

МОРФОЛОГІЧНИЙ СКЛАД КРОВІ КОРОПА (*CUPRINUS CARPIO L.*) ЗА ДІЇ СУЛЬФАНІЛАМІДУ ТА ХЛОРТТЕТРАЦИКЛІНУ

Курбатова І.М., Захаренко М.О., Чепіль Л.В.

Національний університет біоресурсів і природокористування України
вул. Героїв Оборони, 19, 03041, м. Київ
innakurbatova@ukr.net

Досліджено морфологічний склад крові дворічок коропа під впливом сульфаніламідів та антибіотика хлортетрацикліну. У коропів за нетривалого (протягом 72 годин) перебування у воді, в яку додавали сульфаніламід у концентрації 0,015 мг/дм³ більшість морфологічних показників крові не змінюється. Встановлено лише незначне зниження у крові риб кількості еритроцитів та підвищення числа лімфоцитів і показника ШОЕ. Підвищення концентрації сульфаніламідів у воді до 0,15 і 0,30 мг/дм³ впливає на гематологічні показники риб більшою мірою, зменшуючи кількість еритроцитів і лейкоцитів, вміст еозинофілів, сегментоядерних нейтрофілів і концентрацію гемоглобіну, одночасно збільшуючи кількість лімфоцитів і моноцитів, а також показника ШОЕ крові коропів. У коропів, які перебували у воді з концентрацією хлортетрацикліну 1,10 мг/дм³, морфологічний склад крові не змінювався, за виключенням кількості еритроцитів, значення яких порівняно з контролем зменшилось на 21,4%, а показника ШОЕ – підвищилось на 58,8%. За більш високих доз хлортетрацикліну у воді (3,15 і 6,30 мг/дм³) морфологічний склад крові дворічок коропа зазнавав більшого впливу цього антибіотика, на що вказує зменшення кількості еритроцитів, лейкоцитів, еозинофілів і нейтрофілів, а також концентрації гемоглобіну за одночасного збільшення числа лімфоцитів і моноцитів та показника ШОЕ. Одержані результати свідчать про негативний вплив антимікробних препаратів сульфаніламідів і хлортетрацикліну, доданих у воду акваріума у високих концентраціях, на морфологію крові риб. *Ключові слова:* короп, кров, гемоглобін, клітини крові, сульфаніламід, хлортетрациклін.

Морфологический состав крови карпа (*Cuprinus carpio L.*) под воздействием сульфаниламида и хлортетрациклина. Курбатова И.Н., Захаренко Н.О., Чепиль Л.В. Исследован морфологический состав крови двухлеток карпа под воздействием сульфаниламида и антибиотика хлортетрациклина. У карпов при кратковременном (на протяжении 72 часов) пребывании в воде, в которую добавляли сульфаниламид в концентрации 0,015 мг/дм³, большинство морфологических показателей крови не изменяются. Установлено лишь незначительное снижение в крови рыб количества эритроцитов и повышение числа лимфоцитов и показателя СОЭ. Повышение концентрации сульфаниламида в воде до 0,15 и 0,30 мг/дм³ влияет на гематологические показатели рыб в большей степени, уменьшая количество эритроцитов и лейкоцитов, содержание эозинофилов, сегментоядерных нейтрофилов и концентрацию гемоглобина, одновременно увеличивая количество лимфоцитов и моноцитов, а также показателя СОЭ крови карпов. У карпов, которые находились в воде с концентрацией хлортетрациклина 1,10 мг/дм³, морфологический состав крови не изменялся за исключением количества эритроцитов, значение которых по сравнению с контролем уменьшилось на 21,4%, а показателя СОЭ – повысилось на 58,8%. При более высоких дозах хлортетрациклина в воде (3,15 и 6,30 мг/дм³) морфологический состав крови двухлеток карпа ощутил большее влияние данного антибиотика, на что указывает уменьшение количества эритроцитов, лейкоцитов, эозинофилов и нейтрофилов, а также концентрации гемоглобина при одновременном увеличении числа лимфоцитов, моноцитов и показателя СОЭ. Полученные результаты свидетельствуют о негативном влиянии антимикробных препаратов сульфаниламида и хлортетрациклина, добавленных в воду аквариума в высоких концентрациях, на морфологию крови рыб. *Ключевые слова:* карп, кровь, гемоглобин, клетки крови, сульфаниламид, хлортетрациклін.

