

Научни трудове на ПУ, Animalia Trav. Sci. Univ. Plovdiv, Animalia	Год./An. 2002	Том/Vol. 38	Кн./Fasc. 6	с./pp. 121-128
--	------------------	----------------	----------------	-------------------

## ВЪТРЕВИДОВА ХАРАКТЕРИСТИКА НА НЯКОИ ЕРИТРОЦИТНИ ПАРАМЕТРИ У *RANA RIDIBUNDA* (PALL.) ОТ ДВА БИОТОПА В СЕЗОНЕН АСПЕКТ (ПРОЛЕТ – ЕСЕН)

*Живко М. Желев, Здравко Ат. Аджалийски, Лилия Ат. Койчева*  
*Пловдивски Университет “Паусий Хилендарски”,*  
*Биологичен факултет, Катедра “Анатомия и физиология на човека”,*  
*Ул. “Цар Асен“ № 24, 4000 Пловдив*

**Abstract:** It was carried out intravariational characteristics of erythrocyte count, some of their metric cytoparameters in *Rana ridibunda* (Pall.) deriving from two biotopes during springtime and autumn.

The experimental variant is analyzed in industrial pollution conditions. There were detected deviations concerning form and size of studied cells.

**Key words:** erythrocyte intravariational characteristics, biotopes, *Rana ridibunda* (Pall.), spring-autumn, cell diameters, nuclear diameters

### ВЪВЕДЕНИЕ

Броят на еритроцитите, тяхната форма и размери варират в различните групи гръбначни животни, и представляват интерес с оглед установяване на нормата и нейните фини варианти, а от тук и възможностите за характеристика на функционалното състояние на еритрона (GILLIVER, 1875; WINTROBE, 1933; КОРЖУЕВ, 1949, 1960; ГИТЕЛЪЗОН И ТЕРСКОВ, 1960; GLOMSKI ET AL., 1997).

В литературата има данни относно хематологичните показатели на амфибиите, но те се отнасят за тесен кръг представители и ограничен брой параметри. Малко са изследванията търсеци фините отклонения от нормата и особено такива в сезонен аспект, което мотивира целта на настоящата работа: да се направи интравариационно проучване на броя на еритроцитите и някои метрични техни цитопараметри у *Rana ridibunda* (Pall.) от два биотопа, през пролетния и есенния сезон.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Обект на изследване бяха 120 индивида *Rana ridibunda* (Pall.) от двата пола с размери от 5 до 12 см.

От тях 60 индивида са уловени и обработени през периода април - май 2001г., а останалите 60 - през септември - октомври 2001г.

Избрахме пролетния и есенен сезон с оглед раздалечаване във времето на изследването, с цел търсене на фини отклонения в проследяваните параметри. Пролетното изследване беше ориентирано, поради което за всеки индивид са обработени по 100 клетки. Установените различия наложиха прецизирането на изследването през есента с оглед по-голямата достоверност на получените резултати. Бяха обработени 3000 клетки, с което се обясняват завишените стойности на t-критерия в таблица 4.

Животните са разделени на две групи:

Група 1. По 30 индивида, уловени през пролетта и есента във водоеми край град Харманли, на средна надморска височина 100 м.

Биотопът е относително чист, поради липса на данни за наличие на замърсители (Екобюлетин на Община Харманли, 2001). Животните от група 1 са контролни.

Група 2. По 30 индивида, уловени през пролетта и есента в язовир "Розов кладенец", край град Гълъбово, на надморска височина 80 - 100 м.

Районът е със значително индустриално замърсяване, причинено основно от ТЕЦ "Марица - Изток 1" и Брикетна фабрика (Екобюлетин на Община Гълъбово, 2001).

По данни от Териториално - устройствения план на района на Източно - Маришкия възвишен комплекс, 1992; Минно направление към мини "Марица - Изток АД", гр. Раднево, основните годишни замърсители са серните (96%), азотните (2,5%) оксиди и въглеродния оксид (1, 5%).

