

МОРФОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ І ПАТОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ЕРИТРОЦИТІВ БИЧКОВИХ РИБ РОДУ *PONTICOLA* ILJIN, 1927

Ірина РИЖКО

Бичкові риби роду *Ponticola* в екосистемі Чорного моря відіграють досить важливу роль, крім того, є об'єктами аматорського лову. Однак їх вивченню й досі присвячено невелику кількість наукових робіт. Літературні дані стосовно патологій крові представників роду *Ponticola* взагалі відсутні, оскільки такі дослідження частіше проводять на модельних організмах або видах із комерційним значенням.

У статті наводяться результати морфологічного аналізу й вивчення патологічних змін еритроцитів і їх ядер для бичка Пінчука *Ponticola cephalargoides* (Pinchuk, 1976), бичка кам'яного *Ponticola ratan* (Nordmann, 1840) і бичка рудого *Ponticola eurycephalus* (Kessler, 1874), виловлених у літньо-осінній період 2023 року в Одеській затоці Чорного моря. Кров для досліджень еритроцитів відбирали з хвостової вени, фіксували за стандартними методиками.

У циркулюючій крові всіх представників роду *Ponticola* виявлено наявність молодих, зрілих еритроцитів і клітин із патологічними змінами. Еритроцити бичка Пінчука були найбільшими за основними морфометричними показниками, для крові бичка рудого встановлено найвищу частоту знаходження еритроцитів з патологічними змінами.

Найбільш поширеними патологіями для представників роду *Ponticola* є зміни ядра (бобоподібне, лопастеподібне) і довільна деформація клітин.

Підвищена частота і значна різноманітність патологічних змін еритроцитів у всіх досліджених видів роду *Ponticola* свідчить про наявний негативний вплив факторів навколишнього середовища.

Ключові слова: еритроцити, патології клітин, кров риб, *Ponticola*, Одеська затока.

Кафедра фізіології, здоров'я і безпеки людини та природничої освіти, Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, вул. Всеволода Змієнка, 2, Одеса, 65082, Україна; e-mail: i.l.ryzhko@onu.edu.ua

Morphological analysis and pathological changes of erythrocytes of gobiidae fish of the genus *Ponticola* Iljin, 1927 Ryzhko I.

Goby fish of the genus *Ponticola* in the Black Sea ecosystem play a rather important role, and are also objects of amateur fishing. However, a small number of scientific studies have been devoted to their study. Literary data on blood pathologies of *Ponticola* species are generally absent, as such studies are more often conducted on model organisms or commercially important species.

The work presents the results of a morphological analysis and the study of pathological changes in erythrocytes and their nuclei for the Pinchuk's goby *Ponticola cephalargoides* (Pinchuk, 1976), the ratan goby *Ponticola ratan* (Nordmann, 1840), and the ginger goby *Ponticola eurycephalus* (Kessler, 1874), caught during the summer-autumn period of 2023 in the Odessa Bay of the Black Sea. Blood for erythrocyte studies was taken from the tail vein and fixed using standard methods.

The presence of young, mature erythrocytes, and cells with pathological changes in the circulating blood of all representatives of the genus *Ponticola* was revealed. Erythrocytes of Pinchuk's goby were the largest in terms of basic morphometric parameters, and the highest frequency of erythrocytes with pathological changes was established for the blood of the ginger goby.

The most common pathologies for representatives of the genus *Ponticola* are nuclear changes (bean-shaped, lobular) and arbitrary cell deformation.

The increased frequency and significant variety of pathological changes in erythrocytes in all studied species of the genus *Ponticola* indicate the existing negative impact of environmental factors.

Key words: erythrocytes, pathology of cells, fish blood, *Ponticola*, Odesa Bay.

