

ФІЗІОЛОГІЯ ТА БІОХІМІЯ

Ribogospod. nauka Ukr., 2017; 3(41): 98-108

DOI:

УДК 574.64+597.551.2:591.[1/5]

ПАТОМОРФОЛОГІЧНІ ТА ЦИТОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ КЛІТИН ЧЕРВОНОЇ КРОВІ ДВОЛІТОК КАРАСЯ СРІБЛЯСТОГО ЗА УМОВ ІНТОКСИКАЦІЇ ІОНАМИ МІДІ

Т.С. Шарамок, sharamok@i.ua, Дніпровський національний університет імені
Олеся Гончара

Н.Б. Єсіпова, yesipova.natalia@gmail.com, Дніпровський національний університет
імені Олеся Гончара

Н. Л. Колесник, kolenataleo@gmail.com, Інститут рибного господарства НААН
України, м. Київ

Мета. Виявити вплив підвищених концентрацій іонів міді (10 рибогосподарських ГДК) на морфологічні та цитометричні показники еритроцитів дволіток карася сріблястого (*Carassius gibelio* Bloch, 1782) в експериментальних та природних умовах.

Методика. В ході роботи використовувалися узагальнені результати досліджень, що проводилися протягом 2015–2016 рр. Визначали морфологічні та цитометричні показники еритроцитів карася сріблястого в умовах природного мешкання (Запорізьке водосховище) та експерименту. Концентрація іонів міді в експерименті та в природних умовах була однаковою і дорівнювала 0,01 мг/л (10 рибогосподарських ГДК). Експериментальні дослідження проводилися протягом 21 доби. У контрольному акваріумі риби утримувались у відстояній водопровідній воді, у дослідних акваріумах інтоксикацію риб іонами міді моделювали внесенням у воду CuSO_4 . Мазки крові досліджували за збільшення об'єктиву $40\times$ та $100\times$ з використанням мікрофотознімання цифровою камерою «Sciencelab T500 5.17 М».

Результати. Проведені гематологічні дослідження показали, що у дволіток карася сріблястого в умовах експериментальної інтоксикації іонами міді (0,01 мг/л) відбувається збільшення частки незрілих форм еритроцитів, підвищується кількість еритроцитів з патологічними явищами (руйнування клітинної оболонки, атипівість форми), зростає ядерно-цитоплазматичне співвідношення, але різниця у цитометричних показниках еритроцитів між дослідними та контрольними рибами не була вірогідною. При порівнянні морфо-метричних показників еритроцитів карася, що мешкав в експериментальних і природних умовах за аналогічної концентрації іонів міді (0,01 мг/л), встановлено вірогідне збільшення площ ядер зрілих еритроцитів і відповідно збільшення ядерно-цитоплазматичного співвідношення еритроцитів (майже на 30 %) у риб в експериментальних умовах порівняно з рибами, що мешкали в Запорізькому водосховищі. Збільшення даних показників опосередковано свідчить про пригнічення функціональної активності еритроцитів.

Наукова новизна. Вперше представлений аналіз впливу іонів міді за концентрації 0,01 мг/л (10 рибогосподарських ГДК) на цитометричні показники еритроцитів дволіток карася сріблястого при утриманні в умовах експерименту та природного мешкання.

Практична значимість. Отримані результати можуть бути використані для виявлення адаптаційних реакцій в організмі риб за умов впливу важких металів, а також у гідроекологічному моніторингу для виявлення небезпечного для гідробіонтів рівня забруднення важкими металами водних екосистем.

© Т.С. Шарамок, Н.Б. Єсіпова, Н. Л. Колесник, 2017



Ключові слова. Карась сріблястий, мідь, еритроцити, морфологічні та цитометричні показники, Запорізьке водосховище, експеримент.

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ ТА АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

Забруднення навколишнього середовища важкими металами визнано світовою проблемою [1]. Мідь займає друге місце за рівнем небезпечності для гідробіонтів серед важких металів [2]. У зв'язку із забрудненням навколишнього середовища деякими промисловими та сільськогосподарськими забруднювачами, кількість міді у водоймах поступово зростає [3]. У воді Запорізького водосховища вміст міді складає в середньому 10 рибогосподарських ГДК [4]. В порівнянні з іншими важкими металами, мідна інтоксикація у прісноводних риб досліджена недостатньо. Встановлено, що мідь викликає окислювальний стрес [5] та токсичний вплив на деякі клітинні лінії [6, 7].