Изследванията бяха провеждани непосредствено след улавянето на животните и темперирването им за 24 часа при 2°C и "останали равни условия".

Беше използвана кръв от сърцето, като броят на еритроцитите се определяше по Камерния метод на Vierordt, чрез камерата на Бюркер. Размерите на еритроцитите и ядрата им се определяха върху кръвни натривки, оцветени по Романовски-Гимза.

Върху 100 клетки от всеки препарат бях измерени четири параметъра: голям клетъчен диаметър (D-кл.), малък клетъчен периметър (d-кл.), голям ядрен параметър (D-ядро), малък ядрен диаметър (d-ядро).

Получените резултати бях обработени вариационно статистически по метода на Student-Fisher при  $t \geq 3,0$  със степен на достоверност  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Сезонното проучване върху числеността на зрелите еритроцити при животните от двата биотопа, показва достоверно по-високи стойности при група 2

(табл. 1). Завишеният брой на еритроцитите в тази група може да се приеме като приспособителна реакция на вида към значителната степен на замърсяване в района.

Сезонният преход от пролет към есен предизвиква по-забележими промени в количеството на еритроцитите в контролната група (табл. 1, 2).

Таблица 1

Резултати от вариационно-статистическа обработка на данните от сравнението за еритроцитния брой между групи 1 и 2

Table 1

Results from variational-statistical data processing of erythrocyte count comparison between group 1 and 2

Сезон - пролет 2001									
Брой еритроцити (хил./ $\mu$ )	Група 1				Група 2				Стойност на коэффициента t
	$\bar{x}$	s	m	Vs	$\bar{x}$	s	M	Vs	
	353,3	141,0	25,7	39,91	515,6	162,5	29,6	31,52	4,15 $P_{0,001}$
Сезон – есен 2001									
	429,0	115,2	21,0	26,85	561,3	178,0	32,5	31,71	3,42 $P_{0,001}$

Таблица 2

Резултати от вариационно-статистическа обработка на данните от сравнението за еритроцитния брой в групи 1 и 2

Table 2

Results from variational-statistical data processing of erythrocyte count comparison between group 1 and 2

Група 1					
Брой еритроцити (хил./ $\mu$ )	Сезон – пролет 2001		Сезон – есен 2001		Стойност на коэффициента- t
	$\bar{x}$	m	$\bar{x}$	m	
	353,3	25,7	429,0	21,0	2,28 $P_{0,02}$
Група 2					
	515,6	29,6	561,3	32,5	1,04 $P_{0,10}$

Отчетените статистически недостоверни изменения в броя на еритроцитите при група 2, паралелно с константно по-високите стойности на изследвания белег, могат да се коментират като адаптивна реакция на вида *Rana ridibunda* (Pall.), изразена в стимулирана еритропоеза рано напролет, която компенсира относителната

хипоксемия, породена от недостига на кислород в атмосферния въздух. През есента се достига стойност на белега - 561,3/ml (табл. 1, 2).

Таблица 3

Резултати от междугруповата вариационно-статистическа обработка на данните за метричните параметри през пролетта

Table 3

Results of intraspecies variational-statistical data processing of metric parameters in spring

Сезон – пролет 2001									
Метрични параметри (мкм)	Група 1				Група 2				Стойност на коефициента t
	$\bar{x}$	s	m	Vs	$\bar{x}$	S	m	Vs	
D-кл.	24,06	1,99	0,15	8,27	23,73	2,23	0,15	9,40	1,56 P <sub>0,10</sub>
d-кл.	14,70	1,36	0,14	9,25	14,14	1,41	0,14	9,97	2,83 P <sub>0,10</sub>
D-ядро	10,08	1,12	0,11	11,11	9,84	1,01	0,13	10,26	1,41 P <sub>0,10</sub>
d-ядро	6,12	1,17	0,11	19,11	5,86	0,89	0,09	15,18	1,83 P <sub>0,05</sub>

