



ATLANTINIŲ LAŠIŠŲ (*SALMO SALAR L.*) JAUNIKLIŲ MORFOLOGINIŲ RODIKLIŲ POKYČIAI VEIKIANT SUNKIŲJŲ METALŲ (Zn, Cu, Ni, Cr, Pb, Cd) MIŠINIU: EKSPERIMENTINIS TYRIMAS

Gintarė SAULIUTĖ¹, Gintaras SVECEVIČIUS²

Gamtos tyrimų centro Ekologijos institutas, Vilnius, Lietuva

El. paštas: ¹gintare.sauliute@gmail.com; ²gintaras.svecevicius@takas.lt

Santrauka. Morfologiniai rodikliai – tai toksinio poveikio žuvims indikatoriai. Šie rodikliai (įmitimo koeficientas, visceralinis, žiaunų, kepenų, inkstų ir kt. somatiniai indeksai) paprastai yra taikomi gamtiniuose tyrimuose, norint įvertinti bendrą žuvų fiziologinę būklę, veikiant daugiakomponentei taršai, neišskiriant konkrečių teršalų (pvz., sunkiųjų metalų) poveikio. Šio tyrimo tikslas – eksperimentiškai nustatyti ir įvertinti morfologinių rodiklių pokyčius po 7-ių, 14-os ir 28-ių parų ekspozicijos, veikiant atlantinės lašišos jauniklius prioritetinių sunkiųjų metalų mišiniu esant didžiausioms leistinoms koncentracijoms (DLK), nustatytoms Lietuvos vidaus vandenims: Zn – 0,1; Cu – 0,01; Ni – 0,01; Cr – 0,01; Pb – 0,005 ir Cd – 0,005 mg/l, atitinkamai. Nustatyti visceralinio, kepenų ir inkstų somatinių indeksų žymūs pokyčiai, tačiau įmitimo koeficiento ir žiaunų somatinio indekso pokyčiai buvo nereikšmingi visą ekspozicijos laikotarpį. Iširtų rodiklių koreliacinė analizė atskleidė ketetą svarbių dėsningumų. Gauti duomenys palyginti su gamtinio tyrimo lašišinėse upėse rezultatais.

Reikšminiai žodžiai: atlantinė lašiša, sunkieji metalai, morfologiniai rodikliai, organo somatinis indeksas, bioindikatorius.

Įvadas

Sunkieji metalai itin plačiai naudojami antropogeninėje veikloje, todėl yra priskiriami įprastiniams vandens ekosistemų teršalams (angl. *common aquatic pollutants*). Dėl toksiškumo ir gebėjimo kauptis organizmų kūno audiniuose jie kelia grėsmę ne tik pavieniams vandens organizmams, tačiau ir visai hidroekosistemai (Roy 2010). Tokie metalai, kaip varis, cinkas, nikelis, chromas, kadmio ir švinas, dėl toksiškumo, neriboto persistentiškumo ir biologinio kaupimosi, priskiriami prioritetinėms pavojingosioms medžiagoms (teršalams) daugelyje pasaulio valstybių (Directive 2000/60EC 2000; US EPA 2009). Didelė jų dalis – puikūs vandens kokybės toksiškumo indikatoriai (Scorecard 2011). Sunkieji metalai į žuvies kūno audinius gali patekti dviem pagrindiniais keliais: tiesiogiai – iš vandens per žuvies žiaunas bei kūno paviršių ir netiesiogiai – per virškinamąjį traktą su maistu (Bury *et al.* 2003).

Vandenų teršalai – tai stresoriai, žuvis veikiantys tiesiogiai – didinant jų mirtingumą arba netiesiogiai – sutrikdant fiziologines funkcijas, padidinant arba sumažinant individų augimo tempą (Acevedo-Whitehouse, Duffus 2009; Farkas *et al.* 2002). Yra žinoma, kad stresas daro labai didelę įtaką žuvų reprodukcijos intensyvumui, taip pat ypač veikia jų vystymąsi (Davis, Gaylord 2011). Žuvų

augimas – tai integralinis atsakas į patiriamą stresą, kuris glaudžiai susijęs su maitinimosi įpročiais, energijos suvartojimu, atpalaidavimu ar jos išsaugojimu konkretų laiko tarpą (Nascimento *et al.* 2012; Sedeño-Díaz, López-López 2013). Kadangi žuvis auga visą gyvenimą, augimas kaip kintantis dydis, t. y. santykis tarp individo kūno ilgio ir svorio, tampa svarbiu laiko integruotu rodikliu, vertinant organizmo būklę supančioje aplinkoje.

Lauko tyrimuose dažniausiai yra taikomi šie žuvų morfologiniai rodikliai: įmitimo koeficientas (angl. *Condition Factor*), visceros – [visceralinis (vidaus organų visumos)], branchio – (žiaunų), hepato – (kepenų), reno – (inkstų) somatiniai indeksai (*IK, VSI, ŽSI, KSI, ISI*) (Liebel *et al.* 2013). Jie taikomi kaip standartiniai rodikliai žuvų fiziologijos tyrimuose ir žuvininkystės biologijoje, indikuojantys toksinį poveikį ir teikiantys informaciją apie galimą taršos apkrovą aplinkoje. Tačiau šiems rodikliams įtaką daro ne tik bet kokia tarša, bet ir kiti aplinkos veiksniai (pvz., sezoniškumas, mitybos įpročiai, individų tankumas). Todėl jie turi būti taikomi tik kaip pradiniai žymenys, rodantys supančios aplinkos taršą ir preliminariai nurodantys ekspozicijos trukmę (Van der Oost *et al.* 2003).

