

Katedra Mikrobiologii i Immunologii, Wydział Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Szczeciński

ELŻBIETA SOBCZAK, MICHAŁ STOSIK, WIESŁAW DEPTUŁA,
BEATA TOKARZ-DEPTUŁA, DOROTA MARKIEWICZ

*Próba oceny wód powierzchniowych Odry Wschodniej i jeziora
Dąbie na podstawie własnego modelu eksperymentalnego.*

*II. Wartości wybranych parametrów odporności nieswoistej
oraz wskaźników hematologicznych u leszczy*

Attempt to evaluate surface waters of the Eastern River Oder and lake Dąbie
on the basis of our own experimental model.

II. Parameters of nonspecific immunity and hematological indices in the bream

Występujące w środowisku wodnym mikroorganizmy oraz substancje chemiczne nie pozostają obojętne dla człowieka, zwierząt wyższych, a także innych organizmów zwierzęcych znajdujących się w wodzie. Oddziaływanie drobnoustrojów rozwijających się w środowisku wód zanieczyszczonych na organizm ryb (1, 6, 12, 13, 16, 18, 20, 23, 32, 48) oraz bezkręgowców wodnych (4, 7, 19, 22, 25, 30) jest wielokierunkowe. Wyraża się ono obecnością zmian zwyrodnieniowych i martwicowych, między innymi w przewodzie pokarmowym, śledzionie, nerce, wątrobie i skrzelach (6, 16, 18, 48) oraz zmian w obrazie czerwono- i białokrwinkowym (18, 37, 46, 47). Równie rozległe i szkodliwe, jak wykazano w badaniach eksperymentalnych (8, 12, 13, 26, 27, 28, 35, 43, 44, 45), jest oddziaływanie substancji chemicznych na organizm ryb, zwłaszcza na narządy krwiotwórcze i limfoidalne. Należy jednak dodać, że wpływ tych substancji na układ odpornościowy ryb koreluje ściśle z ich stężeniem, a także z okresem i czasem oddziaływania (2, 7, 8, 12, 13). Dotychczas wykazano w warunkach sztucznie wytworzonych między innymi w odniesieniu do substancji fosforoorganicznych (8, 10, 11, 12, 14), pyretroidów (23, 48) oraz metali ciężkich (3, 12, 13, 17, 31), że postępująca degradacja środowiska wodnego sprzyja rozwojowi wielu chorób u ryb, a także innych zwierząt (5, 7, 24, 25, 30), co prawdopodobnie jest ściśle związane ze zmianami rozwijającymi się w układzie odpornościowym.

Celem prezentowanych badań była ocena zachowania się wybranych wskaźników odporności nieswoistej i parametrów hematologicznych u leszczy, zasiedlających zanieczyszczone mikrobiologicznie i chemicznie środowisko Odry Wschodniej i jeziora Dąbie (34). Badania miały wykazać, w jakim stopniu zmiany obrazu immunologicznego i hematologicznego ryb mogą być wskaźnikiem degradacji środowiska wodnego.

Tab. 1. Lokalizacja punktów poboru prób ryb
Sites of collecting of fishes

Punkty poboru prób	Lokalizacja szczegółowa punktów poboru prób
A	jezioro Dąbie, na wysokości Czarnej Łąki, 1 km od brzegu
B	jezioro Dąbie, 0,5 km od ujścia Kanału Barkowego
C	jezioro Dąbie, 1 km od ujścia rzeki Święta
D	Odra Wschodnia, na wysokości Żabnicy, 50 m od brzegu
E	Odra Wschodnia, na wysokości Żabnicy, 50 m od brzegu