Відомо, що кровоносна система риб з вираженими функціональними розладами та патологічними змінами за умов впливу токсичних речовин є цінним індикатором стану гідробіонтів. Риби дуже чутливі до вмісту у воді хімічних агентів та відповідають на їх присутність змінами, зокрема у червоній крові [8]. Однак на теперішній час при вивченні забруднення природних водойм якісні та кількісні показники складу крові риб використовуються недостатньо [9].

Інформація щодо дії іонів міді на патоморфологічні та цитометричні показники клітин еритроїдного ряду карася сріблястого досить обмежена і стосується оцінки впливу високих концентрацій іонів міді (0,1 мг/л та вище) на деякі метричні показники еритроцитів та зміни параметрів цитогенетичної нестабільності клітин червоної крові [1, 10].

ВИДІЛЕННЯ НЕВИРШЕНИХ РАНІШЕ ЧАСТИН ЗАГАЛЬНОЇ ПРОБЛЕМИ. МЕТА РОБОТИ

Науковий та практичний інтерес представляє дослідження морфологічних та фізіологічних порушень, що відбуваються в клітинах еритроїдного ряду промислових видів риб, та визначення взаємозв'язку цитопатологічних процесів із впливом антропогенних чинників. Реакція крові окремих особин у відповідь на зовнішній вплив є неспецифічною і може бути використана як засіб ранньої діагностики нормального або патологічного стану популяції риб у цілому. Вирішення даної проблеми дозволить використовувати ряд інтегрованих показників для оцінки фізіологічного стану організму, ранньої діагностики розвитку патології промислових риб та ступеня токсичності водного середовища [11, 12].

Однією з основних проблем екологічного стану дніпровських водосховищ є забруднення важкими металами, а саме – іонами міді, вміст яких у воді перевищує рибогосподарські норми у декілька разів. Залишаються не вирішеними питання щодо впливу іонів міді на фізіологічний стан основних промислових видів риб, серед яких сріблястий карась займає домінуюче становище.

У зв'язку з цим, метою представленої роботи було виявити вплив підвищених концентрацій іонів міді (10 рибогосподарських ГДК) на патоморфологічні та



цитометричні показники еритроцитів карася сріблястого (*Carassius gibelio* Bloch, 1782) в експериментальних та природних умовах.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єктом дослідження були дволітки карася сріблястого (*Carassius gibelio* Bloch, 1782). У Запорізькому водосховищі риб відловлювали за допомогою зябрових сіток під час проведення науково-дослідних ловів у літньо-осінній період протягом 2015-2016 років.

Лабораторний експеримент проводилися у 50-літрових акваріумах з підтриманням постійних газового та температурного режимів. В кожному акваріум було поміщено по 10 екземплярів риб.

Контрольних риб утримували в чистій відстояній водопровідній воді. Інтоксикацію моделювали внесенням у воду акваріумів, де знаходились дослідні групи риб $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$, до досягнення вмісту іонів міді 10 рибогосподарських ГДК (0,01 мг/л). Підтримувались оптимальні гідрохімічні показники: вміст кисню у воді акваріумів підтримували на рівні 6,0–6,5 мг/л, вуглекислого газу 4,0–3,5 мг/л. Величина рН була близькою до 7,7–7,9. Температура води становила 23–24 °С. Риб годували один раз на добу, маса корму складала 3% від їх загальної маси. Експеримент тривав протягом 21 доби. Відбір проб для визначення гематологічних показників здійснили по закінченню експерименту.

Кров відбирали з хвостової вени. Морфологічні дослідження еритроцитів проводились на мазках крові, які фарбували за Романовським-Гімзою. Мазки крові досліджували за збільшення об'єктиву $40\times$ та $100\times$ з використанням мікрофотознімання цифровою камерою «Scienclab T500 5.17 M». На препаратах проглядали 100 полів зору. При цьому визначали наступні показники: великий повздовжній (D) та малий поперечний (d) діаметри зрілих еритроцитів, площу еритроцита (S), площу ядра еритроцита (s), ядерно-цитоплазматичне співвідношення (s/S), відсоток зрілих еритроцитів (ЗЕ), відсоток незрілих еритроцитів (НЕ) та їх форм.

