

## ICHTHYOPATHOLOGY / ІХТІОПАТОЛОГІЯ

Ribogospod. nauka Ukr., 2023; 3(65): 119-133  
DOI: <https://doi.org/10.15407/fsu2023.03.119>  
UDC 597-12:597.554.3

Received: 04.07.23  
Received in revised form: 10.08.23  
Accepted: 05.09.23

### PECULIARITIES OF LIGULOSIS OF BREAM (*ABRAMIS BRAMA* LINNAEUS, 1758) AND ROACH (*RUTILUS RUTILUS* LINNAEUS, 1758) IN THE DNIPRO (ZAPORIZHZHIA) RESERVOIR

### ОСОБЛИВОСТІ ЛІГУЛЬОЗУ ЛЯЩА (*ABRAMIS BRAMA* LINNAEUS, 1758) ТА ПЛІТКИ (*RUTILUS RUTILUS* LINNAEUS, 1758) У ДНІПРОВСЬКОМУ (ЗАПОРІЗЬКОМУ) ВОДОСХОВИЩІ

**V. Sydorenko**, gidrobiolog1@gmail.com,  
Oles Honchar Dnipro National University,  
Dnipro

**O. Marenkov**, gidrobions@gmail.com,  
Oles Honchar Dnipro National University,  
Dnipro

**В. С. Сидоренко**, gidrobiolog1@gmail.com,  
Дніпровський національний універси-  
тет імені Олеся Гончара, м. Дніпро

**О. М. Маренков**, gidrobions@gmail.com,  
Дніпровський національний універси-  
тет імені Олеся Гончара, м. Дніпро

**Purpose.** Study of the peculiarities of *ligula* infestation of roach and bream in the Dnipro (Zaporizhzhia) reservoir and the influence of *Ligula intestinalis* on the morphological and cytometric parameters of infected fish species.

**Methodology.** The work presents the generalized results of studies conducted in 2020–2021 during planned test catches. Sampling was carried out along the shoreline of the Dnieper (Zaporizhzhia) reservoir in the lower part of the villages of Viiskove and Mykilske-na-Dnipri, Dnipropetrovsk region, in the summer-autumn period. The morphological study was carried out by carefully examining the surface of the scales and skin cover. Special attention was paid on fins, the amount of mucus, its consistency, color change, the presence of tumors, hemorrhages, ulcers, cysts, large ectoparasites, and the condition of eyes. The parasitological study was carried out by a complete anatomical dissection of the fish according to the classical method. Blood was collected at the catch site from the heart of the fish using a needle and a syringe into a dry test tube for the biochemical serum analysis. Blood was also collected for the preparation of smears and their subsequent microscopy. Blood smears were fixed with methyl alcohol and stained according to Romanovsky's method with Giemsa's

**Meta.** Вивчення особливостей лігульозної інвазії плітки та ляща у Дніпровському (Запорізькому) водосховищі та впливу *Ligula intestinalis* на морфологічні та цитометричні показники заражених видів риби.

**Методика.** У роботі представлені узагальнені результати досліджень, що проводилися впродовж 2020–2021 рр. під час планових контрольованих обловів. Відбір зразків проводили вздовж берегової лінії Дніпровського (Запорізького) водосховища у нижній частині поблизу с. Військове та с. Микільське-на-Дніпрі Дніпропетровської області у літньо-осінній період. При морфологічному дослідженні уважно оглядали поверхню луски та шкірні покриви. Звертали увагу на плавці, на кількість слизу, його консистенцію, зміну забарвлення, наявність пухлин, крововиливів, виразок, цист, крупних ектопаразитів, стан очей. Паразитологічне дослідження проводили шляхом повного анатомічного розтину риби за класичною методикою. Кров для дослідження відбирали на місці вилування із серця риби за допомогою голки та шприца в суху пробірку для біохімічного аналізу сироватки. Також відбирали кров для виготовлення мазків та їх подальшого мікроскопування. Мазки крові виготовляли за мето-



standard solution. Blood smears were examined by microscopy at a 40x magnification. Blood smears of non-infected fish were used for comparison. Thirty fields of view were examined in each smear.

**Findings.** In the course of the study, a decrease in the weight and condition factor of infected roach and bream was observed, and irreversible pathological changes in the internal organs caused by the mechanical pressure and migration of parasites were recorded. In addition, deviations from the normal values were found in the formed elements of blood. About 24.3% of erythrocytes in infected specimens of bream and roach were deformed: the cell membrane was not clear, erythrocytes had a slightly inflated shape. In some erythrocytes, the nucleus was faintly visible. Infected specimens had more juvenile forms of erythrocytes compared to non-infected fish.

**Originality.** For the first time, a comparative morphological, cytometric analysis of blood during ligulosis infestation of infected specimens of bream and roach in the Dnipro (Zaporizhzhia) reservoir is presented.

**Practical value.** The study of biological, clinical and epizootic peculiarities of parasitic helminths is of urgent interest for both science and fish farming. The obtained results can be implemented in the practical activity of fish farming and used in the development of measures to limit and prevent the development of parasitic diseases among the ichthyofauna of the Dnipro (Zaporizhzhia) reservoir.

**Key words:** bream, roach, ligula, erythrocytes, albumins.

## PROBLEM STATEMENT AND ANALYSIS OF LAST ACHIEVEMENTS AND PUBLICATIONS

With the development of the fishery industry in Ukraine, the problems of fish infestation by various parasites, in particular helminths with complex cycles of development, are becoming more and more relevant. Outbreaks of such an invasive disease as ligulosis caused by plerocercoids of the cestode *Ligula intestinalis* are frequently recorded in many natural water bodies [1, 2].

This parasite has a multi-host life cy-

дом Романовського та вивчали за допомогою світлової мікроскопії при збільшенні об'єктива 40x. Як контроль використали мазки крові неінвазованих риб. Опрацьовували 30 полів зору в кожному дослідженому мазку.

**Результати.** В ході проведеного дослідження встановлено зменшення маси та вгодованості інвазованих екземплярів пліток та лящів, зафіксовано незворотні патологічні зміни у внутрішніх органах внаслідок механічного тиску та міграції паразитів. Крім того, виявлено відхилення від норми у формених елементах крові. У інвазованих екземплярів лящів та пліток близько 24,3% еритроцитів деформовані: клітинна оболонка нечітка, еритроцити мали дещо роздуту форму. У деяких еритроцитів слабо проглядалось ядро. Інвазовані екземпляри мали більше молодих форм еритроцитів, ніж зрілих, у порівнянні з контролем.

