

УДК 551.331.1:574.2:591.525(639.3.036591.133.1)

В. М. Марценюк, О. С. Потрохов, О. Г. Зіньковський

**ФІЗИОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ
ПРИСТОСУВАННЯ ОКУНЯ РІЧКОВОГО ТА КОРОПА
ЗВИЧАЙНОГО ДО ДІЇ ПІДВИЩЕНОЇ ТЕМПЕРАТУРИ
ВОДИ**

Досліджено фізіолого-біохімічний стан та особливості енергетичного обміну риб різних таксономічних груп за дії підвищеної температури води. Встановлено, що адаптація до несприятливого температурного чинника у окуня і коропа на біохімічному рівні відбувається різним чином. У окуня з підвищенням температури вміст тироксину та трийотироніну практично не змінюється. У коропа виявлено коливальний характер зміни цих показників. У окуня показники ферментів енергетичного обміну свідчать про уповільнення процесів катаболізму у тканинах, що підтверджується і вмістом глюкози. У коропа підвищення температури спричинює активацію катаболічних реакцій. Показано залежність реакцій енергетичного обміну у обох видів риб від коливального режиму підвищення температури води. Отримані дані вказують на видову специфіку реакції риб на нетипові зміни температурних умов.

Ключові слова: *окунь, короп, температура, енергетичний обмін, тироксин, трийодтиронін, ферменти.*

Вплив температури на якісні і кількісні показники гідроекосистем завжди викликав підвищений інтерес. Цей чинник в останні десятиліття став особливо актуальним, адже за даними доповіді Міжнародної групи експертів з питань зміни клімату середня температура повітря над суходолом за останні сто років зросла на $0,74 \pm 0,18^{\circ}\text{C}$ [6].

Температура тіла риб залежить від температури навколишнього середовища, яка впливає на їх життєдіяльність, рух, живлення, ріст та розмноження. Для кожного виду риб існують оптимальні температурні умови, за яких всі життєві процеси проходять узгоджено [4, 13, 14]. Однак, за їх змін у певному діапазоні, який характерний для ареалу поширення певного виду, сформувалися пристосувальні механізми, що компенсують порушення метаболізму, викликані змінами температури водного середовища. При перевищенні кліматичних норм компенсаторні механізми адаптації риб можуть бути невідповідними, що призведе до виснаження організму та його загибелі.

© В. М. Марценюк, О. С. Потрохов, О. Г. Зіньковський, 2017

Зміни активності енергетичного обміну, зокрема гліколізу та циклу трикарбонових кислот, за дії різних чинників зазвичай встановлюють за активністю ферментів, які беруть участь в цих процесах, зокрема лактатдегідрогенази та сукцинатдегідрогенази [4, 8, 20]. Активність цих ферментів безпосередньо залежить від температури води. Проте, подібні дослідження дають змогу говорити лише про окремі реакції, що каталізуються цими ферментами. Для більш глибокого з'ясування залежності фізіолого-біохімічного стану організму від температури необхідно враховувати нейрогуморальну регуляцію енергетичного обміну, зокрема вміст основних гормонів у плазмі крові [15, 21—23]. Саме вони забезпечують адекватну відповідь організму на силу діючого чинника. Крім того, вплив температури на енергетичний обмін доцільно вивчати за вмістом глюкози як найдоступнішого джерела енергії для більшості живих організмів [24], а також надійного показника стресу [16, 24].

Експериментально встановлено, що тиреоїдні гормони у риб, а саме тироксин (Т4) та трийодтиронін (Т3), здійснюють безпосередню регуляцію перебігу основних реакцій метаболізму [15, 17] і регулюють реакції теплової акліматизації [15].