MATERIAŁ I METODY

Badania objęły 123 leszcze (grupy B, C, D, E) odłowione z analogicznych miejsc jeziora Dąbie i Odry Wschodniej, z których pochodziły próby wody przeznaczone do badań mikrobiologicznych i chemicznych (tab. 1) oraz 66 leszczy pochodzących ze zbiornika „Bronków” (grupa F – kontrolna). Wyboru zbiornika „Bronków”, jako źródła ryb mających tworzyć „wzorec immunologiczny i hematologiczny” leszczy, dokonano na podstawie wieloletniej, bardzo korzystnej dla tego akwenu oceny warunków środowiskowo-hodowlanych, opartej na analizie mikrobiologicznej i chemicznej wody oraz ocenie stanu zdrowia ryb. U badanych ryb (grupy B-E) nie stwierdzono chorób infekcyjnych i inwazyjnych, co pozwalało uznać je za klinicznie zdrowe. Ryby z punktu A nie zostały wykorzystane do badań, ponieważ dostarczono je do laboratorium w stanie śniętym.

1. Badania immunologiczne obejmowały oznaczenie: a) indeksu pochłaniania wrzcowego szczepu bakterii przez granulocyty obojętnochnonne (komórki PMN), zmodyfikowaną metodą Brzucho-wskiej (cyt. 9, 36), b) procentu granulocytów obojętnochnonnych wykazujących zdolność pochłaniania bakterii, według metody podanej przez Deptułę (9), c) aktywności metabolicznej granulocytów obojętnochnonnych, wyrażonej indeksem redukcji błękitu nitrotetrazoliowego (NBT) i ilością formazonu w 1 ml krwi, wg metody przedstawionej w pracy Ramani Poland (29) oraz Sychłowy i Lukas (41), zmodyfikowanej przez Siwickiego i wsp. (33), d) aktywności mieloperoksydazy (MPO) granulocytów obojętnochnonnych, metodą Grahama (49) w modyfikacji Stosika (36).

2. Badania hematologiczne obejmowały oznaczenie bezwzględnej liczby leukocytów oraz jakościowego obrazu białokrwinkowego według metod ogólnie przyjętych w diagnostyce laboratoryjnej ryb (cyt. 37).

Wyniki badań immunologicznych (tab. 3) i hematologicznych (tab. 2) przedstawiono w postaci wartości średnich i odchylenia standardowego i poddano analizie statystycznej testem t-Studenta przy $P = 0,05$.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Badania hematologiczne (tab. 2) leszczy grup B-E w stosunku do grupy kontrolnej (F) wykazały spadek liczby leukocytów. U ryb grupy B, D i E zmianie uległy także proporcje występujące w obrazie jakościowym białych ciałek krwi, wyraża-

Tab 2. Wyniki badań hematologicznych u leszczy
Results of hematological studies in the bream

Rodzaj oznaczeń		Punkty poboru prób					
		A	B	C	D	E	F (grupa kontrolna)
Liczba badanych ryb		ryb nie badano	37	43	21	22	66
Liczba leukocytów w 1mm ³ krwi (w tys.)			37,18** ±3,81	40,92** ±4,82	43,94** ±4,11	41,36** ±3,92	76,21 ±8,04
Obraz jakościowy białych ciałek krwi (1)	limfocyty		0,60** ±0,05	0,84 ±0,06	0,65** ±0,06	0,72** ±0,06	0,80 ±0,05
	granulocyty obojętnochłonne		0,24* ±0,03	0,10 ±0,02	0,24* ±0,03	0,19* ±0,03	0,11 ±0,02
	granulocyty zasadochłonne		0,04 ±0,009	0,03 ±0,002	0,03 ±0,003	0,01** ±0,0006	0,04 ±0,0001
	granulocyty kwasochłonne		0,06* ±0,02	0,01 ±0,002	0,06* ±0,02	0,06* ±0,02	0,01 ±0,0009
	monocyty		0,06* ±0,03	0,02** ±0,01	0,02** ±0,009	0,02** ±0,0003	0,04 ±0,01

