

ЦИТОГЕНЕТИЧНІ АНОМАЛІЇ У ДВОЛІТОК КОРОПА РІЗНОГО ГЕНЕЗИСУ

О.А. Ковальова, Н.А. Кобозєва, С.І. Тарасюк, І.І. Грициняк

Інститут рибного господарства УААН, м. Київ

Виконано порівняльний аналіз частот зустрічальності цитогенетичних аномалій (еритроцитів і лейкоцитів із мікроядрами, двоядерних лейкоцитів) у клітинах крові коропа (галицького, лускатого, рамчастого) і нащадків гібридизації лускатого коропа та амурського сазана. Досліджено, що найстабільніший хромосомний апарат має лускатий короп, найменш стабільний — гібридна популяція.

Оцінки стабільності генетичного апарату риб широко використовуються для біоіндикації генотоксичного забруднення води і, відповідно, прогнозу впливу на їх популяційно-генетичну структуру несприятливих факторів навколишнього середовища [1, 2]. Як показники генотоксичних ефектів використовують мікроядерний тест в еритроцитах, лейкоцитах, частоти зустрічальності метафазних пластинок із хромосомними абераціями у клітинах верхівок нирок риб [1–4], мікроядерний тест і оцінки дефектів морфології ядер клітин крові [5], а також частот зустрічальності двоядерних клітин [6, 7]. Такий аналіз необхідний для контролю і прогнозу ефективності умов вирощування, зокрема ставкових риб, а також селекційної роботи.

Науковцям відомі впливи змін у функціонуванні ендокринної системи на частоти зустрічальності клітин із цитогенетичними аномаліями серед соматичних клітин [3], а також дестабілізуючі онтогенез ефекти гібридизації віддалених за походженням популяцій [8, 9].

Тому при використанні підрахунку цитогенетичних аномалій у соматичних клітин риб як показника дії абіотичних і біотичних стресуючих факторів необхідно враховувати можливість збільшення частот таких аномалій у нащадків певних варіантів схрещувань, при гібридизації віддалених за походженням рас або навіть видів.

Для того щоб оцінити можливий внесок такої дестабілізуючої компоненти, зумовленої гібридизацією віддалених за походженням популяцій ставкових риб, нами виконано порівняння частот зустрі-

чальності низки цитогенетичних аномалій у клітинах крові коропа (лускатого, рамчастого і галицького дзеркального), а також гібридної популяції нащадків від схрещування лускатого коропа і амурського сазана.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Експериментальний матеріал для роботи було отримано від груп риб, яких вирощували в умовах дослідного господарства Львівського відділення Інституту рибного господарства УААН, а саме: галицького дзеркального, любінського лускатого, любінського рамчастого коропів і гібридної популяції — нащадків від схрещувань любінського лускатого коропа і амурського сазана.

Цитогенетичний аналіз виконували у мазках крові чотирьох груп риб. Частоту зустрічальності розглядали у цитогенетичних характеристиках, ‰: еритроцитів із мікроядрами (ЕМЯ), одноподібних лімфоцитів із мікроядрами (ЛМЯ) і двоядерних лімфоцитів (ДЛ) (рис. 1, 2, 3).

Кров для дослідження відбирали стандартним способом, дотримуючись правил асептики та антисептики, з наступною консервацією гепарином у розрахунку 25 МО на 1 мл. Зберігання і транспортування проводили в холодильних камерах за 4°C.

Краплю периферичної крові розводили фізіологічним розчином (1:1) і на предметних скельцях готували мазки. Мазки фіксували метиловим спиртом і висушували за кімнатних умов, потім фарбували барвником Гімза. Для аналізу клітин використовували бінокулярний мікроскоп фірми “Carl Zeiss Jena” при

**Частоти зустрічальності цитогенетичних аномалій у клітинах крові
коропа (галицького, лускатого, рамчастого) і гібридних нащадків
схрещування лускатого коропа і амурського сазана**

№ з/п	ЕМЯ, ‰	ЛМЯ, ‰	ДЛ, ‰
<i>Галицький дзеркальний короп</i>			
1	3,7	5,0	2,0
2	5,0	3,0	0
3	5,5	3,5	1,5
4	3,0	3,0	2,0
5	2,7	7,0	4,0
6	4,3	3,0	0
7	6,0	5,0	2,0
8	4,7	2,5	2,5
9	4,5	2,0	1,0
10	5,0	3,0	2,0
Середнє	4,4±0,3	3,7±0,5	1,7±0,4
<i>Любінський лускатий короп</i>			
11	3,5	3,0	2,5
12	2,0	3,0	1,0
13	2,0	2,5	1,5
14	4,0	1,0	0,5
15	1,8	0,8	1,5
16	2,0	1,3	1,0
17	2,5	2,0	1,0
18	4,0	2,5	1,0
19	3,0	2,5	1,5
20	2,0	1,0	1,0
Середнє	2,7±0,3	2,0±0,3	1,3±0,2
<i>Гібрид (любінський лускатий короп х амурський сазан)</i>			
21	5,0	4,0	2,7
22	4,5	3,5	3,5
23	7,5	5,0	1,5
24	5,5	3,5	1,0
25	4,5	4,0	2,5
26	5,0	3,5	2,5
27	6,0	6,0	2,0
28	4,0	7,0	0,5
29	5,0	7,5	5,0
30	3,0	2,0	3,0
Середнє	5,0±0,4	4,6±0,6	2,4±0,4
<i>Любінський рамчастий короп</i>			
31	6,0	4,5	5,5
32	4,5	3,0	2,5
33	2,5	3,5	1,5
34	6,0	4,5	4,0
35	4,5	3,5	2,0
36	7,0	11,0	2,0
37	2,0	2,0	0
38	4,0	1,5	1,5
39	4,0	3,0	3,0
40	6,0	1,0	0,7
Середнє	4,6±0,5	3,7±0,9	2,3±0,5