Зміну вмісту цих гормонів у плазмі крові риб вважають пристосувальним механізмом, спрямованим на протидію стрес-чиннику. Відомо, що Т4 і Т3 в організмі риб можуть взаємозаміщуватися, оскільки виконують майже ідентичні функції, хоча Т3 є активнішою формою, через те, що йому властива більша спорідненість до гормональних рецепторів у тканинах [10, 11, 17, 21, 22]. Для характеристики вмісту тиреоїдних гормонів у крові більш доцільним є використання їх сумарної кількості — Т4 + Т3 як показника адаптивної відповіді риб на дію підвищеної температури. Відомо, що оптимальним температурним діапазоном для коропа є 25—28°C [5], а окуня — 10—22°C [12, 19].

Таким чином, метою дослідження було змоделювати в експерименті добові коливання температури води у природних умовах та встановити особливості біохімічної відповіді коропа звичайного *Cyprinus carpio* L. та окуня річкового *Perca fluviatilis* L. на дію підвищеної температури води враховуючи нейрогуморальну складову регуляції енергетичного обміну.

Матеріал і методика дослідження. Дослідження проведені у червні на дворічках окуня річкового *Perca fluviatilis* L. та коропа звичайного *Cyprinus carpio* L. на Білоцерківській експериментальній гідробіологічній станції Інституту гідробіології НАН України. Риб поміщали в експериментальні акваріуми об'ємом 75 дм³, наповнені водою із р. Рось, яку змінювали один раз на три доби, та обладнані системою нагрівання та аерації. Умови експериментів були наступні: у п'яти акваріумах вода протягом дня поступово нагрівалася до 26, 28, 30 і 34°C, а на ніч нагрівачі вимикались, що призводило до зниження температури води відповідно на 2, 4, 6 та 7—8°C. Контролем слугував акваріум із постійною температурою води 24°C. Вміст розчиненого у воді кисню підтримували у межах $5,5 \pm 0,9$ мг/дм³ (з підвищенням температури вміст кисню у воді дещо знижувався), рН — $7,0 \pm 0,2$. Період акліматизації риб становив 14 діб, що є достатнім для формування адаптивної відповіді на

дію стрес-чинника. Окунів під час експерименту годували мальком чебачка амурського та хірономідами, а коропів — комбікормом.

Після 14 діб аклімації у риб із серця гепаринізованим шприцом відбирали кров, яку центрифугували для виділення плазми протягом 15 хв при 3 тис. об/хв і зберігали при температурі -18°C . У лабораторних умовах спектрофотометрично визначали активність лактатдегідрогенази (ЛДГ) та вміст глюкози глюкозооксидазним методом з використанням стандартних комерційних наборів «Філісіт-Діагностика» (Україна). Активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) встановлювали стандартним методом за кількістю відновленого гексаціаноферату (III) калію [2].

Загальний вміст Т4 і Т3 у плазмі крові риб визначали імуноферментним методом, використовуючи комерційні набори Т3-ІФА та Т4-ІФА (НВЛ Гранум, Україна) та з допомогою ІФА-аналізатору Rayto RT-2100С. Дані статистично обробляли з використанням програм Statistica 10.0 та програми Excel із пакету Microsoft Office.

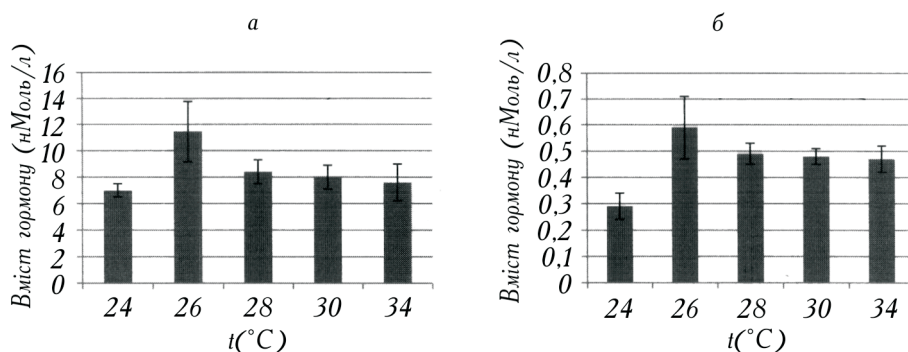
Результати дослідження та їх обговорення