Статистичне опрацювання отриманих даних здійснювали за загальноприйнятими методами із застосуванням програми Excel 2010.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За результатами досліджень мазків крові у дволіток карася, що мешкав у Запорізькому водосховищі, еритроцити мали овальну форму з чітко вираженою оболонкою (рис. 1). Цитоплазма світлого кольору, ядро займає центральне становище у клітині. Мікроядра не виявлені. Зафіксована незначна кількість еритроцитів з атиповою формою (близько 8 %).

За даними інших дослідників [13, 14, 15] у крові риб за різних патологічних явищ (токсикозах, інфекційних хворобах) з'являється велика кількість незрілих форм еритроцитів, збільшується частина клітин з дегенеративними змінами (амітоз), порушується морфологія еритроцитів.

За результатами наших досліджень кількість незрілих еритроцитів у карася Запорізького водосховища була досить низькою і становила 4 %. Серед незрілих форм домінували поліхроматофільні нормобласти (76 % від загальної кількості



НЕ). Явища амітозів були одиничними. Кількість еритроцитів з патологією складало 7 % від загальної кількості еритроцитів у полі зору мікроскопу. Патологічні зміни були представлені, в основному, зруйнованою клітинною оболонкою, каріолізісом, пойкилоцитозом.

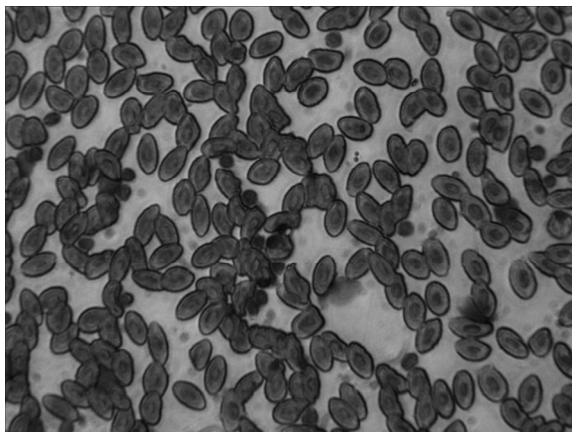


Рис. 1. Еритроцити карася сріблястого Запорізького водосховища.

Результати лабораторних досліджень показали, що клітини крові карася забарвлювались від світло-фіолетового до темно-синього кольорів. У контрольній групі еритроцити, у більшості випадків, мали чіткі межі, овальну форму та одне ядро.

У дослідній групі (10 ГДК міді) виявлено ряд патологічних відхилень еритроцитів. Відзначався пойкилоцитоз, фестончатість мембран та зсув ядра. Відмічені клітини грушоподібної, серповидної, ромбовидної форм. Траплялися еритроцити з відростками, що свідчить про пригнічення еритропоезу. У невеликій кількості виявлені мікроядра та амітози. Такі зміни вказують на погіршення фізіологічного стану риб дослідної групи через негативний вплив іонів міді (рис. 2). Кількість клітин з патологічними змінами у контрольному варіанті складала 3,9%, при цьому найчастіше траплявся пойкилоцитоз (2,3%).

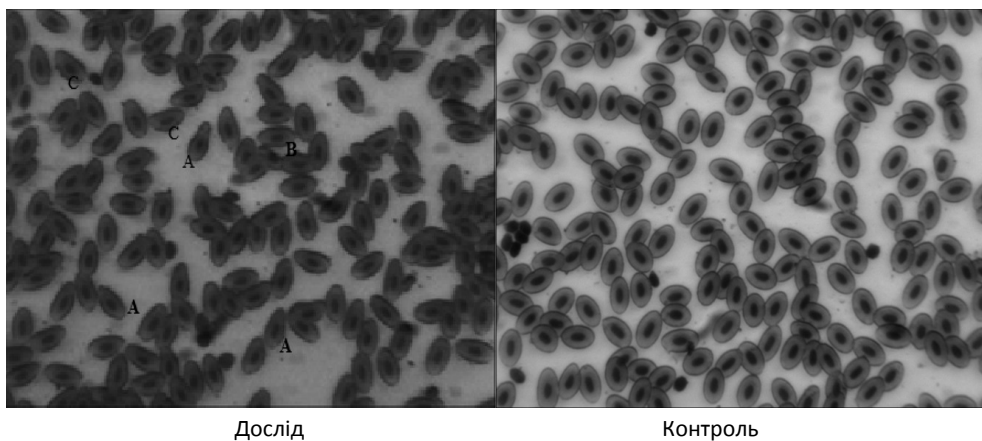


Рис. 2. Еритроцити карася сріблястого в умовах експерименту: А – пойкилоцитоз; В – зсув ядра; С – фестончатість мембран.



