

3. Методическое пособие по криоконсервации спермы карпа, лососевых и осетровых видов рыб. — М.: ВНИИПРХ, 1997. — 10 с.
4. Третьак О.М. Біотехнологічні аспекти відтворення веслоноса (*Polyodon spathula* (Walbaum)) в Україні // Рибогосподарська наука України. — 2008. — № 4. — С. 79–84.
5. Пат. 50896 Україна. Спосіб криоконсервації сперми американського веслоноса / І.І. Грициняк, М.В. Гринжівський, В.О. Черепнін, Є.Ф. Копейка, С.І. Дрокін. Опубл. 25.06.2010. — Бюл. № 12.
6. Горбунов Л.В., Бучацький Л.П. Криоконсервация половых клеток и эмбрионов животных: монография. — К., 2005. — 325 с.
7. Пат. 6417 Україна. Пристрій для криоконсервації біологічних об'єктів тваринного та рослинного походження / Л.В. Горбунов, В.І. Кабачний, Н.І. Горбунова, М.В. Гринжівський. Опубл. 16.05.2005. — Бюл. № 5.

### К ВОПРОСУ КРИОКОНСЕРВАЦИИ СПЕРМЫ АМЕРИКАНСКОГО ВЕСЛОНОСА

В.Ю. Филиппов, А.М. Третьак, Л.П. Бучацкий

Исследована возможность криоконсервации спермы американского веслоноса *Polyodon spathula* (Walbaum) с помощью разработанного дегидратационно-витрификационного метода. Определены условия криоконсервации биообъекта: подобраны среды, криоконсерванты и режимы замораживания-оттаивания. Сохранность размороженных половых клеток при исходной активности нативных сперматозоидов 95% составляла 60%.

### TO THE QUESTION OF CRYOPRESERVATION OF SPERM OF THE AMERICAN PADDLEFISH

V. Filipov, O. Tretyak, L. Buchatsky

There has been studied a possibility of cryopreservation of sperm of the American paddlefish *Polyodon spathula* (Walbaum) with the aid of the developed dehydration-vitrification method. Conditions of the bioobject cryopreservation were determined: media, cryopreservatives, and freezing-thawing regimes were selected. Preservation of defrosted gametes at an initial activity of the native spermatozooids of 95% was 60%.

УДК 576.858.13

## ЕЛЕКТРОННА МІКРОСКОПІЯ КЛІТИН НИРОК КОРОПА, УРАЖЕНИХ СуНВ-3

М.І. Майстренко, Н.М. Матвієнко, Л.П.Бучацький

Інститут рибного господарства НААН України

*Представлено результати електронно-мікроскопічного дослідження репродукції герпесвірусу кої в нирках коропа (*Cyprinus carpio*). Отримані дані свідчать про подібність морфологічних змін у клітинах нирки коропа до змін, які притаманні вірусам герпесу інших тварин та людини.*

Вірус герпесу корошових риб СуНВ-3 спричиняє висококонтагіозну емерджентну інфекцію як у звичайного (*Cyprinus carpio*), так і у декоративного коропа кої.

Спалахи вірусної інфекції, зумовленої КНВ, у коропа реєструються весною і восени за температури води 18–26°C. Смертність риб від цієї інфекції в аквакультури сягає 80–90% [1]. Перші ознаки

хвороби проявляються у коропів через 5 днів після інфікування, ще через 2 дні після цього починається їх масова загибель. Через 10–12 днів після інфікування загибель риб досягає плато і цей рівень смертності зберігається ще 10–12 днів. До вірусу більш сприйнятливий мальки коропа віком 1–3 місяці, масою 2,5–6 г, ніж дорослі риби вагою понад 230 г. Хворі коропи перебувають біля поверхні води,

вони втрачають координацію, плавають хаотично. Герпесвірус кої має вузьку видову специфічність — інші представники сімейства коропових до цього вірусу несприйнятливі, навіть близький до коропів сріблястий карась (*C. auratus gibelio*).