Найвищий вміст Т3 і Т4 у плазмі крові окуня відмічений за температури води 26°C . Це значення перевищувало контрольне відповідно у 1,63 та 2,03 рази (рис. 1). При цьому вміст Т4 був суттєво більшим, ніж Т3 (відповідно 7,0 і 1,01 нМоль/дм³). При більш високій температурі води вміст обох гормонів був нижчим, але відмітки контролю не досяг. При максимальній температурі (34°C) вміст Т4 і Т3 був відповідно у 1,03 та 1,62 рази вище за контроль. Сумарний вміст Т3 + Т4 зберігає описані вище закономірності.

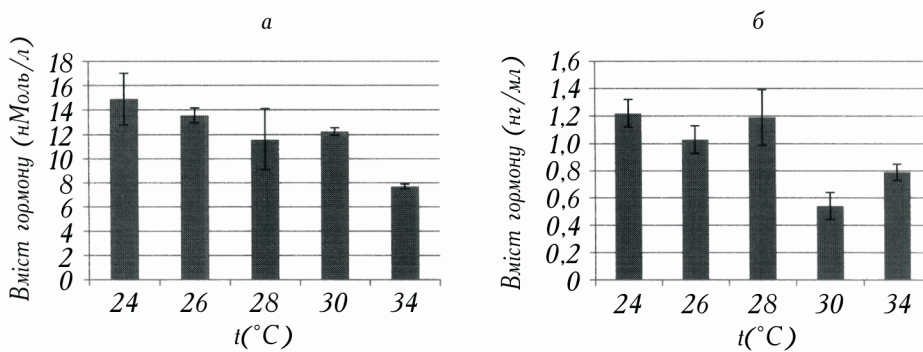
Як правило, при підвищенні температури інтенсивність метаболічних процесів зростає [4, 7, 13]. Проте за тривалої дії високої температури організм виснажується через витрату більшої кількості енергії. Можна припустити, що вміст тиреоїдних гормонів у плазмі крові окуня в експерименті свідчить про початкове пришвидшення енерговитрат в організмі та їх уповільнення при подальшому підвищенні температури, а також своєрідну перебудову метаболізму у бік сповільнення катаболічних реакцій у тканинах [1, 3].

Відомо, що взаємоперетворення Т3 і Т4 значною мірою залежить від температури і рН середовища [14]. Тому можна вважати, що отримане співвідношення вмісту цих гормонів спричинене підвищенням температури. Також такі фізіологічні зміни можуть слугувати механізмом адаптації риб до цього несприятливого чинника [3, 13].

Показники гормонального фону коропа дещо відрізняються від таких окуня (рис. 2). Це може бути пов'язано з різною таксономічною належністю цих видів і, вірогідно, відмінностями у метаболізмі. Оскільки вони займають різні екологічні ніші, то і функціонування гормональної системи у них також різне.



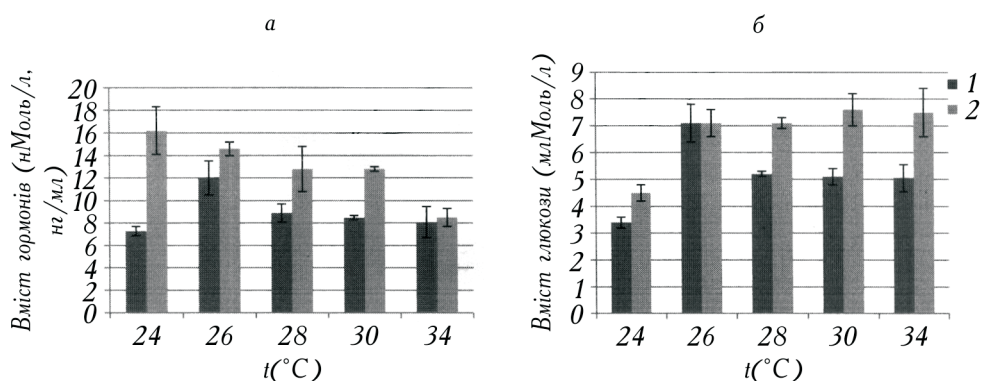
1. Вміст тироксину (а) та трийодтироніну (б) у плазмі крові окуня за дії підвищеної температури води. Тут і на рис. 2—5: $M \pm m$, $n = 5$.