**Наукова новизна.** Вперше представлений порівняльний морфологічний, цитометричний аналіз крові при лігульозній інвазії заражених екземплярів ляща та плітки у Дніпровському (Запорізькому) водосховищі.

**Практична значимість.** Для науки, як для рибництва важливим є вивчення клінічних, епізоотичних, а також біологічних особливостей паразитичних гельмінтів. Отримані результати можуть бути впроваджені у практичну діяльність рибного господарства та бути використані при розробці заходів з обмеження та попередження розвитку паразитарних захворювань серед іхтіофауни Дніпровського (Запорізького) водосховища.

**Ключові слова:** лящ, плітка, лігула, еритроцити, альбуміни.

## ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ ТА АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

З розвитком рибної промисловості в Україні проблеми інвазованості риби різноманітними паразитами, зокрема гельмінтами зі складними циклами розвитку, стають все більш актуальними. В багатьох природних водоймах часто фіксуються спалахи такого інвазивного захворювання як лігульоз, спричиненого плероцеркоїдами цестоди *Ligula intestinalis* [1, 2].

Цей паразит має багатогосподар-



cle and uses various species of copepods, fish and birds as hosts. Eggs found in the droppings of fish-eating birds develop into free-swimming coracidium larvae when they enter water. These larvae, which are later eaten by copepods, become proceroid larvae inside the copepods. After the second intermediate host such as a fish eats copepods, the proceroid larva attaches itself to the intestinal cavity of the fish and develops there turning into a segmentless plerocercoid larva, and then completes its life cycle in the bird's body [5, 6].

Fish is the most affected host in the life cycle of *L. intestinalis*, as this parasite occupies the body cavity of the fish for several years and causes pathological effects on it [7].

*L. intestinalis* has been registered worldwide in fish belonging to the families of true loaches (*Cobitidae*), salmonids (*Salmonidae*), pikes (*Esoxidae*), flounders (*Pleuronectidae*), catfishes (*Siluridae*), percids (*Percidae*), and gobiids (*Gobiidae*). The most frequently recorded cases of invasion are observed in cyprinids (*Cyprinidae*) [8–10]. Among them, the following species are primarily susceptible to ligulosis: bream (*Abramis brama* Linnaeus, 1758), white bream (*Blicca bjoerkna*, Linnaeus, 1758), roach (*Rutilus rutilus*, Linnaeus, 1758), rudd (*Scardinius erythrophthalmus*, Linnaeus, 1758), crucian carp (*Carassius carassius*, Linnaeus, 1758), common dace (*Leuciscus leuciscus*, Linnaeus, 1758), gudgeon (*Gobio gobio*, Linnaeus, 1758), sunbleak (*Leucaspius delineates*, Linnaeus, 1758), common bleak (*Alburnus alburnus*, Linnaeus, 1758), silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*, Linnaeus, 1758), bighead carp (*Hypophthalmichthys nobilis*, Linnaeus, 1758), and grass carp (*Ctenopharyngodon idella*, Linnaeus, 1758). Most of the above-mentioned fish are typical species

ський життєвий цикл і використовує у ролі господарів різні види копепод, що належать до групи ракоподібних, а також риб і птахів. Яйця, знайдені в посліді птахів, що харчуються рибою, перетворюються на вільно плаваючі личинки-корацидіуми, коли потрапляють у воду. Ці личинки, які пізніше з'їдаються копеподами, стають личинками-процеркоїдами усередині копепод. Після того, як друга проміжна риба-хазяїн з'їсть веслоногих молюсків, личинка-процеркоїд прикріплюється до кишкової порожнини риби та розвивається там, перетворюючись на безсегментну личинку-плероцеркоїд, а потім завершує свій життєвий цикл в організмі птаха [6, 7].

Риба є найбільш ураженим хазяїном у життєвому циклі *L. intestinalis*, оскільки цей паразит займає порожнину тіла риби протягом кількох років і спричиняє патологічний вплив на неї [8].

*L. intestinalis* зареєстровано в усьому світі у риб з родин в'юнових (*Cobitidae*), лососевих (*Salmonidae*), щукових (*Esocidae*), камбалових (*Pleuronectidae*), сомових (*Siluridae*), окуневих (*Percidae*) та бичкових (*Gobiidae*). Найчастіше фіксуються випадки інвазії у представників родини коропових (*Cyprinidae*) риб [9–11]. Серед них до лігульозу в першу чергу сприйнятливі: лящ (*Abramis brama* Linnaeus, 1758), плоскирка (*Blicca bjoerkna* Linnaeus, 1758), плітка (*Rutilus rutilus* Linnaeus, 1758), краснопірка (*Scardinius erythrophthalmus* Linnaeus, 1758), карась (*Carassius carassius* Linnaeus, 1758), ялець (*Leuciscus leuciscus* Linnaeus, 1758), пічкур (*Gobio gobio* Linnaeus, 1758), верховка (*Leucaspius delineatus* Linnaeus, 1758), верховодка (*Alburnus alburnus* Linnaeus, 1758), білий (*Hypophthalmichthys molitrix* Linnaeus, 1758) і строкатий товстолобик (*Hypophthalmichthys nobilis* Linnaeus, 1758), білий амур (*Ctenopharyngodon*



of the ichthyofauna of natural and artificial water bodies of Ukraine, primarily reservoirs. In the latter, cases of mass death of juvenile bream as well as other commercial fishes, are regularly registered [11, 15–17]. The cause of the spread of this parasite among pond fish may be an increase in the area of water bodies covered with higher aquatic vegetation [18].

There are data, which show that this invasion leads to a decrease in the haemoglobin content, which affects the weight and condition factor of affected fish. Parasites compress the internal organs of fish (gonads, spleen, liver), as a result of which they become atrophied. In addition to the mechanical effect on the internal organs of fish, *L. intestinalis* causes intoxication of the body causing metabolic disorders, a sharp decrease in productivity and the level of reproduction [2].

Large-scale studies on the distribution of *L. intestinalis* were carried out in China back in the 1980s [12]. There is also information in the literature about the invasion of *L. intestinalis* in sardine *Engraulicypris sardella* — an endemic of the cyprinid family in the Lake Nyasa [13].

In reservoirs of the Dnipro cascade, the bream (*Abramis brama*) is most severely affected by parasites. During the pathological autopsy of the bream, single nematodes of the *Philometridae* family and cestodes *L. interstinalis* in the quantity of 2–4 specimens per fish were found in the abdominal cavity with the prevalence of 30%. Sick bream with an average weight of 250 g and impaired swim bladder function caused by filling of the abdominal cavity with ligula was most frequently found in the middle and lower parts of the Kyiv and Kremenchug reservoirs [14].