У риб дослідного варіанту кількість патологій еритроцитів складала 30,9 % від загальної кількості клітин та була більшою порівняно з рибами контрольного варіанту на 87 %, з одновіковими особинами Запорізького водосховища – більше на 77 % ($p \leq 0,05$).

Зрілі еритроцити склали найчисельнішу групу елементів червоної крові дволіток карася сріблястого – 97 % у контролі та 90,3 % у досліді. Відповідно максимальна кількість незрілих еритроцитів (9,7 %) спостерігалась у карася, що знаходився під впливом підвищеної концентрації іонів міді. Збільшення частки НЕ спостерігалась нами раніше у молоді інших видів риб в умовах гіпоксії [16], а також у плітки різних вікових груп в умовах забрудненого середовища [17]. При цьому відзначалось зменшення відносної частки ЗЕ і збільшення молодих баластних форм еритроцитів. Відомо, що у риб синтез гемоглобіну в клітинах еритроїдного ряду починається зі стадії поліхроматофільного нормобласту [18]. Тобто зменшення частки зрілих еритроцитів і збільшення незрілих форм свідчить про пригнічення інтенсивності окислювально-відновних процесів в організмі риб під впливом антропогенного забруднення.

Дослідження цитометричних показників ЗЕ карася сріблястого у досліді та в контролі не виявили вірогідних розбіжностей (табл. 1).

Таблиця 1. Цитометричні показники зрілих еритроцитів периферійної крові молоді карася сріблястого в природних та експериментальних умовах.

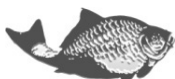
Умови мешкання риб	Діаметр еритроцита, мкм		Площа еритроцита, мкм ²	Площа ядра еритроцита, мкм ²
	D	d		
Карась 1+ (Запорізьке водосховище)	12,8±0,08	8,7±0,07	88,9 ± 0,47	13,4 ± 0,16*
Карась 1+ (Експеримент – контрольна група)	13,15±0,62	8,46±0,43	91,4±2,16	16,36±0,76
Карась 1+ (Експеримент – дослідна група)	13,2±0,76	8,3±0,68	89,6±7,64	18,96±2,8*

* – різниця між показниками вірогідна, $p \leq 0,05$

Розмір великих діаметрів еритроцитів (D) відповідав встановленим біоконстантам для коропових риб [19].

В умовах наднормативних концентрацій міді у дослідних риб спостерігалось збільшення площі ядра на 16 % порівняно з контрольними, але різниця не була вірогідною ($p \geq 0,05$). При порівнянні показників крові риб, що знаходились під впливом підвищеної концентрації міді в експериментальних та природних умовах, відмічається вірогідна різниця в площях ядер еритроцитів: у карася в експерименті цей показник був на 41% вищими порівняно з карасем Запорізького водосховища.

Ядерно-цитоплазматичне співвідношення еритроцитів карася варіювало від 0,15 до 0,21, максимальним цей показник був у дослідних риб, що утримувались в



акваріумах з підвищеною концентрацією міді (рис.3). Відомо, що накопичення ядерної маси звичайно пов'язано з початком амітотичного поділу клітин. Саме в цих зразках були наявні амітотичні клітини.

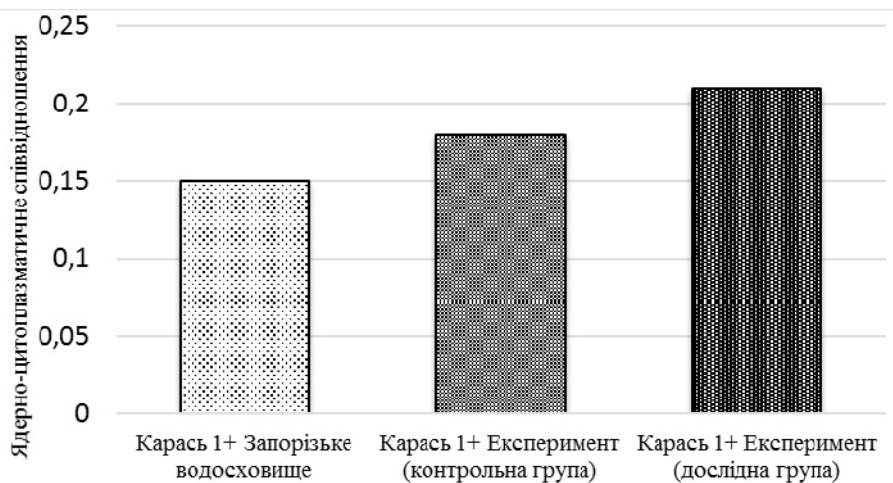


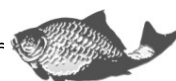
Рис. 3. Показники ядерно-цитоплазматичного співвідношення еритроцитів дворічок карася в експериментальних та природних умовах.

