

## ЦИТОГЕНЕТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА СТАДА КОРОПА ГОСПОДАРСТВА "РУДНИКИ" ВАТ "ЛЬВІВСЬКИЙ ОБЛРИБКОМБІНАТ"

О.Ю. Цицяло\*

Львівська національна академія ветеринарної медицини  
ім. С.З. Гжицького

*Наведено результати досліджень цитогенетичного моніторингу популяції коропа господарства "Рудники" Львівської області, а саме каріотипу та утворення спонтанних аберацій хромосом у різних вікових груп коропа, мітотичної активності соматичних клітин та мікроядерного тесту.*

Генетичні зміни в соматичних клітинах являють собою інтегральний показник гомеостазу розвитку, наявність та коливання хромосомних аберацій характеризують як мутагенність середовища, так і ефективність імунної системи організму і є індикатором стресу, який спричиняє ці зміни. Такі генетичні порушення можуть бути виявлені і на хромосомному, і на молекулярному рівні. Відносно прості і високочутливі цитогенетичні методи, які базуються на оцінці структурних і числових змін хромосом у соматичних клітинах, забезпечують характеристику стресового стану організму, що в свою чергу дає можливість дати оцінку середовища в цілому [1].

Організм кожного виду тварин розвивається у відносно постійних умовах зовнішнього середовища [2]. Пристосувальне значення можуть мати лише невеликі рівні мутацій, які дають матеріал для збереження генофонду виду і популяції. Як цитогенетичний механізм, який це забезпечує, повинна виступати природна захисно-відновна система, котра створює умови цитогомеостазу на клітинному рівні, тобто постійність клітинного стану організму. Цитогомеостаз в основному передбачає, що регуляція клітинної мінливості та природного відбору здійснюється на рівні популяції клітин, окремих хромосом. Незважаючи на те, що короп є основним об'єктом розведення у рибницьких господарствах, питання цитогенетичного статусу і виник-

нення його спонтанного мутагенного стану залишається ще не вивченим [3].

У каріотипах риб (як і більшості інших диплоїдних тварин і рослин) усі хромосоми, за винятком статевих, представлені парами подібних за розмірами і формою елементів. Наявність таких пар гомологічних хромосом добре простежується під час вивчення хромосомних наборів у клітинах найрізноманітніших органів і тканин [4].

Хромосоми кожної пари відрізняються за своїми розмірами та будовою від хромосом інших пар. Ця різниця може полягати у розміщенні центромірної ділянки, співвідношенні довжини плечей, наявності перетяжок і супутників та інших особливостей будови. Нові цитогенетичні методики — введення рибам невеликих доз колхіцину перед фіксацією тканин і приготування давлених препаратів (без зрізів) розширило можливості ідентифікації різних хромосом [5].

Існує необхідність у розробці і застосуванні методів вивчення популяцій, які зазнають шкідливих впливів, з метою оцінки ризику збільшення частоти мутацій в соматичних клітинах. Пошкодження генетичного апарату клітин лежить в основі порушень морфологічно-біохімічних реакцій і, як правило, супроводжує шкідливий вплив зовнішнього середовища до того, як проявляться патологічні процеси, які призводять до втрати продуктивності та виникнення хвороб. Тому потрібно постійно мати середні дані щодо рибного господарства, які б відображали рівень спонтанних

\* Науковий керівник — д.б.н. К.В. Секретарюк.

хромосомних аберацій. При підвищенні рівня проводити детальний аналіз і пошук факторів навколишнього середовища, які індукують хромосомні пошкодження, здійснювати дослідження на генотоксичність. Аналізуючи рівень цитогенетичної нестабільності необхідно врахувати як структурні, так і кількісні порушення мітотичного апарату соматичних клітин. Одержана цитогенетичним методом інформація про спонтанний та індукований мутагенез робить можливим профілактику генетичних порушень коропа, який вирощується у рибницьких господарствах [6].

Клітини з хромосомними абераціями не здатні до нормального функціонування та відтворення і з часом елімінуються. Хромосомні аберації постійно виникають у соматичних клітинах людей і тварин внаслідок пошкоджувальної дії різноманітних факторів абіотичного і біотичного походження [7].

Потрібно робити вибракювання із племінної частини стада риб з високим рівнем цитогенетичної нестабільності і генетичними дефектами. Цитогенетичне тестування коропа різних категорій рибницьких господарств і використання методів вивчення цитогенетичної активності соматичних клітин органів риб дає змогу одержувати оперативну інформацію про їх мутагенний стан [8].

У сучасній клітинній генетиці тварин для виявлення цитогенетичної дії хімічних і біологічних чинників використовують в основному три методичні підходи: вивчення проходження фаз мітозу, мітотичну активність клітин та патологічні мітози; облік хромосомних аберацій за мікроядерним тестом в еритроцитах периферійної крові [9]. Кількість праць з цитогенетичного моніторингу коропа на сьогодні є дуже незначною. Тому метою наших досліджень була характеристика наявного стада коропа.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження проводили на різних вікових групах коропа, виловлених у ставах господарства "Рудники" Миколаївського району Львівської області (басейн р. Дністер). Гідрохімічний режим ставів відповідав нормативам для вирощування

коропа. Об'єктом дослідження були цьоголітки, однорічки та дволітки коропа.

