджується зростанням активності ЛДГ.



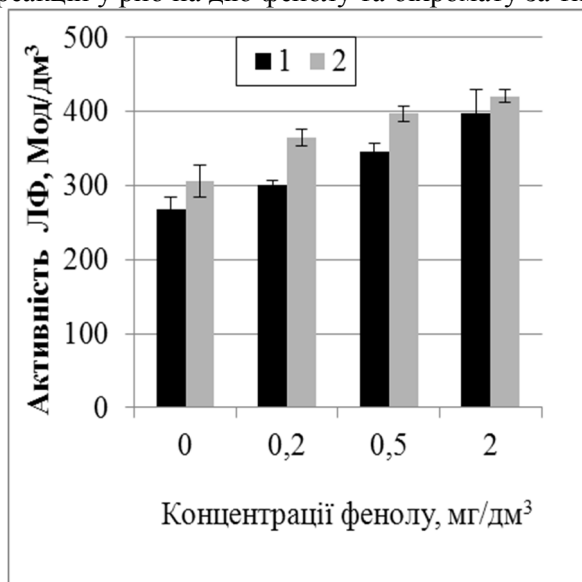
А)



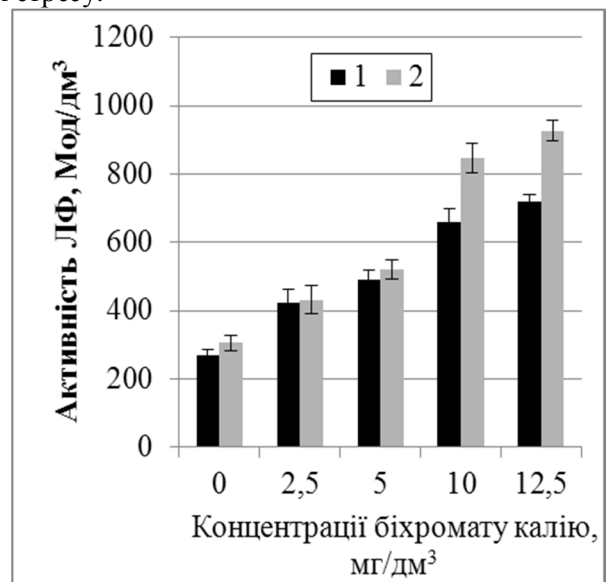
Б)

Рис. 4. Активність ЛДГ в плазмі крові окуня(1) та йоржа (2) за дії фенолу (А) та біхромату калію (Б), $M \pm m$, $n = 6$.

За дії фенолів в окуня та йоржа відбулося зростання активності ферментів фосфорного обміну, зокрема лужної фосфатази, тобто інтоксикація організму спричиняла утилізацію енергоємних сполук та задіяла процеси фосфорилізації. В окуня цей показник у концентраціях тримався на рівні 301,0–398,1 МОД/дм³, у йоржа – 365,0–421,0 МОД/дм³ залежно від концентрації фенолу у воді та, відповідно, проти 268,0 та 305,8 МОД/ дм³ у контролі. Вплив біхромату калію спричинив зростання активності ферменту в 1,6–2,7 у окуня та 1,4–3,0 у йоржа порівняно з контролем. Висока активність лужної фосфатази є одним з підтверджень наявності адаптивних реакцій у риб на дію фенолу та біхромату за типом стресу.



А)



Б)

Рис. 5. Активність лужної фосфатази в плазмі крові окуня (1) та йоржа (2) за дії фенолу (А) та біхромату калію (Б), $M \pm m$, $n = 6$.

Висновки

Дія фенолу та біхромату калію істотно змінює напрямок обмінних процесів у йоржа та окуня, що виявляється у значному зниженні вмісту тироксину у плазмі крові та пригніченні загальної активності метаболічних процесів.

Зміни метаболічних показників, які спостерігаються в організмі обох видів риб, свідчать про розвиток стрес-реакції. Інтенсивність реакції риб не залежить від хімічної природи токсиканта, а визначається їх концентрацією у воді. Насамперед збільшується вміст кортизолу, що викликає посилення енергетичних витрат на адаптацію. Завдяки цим процесам відбувається підвищення активності ферментів фосфорного та енергетичного обмінів, знижується вміст глюкози у плазмі крові.