Таким чином, підвищення ядерно-цитоплазматичного співвідношення еритроцитів у карася під впливом іонів міді (0,01 мг/л) вказує на зменшення функціональної площі цитоплазми, яка відповідає за окислювально-відновлювальні процеси в клітині, що опосередковано вказує на пригнічення її функціональної діяльності. Але в умовах Запорізького водосховища, за наявності у воді аналогічної концентрації міді, співвідношення площ ядра і цитоплазми в еритроцитах було меншим майже на 30 %. Тобто в природних умовах токсична дія іонів міді частково знешкоджується за рахунок антагоністичної дії ряду чинників (розчинені органічні та мінеральні речовини тощо).

ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШОГО РОЗВИТКУ

У дволіток карася сріблястого в умовах експериментальної інтоксикації іонами міді (0,01 мг/л) відбувається збільшення частки незрілих форм еритроцитів, підвищується кількість еритроцитів з патологічними явищами (руйнування клітинної оболонки, атиповість форми), зростає ядерно-цитоплазматичне співвідношення, однак різниця у цитометричних показниках еритроцитів між дослідними та контрольними рибами не була вірогідною.

При порівнянні морфо-метричних показників еритроцитів карася, що мешкав в експериментальних і природних умовах за аналогічної концентрації іонів міді (0,01 мг/л), встановлено вірогідне збільшення площ ядер зрілих еритроцитів і відповідно збільшення ядерно-цитоплазматичного співвідношення еритроцитів (майже на 30 %) у риб в експериментальних умовах порівняно з рибами, що мешкали в Запорізькому водосховищі. Збільшення цих показників опосередковано свідчить про пригнічення функціональної активності еритроцитів. Отже, в природних умовах токсична дія іонів міді частково знешкоджується за рахунок антагоністичної дії ряду зовнішніх чинників



(розчинені у воді органічні та мінеральні речовини тощо).

Перспективою подальших досліджень є можливість використання отриманого матеріалу для гідроекологічного моніторингу рибогосподарських водойм, а також коригування гранично допустимих концентрацій міді у природних та штучних водоймах.

ЛІТЕРАТУРА

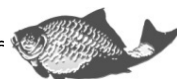
1. Arnaudov A. D., Velcheva I. G. Tomova E. S. Influence of copper on the erythrocyte-metric parameters of *Carassius gibelio* (Pisces, Cyprinidae) // Bulgarian Journal of Agricultural Science. 2008. Vol. 1, № 6. P. 557—563.
2. Kondera E. Wpływ kadmuim i edzinaaktywność krwiotwórczą nerkigłowowej karpia// Ochrona Środowiskai Zasobów Naturalnych. 2011. № 48. S. 143—150.
3. Georgieva E., Arnaudov A., Velcheva I. Clinical, hematological and morphological studies on ex situinduced copper intoxication in crucian carp (*Carassius gibelio*) // Journal of Central European Agriculture. 2010. Vol 11, № 2. P. 165—172.
4. Шарамок Т. С., Єсіпова Н. Б. Вплив антропогенних факторів на гематологічні показники риб // Наукові записки Тернопільського нац. пед. ун-ту ім. В. Гнатюка. 2015. № 3–4 (64). С. 722—726. (Серія : Біологія. Спецвипуск : Гідроекологія).
5. Craig P. M., Wood C. M., McClelland G. B. Oxidative stress response and gene expression with acute copper exposure in zebrafish (*Danio rerio*) // American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology. 2007. № 293. R1882—R1892.
6. Nawaz M., Manzl C., Krumschnabel G. *In vitro* toxicity of copper, cadmium, and chromium to isolated hepatocytes from carp, *Cyprinus carpio* L. // Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 2005. Vol. 75. P. 652—661.
7. Comparative evaluation of the cytotoxicity sensitivity of six fish cell lines to four heavy metals *in vitro* / Tan F. X. at al.// Toxicology *in Vitro*. 2008. Vol. 22. P. 164—170.
8. Минеев А. К. Неспецифические реакции у рыб из водоемов средней и нижней // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2013. Т. 15, № 3–7. С. 2301—2318.
9. Гилева Т. А., Костицына Н. В. Характеристика периферической крови и содержания тяжёлых металлов в органах и тканях окуня водоёмов бассейна р. Камы // Теоретическая и прикладная экология. 2014. № 2. С. 45—50.
10. Верголяс М. Р., Веялкіна Н. М., Гончарук В. В. Вплив іонів міді на гематологічні та цитогенетичні показники прісноводних риб *Carassius auratus gibelio* // Цитология и генетика. 2010. № 2. С. 65—70.
11. Кузина Т.В. Анализ гематологических показателей судака Волго-Каспийского канала // Естественные науки. 2009. № 4 (29). С. 96—100.
12. Минеев А. К. Морфологический анализ и патологические изменения структуры клеток крови у рыб Саратовского водохранилища // Вопросы ихтиологии. 2007. № 1. С. 93—100.
13. Головина Н. А., Тромбицкий И. Д. Гематология прудовых рыб. Кишинев : Штиинца, 1989. 158 с.
14. Серпунин Г. Г. Гематологические показатели адаптаций рыб : дис. ... доктора биол. наук. Калининград, 2002. 482 с.



