

ОСОБЛИВОСТІ ГІСТОЛОГІЧНОЇ СТРУКТУРИ ЗЯБЕР ДЕЯКИХ КОРОПОВИХ РИБ ЗАПОРІЗЬКОГО ВОДОСХОВИЩА

В. О. КУРЧЕНКО, Т. С. ШАРАМОК

Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара,
пр. Гагаріна, 72, м. Дніпро, 49050, Україна,
e-mail: super_vika3@ukr.net

Дослідження проводились на двох ділянках Запорізького водосховища, які відрізняються за еколого-гідрологічним станом, є основними нерестовими і промисловими районами. Якість води нижньої ділянки водосховища в основному відповідала рибогосподарським нормативам, за винятком вмісту міді, який перевищував ГДК у 7 разів. У воді Самарської затоки виявлено підвищений вміст міді у 8 разів, марганцю - у 1,7 разів, свинцю - у 1,5 і кадмію - у 2 рази порівняно з ГДК. Об'єктами досліджень були чотирирічні особини сазана та ляця звичайного. Зябра риб для досліджень отримували від свіжовивленої риби шляхом анатомічного розтину, які піддавали фіксації та фарбуванню за загальноприйнятими методиками. Гістологічні дослідження зябер риб показали, що в товщі зябрових пелюсток знаходиться хрящ гіалінового походження, який оточений прошарком пухкої сполучної тканини з кровоносними судинами. Покрив зябрових пелюсток складав багатошаровий епітелій. Основну масу його склали респіраторні клітини, що характеризувалися базофільною цитоплазмою, розташованим у центрі ядром, в зовнішньому шарі епітелій - трохи сплющеної форми. Слизіві клітини великі, овальної форми. Від зябрових пелюсток в обидві сторони відходять численні ламели. Основу ламел становив судинний шар, сформований розташованими в один ряд стовпчастими клітинами. Останні мали циліндричну форму. Вторинний зябровий епітелій, що покриває ламели, був сформований розташованими в два шари респіраторними клітинами трохи сплющеної форми. Виявлені зміни деструктивного характеру зябер ляця та сазана спостерігалися в складі ламел. Морфометричний аналіз вказав на наявність відмінностей у їх ширині і довжині. Респіраторні ламели у ляця, вилученого з нижньої ділянки водосховища були коротшими і ширшими, ніж в Самарській затоці на 25 та 16% відповідно ($p \leq 0,05$). У сазана з різних ділянок водосховища довжина ламел була майже однаковою, але виявлені вірогідні відмінності у їх ширині. В зябрах досліджених риб Запорізького водосховища зазначалася наявність гістопатологічних змін: потовщення терміналей респіраторних ламел, злиття респіраторних та викривлення ламел. Некроз, десквамація респіраторних ламел та гіперплазія респіраторного епітелію, що спостерігалась нами у риб Самарської затоки, свідчить про токсичний вплив збоку водного середовища.

Ключові слова: ляц звичайний, сазан, Запорізьке водосховище, зябра, гістологічна структура

Вступ. Проблема дослідження впливу шкідливих факторів навколишнього середовища на живі організми була і залишається однією із пріоритетних. В останні роки особливу важливість придбала проблема забруднення водойм, в тому числі і Запорізького водосховища.

Для з'ясування стану організму риб у забрудненому середовищі існування важливо визначити індикатори різного рівня, які б дозволили виявити ранні токсичні ефекти, оцінити їх наслідки та адаптаційні можливості організму.

При антропогенному стресі відбувається «каскадна» мінливість екосистем: зміни на вищих рівнях організації біосистем відбуваються після змін на нижчих рівнях (Моїсеєнко, 2008), тому для точної і достовірної оцінки здоров'я популяцій риб необхідно використовувати цитологічні та гістологічні біомаркери.

Гістологічні біомаркери широко використовуються в екотоксикологічних дослідженнях, вони досить чутливі і враховують

стан специфічних органів-мішеней - зябра, нирки, печінка.

Гістологічний метод не завжди дозволяє досить точно діагностувати захворювання. Однак, він дає відповідь, наскільки глибоко на тканинному і клітинному рівні зайшов патологічний процес і наскільки широко уражено все досліджене стадо риб. У силу ряду причин риби визнані найбільш зручними об'єктами для біомоніторингу забруднення водних екосистем (Немова, Висоцька, 2004).