Для вивчення мітотичної активності популяції соматичних клітин користувалися методикою приготування препаратів соматичних клітин, у модифікації, розробленій для коропа кафедрою паразитології та рибництва Львівської національної академії ветеринарної медицини ім. С.З. Гжицького [10].

Кров для визначення кількості мікроядер брали з серця коропа. Краплю крові наносили на предметне скло, потім виготовляли мазки, висушували на повітрі, фіксували протягом 10 хв і фарбували за Романовським-Гімзою. Підрахунок проводили в ‰ [11].

Для визначення каріотипу та рівня спонтанних аберацій хромосом користувалися методикою виготовлення прямих препаратів метафазних хромосом [12]. Вивчення хромосом проводили за допомогою мікроскопа "Jenamed 2" (Carl Zeiss Jena) із збільшенням  $\times 1000$ .

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Диплоїдний набір соматичних клітин нирок ( $2n = 100$ ) містив таку кількість хромосом: 18 метацентричних, 32 субметацентричних, 28 акроцентричних та 22 телоцентричних (рис. 1). Число хромосомних плеч NF дорівнювало 150.

При дослідженні каріотипу риб у кожній віковій групі спостерігалось відхилення від нормальної кількості хромосом. Анеуплоїди становили близько 3% загальної кількості клітин. У цьоголіток

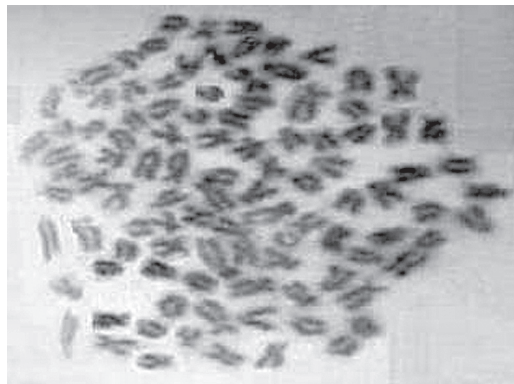


Рис. 1. Метафазна пластинка клітин нирок коропа (10 $\times$ 100)

**Рівень спонтанних мутаційних відхилень у нирках та еритроцитах крові коропа у господарстві “Рудники” ( $M \pm m$ ,  $n=8$ ), %**

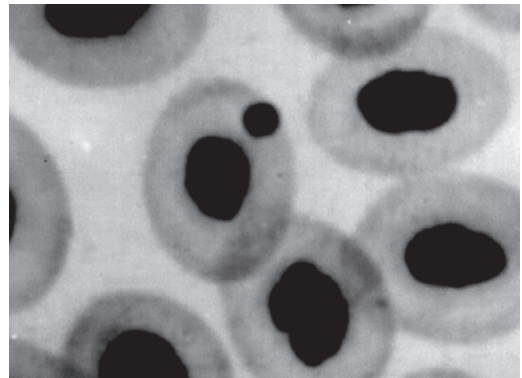
Показники	Цьоголітки (жовтень, 2004 р.)	Однорічки (травень, 2005 р.)	Дволітки (липень, 2005 р.)
Хромосомні аберації, %	1,2±0,5	1,1±0,5	1,6±0,4
Загальна кількість аномальних мітозів, %	0,9±0,2	0,4±0,1	1,1±0,3
Кількість еритроцитів з мікроядрами, ‰	6,9±0,3	7,6±0,4	8,6±0,4**

коропа в 3,1±0,3% метафазних клітин налічувалося від 90 до 98 хромосом, у однорічок та дволіток — відповідно 2,5±0,4 та 3,3±0,3%.

У всіх вікових групах коропа спостерігали хромосомні аберації, однак з різною частотою (таблиця). У цьоголіток рівень клітин з хромосомними абераціями становив 1,2±0,5%, дещо знижувався у однорічок — 1,1±0,5 та підвищувався у дволіток коропа — 1,6±0,4%.

Представлені у таблиці дані свідчать, що кількість аномальних мітозів у однорічок у 2,25 та 2,75 раза нижча, ніж у цьоголіток та дволіток, відповідно. Порушення нормального перебігу мітозу і неправильний розподіл хромосом між дочірніми клітинами веде до утворення клітин з незбалансованими каріотипами [13]. Водночас спостерігалось збільшення кількості еритроцитів з мікроядрами (рис. 2) у віковому аспекті та впродовж сезону. Утворення еритроцитів з мікроядрами в еритроцитах крові відображає частоту виникнення хромосомних аберацій. Частота виявлення еритроцитів з мікроядрами в крові риб значною мірою залежить від ступеня забруднення водойми. Відзначено, що у всіх випадках забруднена вода зумовлює істотне зростання кількості мікроядер [14].

