

Zmiany wybranych cech plemników skarpia *Scophthalmus maximus* (L.) w trakcie tarła z uwzględnieniem potencjalnego wpływu ksenobiotyków z grupy butyllocyn

Edyta Gosz

Bałtyk jest słonawym basenem śródlądowym, który ze względu na swój specyficzny geofizyczny charakter, cechuje się dużą zmiennością czynników naturalnych i antropogenicznych co przekłada się na występowanie wewnątrz tego basenu lokalnych środowisk. Przykładami takich środowisk są Zatoka Pomorska i Zatoka Gdańska. Zatoka Pomorska jest bardzo dynamicznym środowiskiem, charakteryzującym się wyższym zasoleniem wód oraz odmiennymi sezonowymi wahaniami temperatury niż Zatoka Gdańska. Zatoka Gdańska jest bardziej zanieczyszczona związkami chemicznymi, w tym butyllocynami (BT) i cechuje się wyższym stopniem eutrofizacji niż Zatoka Pomorska. Powyższe czynniki kształtują w pewnym zakresie jakość obu środowisk i w konsekwencji oddziałują na bytujące w nich populacje ryb w odmienny sposób.

Skarp *Scophthalmus maximus* jest przystosowany do życia w słonawych wodach Morza Bałtyckiego. To przystosowanie jest raczej przykładem plastyczności fenotypowej niż adaptacji genetycznej. Skarp jest gatunkiem demersalnym, o stacjonarnym behawiorze, charakteryzującym się przywiązaniem do stałych miejsc rozrodu. Skarp jest ważnym gatunkiem poławianym komercyjnie w Bałtyku, jednak w ostatnich latach połowy tego gatunku wykazują tendencję spadkową. Zaobserwowano również spadek wskaźników biomasy tego gatunku a dokładne przyczyny tych zjawisk nie są poznane. Liczebność oraz rozmieszczenie gatunku są związane z jego sukcesem reprodukcyjnym zatem czynniki wpływające na sukces reprodukcyjny skarpia powinny zostać zbadane.

Jednym z czynników ograniczających sukces reprodukcyjny jest jakość gamet. Jakość komórek jajowych można zdefiniować jako ich podatność na zapłodnienie oraz predyspozycję do dalszego prawidłowego rozwoju zarodkowego. Podobnie, jakość plemników można określić jako zdolność do zapładniania komórek jajowych i umożliwiania dalszego prawidłowego rozwoju zarodkowego. Jednak badania nad komórkami rozrodczymi ryb są bardziej skupione na ocenie jakości komórek jajowych niż plemników, pomimo, że niska jakość plemników, podobnie jak i komórek jajowych, może ograniczać liczebność i różnorodność genetyczną populacji.

Czynniki wpływające na jakość plemników są bardzo zróżnicowane. Ich potencjalny

wpływ na gamety męskie jest często wypadkową oddziaływań pomiędzy procesami genetycznymi, fizjologicznymi oraz środowiskowymi. Badania *in vitro* wyjaśniają zasadnicze koncepcje dotyczące wpływu poszczególnych czynników na jakość plemników, ale dotyczą jednego lub dwóch poziomów organizacji. Analizy, czy to na poziomie molekularnym czy na poziomie organizmowym - nad rybami hodowlanymi nie obejmują procesów zachodzących w ekosystemie. W związku z tym, wpływ danego czynnika na jakość plemników w warunkach laboratoryjnych może się różnić od wpływu jaki wywiera on w środowisku naturalnym. Z tego powodu, wyniki badań laboratoryjnych, zanim zostaną odniesione do procesów ekologicznych czy ekotoksykologicznych, powinny zostać potwierdzone w środowisku naturalnym.