2. Вміст тироксину (а) та трийодтироніну (б) у плазмі крові коропа за дії підвищеної температури води.

Відмічено поступове зменшення вмісту Т4 і Т3 у крові коропа: при 26°C — відповідно у 1,09 та 1,1 рази відносно контролю, при 34°C — у 1,93 та 1,5 рази. Вміст тироксину також був вищим, ніж трийодтироніну (відповідно 14,9 і 4,23 нМоль/дм³). Сумарний вміст Т4 + Т3, як і в окуня, повторює цю закономірність (рис. 3).

Можна припустити, що причиною таких змін також є сповільнення катаболічних процесів, яке у коропа набагато інтенсивніше, ніж у окуня, тобто без попереднього зростання зазначених показників. Такі фізіологічні перебудови можуть супроводжуватись зменшенням генерування енергії внаслідок зниження активності окисно-відновних реакцій [13, 20]. На відміну від окуня, у якого з підвищенням температури води до 28 та 34°C вміст гормонів був майже на одному рівні, у коропа виявлено коливальний характер зміни цих показників. Це, вочевидь, може бути зумовлено різним ступенем споживання кисню тканинами за нетипових температурних умов. Також встановлено, що зниження вмісту тиреоїдних гормонів значно активує ферментативну активність дихального ланцюга [18, 26]. Проте, тривала

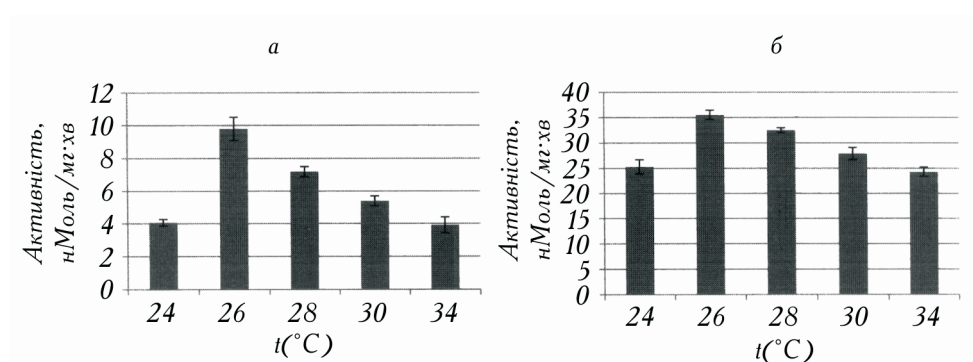


3. Співвідношення сумарного вмісту Т4+Т3 (а) і глюкози (б) у плазмі крові окуня та коропа за дії підвищеної температури води.

дія чинника у подальшому може спричинити порушення співвідношення між генеруванням енергії та її затратою і, як результат, загибель організму [4].

