

УДК (597. 583.1:591.1) (285. 3)

*М. В. Причепя, О. С. Потрохов*

**ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНИЙ СТАН ОКУНЯ  
РІЧКОВОГО *PERCA FLUVIATILIS* ЗА РІЗНИХ  
УМОВ ЗИМІВЛІ**

Вивчено роль кортизолу у регуляції стресових реакцій організму окуня річкового з різних популяцій у зимовий період. Показано, що у риб цей гормон на фізіолого-біохімічному рівні активно сприяє перебігу процесів адаптації до несприятливих умов середовища.

*Ключові слова:* кортизол, активність лактатдегідрогенази, глікоген, вміст кисню, окунь річковий.

Гідрологічний та гідрохімічний режими водойм — два суттєвих чинники, що впливають на функціональний стан риб. Насамперед, вони проявляються у зміні йонного складу та зменшенні вмісту кисню у воді у зимовий період [2]. Відомо, що різкі зміни зовнішніх чинників викликають у риб реакції за типом стресу [7]. Активну участь у цих процесах бере кортикостероїдний гормон — кортизол [3]. Його роль особливо чітко простежується у зимовий період, коли часто виникають явища задухи, які спричиняють зміни фізіологічного стану риб, а енергетичний обмін відбувається за анаеробним типом [6]. Вміст кортизолу у плазмі крові риб широко використовують для моніторингу фізіологічного стану популяцій за різних умов існування [5]. Саме підвищення його вмісту є однією з головних ендокринних реакцій організму риб на стрес [9]. Відомо, що стресові чинники, які викликають збільшення споживання енергетичних речовин, впливають на ростові та обмінні процеси [10]. У свою чергу, коригування енергетичного обміну покращує фізіологічний стан при розвитку стрес-реакцій на несприятливий вплив середовища [5]. Кортизол не лише регулює обмін вуглеводів, ліпідів і білків, а й за певних умов може спричиняти зміни морфофізіологічних індексів, зокрема зростання індексів печінки та гонад [9].

Метою цієї роботи було визначення деяких фізіологічних показників окуня з різних природних популяцій у зимовий період.

**Матеріал і методика досліджень.** Для проведення біохімічних досліджень було виловлено окуня річкового *Perca fluviatilis* L. середньою масою  $36 \pm 0,55$  г і середньою довжиною  $12,5 \pm 0,39$  см з Канівського водосховища (обвідний канал, зат. Собаче гирло), Київського водосховища (с. Ле-

© М. В. Причепя, О. С. Потрохов, 2014

бедівка), р. Рось (Білоцерківське середнє водосховище) та гирла р. Тетерів. Вилон здійснювали у зимовий період за допомогою вудкових знарядь. Райони досліджень характеризувались таким ґрунтовим покривом: у зат. Собаче гирло та у районі с. Лебедівка дно піщане, у гирлі р. Тетерів та у обвідному каналі — мулисте, у р. Рось — замулене із незначними ділянками піску.

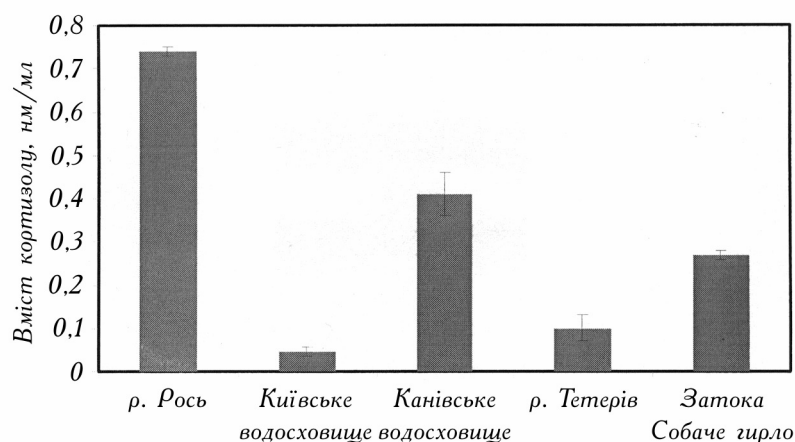
Кров риб відбирали із серця. Плазму відділяли шляхом центрифугування при 5 тис. об/хв протягом 15 хв і заморожували при  $-18^{\circ}\text{C}$ . Вміст кортизолу визначали у плазмі крові, зябрах і білих м'язах, використовуючи імуноферментний аналізатор (Rayto RT-2100C) і комерційні набори ДС-ІФА-Стероїд (НПО «Диагностические Системы», Росія). Вміст глікогену встановлювали у печінці та білих м'язах антроновим методом на спектрофотометрі СФ-26 при довжині хвилі 620 нм [1]. Активність лактатдегідрогенази визначали за допомогою стандартного набору реагентів (Філіс-Діагностика, Україна) на спектрофотометрі СФ-26 при довжині хвилі 365 нм. Отримані дані оброблено статистично з допомогою програми Statistica 5.5.