Jednym z czynników wpływających na jakość plemników ryb jest słabo poznany proces starzenia się gamet męskich. Starzenie się plemników ryb jest uwidocznione zmianami w kondensacji chromatyny oraz malejącą liczbą wakuoli w komórce. Procesowi starzenia się gamet męskich ryb towarzyszy również spadek parametrów morfometrycznych opisujących główkę plemnika, tj. powierzchni, obwodu, szerokości i długości. Niemniej zmiany morfometryczne, a tym bardziej towarzyszące im zmiany metaboliczne zachodzące w trakcie starzenia się gamet ryb pozostają nadal słabo zbadane.

Morfometria plemników ryb, która u wielu gatunków ryb jest cechą fenotypowo plastyczną, jest ważnym wyznacznikiem sukcesu reprodukcyjnego. Różnice morfometryczne plemników ryb dotyczące wielkości główki, wstawki czy długości wici stwierdzono u osobników tego samego gatunku. Plastyczność fenotypowa plemników może być indukowana czynnikami środowiskowymi, genetycznymi czy socjalnymi np. rywalizacją między plemnikami o zapłodnienie komórki jajowej. Jednak wpływ wyżej wymienionych czynników na różnicowanie się parametrów morfometrycznych plemników - a przez to i ich jakości - pozostaje w dużym stopniu niewyjaśniony.

Ksenobiotyki powodują zaburzenia funkcji rozrodczych organizmów poprzez zakłócenia funkcjonowania układu dokrewnego, co może powodować produkcję plemników o niższej jakości. Przykładem ksenobiotyku wpływającego na jakość plemników ryb jest tributyllocyna (TBT). TBT obniża żywotność i ruchliwość gamet męskich, indukuje produkcję anormalnych gamet, inaktywuje enzymy metabolizmu energetycznego np. dehydrogenazę mleczanową (LDH) oraz prowadzi do degradacji błony plemnika i w konsekwencji śmierci komórki. TBT jest uznawany za najbardziej szkodliwy ze wszystkich związków cynoorganicznych i nadal zalega w znacznych ilościach w ekosystemie Bałtyku.

Zasadniczym celem niniejszej pracy było określenie zmian wybranych cech

plemników skarpia, tj. morfometrii i metabolizmu energetycznego w trakcie tarła z uwzględnieniem potencjalnego wpływu ksenobiotyków z grupy BT. W związku z powyższym, parametry morfometryczne opisujące główkę, wstawkę i wici oraz aktywność dehydrogenaz NAD⁺ i NADP - zależnych oraz kinazy kreatynowej plemników zostały zbadane z uwzględnieniem dnia tarła, obszaru badań oraz stężenia BT w tkankach samców. Niniejsza praca opisuje po raz pierwszy zjawisko starzenia się [1, 3], plastyczności fenotypowej [1] oraz potencjalny wpływ TBT [2, 3] na wybrane cechy charakteryzujące jakość plemników skarpia z Morza Bałtyckiego.

Parametry morfometryczne oraz aktywność enzymów metabolizmu energetycznego plemników skarpia wykazały spadek wraz z zaawansowaniem tarła w czasie [1, 3]. Stopień spadku wartości opisujących morfometrię był podobny w każdym z obszarów badań [1]. Spadek aktywności enzymatycznej był też podobny w obu obszarach badań i wynosił od 1,2 do 2,6% dziennie dla poszczególnych enzymów [3]. Nie znaleziono korelacji pomiędzy parametrami morfometrycznymi a cechami osobniczymi samców, tj. długością całkowitą, wiekiem, objętością nasienia, masą jąder i indeksem gonadosomatycznym. W związku z powyższym, kurczenie się plemników oraz spadek aktywności metabolicznej z dniem tarła zinterpretowano jako wynik zjawiska starzenia się plemników skarpia [1, 3].