Таким чином, з вищенаведених даних випливає, що кількість аномальних мутаційних відхилень в органах та крові



**Рис. 2.** Мікроядро у поліхроматофільному еритроциті периферичної крові коропа (10×100)

риб зростає з віком, проте певної вірогідної різниці нами не встановлено.

### ВИСНОВКИ

Цитогенетичні дослідження дають можливість одержати оперативну інформацію про мутагенний стан водного середовища рибницьких господарств, частота пошкоджень генетичного апарату може бути зумовлена впливом ендо- і екзогенних факторів.

Цитогенетичне тестування коропа використовують як високочутливий і швидкий метод виявлення патологічних змін у крові та органах риб під впливом несприятливих факторів довкілля.

### ЛІТЕРАТУРА

1. *Дмитриев С.Г.* Цитогенетическая нестабильность у трех видов грызунов в районе химического предприятия на севере России // *Экология*. — 1997. — № 6. — С. 447–451.
2. *Захаров В.М.* и др. *Здоровье среды: методика оценки*. — М.: Центр экологической политики России, 2000. — 68 с.
3. *Коновалов В.С.* та ін. *Генетика сільськогосподарських тварин*. — К.: Урожай, 1996. — 431 с.

4. Лобойко Ю.В. Еколого-цитогенетичний моніторинг при вирощуванні коропа в рибицьких ставах / Автореф. дис. ... канд. с.-г. наук: 06.02.03. — К.: Ін-т риб. госп-ва УААН, 2002. — 19 с.
5. Тафійчук Р.И., Секретарюк К.В. Исследование кариотипов в системе паразит-хозяин при филометроидозе карпа // 36. матеріалів Установчої міжнар. конф. асоціації паразитологів СНД. — Вітебськ, 1999. — С. 38.
6. Ильинских Н.В., Медведев М.А., Бессунова С.С. Мутагенез при различных функциональных состояниях организма. — Томск: Изд. Томского ун-та, 1990. — С. 7–14.
7. Collares-Pereira M.I., Madeira J.M. Cytotaxonomic studies in Iberian Cyprinids: Karyology of Portuguese populations of *Barbus Cuier*. 1817, with some reconsiderations on the karyological evolution of Cyprinidae // *Cariologia*. — 1990. — Vol. 43, № 1. — P. 17–26.
8. Дуган О.М. Сумарна мутагенна активність як інтегральний показник оцінки еколого-генетичного стану довкілля / Автореф. дис. ... д-ра біол. наук: 03.00.15. — К.: Український науковий гігієнічний центр, 1998. — 39 с.
9. Захидов С.Т., Карпюк М.И., Голиченков В.А. Цитогенетический мониторинг Волжского бассейна. Уровни хромосомных мутаций в половых и соматических клетках самцов стерляди // *Известия АН. Сер. биол. (Россия)*. — 1993. — № 1. — С. 102–106.
10. Ford C.E., Hamerton J.L. A colchicine hypotonic citrate, squash sequence for mammalian chromosomes // *Strain Technol.* — 1965. — Vol. 31. — P. 247.
11. Заичкина С.И., Розанова О.М., Ахмадиева А.Х., Аптикаева Г.Ф., Ключков Д.Ю., Смирнова Е.И. Микроядра как показатель повреждения хромосомного аппарата клетки // *Цитология*. — 2000. — № 3. — С. 281.
12. Секретарюк К.В., Тафійчук Р.И., Седнева І.А. Деклараційний патент на винахід 34814А: Спосіб виготовлення прямих препаратів метафазних хромосом риб // Україна, 2000.
13. Жигачев А.И., Шараськина О.Г. Практическое значение цитогенетических исследований в коневодстве // *Ученые зап. Витебской ордена "Знак Почета" государственной академии ветеринарной медицины*. — Витебск, 2004. — Т. 40, Ч. 2. — С. 84–86.
14. Яковлев А.Ф., Тюкачев М.В., Кравцов В.Ю., Донская П.В., Попова А.А. Частота эритроцитов с микроядрами в периферической крови рыб семейства осетровых // *Научно-техн. конф. проф.-преп. состава Астрах. гос. техн. у-та*. — Астрахань, 1996. — С. 60–61.

### **ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СТАДА КАРПА ХОЗЯЙСТВА "РУДНИКИ" ВАТ "ЛЬВОВСКИЙ ОБЛРЫБКОМБИНАТ"**

О.Ю. Цицало

Приводятся результаты исследований цитогенетического мониторинга стада карпа хозяйства "Рудники" Львовской области, а именно кариотипа и получения спонтанных аберраций хромосом у разновозрастных групп карпа, митотической активности соматических клеток и микроядерного теста.

### **CYTOGENETIC CHARACTERISTIC OF CARP STOCK IN FARM "RUDNIKI" OF LVIV REGION**

O. Tsytsyalo

There are results of cytogenetic monitoring of carp stock in farm "Rudniki" of Lviv region. Our investigations include micro — nuclear test, mitotic activity of cells and cytogenetic status at all.