Фізіолого-біохімічні показники йоржа змінюються в ширшому діапазоні, що свідчить про більшу метаболічну пластичність та адекватність адаптивних реакцій до дії токсинів порівняно з окунем.

Фізіологічний стан природних популяцій окуневих риб можна розглядати як потенціал ступеня забруднення водойм токсичними сполуками.

1. *Немова Н.Н.* Биохимическая индикация состояния рыб / Н.Н. Немова., Р.У. Высоцкая. — М: Наука, 2004. — 285 с.
2. *Рощина О.В.* Анализ сезонной динамики активности сывороточных ферментов морского ерша *Scorpaena porcus* / Рощина О.В. // Вопросы рыболовства. — 2010. — Т. 11 (3). — С. 413—469.
3. *Activity levels of phosphatases of the air-breathing cat fish *Mystus cavasius* exposed to electroplating industrial effluent chromium* / [Palamisamy P., Sasikala G., Mallikari D et al.] // *Biology and Medicine*. — 2012. — Vol. 2. — P. 60—64.
4. *Aly S.M.* Pathological, biochemical, hematological and hormonal changes in catfish exposed to lead pollution / S.M. Aly, M.S. Zaki, E.L. Genrity // *J. Ejupt Vet. Med. Assoc.* — 2012. — Vol. 63. — P. 331—342.
5. *Brown S.B.* Altered thyroid status in lake trout (*Salvelinus namaycush*) exposed to co-planar 3,3 4,4, 5-pentachlorobipheny / S.B. Brown, R.E. Evans, L. Vandenbyllard, K.W. Finnson // *Aquat. Toxicol.* — 2004. — Vol. 67. — P. 75—85.
6. *Evaluation of changes in metabolic parameters and enzymes involved in metabolic pathways in *Clarias botrachus* after exposed to phenolic compounds* / [A. Alesander, O.P. Verna, A. Mathur et al.] // *Asian journal of biomedical and pharmaceutical sciences*. — 2013. — Vol. 3 (21). — P. 60—67.
7. *Hontela A.* Effects of Cu on plasma cortisol and cortisol secretion by adrenocortical cells of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* / A. Hontela, A. Gagnon, C. Jumarie // *Aquat. Toxicol.* — 2001. — V. 78. — P. 59—65.
8. *Interrenal response in climbing perch *Anabas testudineus* Bloch to nitrate exposure: Hydromineral and metabolic considerations* / [A.S. Vijayasree, V. Rejitha, S. Peter et al] // *J. Endocrinol Reprod.* — 2008. — Vol. 12 (2). — P. 73—79.
9. *Iwana G.K.* Stress in fish. / G.K. Iwana, L.O.B. Afonso, M.M Vijayan // *The Physiology of fishes*. — 2006. — P. 319—342.
10. *Jentoft S.* Effects of stress on growth, cortisol and glucose levels in non-domesticated Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) and domesticated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) / S. Jentoft, A.H. Aastveit, P.A Torjesen // *Comparative Biochemistry and Physiology*. — 2005. — Part A. — V. 141. — P. 353—358.
11. *Kori Siakpere O.* Variations in acid phosphatase and alkaline phosphatase activities in the plasma of the African catfish (*Clarias gariepinus*) exposed to sublethal concentrations of potassium permanganate / O. Kori Siakpere, R.B. Ilkomi, M.G Ogbe // *Astan J. Exp. Boil. Sci.* — 2010. — Vol. 1 (1). — P. 170—174.
12. *Martinez-Porchas M.* Cortisol and glucose: Reliable indicators of fish stress / M. Martinez-Porchas, L.R. Martinez-Cordova, R. Ramos-Enriquez // *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*. — 2009. — Vol. 4 (2). — P. 158—178.
13. *Metabolic and thyroidal response in air-breathing perch (*Anabas testudineus*) to water-borne kerosene* / [V.S. Peter, E.K. Joskua, S.E. Wendelaar-Bonga, M.C.S. Peter] // *Gen. Comp. Endocrinol.* — 2007. — Vol. 152. — P. 198—205.
14. *Metabolic changes induced by chronic phenol exposure in mantrixa brycon cepkalus juvenilus* / [T.S.F. Hori, I.M. Avilez, I.K. Inone, G. Mraes // *Comp. physiology*. — 2006. — Vol. 143 (1). — P. 67—72.
15. *Nahed S.* Effect of environmental pollution by phenol on some physiological parameters of *Oreochromis niloticus* / S. Nahed., S. Cad, S. Amad // *Global veterenaria*. — 2008. — Vol. 2 (6). — P. 312—319.
16. *Nassr-Allah H.* Physiological and histopatological alterations induced by phenol exposure in *Oreochromis aureus* juveniles / H. Nassr-Allah., Abbel-Hameid // *Turkish journal of fisheries and aquatic sciences*. — 2007. — Vol. 7. — P. 131—138.
17. *Peter M.C.S.* Evidence for an osmoregulatory role of thyroid hormones in the freshwater Mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* / M.C.S. Peter, R.A.C. Lock, S.E. Wendelaar Bonga // *J. Gen. Comp. Endocrinol.* — 2000. — Vol. 120. — P. 157—167.