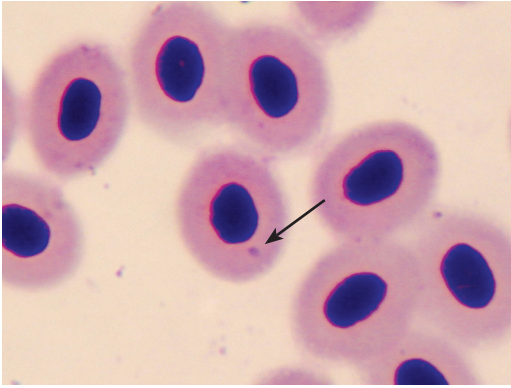


Рис. 1. Еритроцит з мікроядром у периферичній крові (Галицький короп)

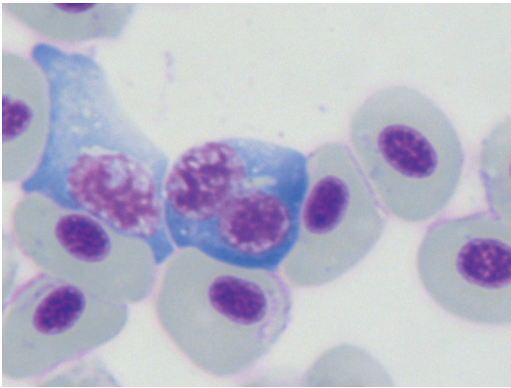


Рис. 2. Двоядерний лейкоцит (Галицький короп)

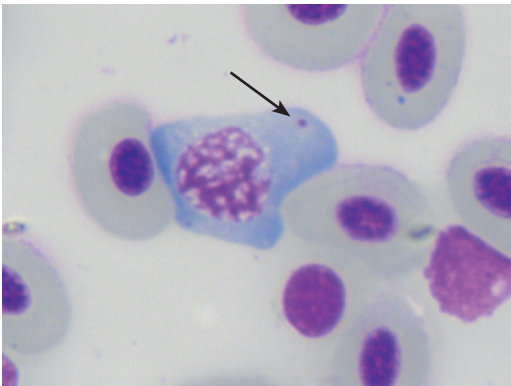


Рис. 3. Лейкоцит з мікроядром (Галицький короп)

збільшенні у 1000 разів. Цитогенетичні аномалії фотографували за допомогою цифрового фотоапарату “Canon” (PowerShot G6, Great Britain). Статистичну імовірність відмінностей цитогенетичних

аномалій оцінювали за критерієм Ст’юдента (St).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати виконаних досліджень наведено в таблиці. Показано, що найменші значення частот зустрічальності еритроцитів із мікроядрами (див. рис. 1, ЕМЯ) виявлені у лускатого коропа, найбільші — у гібридній популяції лускатого коропа і амурського сазана. Такі самі міжгрупові відмінності спостерігались і за частотами зустрічальності лейкоцитів із мікроядрами (див. рис. 3, ЛМЯ).

За частотами зустрічальності двоядерних лейкоцитів (див. рис. 2, ДЛ), статистично вірогідні відмінності спостерігались лише між гібридною популяцією і лускатим коропом ($P < 0,05$; $t_s = 2,4$).

Загалом серед розглянутих популяцій вирізняється лускатий короп із найменшими показниками частоти зустрічальності всіх розглянутих типів цитогенетичних аномалій і гібридна популяція. У лускатого коропа статистично вірогідні відмінності виявлені порівняно з рамчастим коропом за частотою ЕМЯ ($P < 0,01$), галицьким коропом — за ЕМЯ ($P < 0,01$) і ЛМЯ ($P < 0,01$) і за всіма трьома цитогенетичними характеристиками з гібридом між лускатим коропом і амурським сазаном (ЕМЯ, $P < 0,001$; ЛМЯ, $P < 0,01$; ДЛ, $P < 0,05$).