Масову смертність звичайного коропа і коропа кої вперше описано в Ізраїлі в 1998 р. [2], згодом вірус був описаний у США, Великобританії, Німеччині, Нідерландах, Польщі, Індонезії, Кореї, Японії і у багатьох інших країнах [3]. Швидко розповсюдження цього вірусу по всьому світі обумовлене тим, що декоративний короп має широкий попит серед акваріумістів і є предметом інтенсивної торгівлі. Останніми роками вірус виявлено в наших сусідів — у таких країнах, як Польща, Румунія та Чехія [4], тому він становить загрозу для рибницьких господарств нашої країни. Про шляхи розповсюдження вірусу КHV у природі інформації мало. Ймовірно, джерелом зараження є вода, що містить слиз або інші продукти життєдіяльності заражених риб, а також знаряддя рибальства. Істотну роль в перенесенні вірусу відіграють водоплавні птахи. Відомості з різних зарубіжних наукових центрів, а також власні спостереження засвідчують, що поява нових видів чайок у районах рибництва передують появі вогнищ захворювання. Збереження інфекційності КHV у воді швидше визначається годинами (мінімум 4 години), ніж днями [5], проте як довго вірус залишається активним у донних відкладеннях, достеменно не відомо.

Для діагностики цього вірусу використовують полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР), а також імуноферментний

метод (ELISA). На фірмі KoVax Ltd (Ізраїль) розроблено ефективну вакцину для профілактики КHV [6].

Мета роботи — електронно-мікроскопічне дослідження репродукції герпесвірусу кої в нирках коропа (*Cyprinus carpio*).

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Біопробу ставили у лабораторних умовах шляхом введення 0,2 мл вірусомісного розчину у черевну порожнину коропа середньою масою 50 г. Риб утримували у ваннах місткістю 40 л за температури 18°C впродовж 21 дня. Патологічний матеріал був відібраний від особин, що мали клінічні ознаки ураження.

Для виготовлення ультратонких зрізів нирки хворих риб фіксували у 1%-му розчині OsO<sub>4</sub>, доведеному до рН 7,0 за допомогою 0,1 М фосфатного буфера. Після фарбування 0,5%-м водним розчином ураніацетату матеріал зневоднювали, проводили крізь етанол та ацетон і вміщували в епоксидну смолу. Ультратонкі зрізи фарбували цитратом свинцю. Одержані таким чином препарати вивчали на електронному мікроскопі JEM-100B при інструментальному збільшенні 20 000 разів.

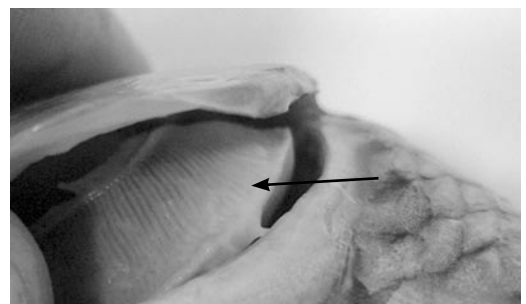
Для очистки та концентрації вірусу герпесу кої використано метод ультрацентрифугування в градієнті щільності сахарози.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При візуальному обстеженні хворі коропа мали виснажений вигляд, на поверхні їх тіла наявні яскраво виражені білі або темні плями (рис. 1).