Objaśnienia: statystycznie istotny wzrost (*), spadek (**) w stosunku do ryb grupy kontrolnej

jące się wzrostem procentu granulocytów obojętnochłonnych i granulocytów kwasochłonnych oraz zmniejszonym odsetkiem limfocytów. U leszczy grupy C obraz krwi, w porównaniu z grupą kontrolną, poza odsetkiem monocytów, których liczba obniżyła się o 50%, pozostawał bez zmian. Opisany u leszczy obraz zmian hematologicznych jest zgodny z wynikami badań innych autorów (18, 46, 47). Stwierdzoną u badanych ryb limfopenię, eozynofilię oraz wyraźnie zaznaczoną granulocytozę obojętnochłonną z jednoczesną leukopenią indukują najprawdopodobniej zanieczyszczenia występujące w wodzie Odry Wschodniej i jeziora Dąbie (34), wykazane w jednocześnie prowadzonych badaniach mikrobiologicznych i chemicznych wody. Według W ł a s o w i wsp. (47) limfopenia połączona z granulocytozą uchodzi za typowy obraz zmian hematologicznych rozwijających się u ryb przebywających w środowisku sztucznie zanieczyszczonym substancjami toksycznymi (47). Tego rodzaju zmiany opisano między innymi u karpia poddanych działaniu letalnych stężeń NH_4NO_3 i NH_4Cl (47) oraz u węgorzy europejskich pochodzących z zanieczyszczonych wód Polski północno-zachodniej (18). Według W ł a s o w i D ą b r o w s k i e j (45) intoksykacja u ryb przyspiesza proces dojrzewania granulocytów obojętnochłonnych i ich przemieszczania się do krwi, co uzasadniłoby występującą w badaniach własnych granulocytozę.

Rola granulocytów kwasochłonnych w organizmie ryb nie jest jeszcze ostatecznie poznana. U niektórych gatunków ryb biorą one udział w reakcjach anafila-

ktycznych (15), a u karpia, jak wykazał T e m m i n k i B a y n e (42), w procesie fagocytozy. Wyrażna jest również reakcja tych komórek na różnego rodzaju zanieczyszczenia, oddziałujące na ryby ostro lub subtoksycznie. Ilość ich w takich przypadkach w mniejszym lub większym stopniu wzrasta. Stwierdzono to między innymi u karpia (46, 47) oraz u fundulus (16). Intoksykacji subletalnej ryb towarzyszy brak zmian w bezwzględnej liczbie leukocytów przeciwnie niż w przebiegu intoksykacji ostrej, przy wyraźnej granulocytozie obojętnochłonnej i obniżeniu liczby małych limfocytów (47). Również, jak wskazują na to wyniki badań u ryb grupy C, nie zawsze procesowi intoksykacji towarzyszą zmiany hematologiczne rozwijające się w podobnej skali i porównywalnym zakresie (tab. 3), przy równocześnie wyraźnie zaznaczonym wzroście aktywności układu odpornościowego występującym u wszystkich badanych leszczy (grupa B-E) (tab. 3).

Badania immunologiczne (tab. 3) u ryb grupy B-E, w porównaniu z wynikami uzyskanymi u leszczy grupy F, wykazały statystycznie istotny wzrost wartości oznaczanych parametrów odporności nieswoistej. Prawdopodobnie łączy się to z oddziaływaniem na organizm ryb zanieczyszczeń mikrobiologicznych i chemicznych wody Odry Wschodniej i jeziora Dąbie (34). Znalazło to odbicie, poza granulocytozą, również we wzroście aktywności metabolicznej i zdolności pochłaniania komórek PMN. Wyraźnie wyższy niż u ryb grupy kontrolnej był wskaźnik aktywności MPO granulocytów obojętnochłonnych, która u tych zwierząt, podobnie jak u ludzi i zwierząt wyższych, zaliczana jest do czynników nieswoistej odporności humoralnej (36). Uwagę zwraca jednak to, że wykazane u leszczy wartości parametrów immunologicznych nie są całkowicie zbieżne z wynikami uzyskanymi w badaniach innych autorów wykonanych w warunkach *in vitro* (3, 12, 31).