Istotne statystycznie różnice w morfometrii plemników skarpia odnotowano pomiędzy obszarami badań, Zatoką Gdańską oraz Zatoką Pomorską. Plemniki samców z Zatoki Gdańskiej charakteryzowały się niższymi wartościami parametrów morfometrycznych główki oraz wstawki niż plemniki samców z Zatoki Pomorskiej. Nie odnotowano istotnych różnic w długości wici. Także po uwzględnieniu efektu starzenia, plemniki samców z Zatoki Gdańskiej wykazywały istotnie niższe wartości parametrów morfometrycznych główki i wstawki niż samce z Zatoki Pomorskiej. Parametry morfometryczne plemników również nie korelowały z cechami osobniczymi samców, tj. długością całkowitą, objętością nasienia, masą jąder czy indeksem gonadosomatycznym. Zaobserwowane różnice w morfometrii pomiędzy plemnikami z obu obszarów badań uznano za potencjalny efekt plastyczności fenotypowej plemników skarpia [1].

Samce skarpia okazały się podatne na akumulację BT [2]. Osobniki pochodzące z obszaru zanieczyszczonego przez BT - Zatoki Gdańskiej, zawierały istotnie wyższe stężenia TBT i jej metabolitów, dibutylocyny (DBT) oraz monobutylocyny (MTB), w badanych tkankach niż osobniki z obszaru referencyjnego - Zatoki Pomorskiej. Jądra skarpia okazały się docelowym organem akumulacji TBT [2, 3]. U samców o długości całkowitej większej niż 23 – 24 cm, pochodzących z rejonu zanieczyszczonego przez BT, zaobserwowano istotny spadek

zawartości BT w tkankach. Docelowa akumulacja TBT oraz drastyczny spadek stężenia tego ksenobiotyku w jądrach ryb o długości całkowitej >23 - 24 cm jest najprawdopodobniej związane z wydalaniem TBT w trakcie tarła wraz z produktami rozrodczymi. Eliminacja TBT z nasieniem może znacznie odciążać funkcje wątroby w metabolizowaniu tego związku [2], jednak zwiększa ryzyko szkodliwego wpływu TBT na plemniki [2, 3].

Aktywność dehydrogenazy mleczanowej, dehydrogenazy jabłczanowej, dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej oraz kinazy kreatynowej korelowała pozytywnie ze stężeniem BT w jądrach skarpia, wskazując, iż powyższe enzymy są specyficznie stymulowane przez BT, a tym samym potencjalnie użyteczne jako biomarkery zanieczyszczeń BT [2]. Z powodu znaczącej zmienności cech plemników skarpia, definitywny związek przyczynowo-skutkowy między skażeniem BT i hiperaktywacją enzymów nie został ustalony.

Badane cechy plemników skarpia, morfometria oraz metabolizm energetyczny charakteryzują się dużą zmiennością. Zmienność ta jest związana z procesem starzenia się plemników, ich plastycznością fenotypową oraz ekspozycją na BT. Podsumowując: I) plemniki skarpia starzeją się wraz z zaawansowaniem tarła w czasie, a procesowi starzenia towarzyszy zmniejszanie się główki i wstawki oraz obniżenie aktywności metabolicznej; II) plemniki skarpia cechuje plastyczność fenotypowa; III) TBT jest docelowo akumulowana w jądrach skarpia, co wskazuje na potencjalną rolę tego organu w eliminacji TBT wraz z nasieniem; IV) zaobserwowano dodatnią korelację pomiędzy aktywnością enzymów metabolizmu energetycznego a stężeniem TBT w jądrach, jednak nie ustalono jednoznacznego związku pomiędzy stężeniem TBT, a hiperaktywacją wyżej wymienionych enzymów.

Literatura

- [1] Gosz E., Mirny Z., Horbowy J., Ziętara M.S., 2010. Morphometry of turbot spermatozoa in relation to the location and time of capture during the spawning season. *Journal of Applied Ichthyology* 26: 784–788.
- [2] Gosz E., Horbowy J., Ruczyńska W., 2011. Testes specific accumulation of tributyltin in turbot *Scophthalmus maximus* from the southern Baltic Sea. *Marine Pollution Bulletin* 62 (11): 2563-2567.
- [3] Gosz E., Horbowy J., Ruczyńska W., Ziętara M.S., 2011. Enzymatic activities in spermatozoa and butyltin concentrations in Baltic turbot *Scophthalmus maximus*. *Marine Environmental Research* 72 (4): 188-195.