У риб органом, який безпосередньо контактує з водним середовищем і найбільш уразливий у зв'язку з пристосуванням до активного транспорту розчинених у воді газів, є зябра. Існує велика кількість досліджень, що демонструють гістопатологічні зміни у зябрах, які перебувають під впливом широкого діапазону токсикантів органічної і неорганічної природи (Alazemi B.M та інші, 1996; Doughtie і Pao, 1983; Parashar Ram Sanehi, Банерджі Таран Кумар, 2002.; Мазон і ін., 2002; Bolotova, Konovalov, 2003; Velcheva і ін 2010).

Пошук нових, чутливих індикаторів, які дозволяють розкривати механізми антропогенного впливу, був і залишається актуальним. З цієї точки зору найбільш перспективними є гістопатологічні індикатори, серед яких морфофункціональні зміни зябрового апарату займають особливе місце.

Метою роботи є виявлення особливостей гістологічної структури зябер деяких коропових риб, що мешкали в різних гідроекологічних умовах.

Матеріали та методи досліджень.

Проби відбирали у двох ділянках Запорізького водосховища, які відрізняються за еколого-гідрологічним режимом, є основними нерестовими і промисловими районами.

Нижня ділянка водосховища в районі села Військове (48°22'30.75''N; 35°20'80.05E) характеризується задовільним водообміном, розташована в аграрній зоні і майже не відчуває на собі впливу токсичних промислових стоків. Якість води в цьому районі в основному відповідає нормативам за винятком вмісту міді, який перевищував ГДК в 7 разів. Самарська затока (48°53'40.21''N; 35°18'73.20E) у місці впадання річки Самара у водосховище характеризується слабкою проточністю і великою площею мілководдя, що призводить до «цвітіння» води і викликає застійні явища. Гідроекологічний стан затоки визначається впливом високомінералізованих шахтних стічних вод, основними забруднюючими компонентами яких є дрібнодисперсні завислі частки і важкі метали. У воді Самарської затоки виявлено підвищений вміст міді у 8 разів, марганцю - у 1,7 разів, свинцю - у 1,5 і кадмію - у 2 рази порівняно з ГДК (Шарамок та інші, 2016).

Об'єктами досліджень були чотирирічні особини обох статей ляща (*Abramis brama* Linnaeus, 1758) та сазана (*Cyprinus carpio* Linnaeus, 1758). Риб відловлювали за допомогою зябрових сіток під час проведення науково-дослідних ловів у весняно-літній період 2015-2016 рр. Усього було досліджено 24 екземпляри риб.

Зябра риб для гістологічних досліджень отримували від свіжовиловленої риби шляхом анатомічного розтину. Фіксацію матеріалу проводили в 10%-ому водному розчині нейтрального формаліну. Після фіксації матеріал промивали проточною водопровідною водою.

Для заливки в парафін промитий матеріал зневоднювали у спиртах, просвітляли в ксилолі за температури 37 °С. У подальшому матеріал витримували в парафін-ксилолі і заливали у парафінові блоки. Зрізи товщиною 10 мкм виготовляли на мікротомі МС-2. Для виготовлення

гістологічних препаратів тканини зябер фарбували гематоксиліном та еозином.

Фотографії гістологічних препаратів робили за допомогою цифрової фотокамери «SciencelabT500 5.17М», котра підключалась до мікроскопу фірми «Біолам-70». Обчислення проводили за допомогою ScienceLabView7.

Отримані цифрові дані піддавали статистичному опрацюванню за загальноприйнятими методами статистики. Вірогідність відмінностей між показниками оцінювали за допомогою t-критерія Стьюдента.

Результати та їх обговорення.

Гістологічне дослідження зябер коропових риб Запорізького водосховища показало, що у товщі зябрових пелюсток знаходиться хрящ гіалінового походження, який оточений прошарком пухкої сполучної тканини з кровоносними судинами. Покрив зябрових пелюсток складав багатошаровий епітелій. Основну масу його склали респіраторні клітини, що характеризувалися базofilною цитоплазмою, розташованим у центрі ядром, у зовнішньому шарі епітелій - трохи сплющеної форми. Слизові клітини великі, овальної форми. Від зябрових пелюсток в обидві сторони відходять численні ламели. Основу ламел становив судинний шар, сформований розташованими в один ряд стовпчастими клітинами. Останні мали циліндричну форму. Вторинний зябровий епітелій, що покриває ламели, був сформований розташованими у два шари респіраторними клітинами трохи сплющеної форми.