Вміст глюкози у плазмі крові досліджених риб в експерименті також відрізнявся. Відомо, що для риб, як і для інших тварин, глюкоза є основним джерелом енергії [16, 24], проте її генерування і засвоєння відбувається різними шляхами [16]. За температури 26°C вміст глюкози у плазмі крові окуня та коропа збільшувався відносно контролю відповідно у 2,08 та 1,57 разу. При подальшому зростанні температури обидва види реагували різним чином. У окуня при температурі 28—34°C вміст глюкози знижувався, але залишався у межах від 1,52 до 1,48 разу вищим, ніж у контролі. Такі зміни можливо зумовлені поступовим збільшенням середньодобового коливання температури, яке досягало 8°C, через що окунь повністю переставав жити, що і могло призвести до поступового зниження вмісту глюкози. За таких умов активність окремих ферментів енергетичного обміну вірогідно знижується, всупереч підвищенню температури [14, 20], що зумовлено виснаженням організму і тривалою гіпоксією. Іншими словами, тривала дія несприятливого температурного чинника може призвести до порушення балансу між утворенням глюкози та її утилізацією і, як наслідок, до загибелі організму.

У коропа спостерігалось поступове незначне підвищення вмісту глюкози відносно контролю у 1,57—1,66 разу. Це могло б бути свідченням активного функціонування як гліколізу, так і циклу трикарбонових кислот, тобто проявом пристосувальної реакції, спрямованої на підтримання енергетичного гомеостазу [4, 18]. Однак, вищезазначений рівень вмісту гормонів у коропа може свідчити про розвиток стрес-реакцій, а тому, ймовірно, у такому стані може активуватися гідроліз глікогену у печінці, що зумовлює зростання вмісту глюкози [24]. У подальшому зменшення інтенсивності живлення у коропа та тривала дія стрес-чинника може призвести до утилізації великої кількості глюкози та порушення процесів енергозабезпечення, нормальне функціонування яких у коропа відбувається за температури 25—28°C [1, 4].



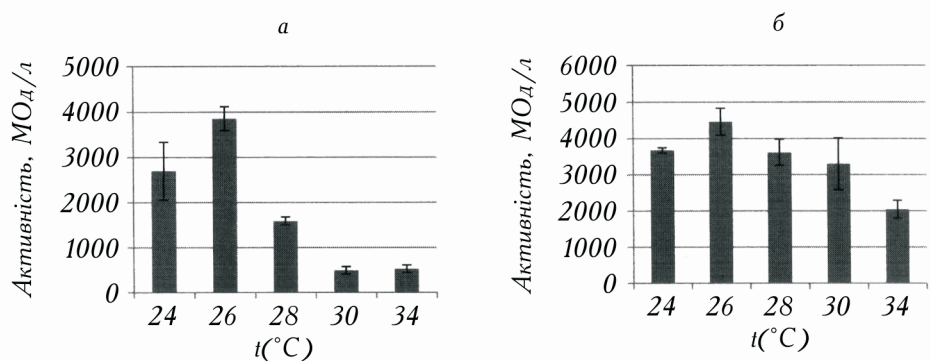
4. Активність сукцинатдегідрогенази у плазмі крові окуня (а) і коропа (б) за підвищеної температури води.

У рибницьких господарствах це може негативно позначитися на рибопродуктивності.

Активність ферментів енергетичного обміну, а саме ЛДГ і СДГ також є важливим показником пристосувальних можливостей різних видів риб [7, 8, 20]. Вона добре корелює із описаними вище результатами та пояснює активацію того чи іншого процесу енергозабезпечення. СДГ — важливий фермент циклу трикарбонових кислот, який каталізує реакцію окиснення сукцинату до фумарату [4]. Її активність значною мірою залежить від наявності кисню, тому в експериментах активність СДГ є значущою. За температури 26°C активність СДГ у окуня та коропа зростала відносно контролю відповідно у 2,41 та 1,4 разу (рис. 4), при цьому її загальна активність у плазмі крові окуня була значно нижчою, ніж у коропа (відповідно 4,05 і 25,3 нмоль/мг·хв).