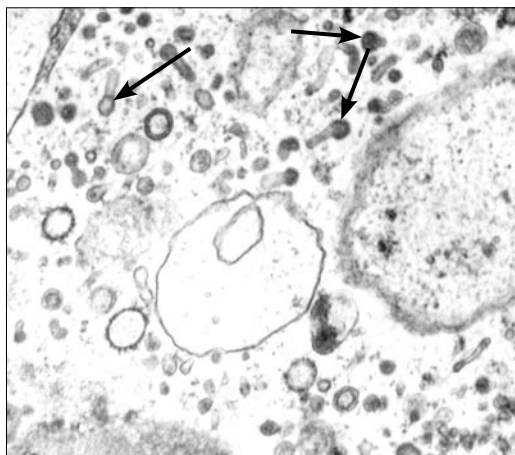


а

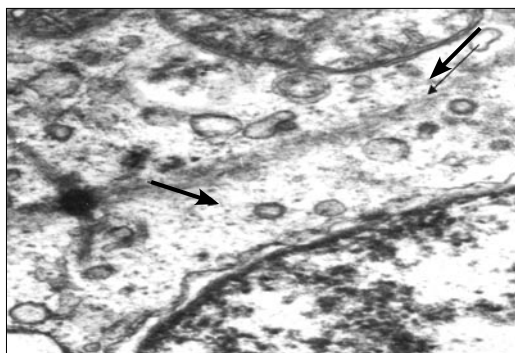


б

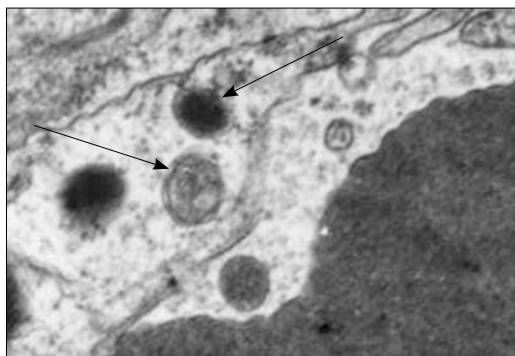
Рис. 1. Клінічні ознаки коропа, зумовлені вірусом СуHV-3: а — плями на поверхні тіла; б — некроз зябер



**Рис. 2.** Ультратонкий зріз ядра клітини нирки коропа, ураженого СуHV-3. Спостерігаються етапи формування вірусних нуклеокапсидів



**Рис. 3.** Розходження листків ядерної мембрани під впливом СуHV-3. Вірусні частинки розташовані в цитоплазмі (показано стрілками)



**Рис. 4.** Конденсація ядерного матеріалу. В перинуклеарній зоні розташовано вірусні частинки СуHV-3 (показано стрілками)

У хворих коропів виявлено інтенсивний некроз зябер, які були вкриті червоними або білими плямами (рис. 2), очі у таких риб запали, вони інтенсивно виділяли у воду слиз. На розтині у хворих риб виявився нефрит та інші симптоми, зумовлені вторинними бактеріальними інфекціями.

При електронно-мікроскопічних дослідженнях в ядрах клітин нирок хворих коропів виявлено віріони діаметром 120 нм (рис. 2).

Ядра уражених клітин мали щільний вигляд внаслідок конденсації хроматинного матеріалу (рис. 3), у перинуклеарній зоні вірусні частинки були розташовані між внутрішнім та зовнішнім листком ядерної мембрани (рис. 4).

У цитоплазмі уражених клітин нирок коропа, в яку з ядра проникають нуклеокапсиди, були розширеними каналці гранулярного ендоплазматичного ретикулула і спостерігались вірусні частинки, загорнуті в мембрани. Мітохондрії уражених клітин мали видовжену форму, багато мітохондріальних крист було зруйновано.

При електронно-мікроскопічному дослідженні очищених віріонів виявлено вірусні частинки такого ж діаметра, що й на ультратонких зрізах уражених клітин. Очищений вірус надалі використано для розробки ефективного методу діагностики герпесвірусної інфекції коропових риб.

Відомо, що віріони вірусу герпесу мають складну будову — вони містять у своєму складі понад 30 різноманітних білків. З цієї причини молекулярні основи репродукції вірусу і побудови такого складного вірусного капсиду стали зрозумілими лише в останні роки.