Department of Physiology, Human Health and Safety and Natural Science Education, I. I. Mechnikov Odesa National University, 2, Vsevoloda Zmiiienka Str., Odesa, 65082, Ukraine; e-mail: i.l.ryzhko@onu.edu.ua

Вступ

Кров відіграє надзвичайно важливу роль як у підтримці нормальної життєдіяльності організму, підтримуючи зв'язок між усіма його компонентами, так і в адаптивних реакціях (Esmaceli 2021; Esipova, Sharamok 2022; Sharamok et al. 2022; Nabi 2022). Дослідження показують, що морфологічні показники еритроцитів бичкових риб можуть змінюватися під впливом різноманітних факторів, таких як температура, хімічні забруднювачі, окислювальний стрес тощо (Kurchenko et al. 2019; Khomenchuk et al. 2021; Shmyhol, Esipova 2022). Патологічні зміни в еритроцитах здатні слугувати індикаторами генотоксичного ризику (Řehulka, Bradík, 2024). Хоча в нормальних умовах патологічні зміни клітин можуть проявлятися в незначних кількостях, однак за наявності дії негативного фактору середовища в крові риб може визначатися підвищена кількість незрілих еритроцитів, еритроцитів з аномаліями ядра (мікроядра, інвагінація ядра) чи самої клітини (зміни розмірів, форми тощо). Саме тому визначення морфологічних і морфометричних показників крові активно використовується для оцінювання стану природних і штучних популяцій риб, якості середовища та впливу різноманітних факторів.

Мета статті – дослідження морфологічних, морфометричних особливостей і патологічних змін еритроцитів представників бичкових риб роду *Ponticola* з Одеської затоки.

Матеріал та методики

Матеріалом для дослідження послуговували самці бичка Пінчука *Ponticola cephalargoides* (Pinchuk, 1976), бичка кам'яного *Ponticola ratan* (Nordmann, 1840) і бичка рудого *Ponticola eurycephalus* (Kessler, 1874). Рибу отримали завдяки аматорському лову протягом літньо-осіннього періоду 2023 року в Одеській затоці (район Малого Фонтану). Відбирали виключно самців бичків за однаковими розмірно-масовими параметрами, що давало змогу запобігти помилкам, пов'язаним зі статевими та віковими змінами.

Проби крові для досліджень отримували з хвостової вени, мазки виготовляли й фарбували за стандартними методами (Kurchenko et al. 2019). Мазки аналізували за допомогою світлооптичного мікроскопа (40–100 $\times$). Для кожного еритроцита та його ядра вимірювали повздовжній і поперечний діаметр, за допомогою чого визначали показники подовженості й об'єму клітини.

Для кожної особини обчислювали 1000 еритроцитів, кількість клітин із патологічними змінами відображали у відсотках щодо загальної кількості еритроцитів.

Статистичне оброблення проводили за допомогою стандартних пакетів (STATISTICA 12) і програми (MS Excel).

Результати та обговорення

На всіх мазках крові досліджуваних представників роду *Ponticola* виявлено присутність ядерних еритроцитів округлої (молоді клітини) й овальної (зрілі клітини) форми. У всіх бичкових зрілі клітини визначалися більшими показниками подовженого та меншими показниками поперечного розмірів. Середні показники подовженості для молодих еритроцитів становили 1,15, а для зрілих – 1,43.

Порівняння лінійних розмірів і значень об'єму встановило переважання за розмірами для еритроцитів бичка Пінчука. Найменшими за середніми розмірами виявилися клітини крові бичка рудого. Так, якщо подовжній розмір зрілих еритроцитів бичка Пінчука становив у середньому 12,9 мкм, то для бичка кам'яного та бичка рудого – 12,0 та 11,5 мкм відповідно. За поперечними розмірами й показниками об'єму клітини відрізнялися аналогічним чином. Повздовжні розміри й об'єми зрілих клітин перевищували відповідні показники молодих клітин. За формою та розмірами найбільш близькими були клітини бичка Пінчука й бичка кам'яного, що є цілком прогнозованим, адже ці два види не лише належать до одного роду, а й через подібність загальних морфологічних рис довгий час узагалі вважалися підвидами одного виду.

Серед гематологічних параметрів одним із найважливіших є співвідношення молодих і зрілих еритроцитів у циркулюючій крові. У разі всіх представлених видів визначено переважання молодих клітин. Їх середня кількість становила 75,3 % від загальної кількості еритроцитів. Отримані результати можна пояснити тим, що на момент відбору бичкові вже пройшли період нересту, після якого зазвичай відбувається прискорення еритропоезу й активне оновлення крові.