Підвищення активності СДГ, ймовірно, є наслідком активації окиснення сукцинату в умовах поступового підвищення температури, що також підтверджується відповідною активністю тиреоїдних гормонів [10, 13]. Це можна вважати компенсаторним механізмом, що забезпечує підтримання функціональної активності дихального ланцюга та його енергетичної функції на належному рівні в умовах підвищених температур [4, 18, 25, 26]. Починаючи із 28°C добовий перепад температури зростає. Такі зміни, очевидно, спричинили поступове зниження активності СДГ в обох досліджуваних видів. При максимальній температурі (34°C) активність ферменту відносно контролю у окуня і коропа була нижчою відповідно в 1,03 і 1,04 разу. Така закономірність може свідчити про деяке пригнічення функціонування циклу трикарбонових кислот, а також про інактивацію процесів дихального ланцюга [4, 16].

Лактатдегідрогеназа (ЛДГ) — важливий фермент обміну глюкози, який каталізує реакцію перетворення піровиноградної кислоти в молочну [7]. Активність ЛДГ значно залежить від гормонального впливу. Високий рівень Т4 знижує синтез ферменту, точніше його окремих ізоформ [4, 8]. Було відмічено, що більшою мірою такі зміни відбуваються при адаптації ор-



5. Активність лактатдегідрогенази у плазмі крові окуня (а) та коропа (б) за дії підвищеної температури.

ганізму до несприятливих умов, зокрема температури і мінералізації [3, 23]. За температури 26°C активність ЛДГ у плазмі крові окуня і коропа зростала відносно контролю відповідно у 1,43 та 1,21 разу, що свідчить про переважання анаеробного шляху розщеплення глюкози над аеробним (рис. 5). Також це добре корелює із правилом про підвищення ферментативної активності з підвищенням температури [4, 7]. При подальшому підвищенні температури активність цього ферменту у досліджених риб була різною. У окуня при температурі 28°C активність ЛДГ стрімко знижувалась і досягла мінімального і критичного значення при 30°C (496 МоД/дм³, що у 5,4 разу менше за контроль). У коропа відмічена аналогічна закономірність, але активність ферменту зменшувалась не так стрімко. Мінімальна активність ЛДГ у плазмі крові коропа була при 34°C — 2043 МоД/дм³, що в 1,79 разу нижче контрольної.

Такі зміни можуть свідчити про те, що короп більш витривалий до екстремальних температур. Суттєве зниження активності ЛДГ у окуня свідчить про пригнічення гліколітичних процесів, а зниження активності СДГ — про пригнічення і циклу Кребса [4]. Це підтверджується і вмістом глюкози, який практично не збільшується зі зростанням температури [16, 24]. Також зазначені процеси супроводжуються зміною вмісту гормонів щитоподібної залози. Можна стверджувати, що за таких умов нормальне функціонування енергетичного обміну в організмі окуня погіршується і при тривалій дії чинника може призвести до енергетичного дисбалансу. У коропа зниження значень цих показників не настільки критичне, проте все ж спричиняє специфічний перебіг метаболічних процесів, що у подальшому також призведе до негативних наслідків.

Висновки

Організм окуня та коропа реагує на дію підвищеної температури подібним чином. Проте спостерігаються відмінності в інтенсивності перебігу окремих метаболічних реакцій. Характерним є те, що у обох видів відбувається посилення енерговитрат для забезпечення пристосування до дії несприятливого чинника пе-

реважно за рахунок глюкози. З підвищенням температури води коропа її накопичує, щоб збалансувати енерговитрати, проте, з огляду на активність ферментів, утилізація глюкози сповільнена.

Як у окуня, так і у коропа за таких умов анаеробні процеси переважають над аеробними, проте їх інтенсивність у окуня значно нижча, що підтверджує доволі низька активність ЛДГ у плазмі крові.