### *Результати досліджень та їх обговорення*

Результати проведених досліджень показали, що вміст кортизолу у плазмі крові окуня з гирлової ділянки р. Тетерів (0,1 нм/мл) був одним з найнижчих, що пояснюється незначними коливаннями кисневого і гідрологічного режимів цієї водойми та відсутністю явищ задухи, тобто популяція відчувала незначне стресове навантаження з боку навколишнього середовища. Найвищий вміст кортизолу у плазмі крові зареєстрований у окуня з обвідного каналу Канівського водосховища та р. Рось — відповідно у 3,1 та 6,5 рази більший, ніж у риб з гирлової ділянки р. Тетерів (рис. 1). Це пояснюється напруженими умовами існування під час зимівлі — вміст розчиненого у воді кисню у цих водоймах становив відповідно лише 2,3 та 2,9 мг/дм<sup>3</sup>. Також у р. Рось внаслідок скиду води на нижній греблі водосховища рівень знизився на 2 м, що призвело до порушення водообміну. У той же час у окуня з Канівського водосховища в районі зат. Собаче гирло, де не відзначалось різких перепадів вмісту кисню у воді, вміст кортизолу у плазмі крові був лише у 1,8 рази вищим, ніж у риб з гирлової ділянки р. Тетерів.

Найменший вміст кортизолу відзначено у риб з Київського водосховища — на 50% нижчий, ніж у риб з гирлової ділянки р. Тетерів, хоча вміст кисню становив 2,7 мг/дм<sup>3</sup>. При цьому відмічено дещо інші особливості регуляції енергетичного обміну — риби активніше використовували анаеробне дихання за рахунок зростання активності лактатдегідрогенази (ЛДГ). Про це свідчило її максимальне значення у особин цієї популяції (рис. 2).

Таким чином, високий вміст кортизолу у плазмі крові пояснювався більш напруженими умовами існування риб. При цьому відбувались порушення окисно-відновних процесів через посилення енергозатрат у популяціях, що перебували у водоймах з низьким вмістом кисню, і внаслідок розвитку стресових реакцій змінювалась спрямованість енергетичного обміну у напрямку анаеробних процесів. Через додаткове надходження кортизолу у плазму крові відбувалась корекція обмінних процесів.

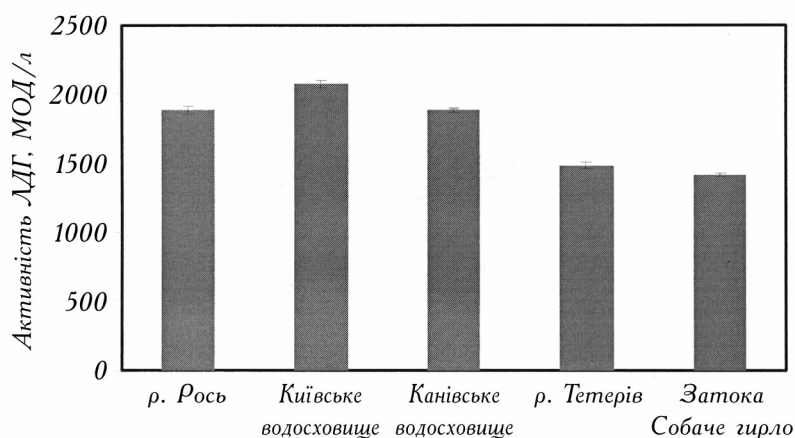


1. Вміст кортизолу у плазмі крові окуня з різних водойм.