Įmitimo koeficientas ir organų somatiniai indeksai (*OSI*) – tai santykiniai dydžiai, kurie susiję su žuvies

organizmu ir jo organais, o kintančios jų vertės rodo, kaip organizmas ir organų sistema sąveikauja su aplinkos stresoriais (Montenegro, Gonzalez 2012).

Įmitimo koeficientas susijęs su žuvies kūno svoriu ir ilgiu bei jo organų somatiniais indeksais, kurie rodo tam tikrų organų proporcingumą kūno atžvilgiu. Šie morfologiniai rodikliai – indikatoriai, padedantys įvertinti bendrą žuvų populiacijos sveikatą (būklę) ir taršos lygį jų buveinėse (Khan 1999; Oliva-Paterna *et al.* 2003; Craig *et al.* 2005).

Apskritai, *IK* tiesiogiai priklauso nuo mitybos intensyvumo, ligos sukėlėjų, toksinių medžiagų buvimo supančioje aplinkoje. Šie veiksniai tiesiogiai lemia organizmo svorio pokyčius (Dethloff, Schmitt 2000). Mityba, ligos ir teršalai – tai tarpusavyje susiję aplinkos veiksniai, turintys įtakos žuvų populiacijos būklei. Moksliniai tyrimai rodo, kad, esant maisto išteklių stygiui, žuvis tampa neatsparios ligoms. Esant dažnam individų sergamumui bei maisto stygiui, kartu mažėja ir įmitimo koeficiento vertė. Hipotezė, kuri teigia, kad sunkiųjų metalų užterštumas gali patikimai sumažinti *IK* vertes, buvo įrodyta keliuose tyrimuose. Tačiau taip pat buvo įrodyta, kad *IK* vertė patikimai gali padidėti sunkiaisiais metalais užterštuose ežeruose, per žuvų augimo sezoną, suintensyvėjus jų maitinimosi greičiui (Couture, Rajotte 2003; Pyle *et al.* 2005).

Organų somatiniai indeksai taip pat puikiai atspindi organų sistemos pokyčius, kuriuos sparčiau lemia aplinkos veiksniai, priešingai nei individo kūno svorio ar ilgio svyravimai. Organo somatinis indeksas – tai organo ir viso kūno masės santykis, kuris tiesiogiai susijęs su toksinių medžiagų poveikiu organui-taikiniui (Giulio, Hinton 2008). Jis taip pat taikomas kaip rodiklis, atspindintis individo reprodukinius ir energetinius pokyčius (Maxwell, Dutta 2005). Iš anksčiau minėtų *OSI*, visceralinis, kepenų ir inkstų somatiniai indeksai dažniausiai taikomi nepalankioms (stresinėms) sąlygoms vertinti, nes jie geriausiai rodo supančios aplinkos ekologinę būklę.

Daugelio autorių nuomone, lašišinės žuvis yra vienos jautriausių bioindikatorių, gebančių parodyti vandens aplinkos ekotoksikologinę būklę (Khodadoust *et al.* 2013).

Šio tyrimo tikslas – eksperimentiškai nustatyti ir įvertinti morfologinių rodiklių pokyčius po 7-ių, 14-os ir 28-ių parų ekspozicijos, veikiant atlantinės lašišos jauniklius prioritетinių sunkiųjų metalų modeliniu mišiniu (SMMM) esant didžiausioms leistinoms koncentracijoms (DLK), nustatytoms Lietuvos vidaus vandenims.

Metodika

Bandymai buvo atliekami su dirbtinai veistomis vienerių metų atlantinėmis lašišomis (*Salmo salar* Linnaeus, 1758). Žuvis buvo atsivežtos iš Meškerinės lašišinių žuvų veislyno

(Švenčionių rajonas). Bandymams buvo parenkamos maždaug vienodo dydžio $170,1 \pm 5,1$ mm, vidutinio svorio $44,1 \pm 4,0$ g individai (vidurkis \pm standartinis nuokrypis, $n = 28$).

Žuvis buvo pratinamos prie laboratorinių sąlygų mažiausiai apie 14 dienų. Jos buvo laikomos pratakuiose 1000 litrų talpos aeruojamuose baseinuose, kuriuose vanduo tiekiamas iš artezinių gręžinių (minimalus debitas 1 l/g jų kūno masės per dieną). Taip pat žuvis buvo laikomos esant natūraliam apšvietimui bei maitinamos kiekviena dieną, ryte, visaverčiu žuvų pašaru (ALLER PLATINUM). Bendras maisto kiekis buvo ne mažesnis kaip 1 % jų kūno masės per dieną. Visą ekspozicijos laiką kontrolinės ir bandymo žuvis buvo maitinamos taip pat.

Vidutinis bandymo vandens kietumas buvo apytiksliai 284 (271–296) mg/l pagal CaCO_3 , šarmingumas siekė 200 (190–210) mg/l pagal CaCO_3 , pH svyravo nuo 7,9 iki 8,1, temperatūra buvo palaikoma nuo 12 iki 13 °C, deguonies koncentracija vandenyje siekė 8–9 mg/l, o ištirpusios organinės anglies (IOA) kiekis buvo žemiau prietaiso aptikimo ribos (<0,3 mg/l).

Bandymai buvo atliekami besisukančio vandens srauto sąlygomis 35 litrų talpos statinaitėse, kurios buvo pripildytos 6/7 lygio nuolat aeruojamo vandens (1 pav.). Žuvis buvo suskirstytos į keturias grupes po septynis individus (viena kontrolinė ir trys bandymo grupės). Kontrolei buvo parinktos neeksponuotos žuvis, o bandymo žuvis buvo veikiamos 7-ias, 14-a ir 28-ias paras šešių prioritетinių sunkiųjų metalų modeliniu mišiniu (SMMM), esant koncentracijoms, atitinkančioms Lietuvos vidaus vandenų didžiausias leistinas koncentracijas (DLK) (Directive 2000/60EC) (1 lentelė). Bandymo tirpalai buvo atnaujinami kasdien, pašėrus žuvis. Paskui žuvis buvo perkeliamos į naujai paruoštus tirpalus.