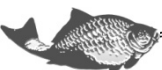
On the territory of Ukraine, three conditional risk zones of ligulosis invasion have been defined: unfavorable, threatening and

*idella*, Linnaeus, 1758). Більшість із вищезгаданих риб є типовими представниками іхтіофауни природних та штучних водойм України, насамперед — водосховищ. У останніх регулярно реєструють випадки масової загибелі молоді ляща, а також інших промислових риб [12, 16–18]. Причиною розповсюдження даного паразита серед ставових риб може бути збільшення площі заростання водойм вищою водною рослинністю [19].

Є дані, згідно з якими відомо, що дана інвазія призводить до зменшення вмісту гемоглобіну, що позначається на масі і вгодованості риб. Паразити здавлюють внутрішні органи риб (статеві залози, селезінку, печінку), в результаті чого вони атрофуються. Крім механічного впливу на внутрішні органи риб, *L. intestinalis* викликає інтоксикацію організму, спричиняючи порушення обміну речовин, різке зниження продуктивності і рівня відтворення [2].

Широкомасштабні дослідження з вивчення поширення *L. intestinalis* були проведені у Китаї ще у 80-х рр. ХХ ст. [13]. Також в літературних джерелах є інформація про інвазію *L. intestinalis* у сардини *Engraulicypris sardella* — ендеміка родини корошових *Cyprinidae* в озері Ньяса [14].

У водосховищах Дніпровського каскаду найбільш сильно уражений паразитами лящ (*Abramis brama*). При патологоанатомічному розтині у ляща у черевній порожнині були виявлені поодинокі нематоди родини *Philometridae* та цестоди *Ligula interstinalis* у кількості 2–4 екз./рибу, при екстенсивності інвазії 30%. Хворий лящ з середньою масою 250 г та порушеною функцією плавального міхура, викликаного заповненням черевної порожнини лігулою, частіше зустрічається в середній та нижній частинах Київського та Кременчуцького водосховищ [15].



temporarily favorable territories. [4].

There are 5 regions of Ukraine currently classified as unfavorable area: Rivne with an infestation level of 3.1%, Zhytomyr — 7%, Khmelnytsky — 0.4%, Cherkasy — 0.08% and Kirovohrad — 0.2%.

### HIGHLIGHT OF THE EARLIER UNRESOLVED PARTS OF THE GENERAL PROBLEM. AIM OF THE STUDY

The study of the morphology of the formed elements of blood during ligulosis as well as blood analysis are of scientific and practical interest. Since blood is a unique liquid tissue of the body, which should be considered together with the organs in which the development and destruction of the formed elements of blood takes place, in order to have a general idea of the degree of functioning of the fish body as a whole. Blood is in constant contact with all components of the body, thanks to which its transport function is ensured.

Blood is known to perform respiratory, trophic, excretory, homeostatic functions, as well as regulatory, thermoregulatory and protective functions. As a result of parasitic infestation, most of them may be impaired. Therefore, by studying the changes of the formed elements and the main biochemical parameters, it is possible to get a general idea of the pathogenesis of ligulosis and the degree of effect of *L. intestinalis* on the body of fish.

Therefore, the aim of the work was to study the peculiarities of ligulosis infestation in bream (*Abramis brama*, Linnaeus, 1758) and roach (*Rutilus rutilus*, Linnaeus, 1758) from the Dnipro (Zaporizhzhia) reservoir. In particular, the effect of *L. intestinalis* on morphological and cytometric parameters of infected fish.

На території України визначено три умовні зони ризику лігульозної інвазії: неблагополучну, загрозливу та тимчасово благополучну території. До неблагополучних регіонів віднесено 5 областей: Рівненську з рівнем інвазованості 3,10%; Житомирську — 7,00%; Хмельницьку — 0,4%; Черкаську — 0,08%; Кіровоградську — 0,20% [4].

### ВИДІЛЕННЯ НЕВИРШЕНИХ РАНІШЕ ЧАСТИН ЗАГАЛЬНОЇ ПРОБЛЕМИ. МЕТА РОБОТИ

Науковий та практичний інтерес становить вивчення морфології формених елементів при лігульозній інвазії, а також аналіз крові. Адже кров — це унікальна рідка тканина організму, яку слід розглядати в сукупності із органами, у яких відбувається утворення та руйнування формених елементів крові, для того, щоб мати загальне уявлення про ступінь функціонування організму риб в цілому. Кров здійснює постійний контакт із усіма компонентами організму, завдяки чому забезпечується її транспортна функція.

Відомо, що кров виконує дихальну, трофічну, екскреторну, гомеостатичну, функції, а також регуляторну, терморегуляторну та захисну функції. Внаслідок паразитичної інвазії можливе порушення більшості з них. Тому, досліджуючи зміни формених елементів та головних біохімічних показників, можна отримати загальне уявлення про патогенез лігульозу та ступінь впливу його збудника — лігули (*Ligula Intestinalis*) на організм риб.

Отже, метою роботи було дослідження особливостей лігульозної інвазії у ляща (*Abramis brama* Linnaeus, 1758) й плітки (*Rutilus rutilus* Linnaeus, 1758) з Дніпровського (Запорізького) водосховища, зокрема, впливу лігули (*Ligula intestinalis*) на морфологічні та цитометричні показники заражених видів риб.



## MATERIALS AND METHODS

The collection of fish was carried out in 2020-2021 during scheduled test catches using gill nets. Sampling was carried out along the shoreline of the Dnipro (Zaporizhzhia) reservoir in the lower part near the village of Viiskove — 48.170168, 35.174083 and village Mykilske-na-Dnipri — 48.206001, 35.180628, Dnipropetrovsk region, in the summer-autumn period (Fig. 1).

The studied fish were sexually mature, mostly of age-3+.

The morphological study involved careful examination of the surface of scales and skin. The attention was paid to fins, the amount of mucus, its consistency, color change, the presence of tumors, hemorrhages, ulcers, cysts, large ectoparasites, and the condition of the eyes. When examining the gills, the shape and structure of the gill filaments, the degree of their sliminess, and color were noted. The oral cavity was examined separately.

Fish were weighed and measured for the total length (FL) and standard length (SL) to further determine the condition

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Відбір риби здійснювали впродовж 2020 – 2021 рр. під час планових контрольованих обловів ставними сітками. Відбір зразків проводили вздовж берегової лінії Дніпровського (Запорізького) водосховища у нижній частині поблизу с. Військове — 48.170168, 35.174083 та с. Микільське-на-Дніпрі — 48.206001, 35.180628, Дніпропетровської області у літньо-осінній період (рис. 1).