Морфометричний аналіз зябер коропових риб Запорізького водосховища показав на наявність відмінностей у ширині і довжині ламел. Деструктивні зміни в зябрах риб слід розцінювати у зв'язку з їх функціональною недостатністю як віддаленими наслідками впливів токсичних речовин, розчинених у воді.

У ляща, вилученого з Самарської затоки, ламели виявилися довшими і вужчими, ніж у нижній ділянці водосховища на 25 та 16% відповідно ($p \leq 0,05$). У сазана з різних ділянок водосховища спостерігається тенденція до подовшення ламел. Як і у ляща у них виявлені вірогідні відмінності в їх ширині, тобто у Самарській затоці респіраторні ламели сазана вужчі, ніж у нижній ділянці Запорізького водосховища на 42%. (рис. 1).

Також нами були виявлені деякі гістопатологічні зміни у зябрах ляща Самарської затоки: десквамація респіраторних ламел, викривлення ламел та у сазана: гіперплазія респіраторного епітелію біля основи ламел, некроз (рис.2).

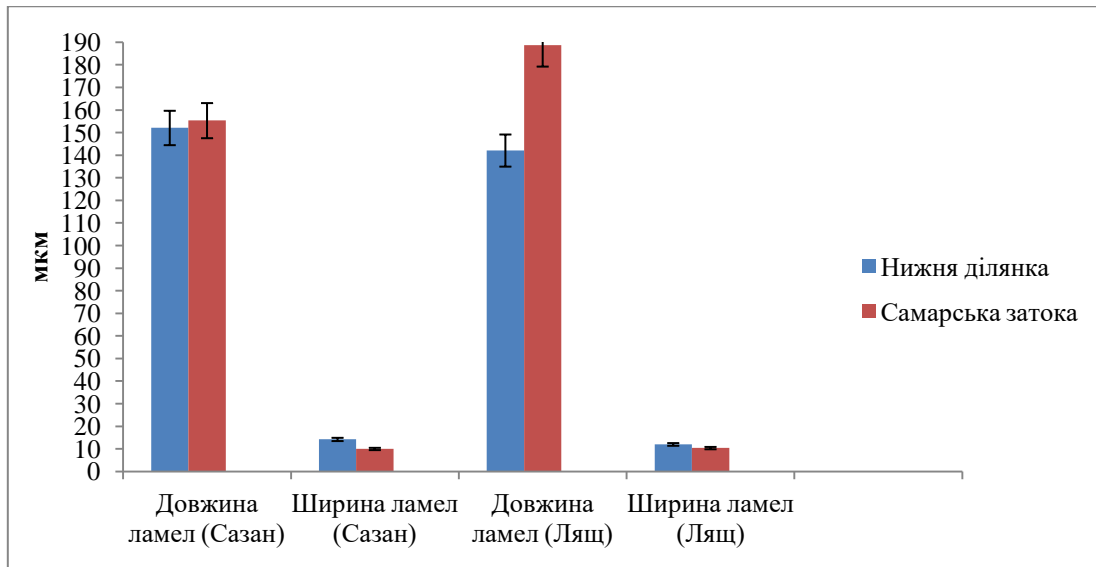
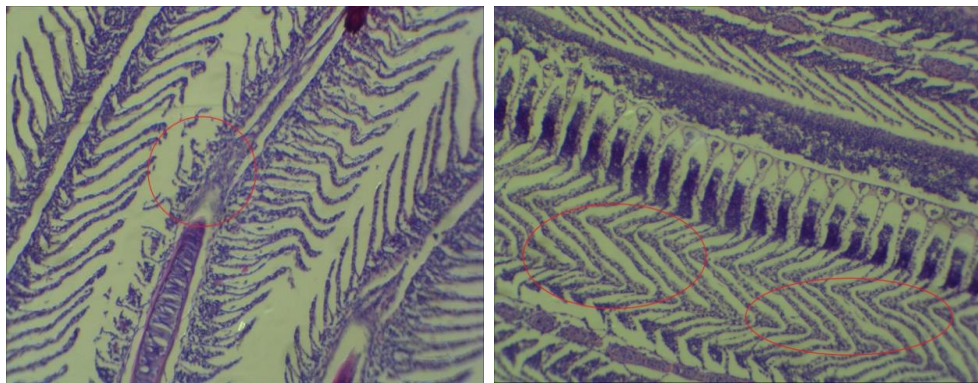