Oddziaływanie zanieczyszczeń chemicznych na układ odpornościowy ryb jest, jak wynika z badań (12, 31), bardzo zróżnicowane. Wykazano między innymi, że Trichlorfon powoduje obniżenie aktywności komórek i czynników humoralnych odporności nieswoistej ryb (12). Natomiast zgoła odmienny mechanizm wpływu na system odpornościowy u ryb wykazują metale ciężkie. Stwierdzono (31), że jony Zn^{2+} w wyższych stężeniach działają mitogennie na limfocyty, odwrotnie niż koncentracje niższe, które hamują całkowicie proliferację tych komórek. Należy jednak podkreślić, że nie jest to ten sam mechanizm aktywowania proliferacji, jaki następuje po zastosowaniu Con A czy PHA i nie wpływa on na produkcję interleukiny-2 (31). B a k e r i K n i t t e l (3), R o u g i e r i w s p. (31), a także inni badacze (cyt. 31) wykazali, że jony Cu^{2+} powodują wzrost wrażliwości ryb na choroby infekcyjne, niezależnie od tego, czy były one stosowane przed czy po eksperymentalnej infekcji ryb. Dodać należy także, że wartości parametrów immunologicznych i hematologicznych badanych leszczy wykazują dużą zbieżność z obrazem hematologicznym i immunologicznym występującym między innymi u karpia (37), troci,

Tab. 3. Wyniki badań immunologicznych u leszczy
Results of immunological studies in the breams

Rodzaj oznaczeń	Punkty poboru prób					
	A	B	C	D	E	F (grupa kontrolna)
Liczba badanych ryb		37	43	21	22	66
Indeks pochłaniania		2,27* ±0,24	2,13* ±0,52	2,72* ±0,37	2,34* ±0,46	1,12 ±0,27
Procent komórek pochłaniających	ryb nie badano	59,96* ±10,27	72,57* ±16,84	68,36* ±11,36	72,31* ±14,42	18,24 ±5,24
Indeks NBT		1,55* ±0,32	1,22* ±0,31	1,55* ±0,24	1,64* ±0,37	0,46 ±0,04
Ilość formazanu w 1 ml krwi (w mg)		14,36* ±2,45	9,99* ±1,98	17,50* ±3,12	21,46* ±5,16	7,03 ±1,14
Aktywność MPO		1,12* ±1,10	0,94* ±0,17	1,23* ±0,24	1,47* ±0,32	0,76 ±0,18

Objaśnienie: * statystycznie istotny wzrost w stosunku do ryb grupy kontrolnej

dorszy i stroni (39, 40) dotkniętych naturalną infekcją bakteryjną. Przyjąć można zatem, że przyczyną zmian obserwowanych w obrazie krwi u leszczy są zanieczyszczenia bakteriologiczne i chemiczne wody Odry Wschodniej i jeziora Dąbie.

Zasadniczą rolę w oddziaływaniu na organizm leszczy odgrywają, jak się wydaje, drobnoustroje. Ryby pochodzące z zanieczyszczonych wód estuariowych narażone są na ciągłe oddziaływanie bakterii, zwłaszcza psychrofilnych (34). Drobnoustroje te wprawdzie nie zawsze są patogenne dla leszczy, jednak nie pozostają wobec nich obojętne, tym bardziej jeśli jest to proces długotrwały. Prawdopodobnie w takiej sytuacji stymulują one mechanizmy odporności nieswoistej – pierwszej i podstawowej bariery obronnej u ryb, co potwierdza wzrost wartości wskaźników odzwierciedlających aktywność metaboliczną i zdolność pochłaniania granulocytów obojętnochłonnych, w stosunku do grupy kontrolnej (tab. 3).

WNIOSKI

1. Zanieczyszczenia mikrobiologiczne i chemiczne badanych wód wyraźnie stymulują aktywność układu odpornościowego leszczy oraz powodują istotne zmiany jakościowe i ilościowe w obrazie białokrwinkowym.