Morphological composition of carp (*Cuprinus carpio L.*) blood under the influence of sulfonamide and chlortetracycline. Kurbatova I.M., Zakharenko M.O., Chepil L.V. The morphological composition of the blood of the two-year-old carpum was studied exposure to sulfonamide and the antibiotic chlortetracycline. In carps with short-term (during 72 hours) arrival in water in which sulfanilamide was added at a concentration of 0.015 mg/dm³, most of the morphological parameters of the blood do not change. A slight decrease in the number of erythrocytes in the blood of fish and an increase in the number of lymphocytes and an ESR index have been established. An increase in the concentration of sulfanilamide in water to 0.15 and 0.30 mg/dm³ affects the hematological parameters of fish to a greater extent, reducing the number of erythrocytes and leukocytes, the content of eosinophils, segmented neutrophils and concentration, while increasing the number of lymphocytes and monocytes, as well as the index of ESR blood carps. In carp, which were in water with a concentration of chlortetracycline 1,10 mg/dm³, the morphological composition of the blood did not change except for the number of red blood cells, whose value, compared with the control, decreased by 21,4%, and the index of ESR increased by 58,8%. With the high doses of chlortetracycline in water (3,15 і 6,30 mg/dm³), the morphological composition of the blood of the two-year-old carp felt a greater effect of this antibiotic, as indicated by a decrease in the number of red blood cells, leukocytes, eosinophils and neutrophils, as well as hemoglobin concentration with simultaneous an increase in the number of lymphocytes and monocytes and a display of ESR. The results obtained indicate a negative effect of antimicrobial sulfanilamide preparations and chlortetracycline added to the aquarium water in high concentrations on the morphology of fish blood. *Key words:* carp, blood, hemoglobin, blood cells, sulfanilamide, chlortetracycline.

Постановка проблеми. Екологічні проблеми територій, на яких розміщені великі тваринницькі об'єкти, пов'язані з викидами у навколишнє середовище значної кількості різних забруднювачів – шкідливих газів, пилу, мікроорганізмів, продуктів життєдіяльності тварин, а також низки штучних ксенобіотиків лікувально-профілактичного призначення та антропогенного походження [1–3].

Проведеними дослідженнями встановлено, що, крім давно відомих, забруднювачами водних об'єктів останнім часом є залишки лікувально-профілактичних засобів – антимікробні препарати, засоби захисту тварин від гельмінтів, стимулятори продуктивності тварин [4].

Актуальність дослідження. Потрапляючи у природні водойми, вони мало піддаються біотрансформації, накопичуються у воді та негативно впливають на гідробіонтів [5; 6]. Крім того, джерелом цих забруднювачів води можуть бути також ветеринарні препарати, які застосовуються для профілактики інфекційних та інвазійних хвороб риб [7]. Негативний вплив антимікробних препаратів, антигельмінтиків та інших токсикантів води проявляється у зниженні виведення личинок коропа, зміні морфометричних показників, функції зябер та гепатопанкреаса, низки метаболічних перетворень у тканинах коропів різного віку [2; 7; 9]. Ступінь впливу ксенобіотиків, у тому числі вищевказаних, на організм риб залежить від властивостей токсикантів, його концентрації у воді, кумулятивної здатності, швидкості біодеградації, а також активності механізмів його знешкодження в тканинах [10; 11].