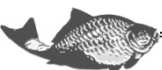
Риба, яка досліджувалася, була статевозрілою, переважно вікових категорій 3+.

У ході морфологічного дослідження уважно оглянули поверхню луски та шкірні покриви. Звертали увагу на плавці, на кількість слизу, його консистенцію, зміну забарвлення, наявність пухлин, крововиливів, виразок, цист, великих ектопаразитів, стан очей. Оглядаючи зябра, відмічали форму, структуру зябрових пелюсток, ступінь їхнього ослизнення, колір. Окремо оглядали ротову порожнину.

Риб зважували та вимірювали зоологічну (загальну) довжину тіла (L) та



Fig. 1. Fish sampling sites



factor of infected and non-infected fish.

Fish were immobilized by destroying the myelencephalon with a dissecting needle. Parasitological examination was carried out by a complete anatomical dissection of fish according to the method of K. I. Skryabin [5]. An abdominal dissection was performed with an incision from the anus to the head. Each organ was prepared and separated for further analysis. The collected organs were examined by the dry method.

Blood was also collected for the preparation of smears and their subsequent microscopy examination. Blood was collected at the place of fish catch from the caudal vein with a needle and a syringe. Blood smears were fixed with methyl alcohol and stained according to Romanovsky's method with Giemsa's standard solution [5]. Blood smears were examined by light microscopy using a SIGETA MB-115 SE microscope at a magnification of 40x. Blood smears of non-infected fish were used as controls. Thirty fields of view were examined in each smear.

The following parameters were determined: large longitudinal (D) and small transverse (d) diameters of mature erythrocytes, erythrocyte area (S), erythrocyte nuclear area (s), nuclear-cytoplasmic ratio (s/S), percentage of mature erythrocytes (ME).

Statistical processing of the obtained data was carried in MS Excel 2010 and Statistica 6.0. To assess the difference between the samples, we used the Student's t-test at the level of  $p \leq 0.05$ . Study results are presented in the form of mean values with standard errors  $M \pm m$ .

промислому довжину (l) для подальшого визначення коефіцієнта вгодваності інвазованих та неінвазованих риб.

Імобілізацію риб здійснили шляхом руйнування довгастого відділу головного мозку препарувальною голкою. Паразитологічне дослідження проводили шляхом повного анатомічного розтину риби за методикою К. І. Скрябіна [5]. Здійснювали розтин черевної порожнини розрізом, який починали від анального отвору та спрямовували до голови. Для подальшого аналізу препарували та відокремлювали кожен орган. Відібрані органи досліджували сухим способом.

Також відбирали кров для виготовлення мазків та їх подальшого мікроскопування. Відбір проводили на місці вилову із хвостової вени за допомогою голки та шприца. Мазки крові фіксували метиловим спиртом і фарбували за методом Романовського стандартним розчином Гімзи [5]. Мазки крові досліджували шляхом світлової мікроскопії за допомогою мікроскопа «SIGETA MB-115 SE», при збільшенні об'єктива 40x. В якості контролю використали мазки крові неінвазованих риб. Продивлялись 30 полів зору в кожному мазку.

При цьому визначали наступні показники: великий повздовжній (D) та малий поперечний (d) діаметри зрілих еритроцитів, площу еритроцита (S), площу ядра еритроцита (s), ядерно-цитоплазматичне співвідношення (s/S), відсоток зрілих еритроцитів (ЗЕ).

Статистичне опрацювання отриманих даних здійснювали із застосуванням програми «Excel 2010» та «Statistica 6.0». Для оцінки різниці між вибірками використовували t-критерій Ст'юдента при рівні значущості  $p \leq 0,05$ . Результати досліджень представлено у вигляді середніх значень та стандартних похибок  $M \pm m$ .



## STUDY RESULTS AND THEIR DISCUSSION

During this period, 47 infected specimens of bream out of 125 analyzed and 52 out of 230 analyzed specimens of roach affected by *L. intestinalis* were found.

The study was carried out at the infestation intensity in bream of  $1.61 \pm 0.07$ , and prevalence of 37.5%. In roach, these two parameters were  $1.21 \pm 0.06$  and 22.6%, respectively.

It should be noted that the fish affected by the helminth during the catch most often remained near the water surface and behaved very lethargic. The reason for this may be the accumulation of plerocercoids in the front part of the abdomen. In the infected specimens, a blown abdomen was found in almost all the studied individuals.

The condition factor is a parameter, which characterizes the fattening of fish and allows noting fluctuations in food supply. Fulton's condition factor for experimental groups of infected bream was  $1.7 \pm 0.2$  (for an average SL of  $20.5 \pm 1.32$  cm and an average weight of  $1.509 \pm 0.03$  kg). In the group of non-infected fish, this parameter was equal to  $1.8 \pm 0.12$  (for the average SL of  $21.4 \pm 1.02$  cm and the average weight of  $1.907 \pm 0.13$  kg). The value of this parameter was  $2.59 \pm 0.25$  in the infected roach individuals (for the average SL of  $11.01 \pm 0.31$  cm and the average weight of  $0.302 \pm 0.59$  kg). At the same time, in non-infected individuals, the condition factor was  $2.63 \pm 0.6$  (for the average SL of  $11.53 \pm 1.52$  cm and the average weight of  $0.312 \pm 0.17$  kg). However, weight loss in studied fish may indicate deterioration of nutrition due to invasion.

The ichthyopathological analysis of the studied samples of bream and roach showed the presence of white and light-yellow flatworms of 0.5 to 1.2 cm wide and

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За цей час було виявлено 47 інвазованих екземплярів ляща зі 125 опрацьованих та 52 (з 230 опрацьованих) екземпляри плітки уражених плоским червом *Ligula intestinalis*.

Дослідження здійснювали за інтенсивності інвазії у лящів на рівні  $1,61 \pm 0,07$  та її екстенсивності — 37,5%. У плітки ці два показники становили  $1,21 \pm 0,06$  та 22,6% відповідно.

Слід зазначити, що під час відлову було зафіксовано, що уражена гельмінтом риба найчастіше тримається біля поверхні води і поводить себе дуже мляво. Причиною цього може бути скупчення в передній частині черевця плероцеркоїдів. У інвазованих екземплярів було виявлено роздуте черевце майже у всіх досліджених особин.