2. Wyniki badań krwi leszczy wskazują na możliwość i celowość ich wykorzystywania do oceny degradacji środowiska wodnego. Zastosowane w badaniach własnych biomarkery immunologiczno-hematologiczne ryb zmieniają się znaczą-

co nawet w środowisku wodnym wykazującym, według obowiązujących norm, mały stopień zanieczyszczenia mikrobiologiczno-chemicznego.

PIŚMIENNICTWO

1. Angelidis P., Baudin-Lauercin F., Youineu P.: Stress in rainbow trout *Salmo gairdneri*, effects upon phagocytes chemiluminescence, circulating leukocytes and susceptibility to *Aeromonas salmonicida*. J. Fish Biol. **31**, 113, 1988.
2. Antychowicz J., Siwicki A., Studnicka M.: Wpływ niektórych związków chemicznych na układ odpornościowy ryb. Komunikaty Rybackie **5**, 1, 1992.
3. Baker R. J., Knittel M. D.: Susceptibility of chinook salmon and rainbow trout *Salmo gairdneri* to infection with *Vibrio anguillarum* following sublethal copper exposure. J. Fish Dis. **6**, 267, 1983.
4. Bang F. D.: Reaction to injury in the oyster (*Crassostrea virginica*). Biol. Bull. **121**, 57, 1961.
5. Cheng T. C.: *In vivo* effects of heavy metals on cellular defence mechanisms of *Crassostrea virginica*: total and differential cell counts. J. Inter. Pathol. **51**, 207, 1988.
6. Colt J., Tchobanoglous G.: Chronic exposure of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, to ammonia: effects on growth and survival. Aquaculture **15**, 353, 1978.
7. Comps M., Cochenne N.: A herpes-like virus from the European oyster *Ostrea edulis* L. J. Inter Pathol. **62**, 201, 1993.
8. Cossarini-Dunier M., Demael A., Siwicki A.: *In vivo* effect of an organophosphorus insecticide trichlorphon on immune response of carp (*Cyprinus carpio*). I. Effect of contamination on antibody production in relation with residue levels in organs. Ecotoxicol. Environ. Safety **19**, 93, 1990.
9. Deptuła W.: Aktywność fagocytna granulocytów obojętnochłonnych (komórek PMN) krwi obwodowej bydła zakażonego wirusem IBR/IPV (*Bovid herpesvirus 1*). Pol. Arch. Wet. **31**, 153, 1991.
10. Dominiczak T., Dubrawski R.: Wstępne badania nad zastosowaniem skorupiaków bałtyckich do biologicznej analizy testowej insektycydu DDT. X. Ekosystemy morskie. Sozologia morska 1973, s. 101.
11. Dubrawski R.: Zawartość DDT w tkankach i narządach foki obrączkowej (*Pusa hispida Gmelin*). V Ekosystemy morskie. Sozologia morska. 1992, s. 105.
12. Dunier M., Siwicki A. K.: Effects of environmental contaminants and chemotherapeutics on fish defense mechanisms. [W:] Fish diseases diagnosis and preventions methods. FAO-Project GCP/INT/526/JPN. Red. Siwicki A.K., Anderson D.P., Waluga J., Wyd. IRŚ, Olsztyn 1993, s. 21.
13. Dunier M., Siwicki A. K.: Study of the effect of pollutants on fish defence mechanisms. I. *In vitro* influence of heavy metals on the spleen and kidney lymphocytes and macrophages activity in carp (*Cyprinus carpio*). [W:] Fish diseases diagnosis and preventions methods. FAO-Project GCP/INT/526/JPN. Red. Siwicki A.K., Anderson D.P., Waluga J., Wyd. IRŚ, Olsztyn 1993, s. 69.
14. Dunier M., Siwicki A. K.: Effects of pesticides and other organic pollution in the aquatic environment on immunity of fish: a review. Fish Shellfish Immunol. **3**, 423, 1993.
15. Ellis A. E.: Histamine, mast cells and hypersensitivity responses in fish. Dev. Comp. Immunol. **2**, 147, 1982.
16. Gardner G. R., Yevich P. P.: Histological and hematological responses of an estuarine teleost to cadmium. Fish. Res. Board Canad. **27**, 2185, 1970.