18. *Plasma prolactin, cortisol and thyroid responses of the brown trout *Salmo trutta* exposed to lethal and sublethal levels of aluminium in acidic soft waters* / [C.D. Waring, J.E. Brown, J.E. Collins et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* — 1996. — Vol. 102. — P. 377—385.
19. *Praveena M. Chromium induced alterations on total alpuses in different tissues of a freshwater fish, Labeo rohita* / M. Praveena, N. Kavitha, K. Jajantha Rao // *Indian Journal of applied research.* — 2013. — Vol. 3 (7). — P. 50—52.
20. *Zaki M.S. Phenol toxicity affecting hematological changes in cat fish (*Clarius lazera*)* / M.S. Zaki, M. Olfat, F.S. Shalaki // *Life science journal.* — 2011. — Vol. 8 (2). — P. 244—248.

Н.В. Причена., А.С. Потрохов., О.Г. Зиньковский

Институт гидробиологии НАН Украины

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ СТРЕСС-РЕАКЦИИ У ОКУНЯ *PERCA FLUVIATILIS L.* И ЕРША *GUMNOCEPHALUS CERNUA L.* ЗА ДЕЙСТВИЯ ФЕНОЛА И БИХРОМАТА КАЛИЯ

Проанализировано влияние токсических соединений на биохимические показатели окуня и ерша. Показано, что влияние фенолов и бихромата калия вызвало возрастание активности лактатдегидрогеназы, щелочной фосфатазы, кортизола. В этом показана адаптивная роль организма окуня и ерша, что проявлялось в замедлении энергозатрат и снижении обмена веществ между внешней токсической средой и тканями организма. Действие токсикантов вызвало снижение содержания тироксина и глюкозы в плазме. Изменение указанных показателей свидетельствует об адекватном изменении физиологических процессов относительно влияния неблагоприятных факторов среды. Установлено что за исследуемыми параметрами ерш более чувствителен вид по отношению к влиянию ксенобиотиков, чем окунь. Физиологическое состояние ерша и окуня можно использовать для диагностики уровня пластичности определенных популяций и экосистем в целом в условиях локального загрязнения среды такими токсическими соединениями как фенол и бихромат калия.

Ключевые слова: окунь, ерш, токсичность, адаптация, биохимические показатели, метаболизм

M.V. Prichepa., A.S. Potrokhov., O.G. Zinkovskiy

Institute of hydrobiology NAS of Ukraine

METABOLIC REACTIONS OF STRESS IN PERCH *PERCA FLUVIATILIS L.* AND RUFF *GUMNOCEPHALUS CERNUA L.* FOR ACTIONS OF PHENOL AND POTASSIUM DICHROMATE

The effect of toxic matters on biochemical values of perch and ruff was analyzed. It is shown that effect of phenol and potassium permanganate increase activity of lactate dehydrogenase, alkaline phosphatase, cortisol. This caused to a reaction by the body of stress that is primarily reflected in the activation energy and phosphorus metabolism. Action of toxicants caused to reduced of content of thiroxine and glucose in plasma of fish. This is shown adaptive role of body of perch and ruffe that appeared to slow down energy consumption and decrease metabolism between the external toxicity environment and body tissues. Found that for the studied parameters ruff is more sensitive with respect to the impact of xenobiotic than perch. The physiological condition of ruffe and perch can be used to diagnostic the level of plasticity under conditions of local pollution of environment such toxic compounds as phenol and potassium permanganate.

Keywords: perch, ruff, thyroxin, adaptation, biochemical parameters, metabolism

Рекомендує до друку

Надійшла 25.12.2013

В.В. Грубінко