1 lentelė. Sunkieji metalai ir jų bandymo koncentracijos
Table 1. Heavy metals and their test concentrations

Sunkieji metalai	Šaltinis	Didžiausia leistina koncentracija (DLK), mg/l
Zn	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,1
Cu	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,01
Ni	$\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,01
Cr	$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	0,01
Cd	$\text{Cd}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,005
Pb	$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	0,005

Baigus bandymą, kontrolinės ir bandymo žuvis buvo išmatuotos (viso kūno ilgis (L) ir kaudalinis ilgis (l_c), mm) bei pasvertos (bendras kūno svoris (Q) ir svoris be vidaus organų (q), g). Morfologinių rodiklių analizei reikalingi organai – žiaunos, kepenys ir inkstai buvo išimti ir pasverti ($\pm 0,001$ g tikslumu) (1 pav.).



1 pav. Žuvų ekspozicija ir audinių paėmimas
Fig. 1. Fish exposure and tissue sampling

Žuvų fiziologinei būklei įvertinti buvo apskaičiuoti kontrolinių ir bandymo žuvų morfologiniai rodikliai: imitimo koeficientas (*IK*) ir organų somatiniai indeksai (*OSI*): visceralinis (*VSI*), žiaunų (*ŽSI*), kepenų (*KSI*) ir instų (*ISI*).

Imitimo koeficientas lašišinėms žuvims (*IK*) – tai santykinis dydis, išreikštas žuvies kūno svorio ir ilgio santykiu:

$$IK = \frac{10^N \cdot Q \cdot 100}{l_C^3}, \quad (1)$$

čia *Q* – žuvies bendrasis svoris, g; *N* – vertė (*n* = 5), parinkta, siekiant gauti kuo artimesnę vienetui *IK* vertę; *l_C* – kaudalinis ilgis, mm; lašišinių žuvų kūno ilgis matuojamas nuo snukio pradžios iki uodeginio peleko iškirptės centro (angl. *fork length*) (Barnham, Baxter 2003).

Organų somatiniai indeksai (*OSI*) taip pat yra santykiniai dydžiai, kurie išreiškiami tam tikro organo ir kūno masės santykio procentais. Įvertinant *VSI*, žuvų kūno svoris buvo naudojamas be vidaus organų (Liebel *et al.* 2013):

$$OSI = (\text{organo svoris, g}) \times 100 / (\text{bendrasis kūno svoris, g}). \quad (2)$$

Gauti rezultatai buvo apdorojami statistiškai, naudojant programinį paketą STATISTICA 7.0 (StatSoft Inc., Tulsa, Oklahoma, JAV). Duomenys buvo analizuojami, taikant daugiadisversę analizę (MANOVA) ir atliekant Dunnett'o daugybinio palyginimo testą, kai *p* < 0,05.

Rezultatai ir jų analizė

Atlikus kontrolinės ir bandymo grupių lašišų morfometrinių parametrų (*L*, *l_C*, *Q*, *q*) keturių krypčių daugiadisversinę analizę, nustatyta, kad lašišų jaunikliai pagal šiuos rodiklius bendrai patikimai skiriasi ($F(3,96) = 26,002$; $p < 0,0005$). Taip pat reikšmingai skyrėsi kontrolinės ir 28-ųjų parų veiktos bandymo žuvų atskirų parametrų vertės (2 lentelė). Akivaizdžiai matyti, kad po 28-ųjų parų ekspozicijos, lašišų jauniklių morfometrinių parametrų vertės padidėjo, lyginant su kontrolinių lašišų parametrų vertėmis.

2 lentelė. Kontrolinės ir bandymo grupių lašišų jauniklių morfometrinių parametrai (vidurkis ± standartinis nuokrypis, *n* = 7)

Table 2. Morphometric parameters of control and test groups of juvenile Atlantic salmon [mean ± standard deviation (*N* = 7)]

Morfometriniai parametrai	Kontrolė	7 paros	14 parų	28 paros
Bendrasis ilgis (<i>L</i>), mm	168,6±4,9	173,4±4,6	163,6±3,8	174,9±3,8*
Kaudalinis ilgis (<i>l_C</i>), mm	159,8±4,9	164,6±4,1	155,4±3,7	166,6±4,1*
Bendrasis svoris (<i>Q</i>), g	41,9±2,1	44,4±3,0	40,5±4,5	49,5±5,8*
Svoris be vidaus organų (<i>q</i>), g	35,4±1,8	39,0±2,7	34,8±3,5	43,0±4,5*

Pastaba: žvaigždutės (*) žymi patikimus skirtumus tarp atskirų verčių, lyginant kontrolinę ir bandymo grupes (*p* < 0,05).

Note: asterisks (*) denote significant differences between control and test groups (*p* < 0.05).

