

SELECTION, GENETICS AND BIOTECHNOLOGY / СЕЛЕКЦІЯ, ГЕНЕТИКА ТА БІОТЕХНОЛОГІЇ

Ribogospod. nauka Ukr., 2023; 3(65): 86-101
DOI: <https://doi.org/10.15407/fsu2023.03.086>
UDC 575.22:639.3

Received: 03.07.23
Received in revised form: 11.08.23
Accepted: 05.09.23

EVALUATION OF THE GENETIC VARIABILITY OF PEDIGREE STOCKS OF AMUR CARP (*CYPRINUS RUBROFUSCUS* LACÉPÈDE, 1803)

A. Mariutsa, mariutsa16@ukr.net,
Institute of Fisheries NAAS, Kyiv
I. Hrystyniak, hrytsyniak@ukr.net,
Institute of Fisheries N AAS, Kyiv
Yu. Glushko, niko-yulia@ukr.net, Institute
of Fisheries NAAS, Kyiv
T. Nahorniuk, achtaan@ukr.net, Institute
of Fisheries NAAS, Kyiv

ОЦІНКА ГЕНЕТИЧНОЇ МІНЛИВОСТІ ПЛЕМІННИХ СТАД АМУРСЬКОГО САЗАНА (*CYPRINUS RUBROFUSCUS* LACÉPÈDE, 1803)

А. Е. Маріуца, mariutsa16@ukr.net,
Інститут рибного господарства НААН,
м. Київ
І. І. Грициняк, hrytsyniak@ukr.net,
Інститут рибного господарства НААН,
м. Київ
Ю. М. Глушко, niko-yulia@ukr.net,
Інститут рибного господарства НААН,
м. Київ
Т. А. Нагорнюк, achtaan@ukr.net,
Інститут рибного господарства НААН,
м. Київ

Purpose. To study the genetic peculiarities of pedigree stocks of Amur carp and evaluate its genetic variability by analyzing distribution of alleles and genotypes by the specific protein systems and cytogenetic parameters.

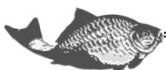
Methodology. Analysis of polymorphism of protein systems was performed using electrophoresis in polyacrylamide gel. As protein markers to evaluate the genetic structure of Amur carp stocks, the separation of allelic and genotypic frequencies by loci, which encode a number of fish blood proteins, were used: transferrin (TF), albumin (ALB) and esterase (EST, 3.1.1.1). Cytogenetic analysis was performed using the micronucleus test and analysis of apoptosis frequencies. Collection and processing of biological material of fish as well as statistical processing of the obtained data was performed using generally accepted methods.

Findings. A comprehensive analysis of the genetic structure of Amur carp from three farms in Ukraine was carried out by protein systems and cytogenetic markers.

Мета. Вивчити генетичні особливості племінних стад амурського сазана та виконати оцінку його генетичної мінливості шляхом аналізу розподілу алелів і генотипів за окремими білковими системами та цитогенетичними показниками.

Методика. Аналіз поліморфізму білкових систем проводили з використанням методу електрофорезу в поліакриламідному гелі. У якості білкових маркерів для оцінки генетичної структури стад амурського сазана розглядали розподіл алельних і генотипових частот за локусами, які кодують ряд білків крові риб: трансферин (TF), альбумін (ALB) і естераза (EST, 3.1.1.1). Цитогенетичний аналіз проводили з використанням мікроядерного тесту та аналізу частот апоптозу. Відбір і обробку біологічного матеріалу риб, а також статистичне опрацювання отриманих даних виконували із застосуванням загальноприйнятих методик.

Результати. Проведено комплексний аналіз генетичної структури амурського сазана з



The results of the study showed that all pedigree groups of Amur carp were characterized by a deviation towards the predominance of heterozygotes ($Fis =$ from -0.084 to -0.344). A minimal imbalance was observed in the group of carp from the farm "Karpatskyi Vodogray" LLC ($Fis = -0.084$).

The maximum violation of the genetic balance was found in carp from the farm of JSC "Sumyrybhos" ($Fis = -0.308$) and in the group from the experimental farm "Veliky Lyubin" ($Fis = -0.344$). In general, the analysis of the protein systems of fish blood showed a high level of heterogeneity of pedigree stocks of Amur carp from different farms in Ukraine.

The analysis of frequencies of cytogenetic parameters of Amur carp from three fish farms showed that fish from fish farms of JSC "Sumyrybhos" and PFE "Dzherelo" were characterized by a lower frequency of erythrocytes with micronuclei (EMN) ($3.3 \pm 0.3\%$), ($3.2 \pm 0.3\%$), lymphocytes with micronuclei (LMN) ($2.1 \pm 0.2\%$), ($1.9 \pm 0.2\%$), and apoptosis ($4.2 \pm 0.3\%$), ($4.3 \pm 0.3\%$) compared to the group from fish farm "Karpatskyi Vodogray" LLC, where these values were as follows: EMN ($4.7 \pm 0.3\%$), LMN ($2.4 \pm 0.2\%$), apoptosis ($5.6 \pm 0.4\%$). These results indicate a lower level of destabilization of chromosomal apparatus of Amur carp from the fish farm JSC "Sumyrybhos" at the time of the study.