Рис. 1. Морфометричні показники зябер корокових риб Запорізького водосховища, $M \pm m$, $n=40$

Fig. 1. Morphometric indices of the carp fishes' gills in Zaporizhian Reservoir, $M \pm m$, $n=40$



А

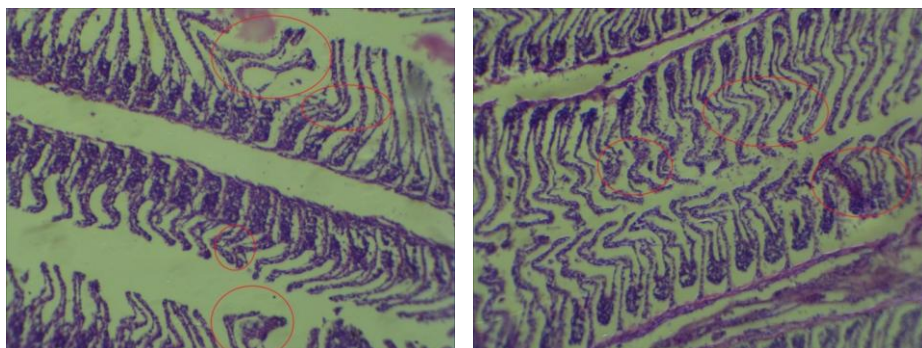
Рис. 2. Гістопатологічні зміни зябер риб Самарської затоки: А – сазан; Б – лящ

Б

Fig. 2. Histopathological changes in the fish gills from Samara Bay: А – sazan; В – bream

У риб нижньої ділянки Запорізького водосховища також були виявлені зміни деструктивного характеру: у ляща - потовщення

терміналей респіраторних ламел, злиття респіраторних ламел, викривлення ламел, у сазана - викривлення ламел (рис. 3).



А

Рис. 3. Гістопатологічні зміни зябер риб нижньої ділянки: А- лящ; Б- сазан.

Б

Fig. 3. Histopathological changes in the fish gills from the lower area: А – bream; В – sazan

Наші дослідження показали, що у більшості риб нижньої ділянки Запорізького водосховища респіраторні ламели були без помітних відхилень. Однак, у 38% особин ляща відзначалось викривлення ламел, у 37% - потовщення та у 12,5% - їх злиття. У 25% особин досліджуваного сазана спостерігалось викривлення ламел.

У зябрах 50% особин ляща та 37,5% сазана Самарської затоки була виявлена гіперплазія респіраторного епітелію зябер. Викривлення ламел спостерігалось у 25% особин обох видів риб. Найбільш критичними гістологічними порушеннями зябер є десквамація респіраторних ламел та некроз, які зустрічались у 37,5% особин ляща та у 12,5% і 25% ляща і сазана відповідно.

У досліджуваних нами риб нижньої ділянки частота патологій зябер складала 25% та 29% у сазана та ляща відповідно. У риб Самарської затоки цей показник був вищим на 17% та 7%. Відомо, що при забрудненні довкілля важкими металами найбільш типовими для зябер гістопатологією є гіперплазія клітин апікальних ділянок респіраторних ламел та некротичних явищ (Лукина, 2014). Подібні патології зустрічались у корошових риб Самарської затоки, що може свідчити про середній ступінь забрудненості водного середовища важкими металами.

Висновки. Виявлені нами зміни деструктивного характеру зябер ляща та сазана Запорізького водосховища спостерігалися в складі ламел. Респіраторні ламели у ляща, вилученого з нижньої ділянки водосховища, були коротшими і ширшими, ніж у Самарській затоці на 25 та 16% відповідно ($p \leq 0,05$). У сазана з різних ділянок водосховища довжина ламел була майже однаковою, але виявлені вірогідні відмінності в їх ширині. В зябрах 25 – 31% досліджених особин риб зазначалася наявність гістопатологічних змін: потовщення терміналей респіраторних ламел, їх злиття та викривлення. Некроз, десквамація респіраторних ламел та гіперплазія респіраторного епітелію, що спостерігалась нами у риб Самарської затоки, свідчить про токсичний вплив з боку водного середовища.