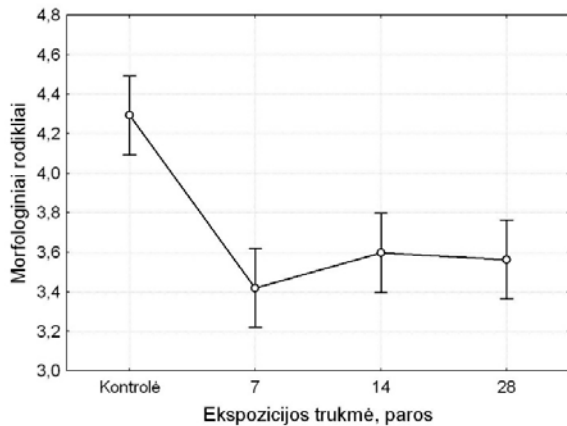
Taip pat buvo atlikta kontrolinių ir bandymo žuvų morfologinių rodiklių (*IK*, *VSI*, *ŽSI*, *KSI*, *ISI*) keturių krypčių daugiadisversę analizę. Nustatyta, kad bandymo ir kontrolinės lašišos pagal šiuos rodiklius bendrai patikimai skiriasi ($F(3,120) = 14,965$; $p < 0,0005$) (2 pav.).

Organizmo morfologiniai rodikliai glaudžiai koreliuoja su organizmu ir jo organais, kintančios jų vertės rodo, kaip organizmas ir organų sistema sąveikauja su aplinkos teršalais ar stresoriais, ir tai kartu leidžia įvertinti supančios aplinkos ekologinę būklę (Montenegro, Gonzalez 2012). Esant užterštai aplinkai, žuvų morfologinių rodiklių vertės linkusios sumažėti.

2 pav. akivaizdžiai matyti, kad po 7-ųjų, 14-os ir 28-ųjų parų ekspozicijos bandymo žuvų bendra (suminė) morfologinių rodiklių vertė sumažėjo, lyginant su kontroline grupe.

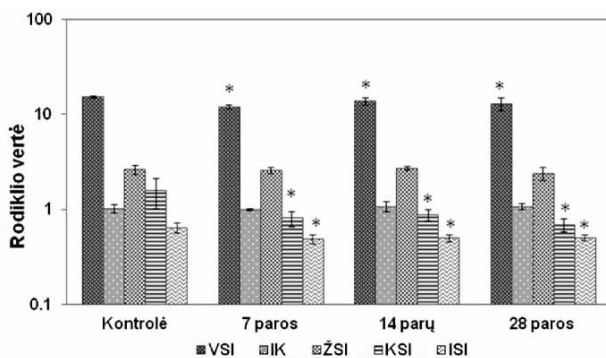
Paprastai, esant prastai vandens kokybei, žuvų *IK*, *VSI*, *KSI*, *ISI* yra linkę sumažėti, lyginant su švarios aplinkos žuvimis, dėl galimai padidėjusios apkrovos organams (Kopecka *et al.* 2006; Alberto *et al.* 2003; Nicholson, Lan 2005; Sağlam, N. E., Sağlam, C. 2012). Priešingai nei žiaunos, kurios užterštoje aplinkoje linkusios padidėti (hipertrofuotis) dėl žiaunų epitelinio audinio

pakitimų – hiperplazijos. Šiame eksperimentiniame tyrime, veikiant lašišas SMMM, ŽSI nepatikimai sumažėjo, o IK nereikšmingai padidėjo ($p > 0,1$), lyginant su kontroline grupe (3 pav.). Tam įtakos galėjo turėti konkrečių teršalų poveikis (mūsų atveju – SMMM) supančioje aplinkoje. Pasak mokslininkų Liebel *et al.* (2013) bei Tkatcheva *et al.* (2004), žuvų žiaunų padidėjimą bei IK verčių sumažėjimą ypač lemia vandenyje esantys organiniai teršalai: detergentai (pasitaikantys buitinėse nuotekose), poliaromatiniai angliavandeniliai (PAH), polichlorinti bifenilai (PCB),



2 pav. Kontrolinių ir bandymo atlantinių lašišų jauniklių morfologinių rodiklių (*IK*, *VSI*, *ŽSI*, *KSI*, *ISI*) daugiadispersės analizės grafinė schema (vidurkis ±95 % pasikliautinis intervalas)

Fig. 2. Graphical presentation of MANOVA of morphological indices (*IK*, *VSI*, *ŽSI*, *KSI*, *ISI*) of control and test groups of juvenile Atlantic salmon (mean ±95% confidence interval)



3 pav. Kontrolinių ir bandymo lašišų jauniklių morfologiniai rodikliai (vidurkis ± standartinis nuokrypis, $n = 7$), žvaigždutės (*) žymi patikimus verčių skirtumus nuo kontrolės ($p < 0,05$): *VSI* – visceralinis somatinis indeksas; *IK* – imitimo koeficientas; *ŽSI* – žiaunų somatinis indeksas; *KSI* – kepenų somatinis indeksas; *ISI* – inkstų somatinis indeksas

Fig. 3. Morphological indices of control and test groups of juvenile Atlantic salmon [mean ± deviation ($N = 7$)]. Asterisks (*) denote significant differences from the control ($p < 0.05$) *VSI* – viscero-somatic index; *IK* – condition factor; *ŽSI* – branchio-somatic index; *KSI* – hepato-somatic index; *ISI* – reno-somatic index

tributiltinai (TBT) ir kt., kurie gali sukelti negrįžtamus žiaunų ir kitų organų fiziologinius pakitimus. Taip pat kai kurie organiniai teršalai, ypač maži jų kiekiai, pavojingai išlieka ilgą laiką, tiesiogiai didina individų mirtingumą, lemia maisto patekimo ir pasisavinimo procesus bei reguluoja reprodukcijos intensyvumą. Sulėtėjęs žuvų augimas tiesiogiai koreliuoja su *IK* vertės sumažėjimu, kuris atspindi organizmo būklę jį supančioje aplinkoje (Van der Oost *et al.* 2003; Montenegro, Gonzalez 2012).