17. Ghanmi Z., Rouabhia M., Othmane O., Deschaux P.: Effects of metal ions on cyprinid fish immune response: *in vitro* effects of Zn^{2+} and Mn^{2+} on the mitogenic response of carp pronephros lymphocytes. *Ecotoxicol. Environ. Safety* **17**, 183, 1989.
18. Grabda-Orecka T.: Hematological, clinical and anatomical pathology of the European eel (*Anguilla anguilla* L.) from polluted waters of northwestern Poland. *Acta Ichthyol. Piscat.* **16**, 107, 1986.
19. Grawiński E.: Stan badań nad zanieczyszczeniem wód morskich. *Medycyna Wet.* **30**, 492, 1974.
20. Grawiński E.: Wpływ środowiska morskiego południowego Bałtyku na stopień zakażenia ryb w wybranych akwenach połowowych. *Medycyna Wet.* **30**, 563, 1974.
21. Grawiński E.: Chemiczne i biologiczne uwarunkowania chorób ryb i bezkręgowców morskich. *Medycyna Wet.* **43**, 218, 1987.
22. Harris-Young L., Tamplin M.L., Fisher W. S., Mason W.: Effects of physicochemical factors and bacterial colony morphotype on association of *Vibrio vulnificus* with hemocytes of *Crassostrea virginica*. *Appl. Environment. Microbiol.* **59**, 1012, 1993.
23. Kozubek Z., Łakota S., Poloczek-Adamowicz A., Raszka A.: Wpływ deltameryny na narybek karpia. Część III. Wpływ subletalnych dawek deltameryny na aktywność fosfatazy kwaśnej i zasadowej w narządach wewnętrznych karpia (*Cyprinus carpio* L.). *Arch. Ochr. Środ.* **2**, 83, 1992.
24. Norton J. H., Shepherd M. A., Abdon-Naguit M. R., Lindsay S.: Mortalities in the giant clam *Hippopus hippopus* associated with *Rickettsiales* - like organisms. *J. Interv. Pathol.* **62**, 207, 1993.
25. Norton J. H., Shepherd M. A., Prior H. C.: Papovavirus-like infection of the golden-lipped pearl oyster, *Pinctada maxima*, from the Torres Strait, Australia. *J. Interv. Path. Pathology* **62**, 198, 1993.
26. Peters G., Delventhal H., Klinger H.: Physiological and morphological effects of social stress in the eel, *Anguilla anguilla*. *Arch. Fisch. Wiss.* **30**, 157, 1980.
27. Peters G., Schwarzer R.: Changes in haematopoietic tissue of rainbow trout under influence of stress. *Aquat. Org.* **1**, 1, 1985.
28. Peters G., Nussgen A., Raabe A., Mock A.: Social stress induces structural and functional alterations of phagocytes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunol.* **1**, 17, 1991.
29. Raman U., Poland R. L.: A new micro-quantitative nitroblue tetrazolium test. *Pediatr. Res.* **9**, 334, 1975.
30. Renault T., Cochennec N.: Rickettsia-like organisms in the cytoplasm of gill epithelial cells of the pacific oyster *Crassostrea gigas*. *J. Interv. Pathol.* **64**, 160, 1994.
31. Rougier F., Menudier A., Troutaud D., Bosgiraud C., Ndoeye A., Nicolas J. A., Deschaux P.: *In vivo* effect of zinc and copper on the development of listeriosis in zebrafish, *Brachydanio rerio* (Hamilton-Buchanan). *J. Fish Dis.* **15**, 453, 1992.
32. Schollenberger A., Grawiński E.: Badania serologiczne dorszy łowionych w polskiej strefie rybołówstwa morskiego na Bałtyku. *Medycyna Wet.* **48**, 198, 1992.
33. Siwicki A., Studnicka M., Ryka B.: Phagocytic ability of neutrophils in carp (*Cyprinus carpio*). *Bamidgeh* **37**, 123, 1985.
34. Sobczak E., Stosik M., Deptuła W., Hłyńczak A., Poleszczuk S., Markiewicz D.: Próba oceny wód powierzchniowych Odry Wschodniej i jeziora Dąbie na podstawie własnego modelu badań. I. Ocena mikrobiologiczna i chemiczna wód Odry Wschodniej i jeziora Dąbie. *Ann. UMCS, s. DD*, **54**, 125, 1999.
35. Spazier E., Storch V., Braunbeck T.: Cytopathology of spleen in eel *Anguilla anguilla* exposed to a chemical spill in the Rhine River. *Dis. Aquat. Org.* **14**, 1, 1992.