Одним із можливих шляхів токсичної дії ксенобіотиків в організм риб є їхній вплив на кровотворні органи, що може бути важливим критерієм оцінки екологічного стану водойми при вирощуванні риби.

Мета роботи – дослідити морфологічний склад крові коропа за дії антимікробних препаратів сульфаніламідів та хлор тетрацикліну, доданих у воду акваріума в різних концентраціях.

Методологічне або загальнонаукове значення.

Для досягнення поставленої мети проведено дві серії дослідів на дворічках коропа (*Cyprinus carpio L.*), живою масою 450–500 г, яких утримували в акваріумах об'ємом 40 дм³, протягом 72 годин по дві особи в кожному. У воді підтримували оптимальні значення температури (18–20 °С), вміст Оксигену (7,5 мг/л) та величину рН (7,82).

У першому експерименті досліджували морфологічний склад крові коропів під впливом сульфаніламідів, який додавали до води у концентрації 0,015 (перша), 0,15 (друга) і 0,30 мг/дм³ – (третя дослідна група). У другому досліді, який проведено за аналогічних умов, вивчали вплив на морфологічні показники крові риб хлортетрацикліну, який додавали у воду у концентрації 1,10 (перша), 3,15 (друга) і 6,30 мг/дм³ (третя дослідна група).

Риб контрольної групи у першому і другому досліді утримували в акваріумі об'ємом 40 дм³, заповненому відстояною водопровідною водою, гідрохімічні показники якої відповідали аналогічним значенням для коропів дослідних груп. Під час перебування коропів контрольної та дослідних груп у воді їх не годували. Кров у риб для досліджень відбирали із серця в спеціальні пробірки з гепарином. Морфологічні показники крові визначали за допомогою гематологічного аналізатора Micros-60 (Франція), ШОЕ – за методом Вестернгрена [12], а підрахунок лейкоцитарної формули здійснювали після фарбування препаратів за Паппенгеймом [12]. Одержані результати обробляли біометрично [13], використовуючи програмне забезпечення в M.Exel.

Виклад основного матеріалу. Дослідженнями встановлено, що антибактерійний препарат сульфаніламід, доданий у воду перед посадкою риб в акваріуми та їх перебування в ньому протягом 72 годин, впливає на кровотворні органи дворічок коропа. У риб зареєстровано значні зміни морфологічних показників крові, особливо за високих концентрацій сульфаніламідів у воді.

Таблиця 1
Морфологічний склад крові дворічок коропа за дії сульфаніламідів, %, $M \pm m$, $n=4$

Показник	Групи			
	контрольна	дослідні (вміст сульфаніламідів у воді, мг/дм ³)		
		перша (0,015)	друга (0,15)	третя (0,30)
Гемоглобін, Г/л	90,75±5,88	74,50±2,67	56,00±1,83*	74,55±4,84
Еритроцити, Т/л	2,15±0,22	1,43±0,07*	1,28±0,12*	1,43±0,06*
ШОЕ, мм/год	4,00±0,71	6,75±0,63*	8,00±0,41*	5,75±0,48
Лейкоцити, Г/л	15,50±0,50	15,88±0,41	9,03±0,49***	7,13±0,60***
Еозинофіли	1,97±0,02	2,17±0,10	1,74±0,11***	0,97±0,08*****
Нейтрофіли (сегментоядерні)	22,00±0,21	22,75±0,75	18,25±0,63***	15,25±0,48****
Лімфоцити	54,50±0,87	64,75±3,20*	67,00±1,83*	70,50±0,87*
Моноцити	5,25±0,48	5,50±0,64	8,00±0,41***	5,75±0,25***

Примітка: * – достовірна різниця порівняно з контролем; ** – порівняно з показниками першої дослідної групи; *** – порівняно з показниками другої дослідної групи.

Перебування коропів протягом 72 годин із сульфаниламідом, концентрація якого становила 0,015 мг/дм³ води (перша дослідна група), не впливало на морфологічні показники крові, за винятком кількості еритроцитів і лімфоцитів (табл. 1).