Išanalizavus kontrolinių ir bandymo (po 7-ių, 14-os ir 28-ių parų ekspozicijos) žuvų morfologinius rodiklius, matyti, kad bandymo *VSI*, *KSI* ir *ISI* labai patikimai skyrėsi nuo kontrolinės žuvų grupės ($p < 0,0005$) (3 pav.). Taip pat nustatyta, kad *KSI* ir *ISI* – jautriausi biožymenys ($p = 0,00004$, $p = 0,00005$, atitinkamai), lyginant su kitais indeksais [*VSI* ($p = 0,000256$); *ŽSI* ($p = 0,14538$)]. Tačiau lyginant kontrolinių ir bandymo žuvų *IK* bei *ŽSI*, patikimų skirtumų nenustatyta ($p > 0,1$).

Bandymo žuvų *VSI*, *ISI* ir *KSI* vidutiniškai patikimai sumažėjo 15,7; 23,1 ir 49,4 % atitinkamai, lyginant su kontrolinės žuvų grupės indeksais.

Kaip matyti, bandymo žuvų *KSI* vidutiniškai sumažėjo beveik perpus. Daugelio autorių nuomone, žuvų kepenų dydis – vienas informatyviausių rodiklių, indikuojančių supančios aplinkos taršą. Kepenys – svarbus organas taisyklingam, susijęs su reikšmingais apykaitos ir detoksikacijos mechanizmais (Liebel *et al.* 2013; Tkatcheva *et al.* 2004). Kepenų somatinis indeksas – tai žuvų metabolinio aktyvumo būklės indikatorius. Šio indekso vertės padidėjimas paprastai susijęs su padidėjusia detoksikacijos veikla, kurios intensyvumas priklauso nuo toksinių junginių buvimo vandenyje (Pereira, Kuch 2005). Tačiau sumažėjus *KSI* vertei, teigiama, kad žuvų populiacija patiria nuolatinį cheminį stresą (Kopecka *et al.* 2006).

Ayas *et al.* (2007) teigia, kad žuvų kepenų pažeidimai yra vienas iš svarbiausių histopatologinių atsakų į teršalų poveikį. Esant kenksmingų cheminių medžiagų vandens aplinkoje, žuvis patiria kepenų nekrozę, kurios metu ląstelių viduje sutrinka biocheminiai procesai, pavyzdžiui, fermentų aktyvumo inhibicija, baltymų ir ATF biosintezė, karbohidratinis metabolizmas, angliavandenių apykaita, reaktyvių oksidacinių rūšių gamyba, taip pat daroma žala ląstelių membranoms. Nors *KSI* vertės pokytis gali parodyti organizmo fiziologinius pakitimus per trumpesnę laiko tarpą nei *IK*, tačiau atlikti gausūs moksliniai tyrimai vis dar tvirtina nuomonę, kad *KSI* labiau tinkamas naudoti kaip lėtinės nei ūminės taršos rodiklis (Grady *et al.* 1992; Holm *et al.* 1994).

Žuvų inkstų pagrindinė funkcija – filtruoti gausius kraujo kiekius ir gaminti šlapimą, kuris yra pagrindinis

kse nobiotikų šalinimo šaltinis. Žuvų inkstus pasiekia didžioji post-branchialinio kraujo dalis, todėl inkstų pažeidimas yra puikus aplinkos taršos rodiklis (Ayas *et al.* 2007). Galima daryti prielaidą: kuo didesnė teršalų koncentracija vandenyje, tuo intensyvesnė apkrova tenka inkstams ir kartu jų svoris mažėja. Tai akivaizdžiai matyti 3 pav., kur bandymo žuvų (po 7-ių, 14-os, 28-ių parų) inkstų somatiniai indeksai patikimai sumažėja [*ISI* (7-ios paros) = 0,49±0,05; *ISI* (14-ka parų) = 0,501±0,05; *ISI* (28-ios paros) = 0,51±0,04], lyginant su kontroline žuvų grupe *ISI* (0-is parų) = 0,65±0,08].

Taip pat buvo atlikta tiriamų parametrų sąryšio (koreliacinė) analizė (3 lentelė). Ši koreliacinė analizė parodė, kad tarp ekspozicijos trukmės ir *KSI* bei *ISI* egzistuoja atvirkštinis patikimas ryšys. Statistiškai patikimas tiesioginis ryšys nustatytas tarp: *VSI* ir *IK*, *KSI*, *ISI*, tarp *ŽSI* ir *KSI*, taip pat tarp *KSI* ir *ISI*.

Lyginant šiuos eksperimentinius duomenis su ankstesnio gamtinio tyrimo rezultatais (Sauliūtė, Svecevičius 2015), matomi akivaizdūs skirtumai. Gamtiniame tyrime buvo įvertinta galimai skirtingų užterštų lašišinių upių Vilnios ir Siesarties ekotoksikologinė būklė pagal atlantinės lašišos jauniklių morfologinius rodiklius.

3 lentelė. Tiriamų parametrų sąryšio analizė (Pearson'o koreliacijos koeficientas *R*, *n* = 28)

Table 3. Relationship analysis of investigated parameters [Pearson correlation coefficient *R* (*N* = 28)]

		Morfologiniai rodikliai				
		<i>VSI</i>	<i>IK</i>	<i>ŽSI</i>	<i>KSI</i>	<i>ISI</i>
Ekspozicija, paros	<i>R</i>	-0,34	0,23	-0,30	-0,61	-0,47
	<i>p</i>	0,077	0,239	0,121	0,00057	0,0116
<i>VSI</i>	<i>R</i>	-	0,44	0,11	0,62	0,62
	<i>p</i>	-	0,019	0,577	0,0004	0,0004
<i>IK</i>	<i>R</i>	-	-	-0,35	-0,25	-0,11
	<i>p</i>	-	-	0,068	0,199	0,577
<i>ŽSI</i>	<i>R</i>	-	-	-	0,39	0,22
	<i>p</i>	-	-	-	0,040	0,261
<i>KSI</i>	<i>R</i>	-	-	-	-	0,83
	<i>p</i>	-	-	-	-	<0,0005
<i>ISI</i>	<i>R</i>	-	-	-	-	-
	<i>p</i>	-	-	-	-	-

Pastaba: statistiškai patikimos *R* vertės išryškintos.