Originality. A comprehensive evaluation of the level of variability of the genetic structure of pedigree stocks of Amur carp from different regions of Ukraine was performed for the first time.

Practical Value. Pedigree stocks of Amur carp have important practical value in selective breeding work with carps, including works for obtaining hybrid lines to increase the resistance of breeding material.

Keywords: Amur carp, genetic structure, locus, alleles, genotype, heterozygosity, micronucleus test, cytogenetic analysis.

PROBLEM STATEMENT AND ANALYSIS OF LAST ACHIEVEMENTS AND PUBLICATIONS

In Ukraine, the main objects of commercial fish farming are carps, among which the Amur carp (*Cyprinus rubrofasciatus*) occupies

трьох господарств України за білковими системами та цитогенетичними маркерами.

В результаті досліджень виявлено, що для усіх племінних груп амурського сазана є характерним відхилення в бік переваги гетерозигот ($Fis =$ від $-0,084$ до $-0,344$). Мінімальне порушення рівноваги спостерігалось у групі сазана з ТзОВ «Карпатський водограй» ($Fis = -0,084$). Максимальне порушення генетичної рівноваги виявлено у сазанів з ВАТ «Сумирибгосп» ($Fis = -0,308$) та у групі з ДП ДГ «Великий Любін» ($Fis = -0,344$). Загалом, аналіз білкових систем крові риб показав високий рівень гетерогенності племінних стад амурського сазана з різних господарств України.

Аналіз частот цитогенетичних показників амурського сазана трьох рибницьких господарств показав, що сазан з ВАТ «Сумирибгосп» та СФГ «Джерело» характеризувався нижчими частотами еритроцитів з мікроядрами (ЕМЯ) ($3,3 \pm 0,3\%$), ($3,2 \pm 0,3\%$), лімфоцитів з мікроядрами (ЛМЯ) ($2,1 \pm 0,2\%$), ($1,9 \pm 0,2\%$) та апоптозів ($4,2 \pm 0,3\%$), ($4,3 \pm 0,3\%$), порівняно з групою ТзОВ «Карпатський водограй», у яких дані показники були наступними: ЕМЯ — $4,7 \pm 0,3\%$, ЛМЯ — $2,4 \pm 0,2\%$, апоптозів — $5,6 \pm 0,4\%$, що свідчить про нижчий рівень дестабілізації хромосомного апарату амурського сазана в цих двох господарствах на момент проведення досліджень.

Наукова новизна. Вперше виконано комплексну оцінку рівня мінливості генетичної структури племінних стад амурського сазана з різних рибницьких господарств України.

Практична значимість. Племінні стада амурського сазана мають важливе практичне значення у селекційній роботі з короповими рибами, в тому числі для отримання гібридних ліній з метою підвищення резистентності селекційного матеріалу.

Ключові слова: амурський сазан, генетична структура, локус, алелі, генотип, гетерозиготність, мікроядерний тест, цитогенетичний аналіз.

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ ТА АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

В Україні основними об'єктами товарного рибництва є коропові, серед яких важливе місце займає амурський сазан (*Cyprinus rubrofasciatus*) — як дикий



an important place as a wild ancestor of domesticated carp, which is characterized by higher resistance to the action of a complex of negative exogenous factors compared to domesticated carp [1–3].

Results of breeding studies showed that the most effective in Ukrainian fish farming is the crossbreeding of common carp of Ukrainian breeds with Amur carp. Interest in the hybridization of common carp with Amur carp has increased due to the deterioration of environmental conditions of cultivation, against the background of which carp breeding often turns out to be insufficiently effective [4–7].

Identification and analysis of polymorphic protein systems of fish is important for solving many theoretical and practical problems related to the rational organization of selective breeding work in fish farming. Protein polymorphism is one of the most indicative criteria for the study and control of genetic differentiation of groups of animals in connection with their breeding in different ecological and geographical conditions. The actual variability of biochemical markers reflects specific adaptive features of metabolic pathways, which can serve, in most cases, as an indicator of the physiological state of the body [8, 9].

As is known, a high level of locus polymorphism is characteristic of native populations. The use of highly polymorphic molecular genetic systems allows assessing the intra- and interbreed variability of the genetic structure of animals [10].

To analyse the variability of the genetic structure of carps including the Amur carp, individual researchers used a complex of genetic methods including biochemical and cytogenetic ones [11, 12].

Previous studies by individual authors devoted to the molecular genetic analysis of domesticated and wild carp popula-

предок коропа, який характеризується вищою резистентністю до дії комплексу негативних екзогенних чинників порівняно з коропом [1–3].

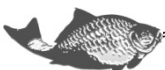
Результатами селекційних досліджень доведено, що найбільш ефективним у рибництві України є схрещування коропів українських порід з амурським сазаном. Інтерес до гібридизації коропа з амурським сазаном зріс у зв'язку з погіршенням екологічних умов вирощування, на фоні яких розведення коропа часто виявляється недостатньо ефективним [4–7].