Водночас між галицьким коропом і рамчастим коропом статистично вірогідних відмінностей за цими характеристиками не спостерігалось. Відзначається певна тенденція до відносно підвищених частот зустрічальності у гібридній популяції риб порівняно з галицьким коропом ЛМЯ ($4,6 \pm 0,6\%$ проти $3,7 \pm 0,5\%$) і ДЛ ($2,4 \pm 0,4\%$ проти $1,7 \pm 0,4\%$) і рамчастим коропом — тільки за ЛМЯ (див. таблицю).

ВИСНОВКИ

Хромосомний апарат за дослідженими цитогенетичними характеристиками у клітинах крові найбільш стабільним виявився в групі лускатого коропа; найменш — у гібридній групі.

Для об’єктивної оцінки нестабільності хромосомного апарату необхідно розглядати комплекс цитогенетичних

характеристик як в еритроцитах, так і лейкоцитах, оскільки міжгрупові відмінності за частотами зустрічальності еритроцитів із мікроядрами не завжди збігаються із відмінностями за лейкоцитами з мікроядрами або двоядерними лейкоцитами.

Враховуючи відмінності між групою лускатого коропа і гібридною популя-

цією, отриманою шляхом схрещування лускатого коропа із амурським сазаном, можна очікувати, що така віддалена гібридизація може впливати на дестабілізацію хромосомного апарату в гібридних нащадків, яка виявляється під час проведення мікроядерного тесту в різноманітних клітинних популяціях.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Al-Sabti K., Metcalfe C.D.* Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water // *Mutat. Res.* — 1995. — Jun. — Vol. 343 (2–3). — P. 121–135.
2. *Al-Sabti K.* Clastogenic effects of five carcinogenic-mutagenic chemicals on the cells of the common carp, *Cyprinus carpio* L. // *Comp. Biochem. Physiol. C.* — 1986. — Vol. 85(1). — P. 5–9.
3. *Hutchinson T.H., Ankley G.T., Segner H., Tyler C.R.* Screening and testing for endocrine disruption in fish-biomarkers as “signposts,” not “traffic lights,” in risk assessment // *Environ. Health Perspect.* — 2006. — Apr. — Vol. 114, Suppl. 1. — P. 106–114.
4. *Llorente M.T., Martos A., Castano A.* Detection of cytogenetic alterations and blood cell changes in natural populations of carp // *Ecotoxicology.* — 2002. — Feb. — Vol. 11 (1). — P. 27–34.
5. *Talapatra S.N., Banerjee S.K.* Detection of micronucleus and abnormal nucleus in erythrocytes from the gill and kidney of *Labeo bata* cultivated in sewage-fed fish farms // *Food Chem. Toxicol.* — 2007. — Feb. — Vol. 45 (2). — P. 210–215.
6. *Cavas T., Garanko N.N., Arkhipchuk V.V.* Induction of micronuclei and binuclei in blood, gill and liver cells of fishes subchronically exposed to cadmium chloride and copper sulphate // *Food Chem. Toxicol.* — 2005. — Apr. — Vol. 43 (4). — P. 569–574.
7. *Arkhipchuk V.V., Garanko N.N.* Using the nucleolar biomarker and the micronucleus test on in vivo fish fin cells // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* — 2005. — Sep. — Vol. 62 (1). — P. 42–52.
8. *Rubidge E.M., Taylor E.B.* Hybrid zone structure and the potential role of selection in hybridizing populations of native westslope cutthroat trout (*Oncorhynchus clarki lewisi*) and introduced rainbow trout (*O. mykiss*) // *Mol. Ecol.* — 2004. — Dec. — Vol. 13 (12). — P. 3735–3749.
9. *Livshits G., Kobylansky E.* Lerner’s concept of developmental homeostasis and the problem of heterozygosity level in natural populations // *Heredity.* — 1985. — Dec. — Vol. 55 (Pt 3). — P. 341–353.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ АНОМАЛИИ У ДВУЛЕТОК КАРПА РАЗНОГО ГЕНЕЗИСА

О.А. Ковалева, Н.А. Кобозева, С.И. Тарасюк, И.И. Грициняк

Выполнен сравнительный анализ частот встречаемости цитогенетических аномалий (эритроциты с микроядрами, лейкоциты с микроядрами, двоядерные лейкоциты) в клетках крови карпа (галицийский, чешуйчатый, рамчатый) и потомков гибридизации чешуйчатого карпа и амурского сазана. Установлено, что наиболее стабильный хромосомный аппарат имеет чешуйчатый карп, наименее — гибридная популяция.

CYTOGENETIC ANOMALIES IN CARP OF DIFFERENT GENESIS

O. Kovalova, N. Kobozeva, S. Tarasjuk, I. Grycynjak

Comparisal analysis the frequency cytogenetic anomalies (erythrocytes with micronucleus, leukocytes with micronucleus, binuclear leukocytes) in the blood cells of carp (scaly carp, galician carp, frame carp) and posterity of hybridization scaly carp × european carp) was carry out. The stable chromosomal apparatus had scaly carp, the unstable — hybridization population.