Note: statistically significant *R* values are highlighted.

Statistiškai apdorojus ir apskaičiavus morfologinius rodiklius, nustatyta, kad *IK* ir *ŽSI* buvo jautriausi biožymenys, patikimai atspindintys žuvų fiziologinę būklę. Įmitimo koeficiento vertė, nustatyta galimai švarios Siesarties upės lašišų jauniklių, buvo aukštesnė, lyginant su galimai užterštos Vilnios upės lašišų jaunikliais [*IK* = 1,20±0,07 ir

1,05±0,07, atitinkamai (vidurkis ± standartinis nuokrypis)]. Taip pat Vilnios upėje žiaunų somatinis indeksas gautas reikšmingai didesnis, lyginant su Siesarties upės lašišomis [*ŽSI* = 3,08±0,25 ir 2,52±0,58 atitinkamai (vidurkis ± standartinis nuokrypis)], dėl galimai didesnės vandens taršos. Taip pat atkreiptinas dėmesys į apskaičiuotus lašišų kepenų ir inkstų somatinius indeksus. Šie koeficientai buvo itin panašūs tirtose upėse, todėl tarp jų nebuvo nustatyta patikimų skirtumų (*p* > 0,1). Priešingai nei šio eksperimento gauti rezultatai, kur *KSI* ir *ISI* yra jautriausi žymenys, patikimai atspindintys žuvų fiziologinę būklę.

Gamtinio ir šio tyrimo metu Siesarties ir kontrolinės lašišų grupės *VSI* vertė buvo patikimai didesnė, lyginant su galimai užterštos Vilnios lašišomis bei šio tyrimo bandymo žuvimis. Visceralinis somatinis indeksas – tai santykinis dydis, kuris parodo bendrą vidaus organų visumos dydį (proporcingumą) kūno atžvilgiu. Šis indeksas atspindi bendrą organizmo vidaus organų sistemą, kurios dydį gali lemti aplinkos veiksniai nepriklausomai nuo individo svorio ir dydžio (ilgio) padidėjimo ar sumažėjimo. Sumažėjus *VSI* vertei, manoma, kad organizmas patiria stresą supančioje aplinkoje (Barnes *et al.* 2012).

Eksperimentinio tyrimo rezultatai parodė, kad, veikiant lašišų jauniklius SMMM, organais taikiniais tapo kepenys ir inkstai, priešingai nei gamtinio tyrimo metu. Galima daryti prielaidą, kad tirtose upėse vis dėlto egzistavo kiti, specifiniai veiksniai – kitos cheminės prigimties teršalai, kurie lėmė žuvų fiziologinę bei indikavo upių ekotoksikologinę būklę.

Išvados

1. Paveikus atlantinių lašišų jauniklius prioritetinių sunkiųjų metalų (Zn, Cu, Ni, Cr, Pb, Cd) modeliniu mišiniu esant didžiausioms leistinoms koncentracijoms (DLK), nuo 7-ių iki 28-ių parų pakinta bandymo žuvų morfometrinių parametrų ir morfologinių rodiklių.
2. Atlikus daugiadispersinę rezultatų analizę, nustatyta, kad kontroliniai ir bandymo lašišų jaunikliai pagal morfometrinius parametrus (*L*, *l_c*, *Q*, *q*) ir morfologinius rodiklius (*IK*, *VSI*, *ŽSI*, *KSI*, *ISI*) bendrai patikimai skiriasi (*p* < 0,0005).
3. Nustatyta, kad *KSI* ir *ISI* – jautriausi biožymenys, patikimai atspindintys žuvų fiziologinę būklę. Bandymo *ISI* ir *KSI* vidutiniškai patikimai sumažėjo nuo 23,1 iki 49,4 %, atitinkamai, lyginant su kontrolinės žuvų grupės indeksais.
4. Tiriamų parametrų koreliacinė analizė parodė, kad tarp ekspozicijos trukmės ir *KSI* bei *ISI* egzistuoja atvirkštinis patikimas ryšys. Statistiškai patikimas tiesioginis

ryšys nustatytas tarp: *VSI* ir *IK*, *KSI*, *ISI*, tarp *ŽSI* ir *KSI* ir taip pat tarp *KSI* ir *ISI*.

5. Eksperimentinio tyrimo rezultatai parodė, kad, veikiant lašišų jauniklius SMMM, organais taikiniai tampa kepenys ir inkstai, priešingai nei gamtinio tyrimo metu, kur *IK* ir *ŽSI* buvo jautriausi biožymenys. Galima daryti prielaidą, kad tirtose upėse vis dėlto egzistavo kitos cheminės priimtųjų teršalai (organiniai teršalai – detergentai, poliaromatiniai angliavandeniliai (PAH), polichlorinti bifenilai (PCB), tributiliniai (TBT) ir kt.), kurie ir nulėmė žuvų fiziologinę bei indikavo upių ekotoksikologinę būklę.

Padėkos

Šie tyrimai buvo įgyvendinti naudojantis Gamtos tyrimų centro atvirosios prieigos mokslinės tiriamosios ir eksperimentinės plėtros infrastruktūra. Dėkojame Lietuvos mokslo tarybai už pagalbą, atliekant mokslinius tyrimus (Projekto Nr. MIP-108/2015).