Коефіцієнт вгодованості — показник, що характеризує вгодованість риби та дозволяє відмічати коливання у забезпеченості кормом. Коефіцієнт вгодованості за Фультоном для дослідних груп інвазованих лящів становив  $1,7 \pm 0,2$  за середньої промислової довжини  $20,5 \pm 1,32$  см та середньої маси  $1,509 \pm 0,03$  кг). У контрольній групі серед неінвазованих риб цей показник був рівним  $1,8 \pm 0,12$  (за середньої промислової довжини  $21,4 \pm 1,02$  см та середньої маси  $1,907 \pm 0,13$  кг). У інвазованих особин плітки значення даного показника складало  $2,59 \pm 0,25$  (за середньої промислової довжини  $11,01 \pm 0,31$  см та середньої маси  $0,302 \pm 0,59$  кг). Водночас, у неінвазованих особин коефіцієнт вгодованості перебував на рівні  $2,63 \pm 0,6$  (за середньої промислової довжини  $11,53 \pm 1,52$  см й середньої маси  $0,312 \pm 0,17$  кг). Проте зниження маси у інвазованих риб може свідчити про погіршення живлення через інвазію.





7 to 10 cm long in the abdominal cavity. The detected parasites were identified with the aid of O. P. Markevich's identification keys [3]. The presence of parasites in the abdominal cavity led to the occurrence of pathologies in the internal organs of the studied fish — liver, spleen, gonads. For example, due to mechanical pressure, the gonads became atrophied, changed their natural size, color and shape. Another example of the above-mentioned processes is that the liver lobes were unevenly colored, their sizes, compared to those in non-infected individuals, were increased. In addition, areas of necrosis and haemorrhages were present in the liver of infected fish.

During the localization of parasites in the intestines of fish, haemorrhages, areas of necrosis and inflammatory processes were also found.

Examination of blood smears of infected and non-infected fish, attention was paid to the number of formed blood elements, their structure, shape, size and location of the nucleus. The majority of erythrocytes of non-infected bream specimens were characterized by an ellipsoidal shape with a well-defined membrane. The presence of a small number of juvenile forms of erythrocytes was observed. In them, the nucleus was clearly defined, oval in shape, located in the center of the cell. In the infected specimens of fish, 24.3% of erythrocytes were deformed: cells of a slightly inflated shape, with an unclear membrane (Fig. 2). Some erythrocytes of infected fish has their nucleus faintly visible.

Similar to the above, the clinical picture was also observed in infected roach with an invasion intensity of  $1.21 \pm 0.06$ . In the examined group of bream, the longitudinal and transverse diameters were  $13.21 \pm 1.07 \mu\text{m}$  and  $7.3 \pm 0.04 \mu\text{m}$ , respec-

При проведенні іхтіопатологічного аналізу досліджених зразків ляща та плітки були виявлені у черевній порожнині плоскі черви білого та світло-жовтого кольору, шириною від 0,5 до 1,2 см та довжиною 7–10 см. Виявлених паразитів ідентифікували за допомогою визначника Маркевича О. П. [3]. Наявність паразитів у черевній порожнині зумовлювала виникнення у інвазованих риб патології з боку внутрішніх органів — печінки, селезінки, гонад. Наприклад, гонади внаслідок механічного тиску атрофуються, змінюють свої природні розміри, колір та форму. Іншим прикладом вищезазначених процесів є те, що печінкові долі нерівномірно забарвлені; їх розміри, порівняно з такими у неінвазованих особин, збільшені. Крім того, в печінці інвазованих риб наявні зони некрозу та крововиливу.

Під час локалізації паразитів у кишечнику риб також виявлено крововиливи, зони некрозу та подекуди запальні процеси.

Здійснюючи мікроскопування мазків крові інвазованих та неінвазованих риб звертали увагу на кількість формених елементів крові, їхню структуру, форму, розміри та розташування ядра. Більшість еритроцитів неінвазованих особин ляща характеризувались еліпсоїдною формою з чітко вираженою оболонкою. Спостерігалась наявність невеликої кількості молодих форм еритроцитів. В них ядро було чітко виражене, овальної форми, розміщувалось в центрі клітини. У інвазованих екземплярів риб 24,3% еритроцитів були деформовані: клітини дещо роздутої форми, з нечіткою оболонкою (рис. 2). У деяких еритроцитів інфікованих риб слабо проглядалось ядро.

Схожа до вищезазначеної клінічна картина спостерігалася й у інвазованих особин плітки при інтенсивності інвазії



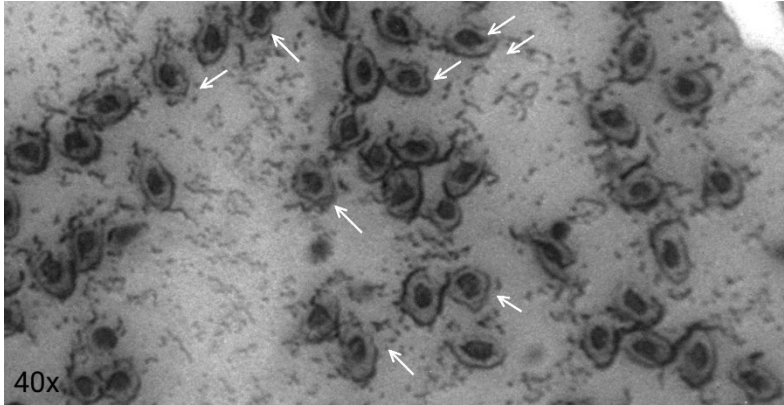


Fig. 2. Erythrocytes of infected common bream (*Abramis brama*, Linnaeus, 1758). Arrows show erythrocytes with a deformed plasmatic membrane

tively, while those of roach were  $11.8 \pm 1.1 \mu\text{m}$  and  $6.4 \pm 0.54 \mu\text{m}$  (Table 1).

The study showed that the areas of erythrocytes and nuclei did not differ significantly in infected and non-infected fish. However, there was an increase in the nuclear-cytoplasmic ratio of erythrocytes in bream and roach. Thus, this parameter increased by 5% in the group of infected bream and by 10% in the group of infected roach. An increase in the nucleus mass in the cell may indicate the transition to mitotic cell division.

The study showed more juvenile forms of erythrocytes than mature ones in the in-

1,21 $\pm$ 0,06. У групі інвазованих лящів повздовжній та поперечний діаметри становили відповідно 13,21 $\pm$ 1,07 мкм та 7,3 $\pm$ 0,04 мкм, тоді як у плітки — 11,8 $\pm$ 1,1 та 6,4 $\pm$ 0,54 мкм (табл. 1).

