

вало улучшению клинического состояния больных животных, но не приводило к полной нормализации биохимического состава крови и изучаемых показателей рубцовой и спинномозговой жидкости.

Библиографический список

1. Маклеод Н.С. Влияние породы, системы инбридинга и других факторов на смертность ягнят / Н.С. Маклеод, Г. Уингер, К. Вильямс // Каз. НИИТИ, 1985. – С. 22.

2. Скрыпник Т. Т. Заболевания овец с поражением центральной нервной системы

// Ветеринария. – 1971. – № 4. – С. 73-74.

3. Ben Said M. S. La necrose lu cortex cerebral: une enzootie dans un tronpen d'ovinsen Tunisie /Ben Said M. S., Zrelli M., Tournut J. // Rev. Men. veter. – 1986. – Vol. 137. – № 8-9. – P. 573-576.

4. Carello B. et. all. Poliencefalomalaiia en bovines // Proc. of 20th Wold Veter. Congress i 1975. – S. 2020-2024.

5. Hentschl A. F. Treatment of bovine Polioencephalomalomacia with vitamin B complex / Hentschl A. F., Walton J. F., Miller E. W. // Med. Vet. Pract. – 1966. – Vol. 47. – P. 72-74.

УДК 639.3:574.5.504.453

Л.Л. Фомина, Д.Ю. Мешалкин

ФГБОУ ВПО «Вологодская государственная молочнохозяйственная академия им. Н.В. Верещагина», Вологда

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ РЫБ В УСЛОВИЯХ ИНТОКСИКАЦИИ ВОДНОЙ СРЕДЫ ИОНАМИ СВИНЦА

Ключевые слова: рыбы, кровь, воздействие свинца, морфологические изменения эритроцитов, микроядра.

*В работе приводятся результаты морфологического исследования крови карасей (*Carassius carassius* L.) и окуней (*Perca fluviatilis* L.), находившихся в аквариуме с содержанием свинца менее 0,005 мг/дм³ – контрольная группа, в аквариуме с содержанием свинца 0,6 мг/дм³ – опытная группа. При оценке клеток крови учитывались разнообразные деструктивные нарушения эритроцитов.*

Получены данные, свидетельствующие о возникновении морфологических изменений эритроцитов при воздействии ионами свинца, которые могут быть применены для мониторинга рыбохозяйственных водоемов и оценки состояния здоровья рыб.

L. Fomina, D. Meshalkin

FSBEI HPE «Vologda State Dairy Farming Academy name after N.V. Vereshchagin», Vologda

MORPHOLOGICAL CHANGES OF RED CELLS OF PERIPHERAL BLOOD OF FISH IN WATER INTOXICATED BY LEAD IONS

Key words: fish, blood, lead exposure, morphological changes of erythrocytes, micronuclei.

*The paper presents the results of morphological studies of the blood of carp (*Carassius carassius* L.) and perch (*Perca fluviatilis* L.) kept in an aquarium with a lead content of less than 0,005 mg/dm³ - control group, and in an aquarium with a lead content of 0.6 mg/dm³ - experimental group. A variety of destructive disorders of erythrocytes were taken into account during the evaluation of blood cells.*

Evidence has been obtained showing the appearance of morphological changes in erythrocytes when exposed to ions of lead, which can be used to monitor fisheries and for evaluation of the health status of fish.

Введение. Биоиндикация является незаменимой для оценки биологического эффекта, вызванного тем или иным загрязнителем или другим агентом, установления степени опасности его для экосистемы и прогнозирования состояния живого сообщества.

Водные экосистемы, являясь наиболее уязвимыми элементами биосферы, особенно чувствительны к различным проявлениям антропогенного воздействия. Комплексная оценка состояния водной биоты, ее прогностическая ценность может быть надежно осуществима на основании детальных характеристик основных компонентов гидробиоценоза: микробиоты, фито- и зоопланктона, фито- и зообентоса, а также состояния жизненно важных органов представителей рыб разных экологических групп [2].

Кровь как наиболее лабильная ткань быстро реагирует на действие различных экзогенных и эндогенных факторов. У рыб регистрируются разнообразные деструктивные нарушения в строении эритроцитов. К их числу относятся: пойкилоцитоз, нарушение осмотической резистентности мембраны эритроцитов, псевдоагглютинация. Кроме того, наблюдаются такие изменения в структуре ядер клеток, как кариопикноз, кариолизис, кариорексис, деформация ядер, инвагинация ядер и появление микроядер в эритроцитах [5; 6].