Список літератури:

1. Лукина Ю.Н. Проблемы здоровья рыб в водных экосистемах европейско-сибирской области Палеарктики: Автореф. дисс. канд. биол. наук.: Петрозаводск, 2014. - 51с.
2. Моисеенко Т.И. Концепция здоровья экосистемы в оценке качества вод и нормирования антропогенных нагрузок. - К: Наук.думка, 2008.- С. 411 - 419.

3. Немова Н. Н.,Высоцкая Р. У. Биохимическая индикация состояния рыб. – М. : Наука, 2004. – 215 с.
4. Шарамок Т. С., Єсіпова Н. Б., Федоненко О.В., Білецька О.В. Еколого-гематологічна характеристика плітки звичайної Запорізького водосховища. Біологічний вісник МДПУ імені Богдана Хмельницького 6 (2), Мелітополь: 2016.- 303-310 с.
5. Alazemi B.M.; Lewis J.W. & Andrews E.B.(1996). Gill damage in the freshwater fish, *Gnathonemus petersii* (Family: Mormyridae) exposed to selected pollutants: an ultrastructural study. -1996: Environmental Technology, 17: -P. 225-238.
6. Bolotova N.L., Konovalov A. F. Morphopathologic analysis of zander (*Stizostedion lucioperca* L.) in Beloe Lake / Abstr. 28 Congress of International Association of Theoretical and Applied Limnology, Melbourne, 2001. Pt. 3 / Int. Ver. Theor. Und angew. Limnol.2003. Pft. 3– P. 1609–1612.
7. Doughtie, D.G., Rao, K.R.: Ultrastructural and histological study of degenerative changes leading to black gills in grass shrimp exposed to a dithiocarbamate biocide. - 1983. Journal of Invertebrate Pathology 41(1): - P. 33-50.
8. Mazon, A.F., Monteiro, E.A.S., Pinheiro, G.H.D., Fernadez, M.N. (2002): Hematological and physiological changes induced by short-term exposure to copper in the freshwater fish, *Prochilodus scrofa*. - Brazilian Journal of Biology 62(4a): - P. 621-631.
9. Parashar R. S., Banerjee T. K. Toxic impact of lethal concentration of lead nitrate on the gills of air-breathing catfish (*Heteropneustes fossilis* (Bloch)) / Ver. Arh. – 2002. – Vol. 72. № 3. – P. 167–183.
10. Velcheva, I., Arnaudov, A., Georgieva, E. Influence of zinc on gill morphology of *Gibelio* carp (*Carassius gibelio*). - 2010. Ecologia Balkanica 2: - P. 19-23.
11. Vigliano, F.A, Aleman, N., Quiroga, M.I., Nieto, J.M. Ultrastructural characterization of gills in juveniles of the Argentinian silverside, *Odontesthes bonariensis* (Valenciennes, 1835) (Teleostei: Atheriniformes). - 2006 Anatomia, Histologia, Embryologia 35: - P. 76-83.

References:

1. Lukina Ju.N. Problemy zdorov'ja ryb v vodnyh jekosistemah evropejsko-sibirskoj oblasti Palearktiki: Avtoref. diss. kand. biol. nauk. : Petrozavodsk, 2014. - 51s.
2. Moiseenko T.I. Konceptija zdorov'ja jekosistemy v ocenke kachestva vod i normirovanija antropogennyh nagruzok. - K: Nauk.dumka, 2008.- S. 411 - 419.
3. Nemova N. N., Vysockaja R. U. Biohimicheskaja indikacija sostojanija ryb. – М. : Nauka, 2004. – 215 s.
4. Sharamok T. S., Yesipova N. B., Fedonenko O.V., Bilets'ka O. V. Ekoloho-hematolohichna kharakterystyka plitky zvychnoyi Zaporiz'koho vodoskhovyshcha. Biolohichnyy visnyk MDPU imeni Bohdana Khmel'nyts'koho 6 (2), Melitopol': 2016.- 303-310 s.
5. Alazemi B.M.; Lewis J.W. & Andrews E.B.(1996). Gill damage in the freshwater fish, *Gnathonemus petersii* (Family: Mormyridae) exposed to selected pollutants: an ultrastructural study. -1996: Environmental Technology, 17: -P. 225-238.