За показниками гормонального фону можна стверджувати, що аналогічний вміст певного гормону у обох видів може спричиняти різні зміни у метаболізмі. Для окуня початкове підвищення вмісту тиреоїдних гормонів та його подальше зниження зумовлює уповільнення процесів катаболізму у тканинах, що підтверджується і вмістом глюкози. У коропа такі зміни спричинюють активацію катаболічних реакцій, що підтверджується зростанням вмісту глюкози з 4,5 до 7,6 млМоль/дм³.

Таким чином, відмінності динаміки біохімічних показників у коропа і окуня вказують на різницю у реакції цих видів на нетипові температурні умови. У природних водоймах це може визначати місцеперебування риб, а у штучних — рибпродуктивність.

**

Исследованы физиолого-биохимическое состояние и особенности энергетического обмена рыб разных таксономических групп при воздействии повышенной температуры воды. Установлено, что адаптация к неблагоприятному температурно-му фактору у окуня и карпа на биохимическом уровне происходит различным образом. У окуня с повышением температуры воды содержание гормонов остается почти на одном уровне. У карпа обнаружен колебательный характер изменения этих показателей. У окуня показатели ферментов энергетического обмена свидетельствуют о замедлении процессов катаболизма в тканях, что также подтверждается содержанием глюкозы. У карпа такие изменения вызывают активацию катаболических реакций. В работе показана зависимость протекания реакций энергетического обмена у обоих видов рыб от колебательного режима повышения температуры воды. Полученные изменения биохимических показателей у карпа и окуня указывают на разницу в реакции этих видов на нетипичные изменения температурных условий.

**

The physiological and biochemical status and characteristics of fish metabolism of different taxonomic status under the impact of elevated water temperature have been investigated. It was discovered that perch and carp differently respond to the thermal factor at biochemical level. As temperature rises, the hormones level in perch remains almost the same. Oscillatory nature of changes of these indicators was found in the carp. Activity of the energy metabolism enzymes in perch showed deceleration of catabolism in tissues, which was also confirmed by glucose content. In carp such changes caused activation of catabolic reactions. The paper revealed dependence of the energy metabolism reactions in both fish species on oscillatory elevations of water temperature. The obtained results regarding changes of biochemical parameters in carp and perch indicate interspecific differences in their response to untypical changes of thermal conditions.

**

1. Ананьева Т. В., Фегоненко О. В. Біохімічні показники тканин і органів окуня (*Perca fluviatilis* L.) Запорізького водосховища // Питання біоіндикації та екології. — 2010. — Вип. 15, № 2. — С. 223—231.
2. Асатиани В. С. Новые методы биохимической фотометрии. — М.: Наука, 1965. — 544 с.
3. Потрохов О. С., Зінковський О. Г., Худіаш Ю. М. Гормональний статус окуня та плітки за зміни екологічних чинників водного середовища // Наук. зап. Терноп. пед. ун-ту. Сер. Біологія. — 2015. — № 3—4. — С. 539—543.
4. Романенко В. Д., Арсан О. М., Соломатина В. Д. Механизмы температурной акклимации рыб. — Киев: Наук. думка, 1991. — 192 с.
5. Сборник нормативно-технологической документации по товарному рыбоводству. — М.: Агропромиздат, 1985. — Т. 2. — 317 с.
6. Abraham J. P. A review of global ocean temperature observations: Implications for ocean heat content estimates and climate change // Rev. Geophys. — 2013. — Vol. 51, N 3. — P. 450—483.
7. Alesander A., Verna O.P., Mathur A. Evaluation of changes in metabolic parameters and enzymes involved in metabolic pathways in *Clarias batrachus* after exposed to phenolic compounds // Asian J. Biomed. Pharmac. Sci. — 2013. — Vol. 3, N 21. — P. 60—67.
8. Chan F. Detection of necrosis by release of lactate dehydrogenase activity // Methods in molec. biology. — 2013. — Vol. 979. — P. 65—70.
9. Farbridge K. J., Leatherland J. F. Temporal changes in plasma thyroid hormone, growth hormone and free fatty acid concentrations, and hepatic 5'-monoiodinase activity, lipid and protein content during chronic fasting and re-feeding in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) // Fish Physiol. Biochem. — 1992. — Vol. 10. — P. 245—257.
10. Garcia-G C., Lopez-Bojorquez L., Nunez J. et al. 3,5-Diiodothyronine *in vivo* maintains euthyroidal expression of type 2 iodothyronine deiodinase, growth hormone, and thyroid hormone receptor beta 1 in the killifish // J. Physiol-Reg. — 2007. — Vol. 293. — P. 877—883.
11. Goglia F. Biological effects of 3,5-diiodothyronine // J. Biochem Mosc. — 2005. — Vol. 70. — P. 203—213.
12. Imbrock F., Appenzeller A., Eckmann R. Diel and seasonal distribution of perch in Lake Constance: a hydroacoustic study and *in situ* observations // J. Fish Biol. — 1996. — Vol. 49. — P. 1—13.
13. Jobling M. Temperature tolerance and the final preferendum — rapid methods for the assessment of optimum growth temperature // Ibid. — 1981. — Vol. 19. — P. 439—455.
14. Kullgren A., Jutfelt F., Fontanillas R. et al. The impact of temperature on the metabolome and endocrine metabolic signals in Atlantic salmon (*Salmo salar*) // Comp. Biochem. Physiol. A. — 2013. — Vol. 164, N 1. — P. 44—53.
15. Little A. G. Thyroid hormone actions are temperature-specific and regulate thermal acclimation in zebrafish (*Danio rerio*) // BMC Biology. — 2013. — P. 15.