Literatūra

- Acevedo-Whitehouse, K.; Duffus, A. L. J. 2009. Effects of environmental change on wildlife health, *Philosophical Transactions of the Royal Society B, Biological Sciences* 364: 3429–3438. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2009.0128>
- Ayas, Z.; Ekmekci, G.; Ozmen, M.; Yerli, S. V. 2007. Histopathological changes in the livers and kidneys of fish in Sariyar Reservoir, Turkey, *Environmental Toxicology and Pharmacology* 23(2): 242–249. <http://dx.doi.org/10.1016/j.etap.2006.11.003>
- Alberto, A.; Camargo, F. M.; Verani, J. R.; Costa, O, F. T.; Fernandes, M. N. 2003. Health variables and gill morphology in the tropical fish *Astyanax fasciatus* from a sewage-contaminated river, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 61: 247–255. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.08.009>
- Barnes, M. E.; Brown, M. L.; Rosentrater, K. A. 2012. Juvenile rainbow trout responses to diets containing distillers dried grain with solubles, phytase, and amino acid supplements, *Open Journal of Animal Sciences* 2: 69–77. <http://dx.doi.org/10.4236/ojas.2012.22011>
- Barnham, C. P. S. M.; Baxter, A. 2003. *Condition factor, K, for salmonid fish*. Fisheries notes, State of Victoria, Department of Primary Industries. ISSN 1440–2254.
- Bury, N. R.; Walker, P. A.; Glover, C. N. 2003. Nutritive metal uptake in Teleost fish, *Journal of Experimental Biology* 206: 11–23. <http://dx.doi.org/10.1242/jeb.00068>
- Couture, P.; Rajotte, J. W. 2003. Morphometric and metabolic indicators of metal stress in wild yellow perch (*Perca flavescens*) from Sudbury, Ontario: a review, *Journal of Environmental Monitoring* 5: 216–221. <http://dx.doi.org/10.1039/b210338a>
- Craig, J. M.; Thomas, M. V.; Nichols, S. J. 2005. Length-weight relationship and a relative condition factor equation for lake sturgeon (*Acipenser fulvescens*) from the St Clair River system (Michigan, USA), *Journal of Applied Ichthyology* 21: 81–85. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-0426.2004.00635.x>
- Davis, K. B.; Gaylord, T. G. 2011. Effect of fasting on body composition and responses to stress in sunshine bass, *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*. 158: 30–36. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.08.019>
- Dethloff, G. M.; Schmitt, C. J. 2000. Condition factor and organo-somatic indices, in C. J. Schmitt, G. M. Dethloff (Eds.). *Biomonitoring of Environmental Status and Trends (BEST) Program: selected methods for monitoring chemical contaminants and their effects in aquatic ecosystems*. U.S. Geological Survey, Biological Resources Division, Columbia (MO): Information and Technology Report USGS/BRD-2000-0005, 13–17.
- Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council establishing a framework for Community action in the field of water policy, *CELEX-EUR Official Journal of the European Communities* L 327: 1–72.
- Farkas, A.; Salanki, J.; Specziar, A. 2002. Relation between growth and the heavy metal concentration in organs of bream, *Abramis brama* L., populating lake Balaton, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 43: 236–243. <http://dx.doi.org/10.1007/s00244-002-1123-5>
- Giulio, R. T.; Hinton, D. E. 2008. *The toxicology of fishes*. Boca Raton: CRC Press.
- Grady, A. W.; McLaughlin, R. M.; Caldwell, C. W.; Schmitt, C. J.; Stalling, D. L. 1992. Flow cytometry, morphometry and histopathology as biomarkers of benzo(a)pyrene exposure in brown bullheads (*Ameiurus nebulosus*), *Journal of Applied Toxicology* 12: 165–177. <http://dx.doi.org/10.1002/jat.2550120304>
- Holm, G.; Lundström, J.; Andersson, T.; Norrgren, L. 1994. Influences of halogenated organic substances on ovarian development and hepatic EROD activity in the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*, and rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, *Aquatic Toxicology* 29: 241–256. [http://dx.doi.org/10.1016/0166-445X\(94\)90071-X](http://dx.doi.org/10.1016/0166-445X(94)90071-X)
- Khan, R. A. 1999. Length-mass relationship, histopathology, and parasitism in winter flounder (*Pleuronectes americanus*) living near a PCB-contaminated naval facility in Newfoundland, *Canadian Journal of Zoology* 77: 381–388. <http://dx.doi.org/10.1139/z98-239>
- Khodadoust, D.; Ismail, A.; Zulkifli, S. Z.; Tayefeh, F. H. 2013. Short time effect of cadmium on juveniles and adults of Java Medaka (*Oryzias javanicus*) fish as a bioindicator for ecotoxicological studies, *Life Science Journal* 10(1): 1857–1861.
- Kopecka, J.; Lehtonen, K. K.; Baršienė, J.; Broeg, K.; Vuorinen, P. J.; Gercken, J.; Balk, L.; Pempkowiak, J. 2006. Measurements of biomarker levels in flounder (*Platichthys flesus*) and blue mussel (*Mytilus trossulus*) from the Gulf of Gdańsk (southern Baltic), *Marine Pollution Bulletin* 53: 406–421. <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2006.03.008>
- Liebel, S.; Tomokake, M. E. M.; Oliveira Ribeiro, C. A. 2013. Fish histopathology as biomarker to evaluate water quality, *Ecotoxicology and Environmental Contamination* 8(2): 9–15. <http://dx.doi.org/10.5132/eec.2013.02.002>
- Maxwell, L. B.; Dutta, H. M. 2005. Diacinon induced endocrine disruption in Sole Gill Sun fish *Lepomis macrochirus*, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60: 21–27. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2003.12.015>
- Montenegro, D.; Gonzalez, M. T. 2012. Evaluation of somatic indexes, hematology and liver histopathology of the fish