Встановлено, що реплікація вірусної ДНК відбувається в ядрі, після чого вона вмонтовується у вірусний капсид і залишає ядро через вип'ячування кризь внутрішню ядерну мембрану. При цьому віріони розміщуються у перинуклеарній зоні. Потім первинна оболонка зливається з зовнішнім листком ядерної мембрани, і віріони опиняються в цитоплазмі [7].

На наступному етапі вони одягають на себе ще одну оболонку, яка походить із везикул Гольджі.

## ВИСНОВКИ

Отримані дані з електронної мікроскопії клітин, уражених CyHV-3, свідчать

про подібність морфологічних змін у цих клітинах до змін, які притаманні вірусам герпесу інших тварин та людини.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Hedrick R., Gilad O., Yun S. A herpes virus associated with mass mortality of juvenile and adult Koi, a strain of common carp. // J. Aqua. Anim. Health. — 2000. — 12. — P. 44–57.
2. Ariav R., Timan S., Paperna I., Bejerano I. First report of newly emerging viral disease of *Cyprinus carpio* species in Israel // EAAP 9-th International Conference. — Rhodes, Greece, 1998. — P. 36.
3. Бучацький Л.П. Епізоотологічний моніторинг хвороб в аквакультурі. 2. Вірус нефрита та зяберного некроза коропа // Вет. мед. України. — 2006. — № 4. — С. 19–20.
4. Matras M., Borzum E., Maj J., Sichon A. KHV- sytuacja epizootyczna w Europie // Chow karpia w Europie. Stan obecny, trudności, perspektywy. — Olsztyn, 2011. — P. 43–48.
5. Siwicki A.K., Terech-Majewska E. Herpeswirusy a szczególnie koi herpes wirus (KHV) nowe zagrożenie w hodowli karpia // Choroby ryb. — 2002. — P. 368–373.
6. Ronen A., Perelberg A., Abramovitz J. Efficient vaccine against the virus causing a lethal disease in cultured *Cyprinus carpio* // Vaccine. — 2003. — P. 4677–4684.
7. Viva S., Sano M. Morphogenesis of koi herpesvirus observed by electron microscopy // J. Fish Dis. — 2007. — 30. — 12. — P. 715–722.

## ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ КЛЕТОК ПОЧЕК КАРПА, ПОРАЖЕННЫХ CyHV-3

М.И. Майстренко, Н.Н. Матвиенко, Л. П. Бучацький

Представлены результаты электронно-микроскопического исследования репродукции герпесвируса кои в почках карпа (*Cyprinus carpio*). Полученные данные свидетельствуют о сходстве морфологических изменений в этих клетках с изменениями, которые присущи вирусам герпеса других животных и человека.

## ELECTRON MICROSCOPY OF KIDNEY CELLS OF CARP AFFECTED CyHV-3

M. Maistrenko, N. Matvienko, L. Buchatskiy

The results of electronmicroscopic study of reproduction of koi herpes virus in the kidney of carp (*Cyprinus carpio*). These data demonstrate the similarity of morphological changes in these cells to the changes that are inherent in other herpes viruses of animals and humans.

УДК [664.951.014:639.371.5]:[628.394.17:546]

## ВПЛИВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА ХАРЧОВУ ЦІННІСТЬ КОРОПА І ТОВСТОЛОБИКА В УМОВАХ ІНТЕНСИВНОГО ВИРОЩУВАННЯ

Н.Л. Колесник

Інститут рибного господарства НААН України

Проведено гігієнічний аналіз вмісту важких металів у харчовій частці коропа та товстолобика. Визначено вплив вмісту важких металів на харчову цінність риби за умов інтенсивного вирощування.

Різке погіршення екологічної ситуації практично в усіх регіонах України пов'язане із господарською діяльністю людини, що вплинуло на якісний склад

споживаної їжі, зокрема і рибної продукції. З продуктами харчування в організм людини потрапляє значна частина хімічних і біологічних речовин. З огляду на це