Відомо, що в анаеробних умовах глюкоза перетворюється на лактат, тому активність ЛДГ зростає. Це сприяє швидкій та адекватній реакції організму на гіпоксію. На відміну від інших видів риб (плітка, верхівка, судак), окунь не здатний до переміщення на великі відстані. Тому особини з популяцій, що перебували під антропогенним навантаженням, виробили досить широкі межі адаптацій, особливо на рівні енергетичного обміну. Специфіка перебігу метаболічних процесів залежить від умов існування. Значна варіабельність вмісту кортизолу у плазмі крові окунів свідчить про їх високу здатність пристосовуватися до чинників середовища. Важливу роль у процесах адаптації риб до дії несприятливих умов відіграє ендокринне регулювання спрямованості та швидкості обмінних процесів.

Відмічено позитивну кореляцію між вмістом кортизолу у плазмі крові та активністю ЛДГ у окуня з обвідного каналу Канівського водосховища та р. Рось. Активність ЛДГ зросла відповідно на 18,8 і 16,9% порівняно з такою у риб гирлової ділянки р. Тетерів. Її підвищення свідчить про зниження активності аеробних процесів внаслідок недостатнього забезпечення організму киснем. Зміни активності цього ферменту можна використовувати як показник стану навколишнього середовища та для визначення спрямованості енергетичного обміну у риб. Наприклад, у окуня з р. Тетерів активність ЛДГ у плазмі крові досягала 148 МОД/л, що на 8,9% вище, ніж у особин із зат. Собаче гирло. Це свідчило про більш сприятливі умови існування — вміст розчиненого кисню становив відповідно 6,3 та 5,5 мг/дм<sup>3</sup>.

Можливо, суттєві відмінності активності ЛДГ у плазмі крові особин з різних популяцій викликані наявністю у них різних ізоформ цього ферменту, що гарантує високу лабільність його активності та може сприяти широким адаптивним можливостям окуня. В результаті пристосування до різних умов існування, зокрема річкових систем та систем озерного типу, сформувалися популяції, у яких переважали ті або інші ізоформи, найбільш адекватні конкретним чинникам зовнішнього середовища. Це припущення потребує подальших досліджень.



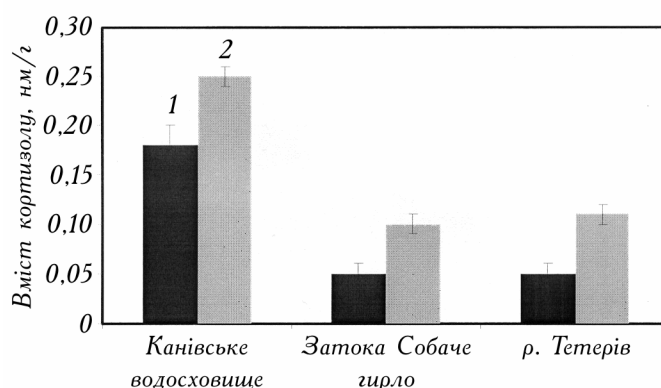
2. Активність лактатдегідрогенази у плазмі окуня з різних водойм.

Також було визначено вміст кортизолу і в інших тканинах, зокрема зябрових пелюстках та білих м'язах окуня різних популяцій. Так, його кількість у зябрах риб з обвідного каналу Канівського водосховища була у 2,5 і 3,6 рази вища, ніж у риб з р. Тетерів та зат. Собаче гирло, а у м'язах — відповідно у 2,27 і 3,61 рази (рис. 3). Таким чином, низький вміст розчиненого кисню у воді у зимових умовах зумовлює підвищення вмісту кортизолу не лише у плазмі крові, а й у інших тканинах.

Отримані результати свідчать, що при зимівлі риб у водоймах з низьким вмістом кисню виникає нагальна потреба гормонального регулювання обмінних процесів, насамперед у зябрах риб, які безпосередньо контактують із водним середовищем. Проте у підтримці енергетичного балансу задіяні і м'язові тканини, особливо білі м'язи, які також беруть участь у запасанні енергоємних сполук. Оскільки гіпоксія перешкоджала нормальному перебігу аеробних процесів, то підвищення вмісту кортизолу спричинювало зміни у забезпеченні організму енергією, що, у свою чергу, покращувало фізіологічний стан риб у несприятливих умовах.

Вміст кортизолу у плазмі крові окуня з обвідного каналу Канівського водосховища був на 64% вищим, ніж у зябрах, у риб з зат. Собаче гирло — на 170%, в той же час у риб з р. Тетерів він був на 10% меншим, ніж у зябрах (див. рис. 3). Це відображає відмінності між відгуком організму риб різних популяцій на коливання кисневого режиму та вибором тканини-мішені, на яку першочергово діє цей гормон.