Оценка частоты встречаемости клеток с патологическими изменениями может рассматриваться в качестве индикатора, указывающего на развитие патологических изменений в структуре эритроцитов под действием генотоксических факторов загрязнения среды.

В литературе имеется достаточно большое количество исследований, посвященных изучению влияния токсических агентов на морфологический состав крови рыб [1,3,4,5,8 и др.], но авторы учитывают изменения, возникающие в крови рыб естественных водоемов, где на организм, помимо токсиканта, действуют и другие факторы. Кроме этого, в доступной нам литературе нет данных

о времени возникновения и динамике развития морфологических изменений эритроцитов рыб после загрязнения среды обитания тяжелыми металлами.

Цель работы: изучение динамики морфологических изменений эритроцитов рыб в связи с токсическим загрязнением места обитания в условиях эксперимента.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена на кафедре анатомии и физиологии факультета ветеринарной медицины и биотехнологий ФГБОУ ВПО ВГМУ имени Н.В. Верещагина. Исследования проводили на карасях (*Carassius carassius* L.) и окунях (*Perca fluviatilis* L.) массой 100-150 г.

Морфологические особенности эритроцитов исследовались у рыб, находящихся в аквариуме с содержанием свинца менее 0,005 мг/дм³ – контрольная группа, в аквариуме с содержанием свинца 0,6 мг/дм³ – опытная группа (ПДК – 0,1 мг/дм³). Кормили рыб дождевыми червями, опарышами, гаммарусом, дафнией и другими кормами для аквариумных рыб. Забор крови проводился ежедневно шприцем из хвостового гемального канала.

Для окрашивания мазков крови применяли ДИАХИМ-ДИФФКВИК, набор для быстрого дифференцированного окрашивания биопрепаратов.

На препаратах проводился учет эритроцитов с микроядрами (МЯ) и другими патологическими изменениями (ДПИ). Микроядра в эритроцитах выглядели как идеально округлые хроматиновые тельца, имеющие ту же окраску и структуру хроматина, что и основное ядро, но и имеющие в отличие от ядра гораздо меньшие размеры [7].

К другим патологическим изменениям эритроцитов относили пойкилоцитоз (грушевидные, угловатые и ромбовидные эритроциты), анизоцитоз (эритроциты разных размеров), вакуолизацию митохондрий и деструкцию крист, лизис содержимого клеток, вакуолизацию цитоплазмы, изменения в мембране эритроцитов [1,8,9].

Долю клеток с микроядрами (МЯ %) определяли отношением количества клеток с микроядрами к общему количеству проанализированных эритроцитов. Долю клеток с другими типами патологии ядра (ДПИ) определяли аналогично. Статистическую обработку выполняли, используя программный пакет «Microsoft Excel». Достоверность различий устанавливали, используя критерий Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение. Количество эритроцитов с микроядрами в крови рыб контрольной группы не превышало уровень, наблюдаемый при спонтанном мутагенезе (фоновый уровень: 0,5-1,0%) [6]. Количество эритроцитов с другими патологическими изменениями составило $3,98 \pm 0,45\%$ (таблица 1).

Таблица 1 – Частота встречаемости клеток с микроядрами и другими нарушениями в эритроцитах крови рыб контрольной группы

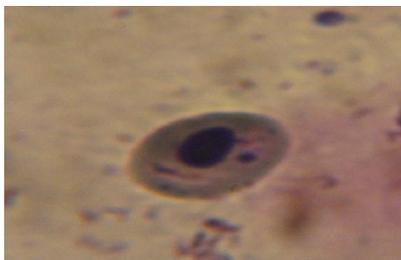
Контрольная группа (n=14)	Эритроциты с микроядрами (МЯ %)	$0,25 \pm 0,11^*$
	Эритроциты с другими патологическими изменениями (ДПИ%)	$3,98 \pm 0,45^*$

* – $p < 0,05$

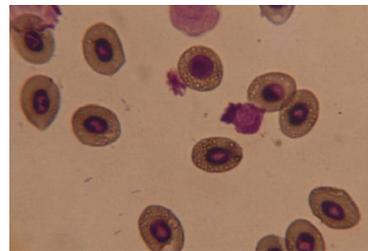
При статистическом анализе полученных результатов была обнаружена прямая корреляционная зависимость частоты встречаемости клеток с микроядрами и вероятности встречаемости клеток с другими признаками цитопатологических нарушений. Величина коэффициента корреляции: $R \pm m r = 0,67 \pm 0,14$ при $p < 0,01$. Полученная корреляционная зависимость показателей по контрольной группе отличается от данных Т.В. Кузиной, которая установила, что вероятность встречаемости клеток с

микроядрами возрастает в тех случаях, если снижается доля клеток с другими признаками различной степени деструкции ядра ($R \pm m r = -0,58 \pm 0,17$ при $p < 0,01$) [5].