16. *Martínez-Porchas M., Martínez-Cyrdova L. R., Ramos-Enriquez R.* Cortisol and glucose: reliable indicators of fish stress? // *Pan-Am. J. Aquat. Sci.* — 2009. — Vol. 4, N 2. — P. 158—178.
17. *Moreno M., De Lange P., Lombardi A. et al.* Metabolic effects of thyroid hormone derivatives // *Thyroid.* — 2008. — Vol. 18. — P. 239—253.
18. *O'Brien K. M.* Mitochondrial biogenesis in cold-bodied fishes // *J. Exp. Biol.* — 2011. — Vol. 214. — P. 275—285.
19. *Riehl R., Baensch H. A.* *Aquarien Atlas. Band. 1.* — Melle; Mergus: Verlag für Naturund Heimtierkunde, 1991. — 992 p.
20. *Seebacher F.* Responses to temperature variation: integration of thermoregulation and metabolism in vertebrates // *J. Exp. Biol.* — 2009. — Vol. 212. — P. 2885—2891.
21. *Sheridan M. A.* Effects of thyroxin, cortisol, growth hormone, and prolactin on lipid metabolism of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, during smoltification // *Gen. Comp. Endocrinol.* — 1986. — Vol. 64. — P. 220—238.
22. *Silva J. E.* Thyroid hormone control of thermogenesis and energy balance // *Thyroid.* — 1995. — Vol. 5. — P. 481—492.
23. *Subhash Peter M. C.* The role of thyroid hormones in stress response of fish // *Gen. Comp. Endocrinol.* — 2011. — Vol. 172, N 2. — P. 198—210.
24. *Teerijoki H.* Fish glucose transporters: molecular cloning and functional characterization // *Nat. Environ. Sci.* — 2002. — Vol. 140. — P. 75.
25. *Verhoeven A. J., Kamer E., Groen A. K., Tager J. M.* Effects of thyroid hormone on mitochondrial oxidative phosphorylation // *J. Biochem.* — 1985. — Vol. 226, N 1. — P. 183—192.
26. *Weitzel J. M., Iwen K. A. H., Seitz H. J.* Regulation of mitochondrial biogenesis by thyroid hormone // *Exp. Physiol.* — 2003. — Vol. 88. — P. 121—128.