Таблица 4

Резултати от междугруповата вариационно-статистическа обработка на данните за метричните параметри през есента

Table 4

Results of intraspecies variational-statistical data processing of metric parameters in autumn

Сезон – есен 2001									
Метрични параметри (мкм)	Група 1				Група 2				Стойност на коефициента t
	$\bar{x}$	s	m	Vs	$\bar{x}$	S	m	Vs	
D-кл.	23,06	1,31	0,02	5,68	20,81	1,73	0,03	8,31	62,5 P <sub>0,001</sub>
d-кл.	13,03	0,81	0,01	6,22	13,70	1,57	0,03	11,46	21,20 P <sub>0,001</sub>
D-ядро	7,20	0,73	0,01	10,14	8,02	1,34	0,02	16,71	36,61 P <sub>0,001</sub>
d-ядро	5,53	0,60	0,01	10,85	5,35	0,70	0,01	13,08	12,77 P <sub>0,001</sub>

Необходимо е да се отбележи, че отчетените различия в група 1 са математически недостоверни, докато резултатите при втора група дават основание да предположим сравнително ниска вариабилност на белега, по отношение на адаптивната му пластичност (табл. 2). Следва да подчертаем, че отчетените от нас резултат и за група 1, са по - близки до посочените от Коржув (1960), за безопасати амфибии – 485,0/ml еритроцити, без да са уточнени изследваните видове.

Промяната на метричните показатели, дава информация за фините варианти във формата и размерите на зрелите еритроцитни клетки и техните ядра.

Пролетните измервания на метричните параметри не отчитат съществени различия между двете експериментални групи животни (табл. 3).

Таблица 5

Резултати от вътрегруповата вариационно-статистическа обработка на данните за метричните показатели

Table 5

Results of intraspecies variational-statistical data processing of metric indices

Метрични параметри (мкм)	Група	Сезон – пролет 2001		Сезон – есен 2001		Стойност на коефициента t
		$\bar{x}$	m	$\bar{x}$	m	
D-кл.	1	24,06	0,15	23,06	0,02	6,61 P <sub>0,001</sub>
	2	23,73	0,15	20,81	0,03	19,08 P <sub>0,001</sub>
d-кл.	1	14,70	0,14	13,03	0,01	11,89 P <sub>0,001</sub>
	2	14,14	0,14	13,70	0,03	3,07 P <sub>0,001</sub>
D-ядро	1	10,08	0,11	7,20	0,01	26,06 P <sub>0,001</sub>
	2	9,84	0,13	8,02	0,02	13,84 P <sub>0,001</sub>
d-ядро	1	6,12	0,11	5,53	0,01	5,34 P <sub>0,001</sub>
	2	5,86	0,09	5,35	0,01	5,63 P <sub>0,001</sub>

Присъствието на индивидите от група 2, в условия на завишено индустриално замърсяване, предизвиква значителна редукция в морфологичните параметри на изследваните еритроцитни клетки, засягаща в еднаква степен клетъчните и ядрени показатели (табл. 4, 5).

В резултат на посочените изменения, се достига до понижаване на размерите на еритроцитната клетка и ядрото, съчетано със запазване на елипсовидната форма.

Необходимо е да се отбележи, че отчетените различия при група 2 в значителна степен се наблюдават и при представителите на група 1, където математическата достоверност, при намаляващите параметри на изследваните клетки, в посока пролет → есен, варират в границите на  $t = 6,61 - 26,1$  (табл. 5).

Получените резултати, позволяват да допуснем, че замърсителите оказват стимулиращ ефект върху насоката на изменение на коментираните белези.

Сравнението между двете наблюдавани групи, показва, по - голямата чувствителност на броят на еритроцитите, докато метричните белези реагират еднопосочно и при двете изследвани групи, по - силно изразено при група 2.