15. Sharon G., Zilberg D. Atlas of Fish Histology and Histopathology. Central and Northern Arava Research and Development Centers, 2012. 78 p.
16. Єсіпова Н. Б., Сурова Ю. О. Особливості морфоструктури еритроцитів молоді різних видів риб в умовах гіпоксії // Сучасні проблеми теоретичної і практичної іхтіології. Херсон : Гринь Д. С., 2015. С. 71—74.
17. Еколого-гематологічна характеристика плітки звичайної (*Rutilus rutilus* Linnaeus, 1758) Запорізького водосховища / Шарамок Т.С. та ін. // Біологічний вісник МДПУ імені Богдана Хмельницького. 2016. № 6 (2). С. 303—310.
18. Иванова Н. Т. Атлас клеток крови рыб. Москва : Легкая и пищевая промышленность, 1983. 186 с.
19. Nikolov B., Boyadzieva-Doichinova D. Parameters of the red blood cell count in three species of carp fishes // Bulgarian Journal of Agricultural Science. 2010. Vol. 16, № 3. P. 307—310.

REFERENCES

1. Arnaudov, A. D., Velcheva, I. G. & Tomova, E. S. (2008). Influence of copper on the erythrocyte-metric parameters of *Carassius gibelio* (Pisces, Cyprinidae) // *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 14 (6), 557-563.
2. Kondera, E. (2011). Wpływ kadmu i miedzi na aktywność krwiotwórczą nerki głowowej karpia. *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych*, 48, 143-150.
3. Georgieva, E., Arnaudov, A., & Velcheva, I. (2010). Clinical, hematological and morphological studies on ex situ induced copper intoxication in crucian carp (*Carassius gibelio*). *Journal of Central European Agriculture*, 11, 2, 165-172.
4. Sharamok, T. S., & Yesipova, N. B. (2015). Vplyv antropohennykh faktoriv na hematolohichni pokaznyky ryb. *Naukovi zapysky Ternopil's'koho nats. ped. un-tu im. V. Hnatyuka*, 3-4 (64), 722-726.
5. Craig, P. M., Wood, C. M., & McClelland, G. B. (2007). Oxidative stress response and gene expression with acute copper exposure in zebrafish (*Danio rerio*). *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 293, 1882-1892.
6. Nawaz, M., Manzl, C., & Krumschnabel, G. (2005). *In vitro* toxicity of copper, cadmium, and chromium to isolated hepatocytes from carp, *Cyprinus carpio* L. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 75, 652-661.
7. Tan, F. X., Wang, M., & Wang, W. M. et al. (2008). Comparative evaluation of the cytotoxicity sensitivity of six fish cell lines to four heavy metals *in vitro*. *Toxicology in Vitro*, 22, 164-170.
8. Mineev, A. K. (2013). Nespecificheskie reakcii u ryb iz vodoemov srednej i nizhnej. *Izvestija Samarskogo nauchnogo centra Rossijskoj akademii nauk*, 3-7, 15, 2301-2318.
9. Gileva, T. A., & Kosticyna, N. V. (2014). Harakteristika perifericheskoy krovi i sodержaniya tjazholyh metallov v organah i tkanjah okunja vodojomov bassejna r. Kamy. *Teoreticheskaja i prikladnaja ekologija*, 2, 45-50.
10. Verholiyas, M. R., Veyalkina, N. M., & Honcharuk, V. V. (2010). Vplyv ioniv midi na hematolohichni ta tsytohennychni pokaznyky prysnovodnykh ryb *Carassius auratus gibelio*. *Tsytolohyja y henetyka*, 2, 65-70.
11. Kuzina T.V. (2009). Analiz gematologicheskikh pokazatelej sudaka Volgo-Kaspijskogo kanala. *Estestvennye nauki. – Astrahan'*, 4 (29), 96-100.