При нахождении окуней и карасей в аквариуме с содержанием свинца $0,6 \text{ мг/дм}^3$ в крови рыб увеличивается содержание эритроцитов с микроядрами, пойкилоцитозом, вакуолизацией цитоплазмы, изменениями в мембране эритроцитов, протуберанцами – выростами в виде хроматиновых нитей (рис.1).



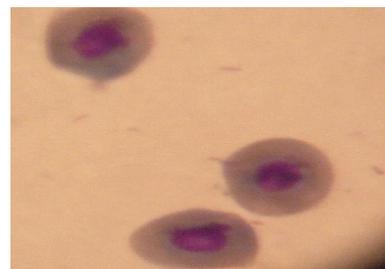
Микроядра



Вакуолизация цитоплазмы в эритроцитах карася на 5-й день эксперимента



Изменения в мембране эритроцитов окуня на 4-й день эксперимента



Протуберанцы хроматина в эритроцитах карася на 5-й день эксперимента

Рисунок 1 – Морфологические изменения эритроцитов периферической крови окуня и карася (ув. x1000)

Анализируя полученные данные, мы выявили, что количество микроядер рез-

ко вырастает на 4-й день эксперимента с $3,44 \pm 1,05\%$ до $6,48 \pm 0,72\%$ (таблица 2).

Таблица 2 – Частота встречаемости клеток с микроядрами и другими нарушениями в эритроцитах крови рыб опытной группы

Опытная группа (n=6)	Эритроциты с микроядрами (МЯ %)	Эритроциты с другими патологическими изменениями (ДПИ%)
1-й день эксперимента	$0,67 \pm 0,23$	$9,44 \pm 2,85$
2-й день эксперимента	$2,32 \pm 0,44^*$	$9,12 \pm 1,58^*$
3-й день эксперимента	$3,44 \pm 1,05^*$	$15,52 \pm 1,99^*$
4-й день эксперимента	$6,48 \pm 0,72^*$	$89,33 \pm 0,67^*$
5-й день эксперимента	$8,28 \pm 1,68^*$	$61,75 \pm 1,82^*$
Среднее по группе	$4,24 \pm 1,38^*$	$37,03 \pm 16,35^*$

* - разность с контрольной группой достоверна, $P < 0,05$

Количество эритроцитов с другими патологическими изменениями также резко возросло к 4-му дню, но затем

их количество уменьшалось, что, по-видимому, связано с ростом количества микроядер (рис.2).



Рисунок 2 – Динамика изменений эритроцитов в опытной группе

Образование микроядер в таком случае можно рассматривать как результат (и вариант) адаптивных процессов (клеточная адаптация) [5].

Корреляционный анализ показал высокую степень корреляции между количеством морфологически измененных эритроцитов и временем нахождения рыб в загрязненной воде. Величина коэффициента корреляции: $R \pm m_r = 0,88 \pm$

$0,04$ для микроядер и $0,80 \pm 0,09$ для других патологических изменений при $p < 0,01$.

При сравнении морфологических изменений крови было замечено, что у окуней (*Perca fluviatilis*) основные изменения при токсическом воздействии происходят в мембране и цитоплазме эритроцитов, а у карасей (*Carassius carassius* L.) в ядре (рис.3,4).