У ході досліджень виявлено, що площі еритроцитів та ядер несуттєво відрізняються у риб з інвазованої та неінвазованої груп. Втім, спостерігається збільшення ядерно-цитоплазматичного співвідношення еритроцитів у ляща та плітки. Так, у інвазованій групі ляща даний показник зріс на 5%, а у дослідній групі плітки зростання було на 10%. Збільшення маси ядра у клітині може

Table 1. Cytometric parameters of some formed blood elements of bream (*Abramis brama*) and roach (*Rutilus rutilus*)

Parameters	Bream ( <i>Abramis brama</i> ) 3+, Dnipro Reservoir		Roach ( <i>Rutilus rutilus</i> ) 3+, Dnipro Reservoir	
	Infected	Non-infected	Infected	Non-infected
Large longitudinal diameter (D), $\mu\text{m}$	13.21 $\pm$ 1.07	13.54 $\pm$ 2.2	11.8 $\pm$ 1.1	12.31 $\pm$ 0.84
Small transverse diameter (d), $\mu\text{m}$	7.3 $\pm$ 0.04	7.9 $\pm$ 1.91	6.4 $\pm$ 0.54	7.1 $\pm$ 3.62
Erythrocyte area (S), $\mu\text{m}^2$	87.9 $\pm$ 0.62	89.8 $\pm$ 1.6	88.7 $\pm$ 0.71	89.3 $\pm$ 1.67
Erythrocyte nucleus area, $\mu\text{m}^2$	17.02 $\pm$ 0.82	16.36 $\pm$ 2.24	17.51 $\pm$ 1.12	16.85 $\pm$ 1.23
Nuclear-cytoplasmic ratio (s/S)	0.19 $\pm$ 1.08	0.18 $\pm$ 2.82	0.21 $\pm$ 2.63	0.19 $\pm$ 0.07
Juvenile erythrocytes, %	28 $\pm$ 0.43	12 $\pm$ 0.76	33 $\pm$ 0.16	14 $\pm$ 0.37
Total leukocyte count, pieces in the field of vision	17 $\pm$ 0.23	23 $\pm$ 1.92	13 $\pm$ 1.12	21 $\pm$ 1.78
Leukoerythroblastic ratio, %	13.6 $\pm$ 1.41	31.4 $\pm$ 1.23	15.2 $\pm$ 0.84	29.12.8*

Note: \* — the difference between parameters is significant,  $p \leq 0.05$ .



fectured fish compared to non-infected ones (Fig. 3). For example, only 12% of juvenile erythrocytes were observed in non-infected bream and 14% in non-infected roach. At the same time, infected individuals of bream had 28% juvenile erythrocytes, while infected individuals for roach had 33% of juvenile erythrocytes. In turn, this may indicate a lack of oxygen in the body of the affected fish. The latter may be caused by impairment in the functioning of adult forms of erythrocytes or by intoxication of the fish body with products of the vital activity of parasites, which leads to an impairment of metabolism and mitotic division of cells.

In the examined blood smears, lymphocytes were characterized by very large nuclei, which occupied almost the entire volume of the cell (Fig. 4). The total number of leukocytes in the field of view was  $17 \pm 0.23$  pieces on a slide for bream, which was 35% less than in the non-infected group. For roach, this parameter was

свідчити про перехід до мітотичного поділу клітин.

За даними досліджень встановлено, що у досліді більше молодих форм еритроцитів, ніж зрілих, у порівнянні з неінвазованою групою (рис. 3). Так, у контролі на молоді еритроцити припадало лише 12% у лящів та 14% — у плітки. Водночас, у інвазованих особини ляща 28% становили молоді еритроцити, а у інвазованих особин плітки вони склали 33%.

У дослідних мазках крові лімфоцити характеризувалися дуже великим ядром, яке займало майже весь об'єм клітини (рис. 4). Загальна кількість лейкоцитів в полі зору становила  $17 \pm 0,23$  штук на предметному скельці у лящів, що на 35% менше, ніж у неінвазованій групі. Для плітки цей показник становив  $13 \pm 1,12$  штук на предметному скельці, що на 62% менше, ніж у групі неінвазованих риб цього виду.

У дорослих риб співвідношення лейкоцитів і еритроblastів знаходилося в

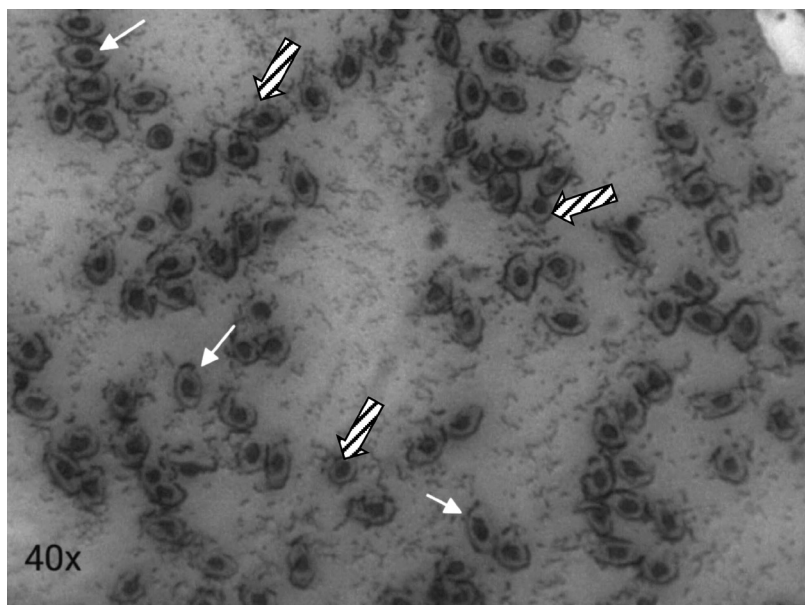


Fig. 3. Erythrocytes of infected common bream (*Abramis brama* Linnaeus, 1758). White arrows indicate mature erythrocytes. Striped arrows indicate immature erythrocytes



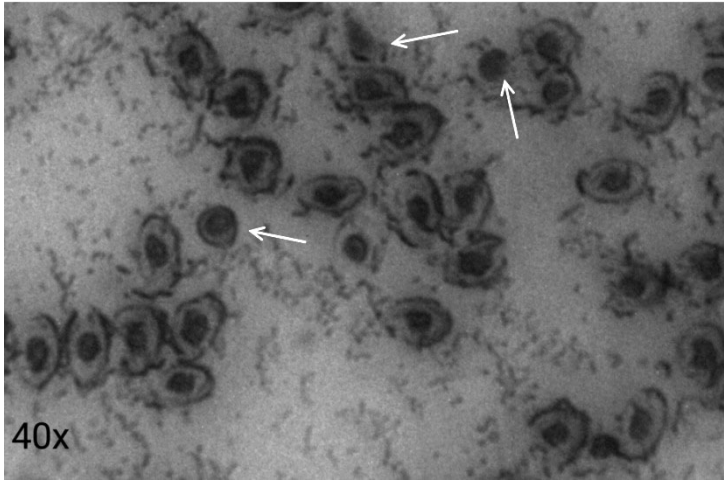


Fig. 4. Lymphocytes of infected common bream (*Abramis brama* Linnaeus, 1758)

13±1.12 pieces on a slide, which was 62% less than in the non-infected group of fish of this species.