12. Mineev, A. K. (2007). Morfologicheskij analiz i patologicheskie izmeneniya struktury kletok krovi u ryb Saratovskogo vodohranilishha. *Voprosy ihtologii*, 1, 93-100.
13. Golovina, N. A., & Trombickij, I. D. (1989). *Gematologija prudovyh ryb*. Kishinev: Shtiinca.
14. Serpunin, G. G. (2002). Gematologicheskie pokazateli adaptacij ryb. *Doctor's thesis*. Kaliningrad.
15. Sharon, G., & Zilberg, D. (2012). *Atlas of Fish Histology and Histopathology*. Central and Northern Arava Research and Development Centers.
16. Yesipova, N. B., & Surova, Yu. O. (2015). Osoblyvosti morfostruktury erytrocytov molodi riznykh vydiv ryb v umovakh hipoksiyi. *Suchasni problemy teoretychnoy i praktychnoy ikhtiolohiyi*. Herson: Hrin' D.S., 71-74.
17. Sharamok, T. S., Yesipova, N. B., & Fedonenko, O. V. et al. (2016). Ekoloho-hematolohichna kharakterystyka plitky zvychnoyi (*Rutilus rutilus* Linnaeus 1758) Zaporiz'koho vodoshkovyshcha. *Biolohichnyy visnyk MDPU imeni Bohdana Khmel'nyts'koho*, 6 (2), 303-310.
18. Ivanova, N. T. (1983). *Atlas kletok krovi ryb*. Moskva: Legkaja i pishhevaja promyshlenost'.
19. Nikolov, B., & Boyadzieva-Doichinova, D. (2010). Parameters of the red blood cell count in three species of carp fishes. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 16 (3), 307-310.

**ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И ЦИТОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ
КЛЕТОК КРАСНОЙ КРОВИ ДВУХЛЕТОК КАРАСЯ СЕРЕБРЯНОГО
В УСЛОВИЯХ ИНТОКСИКАЦИИ ИОНАМИ МЕДИ**

Т.С. Шарамок, sharamok@i.ua, Днепропетровский национальный университет имени Олеса Гончара

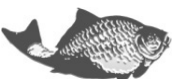
Н.Б. Есипова, yesipova.natalia@gmail.com, Днепропетровский национальный университет имени Олеса Гончара

Н. Л. Колесник, kolenataleo@gmail.com, Институт рыбного хозяйства НААН Украины, г. Киев

Цель. Выявить влияние повышенных концентраций ионов меди (10 рыбохозяйственных ПДК) на морфологические и цитометрические показатели эритроцитов двухлеток карася серебряного (*Carassius gibelio* Bloch, 1782) в экспериментальных и природных условиях.

Методика. В ходе работы использовались обобщенные результаты исследований, проводившихся в течение 2015-2016 гг. Определяли морфологические и цитометрические показатели эритроцитов карася серебряного в условиях естественного обитания (Запорожское водохранилище) и эксперимента. Концентрация ионов меди в эксперименте и в естественных условиях была одинаковой и составляла 0,01 мг/л (10 рыбохозяйственных ПДК). Экспериментальные исследования проводились в течение 21 суток. В контрольном аквариуме рыбы содержались в отстоянной водопроводной воде, в экспериментальных аквариумах интоксикацию рыб ионами меди моделировали внесением в воду CuSO_4 . Мазки крови исследовали при увеличении объектива $40\times$ и $100\times$ с использованием микрофотоъемки цифровой камерой «Sciencelab T500 5.17 М».