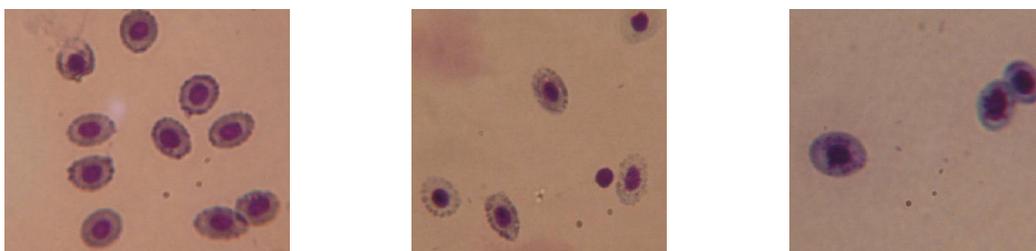


Рисунок 3 – Морфологические изменения эритроцитов у окуней (изменения мембраны и цитоплазмы эритроцитов)



Рисунок 4 – Морфологические изменения эритроцитов у карасей (изменения ядра, микроядра)

В результате различных ответных реакций на токсическое воздействие караси оказались более устойчивы к загрязнению свинцом – все особи адаптировались к повышенному содержанию свинца в аквариуме. Окуни погибали на 6-7-й день нахождения в загрязненной воде.

Следовательно, можно согласиться с авторами, утверждающими, что образование микроядер в клетках может представлять собой компенсаторно-приспособительный процесс, и формирование клеток с микроядрами может рассматриваться в качестве показателя развития патологических изменений в структуре эритроцитов под действием повреждающих факторов среды и нарушения цитогенетического гомеостаза [3,5].

Заключение и предложения. В результате исследования было выявлено, что часто встречаемыми изменениями эритроцитов рыб, возникающими при воздействии солями свинца, являются пойкилоцитоз, вакуолизация цитоплазмы, изменения в мембране эритроцитов, изменения в структуре ядер клеток, в том числе появление микроядер в эритроцитах.

Основные деструктивные нарушения эритроцитов возникали на 4-е сутки пребывания рыб в загрязненном аквариуме, что косвенно может указывать на продолжительность гемопозеза у рыб.

Корреляционный анализ показал высокую зависимость между количеством морфологически измененных эритроцитов и временем нахождения в загрязненной воде у рыб опытной группы.

Таким образом, учет частоты встречаемости эритроцитов с патологическими изменениями в периферической крови рыб, в том числе, микроядерный тест, применим для биоиндикации состояния водной среды при загрязнении водоемов

ионами свинца выше допустимой концентрации в 5-10 раз.

Библиографический список

1. Абдуллаева Н.М. Цитогематологическое исследование рыб при воздействии тяжелых металлов и сырой нефти / Н.М. Абдуллаева: автореф. дис. канд. биол. наук. – Махачкала, 2007. – 22 с.
2. Гашев С.Н. Методика комплексной оценки состояния сообществ и популяций доминирующих видов или видов-индикаторов мелких млекопитающих, амфибий и рыб / С.Н. Гашев, Н.А. Сазонова, А.Г. Селюков и др. – Тюмень: ТюмГУ, 2005. – 94 с.
3. Ильинских И.Н. Микроядерный анализ и цитогенетическая нестабильность / И.Н. Ильинский, В.В. Новицкий, Н.Н. Ванчугова, Н.Н. Ильинских. –Томск: Наука, 1992. – 272 с.
4. Кейстер И.А. Морфологический состав крови ряпушки и ее изменения как биоиндикационные показатели условий обитания в белом озере (Вологодская область) / И.А. Кейстер // Современные проблемы науки и образования. – 2009. – № 3 – С. 117-125
5. Кузина Т.В. Изменения структуры ядра эритроцитов периферической крови промысловых рыб Волго-Каспийского канала / Т.В. Кузина // Вестн. Моск. гос. обл. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2011. – № 2. – С. 50-57.
6. Кузина Т.В. Цитофизиологические особенности крови промысловых рыб Волго-Каспийского канала / Т.В. Кузина: дис..... канд. биол. наук. - Астрахань, 2011. – 181 с.
7. Шахтамиров И.Я. Кариопатология у животных в зонах стойких органических загрязнителей внешней среды / И.Я. Шахтамиров: дис..... доктора биол. наук. – Санкт-Петербург, 2014. – 276 с.
8. Яхненко В.М. Особенности состава и структуры клеток крови рыб озера Байкал / В.М. Яхненко // Вест. Иркут. гос. сельскохоз. акад. – 2013. – Т. 2, № 57/2. – С. 71-75
9. Яхненко В.М. Особенности состава и структуры клеток крови рыб пелагиали и прибрежья озера Байкал / В.М. Яхненко, И.В. Клименков // Изв. РАН. Сер. биол.– 2009. – № 1.– С. 46-54.