Дослідження морфометричних показників клітин крові має скоріше теоретичне значення, адже більшою частиною дає змогу встановити видові відмінності й підтверджує загальні відомості щодо особливостей крові риб. Але з практичного погляду задля оцінювання стану риб і впливу факторів середовища більш цікавим було вивчення патологічних змін еритроцитів і їх ядер, оскільки в нормі допускається лише незначна кількість і різноманітність патологій.

У крові досліджуваних представників роду *Ponticola* визначали еритроцити з різноманітними патологіями ядра та самої клітини. До патологічних змін ядер зараховують наявність мікроядерних

Таблиця 1. Частота знаходження патологічних форм еритроцитів у крові представників роду *Ponticola*
 Table 1. Frequency of pathological forms of erythrocytes in the blood of representatives of the genus *Ponticola*

Вид	Частка риб без патологій, %	Частота еритроцитів із патологічними змінами, %	
		особини з одним типом патології	особини з двома й більше типами патологій
Бичок Пінчука	59 ± 1,71	5 ± 0,17	36 ± 1,44
Бичок кам'яний	59 ± 1,13	9 ± 0,20	32 ± 0,93
Бичок рудий	45 ± 1,08	11 ± 0,19	44 ± 1,22

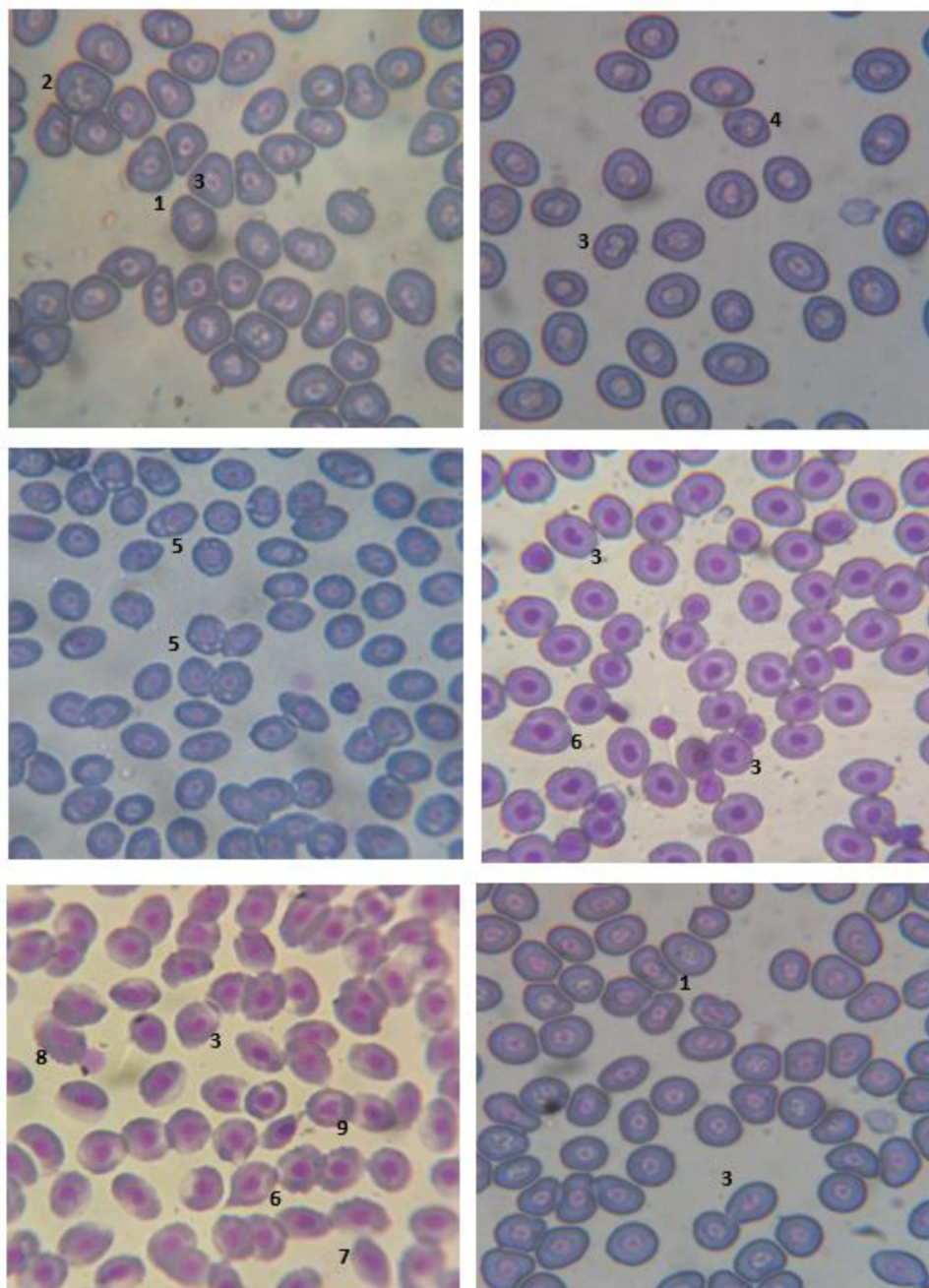


Рис. 1. Патології еритроцитів бичкових риб роду *Ponticola*: 1 – довільна деформація, 2 – лізис ядра, 3 – бобоподібне ядро, 4 – ацентричне ядро, 5 – вакуолізація цитоплазми, 6 – краплеподібна деформація, 7 – веретеноподібна деформація, 8 – фестончасті краї, 9 – лопастеподібне ядро

Fig. 1. Pathologies of erythrocytes of gobiidae fish of the genus *Ponticola*: 1 – arbitrary deformation, 2 – nuclear lysis, 3 – bean-shaped nucleus, 4 – acentric nucleus, 5 – vacuolization of the cytoplasm, 6 – drop-shaped deformation, 7 – spindle-shaped deformation, 8 – festooned cell membranes, 9 – lobed nucleus