Встановлено, що кількість еритроцитів крові риб цієї групи порівняно з контролем зменшилась на 33,5%, лімфоцитів – зросла на 18,8%, а показник ШОЕ збільшився на 68,7%. У риб вказаної групи концентрація гемоглобіну, кількість лейкоцитів, еозинофілів, сегментоядерних нейтрофілів і моноцитів в крові, порівняно з контролем, не змінювалась.

Більш суттєвий вплив сульфаниламідів на морфологічні показники крові спостерігали у коропів другої дослідної групи при підвищенні його концентрації у воді до 0,15 мг/дм³. Навіть за нетривалого перебування риб другої дослідної групи у воді, із вказаною концентрацією сульфаниламідів, концентрація гемоглобіну в крові зменшилась на 38,8%, кількість еритроцитів – в 1,7 рази, лейкоцитів – на 41,7%, еозинофілів – на 25,3%, сегментоядерних нейтрофілів – на 17%, число лімфоцитів зросло на 22,9%, моноцитів – на 52%, а показник ШОЕ збільшився удвічі, порівняно з аналогічними показниками у риб контрольної групи (див. табл. 1).

Варто також зазначити, що порівняно з коропами першої дослідної групи деякі морфологічні показники крові риб другої групи змінились: кількість лейкоцитів знизилась на 39,8%, еозинофілів – в 1,5 рази, сегментоядерних нейтрофілів – на 19,8%, а моноцитів збільшилась на 45,4%. Інші показники морфологічного складу крові залишались у риб другої дослідної групи, порівняно з першою, залишались без змін.

Значний вплив сульфаниламідів на морфологічний склад крові встановлено і у риб третьої дослідної групи, які знаходились у воді з концентрацією цього ксенобіотика 30 мг/дм³. Під дією вказаної концентрації сульфаниламідів кількість еритроцитів у крові риб третьої дослідної груп, порівняно з контролем, знизилась на 33,5%, лейкоцитів – на 54%, еозинофілів – у 2 рази, сегментоядерних нейтрофілів – на 30,7%, а лімфоцитів, навпаки, – збільшилась на 29,3%,

тоді як концентрація гемоглобіну, число моноцитів і показник ШОЕ, порівняно з контролем, не змінювались (див. табл. 1).

Порівняно з рибами другої дослідної групи в крові коропів третьої дослідної групи зареєстровано зниження кількості еозинофілів на 33,9%, сегментоядерних нейтрофілів – на 16,4% і моноцитів – на 38,1%. Решта показників морфологічного складу крові риб третьої групи, порівняно з другою, не змінювалась.

Сульфаниламід чинить вплив на морфологічний склад крові риб, ймовірно, шляхом проникнення його в кров та кровотворні органи з подальшою дією на процеси кровотворення в таких органах риб, як селезінка, червоний кістковий мозок, лімфатичні вузли, а також на функціональну активність клітин червоної і білої крові [14]. Зниження концентрації гемоглобіну в крові під впливом сульфаниламідів може викликати тканинну гіпоксію, а зменшення кількості еритроцитів і лейкоцитів та інших клітин білої крові свідчить про токсичний вплив цього антибіотика на процеси гемо- та імунопоезу в організмі [14].

Вплив антибіотика хлортетрацикліну на гематологічні показники крові коропа також супроводжувався зміною кількості клітин крові та концентрації гемоглобіну. За концентрації хлортетрацикліну у воді акваріума 1,10 мг/дм³ (перша дослідна група) більшість досліджуваних показників крові коропів залишалась без змін порівняно з рибами контрольної групи. У крові риб цієї групи зареєстровано тільки незначне зниження кількості еритроцитів на 21,4%, а також збільшення показника ШОЕ на 58,8%, порівняно з контролем (табл. 2). Тоді як вміст гемоглобіну, кількість лейкоцитів, еозинофілів, сегментоядерних нейтрофілів, лімфоцитів і моноцитів у крові риб не змінювався.