6. Bolotova N.L., Konovalov A. F. Morphopathologic analysis of zander (*Stizostedion lucioperca* L.) in Beloe Lake / Abstr. 28 Congress of International Association of Theoretical and Applied Limnology, Melbourne, 2001. Pt. 3 / Int. Ver. Theor. Und angew. Limnol. 2003. Pfrt. 3–P. 1609–1612.
7. Doughtie, D.G., Rao, K.R.: Ultrastructural and histological study of degenerative changes leading to black gills in grass shrimp exposed to a dithiocarbamate biocide. - 1983. *Journal of Invertebrate Pathology* 41(1): - P. 33-50.
8. Mazon, A.F., Monteiro, E.A.S., Pinheiro, G.H.D., Fernadez, M.N. (2002): Hematological and physiological changes induced by short-term exposure to copper in the freshwater fish, *Prochilodus scrofa*. - *Brazilian Journal of Biology* 62(4a): - P. 621-631.
9. Parashar R. S., Banerjee T. K. Toxic impact of lethal concentration of lead nitrate on the gills of air-breathing catfish (*Heteropneustes fossilis* (Bloch)) / *Ver. Arh.* – 2002. – Vol. 72. № 3. – P. 167–183.
10. Velcheva, I., Arnaudov, A., Georgieva, E. Influence of zinc on gill morphology of Gibelio carp (*Carassius gibelio*). - 2010. *Ecologia Balkanica* 2: - P. 19-23.
11. Vigliano, F.A, Aleman, N., Quiroga, M.I., Nieto, J.M. Ultrastructural characterization of gills in juveniles of the Argentinian silverside, *Odontesthes bonariensis* (Valenciennes, 1835) (Teleostei: Atheriniformes). - 2006 *Anatomia, Histologia, Embryologia* 35: - P. 76-83.

FEATURES OF CARP FISH GILLS HISTOLOGICAL STRUCTURE FROM ZAPORIZHIAN RESERVOIR

V. O. Kucherenko, T. S. Sharamok

The research was held on two sections from Zaporizhian Reservoir, which differ in ecological and hydrological conditions, and are the main spawning and industrial areas. The water quality of the reservoir lower part basically corresponded to the fishery regulations, with the exception of the copper content, which exceeded the MPC by 7 times. In the Samara Bay waters the copper content was exceeded by 8 times, manganese – 1.7 times, lead – 1.5 and cadmium – 2 times compared with the MPC. The objects of research were four-year-old specimens of common carp and freshwater bream. Fish gills for research were obtained from freshly-fished fish by anatomical section, which were fixed and painted according to generally accepted techniques.

Histologic studies of fish gills revealed that in the gill lobes there is cartilage of hyaline origin, which is surrounded by a loose connective tissue layer with blood vessels. The cover gill lobes cover was made up of a multi-layered epithelium. The bulk of it consisted of respiratory cells characterized by a basophilic cytoplasm, located in the center of the nucleus, in the outer layer of the epithelium – a slightly flattened form. Mucous cells are large and oval. From the gill lobes on both sides there are a lot of lamellas. The basis of the lamella is the vascular layer, formed by columnar cells placed in one row. The latter have a cylindrical shape. Two layers of relatively flattened respiratory cells formed the secondary gill epithelium covering the lamellae. Detected changes in the destructive nature of common carp and freshwater bream gills were observed in the composition of lamellas. Morphometric analysis revealed differences in their width and length. Respiratory lamellas in a bream isolated from the lower part of the reservoir were shorter and wider than in Samara Bay by 25 and 16%, respectively ($p \leq 0.05$). In the common carp from different parts of the reservoir the length of the lamellae was almost the same, but the probable differences in their width were revealed. The gills of investigated fishes from Zaporizhian Reservoir indicated the presence of histopathological changes: thickening of the respiratory lamellas terminals, fusion of respiratory and lamellas curvature. Necrosis, desquamation of respiratory lamellas and hyperplasia of the respiratory epithelium, observed by us in the fishes of the Samara Bay, indicate a toxic impact from the aquatic environment.

Key words: Freshwater bream, common carp, Zaporozhian Reservoir, gills, histological structure.

Отримано редколегією 20.05.2017