Результаты. Проведенные гематологические исследования показали, что у двухлеток карася серебряного в условиях экспериментальной хронической интоксикации ионами меди (0,01 мг / л) происходит увеличение доли незрелых форм эритроцитов, повышается



количество эритроцитов с патологическими явлениями (разрушение клеточной оболочки, атипичность формы), растет ядерно-цитоплазматическое соотношение, но разница в цитометрических показателях эритроцитов между экспериментальными и контрольными рыбами не была достоверной. При сравнении морфо-метрических показателей эритроцитов карася, содержащегося в экспериментальных и природных условиях при аналогичной концентрации ионов меди (0,01 мг / л), установлено достоверное увеличение площадей ядер зрелых эритроцитов и соответственно увеличение ядерно-цитоплазматического соотношения эритроцитов (почти на 30%) у рыб в экспериментальных условиях по сравнению с рыбами, которые обитали в Запорожском водохранилище. Увеличение данных показателей косвенно свидетельствует об усилении функциональной активности эритроцитов.

Научная новизна. Впервые представлен анализ влияния ионов меди в концентрации 0,01 мг/л (10 рыбохозяйственных ПДК) на цитометрические показатели эритроцитов двухлеток карася серебряного при содержании в условиях эксперимента и естественного обитания.

Практическая значимость. Полученные результаты могут быть использованы для выявления адаптационных реакций в организме рыб в условиях воздействия тяжелых металлов, а также в гидроэкологическом мониторинге для выявления опасного для гидробионтов уровня загрязнения тяжелыми металлами водных экосистем.

Ключевые слова. Карась серебряный, медь, эритроциты, патоморфологические и цитометрические показатели, Запорожское водохранилище, эксперимент.

PATHOMORPHOLOGICAL AND CYTOMETRIC PARAMETERS OF BLOOD RED CELLS OF AGE-2 PRUSSIAN CARP IN THE CONDITIONS OF INTOXICATION WITH COPPER IONS

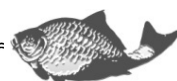
T.S. Sharamok, sharamok@i.ua, Dnipro National University named after Oles Honchar
N.B. Yesipova, yesipova.natalia@gmail.com, Dnipro National University named after Oles Honchar

N.L. Kolesnyk, kolenataleo@gmail.com, Institute of Fisheries NAAS of Ukraine, Kyiv

Purpose. To detect the effect of elevated copper ion concentrations (10 aquaculture Maximum Permissible Limits) on morphological and cytometric parameters of erythrocytes of age-2 Prussian carp (*Carassius gibelio* Bloch, 1782) in experimental and natural conditions.

Methodology. During the work, summarized results of studies performed in 2015-2016 were used. Morphological and cytometric parameters of Prussian carp erythrocytes were determined in the conditions of natural habitats (Zaporizhzhia reservoir) and an experiment. Copper ion concentration both in the experiment and natural conditions was similar and was 0.01 mg/L (10 aquaculture Maximum Permissible Limits). Experimental studies were performed during 21 days. In the control aquarium, fish were kept in the settled tap water; while in the experimental aquaria, intoxication of fish with copper ions was modelled by introducing CuSO_4 in water. Blood smears were examined under 40x and 100 x magnifications with the use of microphotography (digital camera Sciencelab T500 5.17 M).

Findings. The performed hematological studies showed that under the conditions of experimental chronic intoxication with copper ions (0.01 mg/L), age-2 Prussian carp had an increase in the share of immature forms of erythrocytes, increase in the number of erythrocytes with pathological signs (cell wall destruction, atypical forms), increase in the nucleus-cytoplasm ration, but the difference in cytometric parameters of erythrocytes between experimental and control fish was not significant. When comparing the morphometric parameters of erythrocytes of fish kept in experimental and natural conditions with similar copper ion concentrations (0.01 mg/L), a significant



increase in the nucleus areas of mature erythrocytes was detected and, correspondingly, an increase in the nucleus-cytoplasm ratio of erythrocytes (by almost 30%) in fish in experimental conditions compared to fish, which lived in the Zaporizhzhia reservoir. An increase in these parameters indirectly indicate on the inhibition of erythrocyte functional activity.

Originality. *For the first time, an analysis of the effect of copper ions at a concentration of 0.01 mg/L (10 aquaculture Maximum Permissible Limits) on cytometric parameters of Prussian carp erythrocytes in experimental and natural conditions was presented.*

Practical value. *The obtained results can be used for detecting adaptation reactions in fish organisms under the conditions of the effect of heavy metals as well as for hydroecological monitoring for detecting the levels of heavy metal pollution in aquatic ecosystems dangerous for hydrobionts.*

Key words. *Prussian carp, copper, erythrocytes, pathomorphological and cytometric parameters, Zaporizhzhia reservoir, experiment.*