За концентрації хлортетрацикліну у воді акваріума до 3,15 мг/дм³ (друга дослідна група), навіть за нетривалої його дії гематологічні показники риб змінювались у значно більшій мірі.

У крові риб вказаної групи порівняно з контролем встановлено нижчу на 26,2% концентрацію

Таблиця 2

Морфологічний склад крові дворічок коропа звичайного за дії хлортетрацикліну, %, $M \pm m$, $n=4$

Показник	Групи			
	контрольна	дослідні (вміст хлортетрацикліну у воді, мг/дм ³)		
		перша (1,10)	друга (3,15)	третя (6,30)
Гемоглобін, Г/л	127,00±6,96	106,50±7,41	93,75±2,95*	116,00±3,58
Еритроцити, Т/л	2,10±0,11	1,65±0,09*	1,48±0,14*	2,50±0,13*
ШОЕ, мм/год	4,25±0,48	6,75±0,63*	9,50±0,64*	5,00±0,82***
Лейкоцити, Г/л	14,95±0,39	13,35±0,39	8,10±0,37*	5,30±0,10*****
Еозинофіли	2,50±0,06	2,25±0,10	1,75±0,09*	1,45±0,10****
Нейтрофіли (сегментоядерні)	21,75±1,44	22,00±0,91	19,75±1,11	15,75±0,85*****
Лімфоцити	65,00±2,61	69,25±2,87	76,25±1,03*	77,75±1,65****
Моноцити	4,75±0,48	5,25±0,48	7,75±0,95*	7,50±0,64***

гемоглобіну, меншу на 29,5% кількість еритроцитів, на 45,8% лейкоцитів, на 30,0% еозинофілів, вищу на 17,3% чисельність лімфоцитів, на 63,1% моноцитів, більше значення у 2,2 раза показника ШОЕ, за сталої кількості сегментоядерних нейтрофілів (див. табл. 2).

Морфологічні показники крові риб другої дослідної групи практично не відрізнялись від аналогічних даних у коропів першої групи. За концентрації хлортетрацикліну у воді 6,30 мг/дм³, в якій перебували риби третьої дослідної групи, тобто підвищення вмісту цього ксенобіотика у два рази порівняно з його рівнем у воді риб другої групи кількість еритроцитів у крові риб порівняно з контролем, на відміну від аналогічного показника у коропів першої та другої групи, навпаки, зросла на 19,0%, лімфоцитів – на 19,6%, моноцитів – на 57,0%, тоді як чисельність лейкоцитів знизилась у 2,8 раза, еозинофілів – на 42,0%, сегментоядерних нейтрофілів – на 26,7%, а концентрація гемоглобіну і показник ШОЕ не змінювались (див. табл. 2).

Порівнюючи морфологічні показники крові коропів третьої дослідної групи з другою, варто вказати на вищу на 23,7% концентрацію гемоглобіну, більшу на 68,9% кількість еритроцитів, нижче на 34,6%

число лейкоцитів, на 20,0% сегментоядерних нейтрофілів і на 47,7% показника ШОЕ за сталих значень кількості еозинофілів, лімфоцитів і моноцитів.

Виявлені суттєві зміни морфологічних показників крові коропів при перебуванні у воді з концентрацією хлортетрацикліну 3,15 (друга) і 6,30 мг/дм³ (третья дослідна група), ймовірно, виникли внаслідок впливу цього антибіотика на кровотворні органи, процеси біосинтезу гемоглобіну і вказують на розвиток патологічного процесу в тканинах риб [15].