36. Stosik M.: Zmiany anatomopatologiczne oraz stan niektórych parametrów odporności nieswoistej u karpi pochodzących z obsady ryb chorych na *erythrodermatitis*. Medycyna Wet. 46, 440, 1990.
37. Stosik M.: Aktywność granulocytów obojętnochłonnych u karpi w czasie naturalnej infekcji bakteryjnej. Immunol. Pol. 16, 131, 1991.
38. Stosik M.: Kształtowanie się wybranych parametrów immunologicznych i hematologicznych u karpi (*Cyprinus carpio* L.) hodowlanych zdrowych i chorych w czasie ich rozwoju osobniczego. Rozprawa habilitacyjna. Wyd. US, Szczecin 1995.
39. Studnicka M., Siwicki K.: Zdrowotność dorsza i stroni w polskiej strefie Bałtyku na podstawie badań hematologicznych, biochemicznych i immunologicznych. Bull. Sea Fish Inst. 1/2, 25, 1986.
40. Studnicka M., Siwicki K.: Physiological condition of ripe sea trout *Salmo trutta* m. *trutta* on the basis of selected haematological and biochemical parameters. Bull. Sea Fish Inst. 5/6, 8, 1986.
41. Sychłowy A., Łukas A.: Ocena mikroilościowej metody redukcji NBT przez granulocyty krwi obwodowej. Pol. Tyg. Lek. 33, 45, 1978.
42. Temmink J. H. M., Bayne C. J.: Ultrastructural characterization of leucocytes in the pronephros of carp (*Cyprinus carpio* L.). Dev. Comp. Immunol. 11, 125, 1987.
43. Własow T.: Erythrocyte system of rainbow trout *Salmo gairdneri* Rich. affected by prolonged subacute phenol intoxication. Acta Ichthyol. Piscat. 14, 105, 1984.
44. Własow T.: Selected indices of immunologic resistance in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich.) during prolonged, subacute phenolic intoxication. Acta Ichthyol. Piscat. 15, 203, 1985.
45. Własow T., Dąbrowska H.: Cellular changes in the blood and haemopoietic tissues of common carp exposed to sublethal concentration of ammonia. Aquat. Living Resour. 2, 169, 1989.
46. Własow T., Dąbrowska H.: Hematology of carp in acute intoxication with ammonia. Pol. Arch. Hydrobiol. 37, 419, 1990.
47. Własow T., Dąbrowska H., Ziomek E.: Hematology of carp in prolonged sublethal ammonia intoxication. Pol. Arch. Hydrobiol. 37, 429, 1990.
48. Wojtaszek J., Łakota S., Łozińska-Gabska M., Przybylska-Wojtyszyn M., Raszka A.: Wpływ deltameryny na narybek karpia (*Cyprinus carpio* L.). Arch. Ochr. Środ. 2, 91, 1992.
49. Zawistowski S.: Technika histologiczna, podstawy histologii oraz histologia. PZW, Warszawa 1975, s. 215.

SUMMARY

The studies indicated that water samples were contaminated, moreover they confirmed the necessity of wideness of studies of water in microbiological parameters and overstatement of chemical parameters. It caused that our studies were much cheaper. On the basis of studies of biomarkers in fishes (according to our own model compatible to the European Common Market) water samples got the worse mark. It proves necessity of studies according with parameters currently in force in the world.