включень (фрагменти ядра) та зміну форми ядра (бобоподібна форма або лопастеподібна замість округлої). Зазвичай за відсутності дії зовнішнього негативного фактору частота зустрічальності подібних патологій не перевищує 0,04 % (Talapatra, Banerjee 2007; Witeska 2013). Для всіх представлених бичкових визначено незначне відхилення від зазначеного показника. Найчастіше на мазках крові бичка кам'яного зустрічалися мікроядра й інші ядерні патології (0,41 % та 5,60 % від загальної кількості еритроцитів відповідно). У двох інших видів ці показники були нижчими й не перевищували 0,12 % (мікроядра) та 2,33 % (інвагінації ядра).

Окрім патологій ядра, визначали зміни самих еритроцитів. Частка риб без патологій становила в середньому 54 %, найбільш близькими за цими показниками були бичок Пінчука та бичок кам'яний. Для всіх представників роду *Ponticola* характерною була наявність одночасно щонайменше двох чи більше патологічних змін еритроцитів (таблиця 1). Найвищі показники встановлено для бичка рудого: 44 % особин містили більше ніж два типи патологій на мазках крові.

У крові бичка Пінчука, бичка кам'яного та бичка рудого зустрічали різноманітні форми патологій еритроцитів: зморщування або деформацію форми клітин (веретеноподібна, краплеподібна, довільна форми), вакуолізацію цитоплазми, фестончастість кроїв еритроцита, ацентричне розміщення ядра та його лізис (рис. 1).

Усі перелічені типи патологій зустрічалися на мазках крові бичка Пінчука та бичка кам'яного,

однак вакуолізацію цитоплазми й фестончастість країв не виявлено для бичка рудого.

Патологічні зміни еритроцитів бичкових риб роду *Ponticola* можуть бути індикаторами екологічного стресу та генотоксичного ризику, що підкреслює корисність гематологічних методів аналізу й важливість комплексного підходу до оцінювання стану здоров'я риб у природних умовах.