Ниският коефициент на вариране при отделните метрични показатели в двете групи животни, както през сезон пролет, така и през сезон есен, ни дават основание да говорим за видово специфична обусловеност на размерите на еритроцитните клетки на *Rana ridibunda* (Pall.) и невъзможността им да се отклоняват в широки граници от биологичната норма.

### ИЗВОДИ

1. При животните от биотопа с промишлено замърсяване - група 2 и през двата сезона се установява статистически достоверно повишаване на еритропоезата, в сравнение с животните от относително чистия биотоп - група 1.

2. Метричните клетъчни и ядрени параметри, не показват достоверни различия между индивидите от двете групи през пролетта.

Резултатите от есенният анализ, сочат по - силно издребняване на клетките и техните ядра при животните от втора група.

3. През есента във всяка от изследваните групи се отчита статистически достоверно намаляване на четирите проследявани параметъра.

4. Ниските стойности на коефициента на вариране ( $V_s$ ) при отделните метрични показатели и през двата сезона на изследването, предполагат съществуването на видово обусловена генетична норма и невъзможността за отклонение в широки граници от нея.

## ЛИТЕРАТУРА

- ГИТЕЛЬЗОН И., И. ТЕРСКОВ, 1960. Неоднородность эритроцитов и ее значение для исследования качественного состава красной крови. Вопросы биофизики, биохимии и патологии эритроцитов. Красноарск : 55 – 61.
- Екобюлетин на община Гълъбово, 2001. РИОСВ – Стара Загора: 30 с.
- Екобюлетин на община Харманли, 2001. РИОСВ – Хасково: 24 с.
- КОРЖУЕВ П., 1949. Эволюция дыхательной функции крови. Издательство АК СССР, Москва, 183 с.
- КОРЖУЕВ П., 1960. Биологическое значение эритроцитов крови позвоночных животных. Вопросы биофизики, биохимии и патологии эритроцитов. Красноарск : 5 – 11
- GILLIVER G., 1875. Observations on the size and shapes of the Red corpuscles of the blood of Vertebrates, with drawings of them to a uniform scale and extended and revised tables of measurements. *Pros Sciesnt. Meet. of the Zool. of London*, 47 : 474 : 495
- GLOMSKI C., I. TAMBARLIU, R. HARD, M. CHAINANI, 1997. The phylogenetic odyssey of the erythrocyte. – *Histol. Histopatol.*, 1 & 147 – 170
- WINTHROBE, M., 1933. Variations in the size and hemoglobin content of erythrocyte in the blood of varos vertebrates. *Folis Hemotologics*, 51 : 120 : 227

**SOME ERYTHROCYTES' PARAMETERS OF INTRASPECIES CHARACTERISTICS IN *RANA RIDIBUNDA* (PALL.) DERIVED FROM TWO BIOTOPES IN SEASONAL ASPECT (SPRING – AUTUMN)**

*Zhivko M. Zhelev, Zdravko At. Adzhalijski, Lilia At. Koycheva*  
*University of Plovdiv "Paissi Hilendarski"*  
*Faculty of Biology, Department of "Human Anatomy and Physiology"*  
*24 Zar Caloyan Str., 4000 Plovdiv, Bulgaria*

(Summary)

By the following study is carried out an intravariational research of erythrocyte count and some of their metric parameters in *Rana ridibunda* (Pall.) derived from two biotopes during springtime and autumn.

The first biotope is industrially polluted – it is in the region of Mariza-Iztok-1 Power Station.

The second one is ecologically clean (in the town of Harmanly surroundings).

It was established a statistically reliable elevation of erythrocyte count during the two seasons in some animals around the power station.

Concerning the metric parameters, during spring the comparison did not prove statistically reliable differences, while in autumn the cell and nuclear parameters diminished in both groups, as the animals from the experimental variant the reduction is better expressed.