У всіх досліджених риб вміст кортизолу у плазмі крові був у 2,0—5,4 рази вищим, ніж у м'язах. Це пояснюється більшою роллю крові у процесах передачі ендокринних сигналів усім тканинам-мішеням у відповідь на вплив негативних чинників. Саме кортизол виконує роль сигнальної молекули і сприяє виробленню рибами стратегії біохімічної адаптації. Внаслідок збільшення активності ферментів енергетичного обміну і вчасної та адек-



3. Вміст кортизолу у м'язовій (1) та зябровій (2) тканинах окуня річкового з різних водойм.

ватної мобілізації енергетичних субстратів відбувається пристосування організму до низького вмісту кисню у воді.

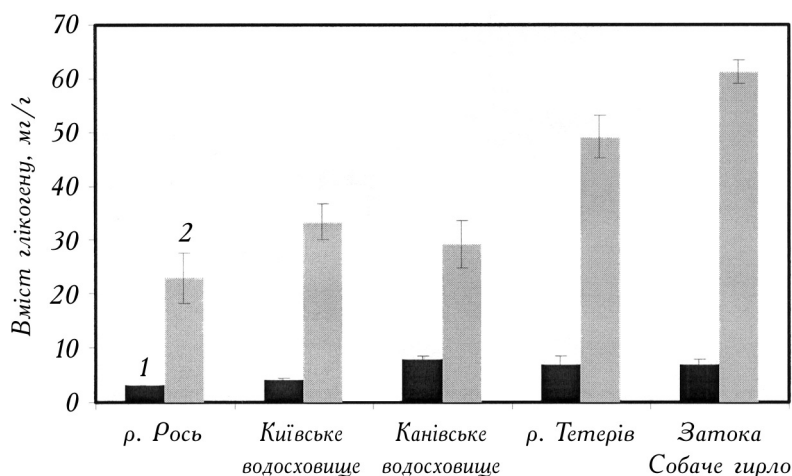
Вміст глікогену у печінці окуня з р. Рось, обвідного каналу Канівського водосховища та Київського водосховища був нижчим, ніж у риб з гирла р. Тетерів, відповідно на 51,6, 48,3 та 37,6% (рис. 4). Це пов'язано

з активним використанням найбільш доступного енергетичного ресурсу у процесах пристосування до несприятливих чинників водного середовища та підтримки гомеостазу.

Вміст глікогену у печінці окуня із зат. Собаче гирло становив 61,8 мг/г, що значно вище, ніж у риб інших популяцій (див. рис. 4). Це можна пояснити кращими умовами нагулу риб у літній період, а також відсутністю стресів у період зимівлі. Тому у зимовий період окунь з цієї популяції замість мобілізації енергоємних сполук накопичував глікоген як додаткове джерело енергії і зберігав його до весняного нересту.

Зростання вмісту кортизолу у плазмі крові, зябрах і білих м'язах супроводжувалось зменшенням вмісту глікогену у печінці та м'язах. При цьому гормон регулював мобілізацію енергетичних резервів тканин для перебігу адаптаційних процесів. Одним із шляхів підтримки гомеостазу у риб при низькій концентрації розчиненого кисню є перехід до анаеробного дихання та використання глікогену як енергетичного субстрату. Була відмічена зворотна кореляція між вмістом кортизолу у плазмі крові та вмістом глікогену у печінці, що є головним депо глікогену в організмі [8]. Відомо, що цей гормон регулює метаболізм глікогену у м'язових тканинах риб [4]. Отже, внаслідок гіпоксії анаеробний обмін переважає над аеробним, а м'язові тканини беруть безпосередню активну участь у цих процесах. При гіпоксії лактат накопичується саме у білих м'язах. Перехід на анаеробне дихання особливо важливий для компенсації дії несприятливих умов середовища.

Вміст глікогену у м'язах змінюється дещо інакше, ніж у печінці. Так, у м'язах окуня з р. Рось та Київського водосховища він був в 2,33 та 1,77 разу меншим, ніж у риб з гирлової ділянки р. Тетерів, а у риб із обвідного каналу практично не відрізнявся від останнього. В той же час саме в обвідному каналі складалась найбільш напружені умови за вмістом розчиненого у воді кисню. Отже, значна кількість глікогену з тканин печінки транспортувалась у м'язи. Різке зниження вмісту глікогену у печінці можна пояснити його



4. Вміст глікогену у печінці (1) та м'язах (2) окуня з різних водойм.