Висновки

Дослідження крові бичка Пінчука, бичка кам'яного й бичка рудого виявило наявність молодих і зрілих еритроцитів, а також клітин із деформаціями ядра чи змінами форми.

За показниками лінійних розмірів та об'єму еритроцитів у середньому еритроцити бичка Пінчука були найбільшими. Для трьох видів роду *Ponticola* відзначено перевагу молодих еритроцитів над зрілими. Визначено підвищену кількість клітин із патологічними змінами ядра для всіх видів, однак найвищі показники спостерігалися в бичка рудого. Установлено дев'ять типів патологічних змін еритроцитів і їх ядер. Найчастіше зустрічалися особини з декількома патологіями еритроцитів у кров'яному руслі одночасно.

Проведені дослідження дали змогу порівняти показники трьох представників роду *Ponticola* й установити значну зустрічальність відхилень від нормального рівня гематологічних показників риб з Одеської затоки, що свідчить про наявність негативного тиску факторів середовища.

ESIPOVA, N. B., SHARAMOK, T. S. (2022) Adaptativni zminy v klitynakh krovi ryb v umovakh khronichnoi intoksykatsii [The adaptive changes in the fish blood cells in conditions of the chronic intoxication]. *Bulletin of Sumy National Agrarian University. The series: Agronomy and Biology* 47(1), 58–64 (in Ukrainian).
ESMAEILI, M. (2021) Blood Performance: A New Formula for Fish Growth and Health. *Biology*, 10(12), 1236.
KHOMENCHUK, V. O., SENYK, Y. I., GRUBINKO, V. V., KURANT, V. Z. (2021) Strukturno-funktsionalni zminy u membranakh erytrocytiv ryb za dii pidvyshchenykh kontsentratsii ioniv Cd²⁺ u vodnomu seredovyshchi [Structural and functional changes in the erythrocyte membranes of fish under the action of increased concentrations of Cd²⁺ ions in water environment]. *Suchasni problemy teoretychnoi i praktychnoi ikhtiolohii: materialy XIV Mizhnarodnoi ikhtiolohichnoi naukovo-praktychnoi konferentsii (m. Kharkiv, 23-25.09.2021)*. Kharkiv, Fakt. 198–204 (in Ukrainian).

KURCHENKO, V.O., SHARAMOK, T.S., MARENKOVO.M.(2019)Vdoskonalennia sposobu farbuвання mazkiv krovi dlia vyznachennia tsytometrychnykh pokaznykiv krovi ryb [The improvement of blood smears coloring for the determining of fish cytometric blood parameters]. *Biologichni systemy*, 11(1), 15–18 (in Ukrainian).
NABI, N., AHMED, I., WANI, G. B. (2022) Hematological and serum biochemical reference intervals of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* cultured in Himalayan aquaculture: Morphology, morphometrics and quantification of peripheral blood cells. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29, 2942–2957.
ŘEHULKA, J., BRADÍK, J. (2024) Study of the frequencies of erythrocyte abnormalities as in situ biomarkers of genotoxic risk of chemicals in special fish stock in water supply reservoirs. *Journal of Fish Diseases*, 47(4), e13909.
SHARAMOK, T., YESIPOVA, N., KURCHENKO, V. (2022) The red blood cells cytometric characteristics of young fresh-water fish of various families. *The Journal*

of V. N. Karazin Kharkiv National University, Series "Biology", 38, 42–52.

SHMYHOL, N. V., ESIPOVA, N. B. (2022) Vidomosti shchodo morfolohichnykh osoblyvostei erytrotsytiv ryb. *Proceedings of the 7th International scientific and practical conference "Modern research in world science"* Lviv, Ukraine, October 2–4, 2022. p. 92. (in Ukrainian).

TALAPATRA, S. N. BANERJEE, S. K. (2007) Detection of micronucleus and abnormal nucleus in erythrocytes from the gill and rudney of *Labeo bata* cultioated in sewage-fed fish farms. *Food and chemical toxicology*, 45(2), 210–215.

WITESKA, M. (2013) Erythrocytes in teleost fishes: a review. *Zoology and Ecology*, 23(4), 275–281.