In adult fish, the leukocytes to erythroblasts ratio was within 25–35%. It characterizes the ratio of the percentage content of all elements of the lymphoid series to the percentage content of all elements of the erythroid series. In the sample of infected fish, the aforementioned ratio was 13.6% in bream and 15.2% in roach. This was significantly less than in non-infected fish. This parameter may indicate a decrease in immune functions due to invasion to bream and roach by the *L. intestinalis* through a decrease in the count of lymphoid cells. In addition, the heterogeneity of experimental data on the number of leukocytes in the bloodstream can be indicated by the fact that leukocytes easily migrate from the circulatory system to the lymphatic system and vice versa, and are also localized in inflammation sites.

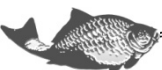
#### CONCLUSION AND PERSPECTIVES OF FURTHER DEVELOPMENT

Infected specimens of bream (*Abramis brama* Linnaeus, 1758) and roach (*Rutilus rutilus* Linnaeus, 1758) caught in the

межах 25–35%. Воно характеризує відношення відсоткового вмісту всіх елементів лімфоїдного ряду до відсоткового вмісту всіх елементів еритроїдного ряду. В дослідному зразку вищезгадане співвідношення становило 13,6% у заражених лящів та 15,2% — у плітки. Це значно менше, ніж у неінвазованих групах риб: у лящів даний показник склав 31,4%, а у пліток — 29,1%. Даний показник може свідчити про зниження функцій імунітету, внаслідок ураження лящів та пліток плоским гельмінтом *L. intestinalis*, через зменшення кількості клітин лімфоїдного ряду. Також, на однорідність експериментальних даних щодо кількості лейкоцитів у кров'яному руслі може вказувати той факт, що лейкоцити легко мігрують з кровоносної системи до лімфатичної та навпаки, а також локалізуються у місцях запалення.

#### ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШОГО РОЗВИТКУ

Інвазовані екземпляри ляща (*Abramis brama* Linnaeus, 1758) та плітки (*Rutilus rutilus* Linnaeus, 1758), виловлені у Дніпровському (Запорізькому) водо-



Dnipro (Zaporizhzhia) reservoir are the source of infection of definitive hosts with the parasite tapeworm *L. intestinalis*. The detected pathological changes in the tissues of the infected fish confirm the complex pathological effect of this parasite on the body of the second intermediate host of this tapeworm.

To date, due to the full-scale invasion of the Russian Federation and the destruction of the Kakhovka Hydroelectric Power Plant, monitoring studies of the parasitofauna of freshwater fish species became complicated. This ecological disaster can cause a change in the parasitocenosis of fish, so the perspective of further studies is a comprehensive study of changes in the biochemical parameters of blood and muscle tissue of fish infected with *L. intestinalis*. First of all, because changes at the biochemical level can affect the organoleptic characteristics of fish products. Therefore, there is a need for detailed studies of the pathogenesis of this invasion at different levels with the aim of both introducing scientifically-based practices into the activities of fish farms and developing measures to limit and prevent the development of parasitic diseases. These measures will primarily be aimed at the ichthyofauna of the Dnipro (Zaporizhzhia) reservoir, but will also be useful in most other reservoirs of Ukraine.

сховищі є джерелом зараження дефінітивних хазяїв паразитичним плоским червом — лігулою (*Ligula intestinalis*). Виявлені патологічні зміни у тканинах інвазованих риб підтверджують комплексний патологічний вплив даного паразита на організм другого проміжного хазяїна цього черва.

На сьогоднішній день через повномасштабне вторгнення Російської Федерації та підриг Каховської гідроелектростанції ускладнено моніторингові дослідження паразитофауни прісноводних видів риб. Дана екологічна катастрофа може спричинити зміну паразитоценозів риб, тому перспективою подальших досліджень є всебічне вивчення зміни біохімічних показників крові та м'язової тканини інвазованих риб гельмінтом лігулою (*Ligula intestinalis*), насамперед через те, що зміни на біохімічному рівні можуть позначитися на органолептичних характеристиках рибної продукції. Отже, виникає потреба в деталізованих дослідженнях патогенезу даної інвазії на різних рівнях як з метою впровадження науково обґрунтованих практик у діяльність рибних господарств, так і для розробки заходів з обмеження та попередження розвитку паразитарних захворювань. Ці заходи в першу чергу будуть спрямовані на іхтіофауну Дніпровського (Запорізького) водосховища, однак на більшості інших водосховищ України також будуть корисними.

## REFERENCES

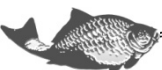
1. Vovk, N. Y., Buchatsky, L. P., & Pyrus, R. I. (2001). Ichthyopathological monitoring of internal reservoirs of Ukraine. *Problems of ichthyopathy: I All-Ukrainian conference materials*. Kyiv, 31-36.
2. Galat, V. F., & Berezovskyi, A. V. (2003). *Parasitology and invasive diseases of animals*. Kyiv: Vyshcha osvita.
3. Arslan, M. Ö., Yilma, M., & Taşçi, G. T.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Вовк Н. И., Бучацкий Л. П., Пирус Р. И. Ихтиопатологический мониторинг внутренних водоемов Украины // Проблемы ихтиопатологии : I Всеукр. конф.: тезисы докл. Киев, 2001. С. 31—36.
2. Галат В. Ф., Березовський А. В. Паразитологія та інвазійні хвороби тварин. Київ : Вища освіта, 2003. 241 с.