швидкою мобілізацією як енергетичного субстрату для забезпечення організму додатковим джерелом енергії при погіршенні кисневих умов під час зимівлі. Завдяки цьому активуються адаптивні механізми, суть яких полягає у коригуванні обміну речовин кортикостероїдними гормонами та мобілізації глікогену як джерела енергії для окислювальних анаеробних процесів. При зниженні вмісту кисню у воді глікоген печінки і м'язів утилізується першим. Ми спостерігали активний транспорт глікогену з печінки у м'язи риб, саме тому його вміст у риб з обвідного каналу Канівського водосховища був нижчим, ніж з р. Тетерів.

### Висновки

Фізіолого-біохімічний стан риб свідчить, що умови у затоці Собаче гирло (Канівське водосховище) та гирловій ділянці р. Тетерів є більш сприятливими для зимівлі окуня річкового, ніж у обвідному каналі Канівського водосховища та Білоцерківському середньому водосховищі (р. Рось). Це підтверджується підвищенням вмісту кортизолу в плазмі крові окуня з двох останніх водойм порівняно з рибами з р. Тетерів. Також виявлено зростання активності ЛДГ у плазмі крові риб з обвідного каналу, Київського водосховища та р. Рось і зниження вмісту глікогену у печінці окуня з обвідного каналу Канівського водосховища та р. Рось порівняно з гирловою частиною р. Тетерів. Таким чином, внаслідок активної корекції обмінних процесів кортизолом відбувається адаптація окуня до несприятливих умов зимівлі.

\*\*

*Показано участие кортизола в регуляции стрессовых реакций организма окуня речного из разных популяций в зимний период. Установлено, что этот гормон на физиолого-биохимическом уровне способствует протеканию адаптивных процессов у рыб при воздействии неблагоприятных условий среды.*

\*\*

*Paper deals with role of cortisol in regulation of stress reactions of perch from different populations in winter. The hormone was shown to promote adaptation processes in fish at physiological and biochemical levels under the impact of unfavorable environmental factors.*

\*\*

1. *Практикум по биохимии: Учеб пособие / Под ред. С. Е. Северина, Г. А. Соловьевой. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1989. — 509 с.*
2. *Хильчевский В.К., Хильчевский Р.В., Гороховская М.С. Экологические аспекты выноса с речным стоком химических веществ в водные объекты бассейна Днепра // Вод. ресурсы. — 1999. — Т. 26, № 4. — С. 506—511.*
3. *Iwana G.K., Afonso L.O. B., Vijayan M.M. Stress in fish // The physiology of fishes. Ed. by D. H. Evans and J. B. Claiborne. — Boca Raton: CRC Press, 2005. — P. 601.*
4. *Louise Milligan C.A. Regulatory role for cortisol in muscle glycogen metabolism in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* Walbaum // J. exp. biol. — 2003. — Vol. 206. — P. 3167—3173.*
5. *Martinez-Porchas M., Martinez-Cordova L.R., Ramos-Enriques R. Cortisol and glucose: Reliable indicators of fish stress // Pan-Amer. J. Aquatic Sci. — 2009. — Vol. 4. — P. 158—178.*
6. *Martinez M.L., Chapman L.J., Rees B.B. Population variation in hypoxic responses of the cichlid *Pseudocrenilabrus multicolor* Victoriae // Can. J. Zool. — 2009. — Vol. 87, N 2. — P. 188—194.*
7. *Mommsen T.P., Vijayan M.M., Moon T.W. Cortisol in teleost: dynamics, mechanisms of action and metabolic regulation // Rev. Fish Biol. — 1999. — N 9. — P. 211—268.*
8. *Padmavathy P., Ramanathan N., Tamilnaty J. Quantitative changes of glycogen and lactate in muscle, blood and liver tissues of *Oreochromis mossambicus* under hypoxia and recovery // Vet. Anim. Sci. — 2010. — N 6. — P. 54—59.*
9. *Shanker D.S., Kulkarri R. Effect of cortisol on female freshwater fish *Notopterus notopterus* // J. env. biol. — 2006. — Vol. 27. — P. 721—731.*
10. *Wendelaar Bonga S.E. The stress response in fish // Physiol. Rew. — 1997. — Vol. 77. — P. 591—625.*