- Labrisomus philippii* from San Jorge Bay, northern Chile, as associated with environmental stress, *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 47(1): 99–107.
<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-19572012000100009>
- Nascimento, C. R. B.; Souza, M. M.; Martinez, C. B. R. 2012. Copper and the herbicide atrazine impair the stress response of the freshwater fish *Prochilodus lineatus*, *Comparative Biochemistry and Physiology. C. Toxicology & Pharmacology*, Part C 155: 456–461.
- Nicholson, S.; Lan, P. K. S. 2005. Pollution monitoring in Southeast Asia using biomarkers in the mytilid mussel *Perna viridis* (Mytilidae: Bivalvia), *Environment International* 31: 121–132. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2004.05.007>
- Oliva-Paterna, F.J.; Vila-Gispert, A.; Torralva, M. 2003. Condition of *Barbus sclateri* from semi-arid aquatic systems: effects of habitat quality disturbances, *Journal of Fish Biology* 63: 699–709. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1095-8649.2003.00183.x>
- Pereira, M. S.; Kuch, B. 2005. Heavy metals, PCDD/F and PCB in sewage sludge samples from two wastewater treatment facilities in Rio de Janeiro State, Brazil, *Chemosphere* 60(7): 844–853.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.01.079>
- Pyle, G. G.; Rajotte, J. W.; Couture, P. 2005. Effects of industrial metals on wild fish populations along a metal contamination gradient, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 61: 287–312. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.09.003>
- Roy, S. P. 2010. Overview of heavy metals and aquatic environment with notes on their recovery, *Ecoscan: An International Quarterly Journal of Environmental Sciences* 4: 235–240.
- Sauliūtė, G.; Svecevičius, G. 2015. Siesarties ir Vilnios upių ekotoksikologinės būklės įvertinimas pagal atlantinės lašišos (*Salmo salar* L.) jauniklių morfologinius rodiklius, *Mokslas – Lietuvos ateitis/Science – Future of Lithuania, Environmental Protection Engineering* 7(4): 424–429.
<http://dx.doi.org/10.3846/mla.2015.803>
- Sağlam, N. E.; Sağlam, C. 2012. Population parameters of Whiting (*Merlangius merlangus euxinus* L., 1758) in the South-Eastern Black Sea, *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 12: 831–839.
- Scorecard. Pollution Locator / Water Quality Indicators. 2011. *Water quality indicators. Ambient water quality: four toxic pollutants*, [interaktyvus], [žiūrėta 2016 m. kovo 24 d.]. Prieiga per internetą: http://scorecard.goodguide.com/env-releases/def/iwi_wqi.html
- Sedeño-Díaz, J. E.; López-López, E. 2013. Freshwater fish as sentinel organisms: from the molecular to the population level: a review, in H. Türker (Ed.). *New advances and contributions to fish biology*. <http://dx.doi.org/10.5772/45635>
- Tkatcheva, V.; Hyvarinen, H.; Kukkonen, J.; Ryzhkov, L. P.; Holopainen, I. J. 2004. Toxic effects of mining effluents on fish gills in a subarctic lake system in NW Russia, *Ecotoxicology and Environmental Safety* 57: 278–289.
[http://dx.doi.org/10.1016/S0147-6513\(03\)00079-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0147-6513(03)00079-4)
- US EPA. 2009. *National recommended water quality criteria. Office of Water, Office of Science and Technology (4304T)* [interaktyvus], [žiūrėta 2015 m. birželio 13 d.]. Prieiga per internetą: <http://water.epa.gov/scitech/swguidance/standards/criteria/current/>
- Van der Oost, R.; Beyer, J.; Vermeulen, N. P. E. 2003. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review, *Environmental Toxicology and Pharmacology* 13: 57–149. [http://dx.doi.org/10.1016/S1382-6689\(02\)00126-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1382-6689(02)00126-6)

CHANGES IN MORPHOLOGICAL INDEXES OF YOUNG ATLANTIC SALMON (*SALMO SALAR* L.) EXPOSED TO HEAVY METAL (ZN, CU, NI, CR, PB, CD) MIXTURE: AN EXPERIMENTAL STUDY

G. Sauliūtė, G. Svecevičius

Abstract

Morphological indexes are indicative of toxicant effects in fish. Unfortunately, morphological parameters [gill-, liver-, kidney-, viscero-, etc., somatic indexes and the integrated condition factor (CF)], are usually determined in field studies to assess the general fish condition under effect of multicomponent pollution and did not reflect the effects of specific polluting substances (e.g. heavy metals). The purpose of this study was to experimentally evaluate the effect of priority heavy metal model mixture formed based on Maximum-Allowable-Concentration accepted for Lithuanian receiving water bodies (Zn – 0.1, Cu – 0.01, Ni – 0.01, Cr – 0.01, Pb – 0.005 and Cd – 0.005 mg/L, respectively) on condition parameters of one-year-old Atlantic salmon after seven-, fourteen- and twenty eight- day exposure. Significant changes in liver-, kidney- and viscero-somatic indexes were determined, while CF and branchio-somatic-index were found to be not indicative for such kind of the exposure. Correlation analysis between the parameters studied revealed a number of meaningful patterns. The obtained data were compared with the results of the field study in salmonid rivers.

Keywords: Atlantic salmon, heavy metals, morphological indexes, organo-somatic index, bioindicator.