- (2015). Infections of *Ligula intestinalis* on Freshwater Fish in Kars Plateau of North - Eastern Anatolia, Turkey. *Turkiye Parazitoloj Dergisi*, 39, 218-221.
4. Innal, D., Erk'aka, F., & Keskin, N. (2010). The Dynamics of the *Ligula intestinalis* (Cestoda: Pseudophyllidea) in Three Cyprinid Species [*Alburnus escherichii* Steindachner, 1897; *Gobio gobio* (Linnaeus, 1758) and *Squalius cephalus* (Linnaeus, 1758)] in Camkoru Pond (Ankara-Turkey). *J. Biol. & Chem*, 38(4), 319-324.
  5. Geraudie, P., Boulange-Lecomte, C., Gerbron, M., Hinfrey, N., Brion, F., & Minier, C. (2010). Endocrine effects of the tapeworm *Ligula intestinalis* in its teleost host, the roach (*Rutilus rutilus*). *Parasitology*, 137(4), 697-704.
  6. Innal, D., Erk'aka, F., & Keskin, N. (2007). Distribution of *Ligula intestinalis* (L.) in Turkey. *Turk J Fish Aquat Sci*, 7, 19-22.
  7. Yoneva, A., Scholz, T., Młocicki, D., & Kutcha, R. (2015). Ultrastructural study of vitellogenesis of *Ligula intestinalis* (Diphyllobothriidea) reveals the presence of cytoplasmic-like cell death in cestodes. *Front Zool*, 12, 35.
  8. Bouzid, W., Stefka, J., Hypsa, V., Lek, S., Scholz, T., Lega, I L., Ben, Hassine, O. K., & Loot, G. (2008). Geography and host specificity: two forces behind the genetic structure of the freshwater fish parasite *Ligula intestinalis* (Cestoda: Diphyllobothriidae) *Int J Parasitol*, 38(12), 79.
  9. Loot, G. (2002). The differential effects of *Ligula intestinalis* L. plerocercoids on host growth in three natural populations of roach, *Rutilus rutilus* (L.). *Ecology of Freshwater fish*, 11, 168-177.
  10. Liao, X. H., & Liang, Z. X. (1987). Distribution of ligulid tapeworms in China. *J Parasitol*, 73(1), 36-48.
  11. Gabagamb, N., & Skorping, A. (2018). Spatial and temporal distribution of
  3. Arslan M. Ö., Yilma Z. M., Taşçi G. T. Infections of *Ligula intestinalis* on Freshwater Fish in Kars Plateau of North - Eastern Anatolia, Turkey// *Turkiye Parazitoloj Dergisi*. 2015. № 39. P. 218—221.
  4. Innal D., Erk'aka F., Keskin N. The Dynamics of the *Ligula intestinalis* (Cestoda: Pseudophyllidea) in Three Cyprinid Species [*Alburnus escherichii* Steindachner, 1897; *Gobio gobio* (Linnaeus, 1758) and *Squalius cephalus* (Linnaeus, 1758)] in Camkoru Pond (Ankara-Turkey) Hacettepe // *J. Biol. & Chem*. 2010. № 38(4). P. 319—324.
  5. Endocrine effects of the tapeworm *Ligula intestinalis* in its teleost host, the roach (*Rutilus rutilus*) / Geraudie P. et al. // *Parasitology*. 2010. № 137(4). P. 697—704.
  6. Innal D., Erk'aka F., Keskin N. Distribution of *Ligula intestinalis* (L.) in Turkey // *Turk J Fish Aquat Sci*. 2007. № 7. P. 19—22.
  7. Ultrastructural study of vitellogenesis of *Ligula intestinalis* (Diphyllobothriidea) reveals the presence of cytoplasmic-like cell death in cestodes / Yoneva A. et al. // *Front Zool*. 2015. № 12. P. 35.
  8. Geography and host specificity: two forces behind the genetic structure of the freshwater fish parasite *Ligula intestinalis* (Cestoda: Diphyllobothriidae) / Bouzid W. et al. // *Int J Parasitol*. 2008. № 38(12). P. 79.
  9. Loot G. The differential effects of *Ligula intestinalis* L. plerocercoids on host growth in three natural populations of roach, *Rutilus rutilus* (L.) // *Ecology of Freshwater fish*. 2002. № 11. P. 168—177.
  10. Liao X. H., Liang Z. X. Distribution of ligulid tapeworms in China // *J Parasitol*. 1987. № 73(1). P. 36—48.
  11. Gabagamb N., Skorping A. Spatial and temporal distribution of *Ligula intestinalis* (Cestoda: Diphyllobothriidea) in usipa



- Ligula intestinalis* (Cestoda: Diphylobothriidea) in usipa (*Engraulicypris sardella*) (Pisces: Cyprinidae) in Lake Nyasa. *J Helminthol*, 92(4), 410-416.
12. Buchatsky, L. P., Matvyenko, N. N., & Vashchenko, A. V. (2015). Ichthyopathological situation in reservoirs of the Dnieper Cascade. *Știința agricolă*, 1, 125-128.
  13. Woo, P. T. K. (2006). *Fish Diseases and Disorders. Volume 1: Protozoan and Metazoan Infections Second Edition*. USA: CABI Cambridge.
  14. Noga, E. J. (2010). *Fish disease–diagnosis and treatment*. 2nd edn. Ames, Iowa: USA Wiley-Blackwell.
  15. Kayis, S., Duzgun, A., & Er, A. Bacterial and parasitic pathogens isolated from some wild cyprinid fishes. *El Cezeri Fen ve Mühendislik Dergisi*, 5, 763-772.
  16. Yesipova, N. B. (2014). Parasitofauna of fishes of certain small waters of Dnipropetrovsk region. *Modern problems of theoretical and practical ichthyology: VII International ichthyological scientific and practical conference*. Berdyansk, 90-95.
  - (*Engraulicypris sardella*) (Pisces: Cyprinidae) in Lake Nyasa // *J Helminthol*. 2018. № 92(4). P. 410—416.
  12. Бучацкий Л. П., Матвиенко Н. Н., Ващенко А. В. Ихтиопатологическая ситуация на водохранилищах Днепровского каскада // *Știința agricolă*. 2015. Вып. 1. С. 125—128.
  13. Woo P. T. K. *Fish Diseases and Disorders. Vol. 1 : Protozoan and Metazoan Infections Second Edition*. USA : CABI Cambridge, 2006.
  14. Noga E. J. *Fish disease–diagnosis and treatment*. 2nd ed. Ames, Iowa. USA : Wiley-Blackwell, 2010. P. 519.
  15. Kayis S., Duzgun A., Er A. Bacterial and parasitic pathogens isolated from some wild cyprinid fishes // *El Cezeri Fen ve Mühendislik Dergisi*. 2018. № 5. P. 763—772.
  16. Єсіпова Н. Б. Паразитофауна риб окремих малих водойм Дніпропетровської області // *Сучасні проблеми теоретичної і практичної іхтіології : VII Міжнар. іхтіологічна наук.-практ. конф. : тези доп. Бердянськ, 2014*. С. 90—95.