Головні висновки. Отже, на основі проведених досліджень можна зробити висновок, що дворічки коропа за низьких концентрацій досліджуваних антимікробних засобів сульфаніламідів, хлортетрацикліну, які додавали до води акваріума, здатні адаптуватись до їх негативної дії, про що свідчить відсутність впливу на кровотворні органи, і це підтверджено одержаними результатами морфологічних показників крові.

Підвищення концентрації сульфаніламідів та хлортетрацикліну у воді акваріума у два і більше разів негативно впливає на кровотворні органи дворічок коропа, що підтверджується значними змінами концентрації гемоглобіну, клітин червоної і білої крові, а також показника ШОЕ.

Література

1. Цудзевич Б.О. Ксенобіотики: накопичення, детоксикація та виведення із живих організмів. Тернопіль, 2012. 384 с.
2. Курбатова І.М., Цедик В.В. Антибактеріальні препарати, антигельмінтики та гормони продуктів життєдіяльності свиней. Агроекологічний журнал. 2017. № 3. С. 122–128.
3. Іванова О.В., Захаренко М.О. Санітарно-гігієнічна оцінка стоків тваринницьких підприємств. Ветеринарна біотехнологія. 2010. № 18. С. 77–81.
4. Hou J., Wan W.N., Mao D.Q., Wang C., Mu Q.H., Qin S.Y. Luo, Y. Occurrence and distribution of sulfonamides, tetracyclines, quinolones, macrolides and nitrofurans in livestock manure and amended soil of Northern China. Environmental Science Pollution Research. 2015. 22. P. 4545–4554.
5. Іванова О.В., Захаренко М.О. Гігієнічні показники стоків свинарських підприємств за біологічних способів очистки. Науковий вісник Львівського нац. ун-ту вет. медицини і біотехнології ім. С.З. Гжицького. 2013. № 3 (57). С. 335–341.
6. Курбатова І.М. Чепіль Л.В., Євтушенко М.Ю. Активність ферментів плазми крові коропа за дії нандролону. Вісник Запорізького національного університету. Серія «Біологічні науки». 2017. № 1. С. 38–41.
7. Курбатова І.М. Розвиток ікри та виживання ембріонів коропа за дії альбендазолу. Гідробіологічний журнал. 2013. 193. С. 127–131.
8. Куцан О.Т., Малінін О.О., Євтушенко Н.В. та ін. Ефективність застосування альбендазолу за умов ботріоцефальної інвазії коропа та фармакінетика препарату в органах і тканинах риб. Ветеринарна медицина. 2008. Т 90(X). С. 285–289.
9. Курбатова І.М. Білковий спектр плазми крові коропа за дії хлортетрацикліну. Гідробіологічний журнал. 2016. Т. 52. № 2. С. 103–108.
10. Sreekala, G., Raghuprasad, S., Zutshi, G. Bela. Biochemical markers and histopathology of the target tissues of *Labeo rohita* reared in freshwater Lakes of Bangalore Karnataka. Indian journal of Research in Environmental Science and toxicology. 2 (2). P. 43–52.
11. Жиденко А.А. Гематологические показатели двухлеток карпа в условиях гербицидной загрузки. Вісник Дніпропетровського нац. ун-ту. Серія «Біологія, Екологія». 2007. Т. 1. Вип. 16. С. 38–44.
12. Боярчук О.Д., Виноградов О.О. Біохімія стресу. Лабораторний практикум Луганський ДЗ ЛНУ імені Тараса Шевченка. 2013. 256 с.
13. Кокунин В.А. Статистическая обработка данных при малом числе опытов. Украинский биохимический журнал. 1975. Т. 47. № 6. С. 776–790.
14. Житенева Л.Д., Макаров Э.В., Рудницкая О.А. Основы ихтиогематологии. Ростов-на-Дону, 2004. 312 с.
15. Маклакова М.Е., Ступин Р.В., Кондратьева И.А. Исследование влияния различных агентов на иммуно-физиологический статус радужной форели. Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отдел биологический. Т. 114. № 2. С. 64–65.