Виявлення і аналіз поліморфних білкових систем риб є важливим для вирішення багатьох теоретичних і практичних проблем, пов'язаних із раціональною організацією селекційно-племінної роботи в рибництві. Білковий поліморфізм є одним із найбільш показових критеріїв для вивчення і контролю генетичної диференціації груп тварин у зв'язку з їх розведенням у різних еколого-географічних умовах. Фактична мінливість біохімічних маркерів відображає конкретні адаптаційні особливості метаболічних шляхів, що може слугувати, в більшості випадків, індикатором фізіологічного стану організму [8, 9].

Як відомо, високий рівень поліморфізму локусів притаманний нативним популяціям. Використання високополіморфних молекулярно-генетичних систем дає змогу проводити оцінку внутрішньо- і міжпородної мінливості генетичної структури тварин [10].

Для аналізу мінливості генетичної структури коропових риб, в тому числі й амурського сазана, окремі дослідники застосовували комплекс генетичних методів, в тому числі й біохімічні та цитогенетичні [11, 12].

Попередні дослідження окремих авторів, присвячені молекулярно-генетичному аналізу доместикованих і диких популяцій коропа, продемонстру-



tions demonstrated a significant share of allozyme variation in geographically distant fish populations, compared to microsatellite loci, most of variation of which is due to the intrapopulation component. In addition, these authors noted that differences in variability between domesticated and wild carps were more pronounced for microsatellite loci than for allozyme variability [13–15].

Regarding the cytogenetic analysis of fish, many researchers repeatedly noted that the level of genetically defective peripheral blood cells directly depends not only on the ecological state of the water body, but also on the species of the studied animals [16–18].

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

In Ukraine, one of the most important and numerous commercial groups of freshwater fish are cyprinids. The effectiveness of breeding work in carp farming is ensured by a sufficient number of brood fish, which allow ensuring a sufficient level of heterosis.

However, studies of the pedigree material of carps in Ukraine using genetic methods were carried out in a fragmentary manner, so there was a need to conduct molecular and cytogenetic studies of Amur carp to evaluate the variability of genetic material [9, 19, 27].

Therefore, the aim of the work is to study the genetic characteristics of pedigree stocks of Amur carp by analysing the distribution of alleles and genotypes based on individual protein systems and to evaluate and compare the level of cytogenetic parameters in local stocks of Amur carp in different regions of Ukraine.

вали значну частку алозимних варіацій у географічно віддалених популяцій риб, порівняно з мікросателітними локусами, більша частина варіацій яких зумовлена внутрішньопопуляційним компонентом. Також цими авторами відмічалось, що відмінності у мінливості між доместикованими та дикими коропами були більш вираженими за мікросателітними локусами, ніж за алозимною мінливістю [13–15].

За напрямом цитогенетичного аналізу риб, в роботах багатьох дослідників неодноразово відзначалось, що рівень генетично дефектних клітин периферійної крові безпосередньо залежить не лише від екологічного стану водойми, але й від виду досліджуваних тварин [16–18].

ВИДІЛЕННЯ НЕВИРШЕНИХ РАНІШЕ ЧАСТИН ЗАГАЛЬНОЇ ПРОБЛЕМИ. МЕТА РОБОТИ

В Україні однією з найбільш важливих і численних промислових груп прісноводних риб є коропові. Ефективність племінної роботи в коропівництві забезпечується достатньою кількістю плідників, що дозволяють забезпечувати достатній рівень гетерозису.

Проте дослідження племінного матеріалу коропових риб в Україні за використання генетичних методів проводились фрагментарно, тому постала необхідність проведення молекулярно- та цитогенетичних досліджень амурського сазана для оцінки мінливості генетичного матеріалу [9, 19, 27].

Тому метою роботи є вивчення генетичних особливостей племінних стад амурського сазана шляхом аналізу розподілу алелів і генотипів за окремими білковими системами та оцінка і порівняльний аналіз рівня цитогенетичних показників в локальних стадах амурського сазана різних регіонів України.



MATERIALS AND METHODS

The object of the study is the evaluation of the level of variability of the genetic structure of Amur carp based on protein and cytogenetic parameters. Amur carp was collected during 2009–2016 in four fish farms of Ukraine: “Karpatskyi Vodogray” LLC of the Lviv region (n=29), JSC “Sumyrybhosp” of the Sumy region. (n=32), State Enterprise Experimental Farm “Velyky Lyubin” of the Lviv region (n=32) and Peasant Farm Enterprise “Dzherelo” of the Rivne region (n=15).

Blood was collected from the caudal vein with a sterile syringe. Heparin (25 IU per 1 ml of blood) was used as a preservative. Electrophoretic separation of blood protein systems - loci of transferrin (TF), albumin (ALB) and esterase (EST, 3.1.1.1) was carried out in polyacrylamide gel with in-house modifications, followed by histochemical staining of gel plates [20–22].

Deviations of genotypic frequencies from the equilibrium state were evaluated according to the Pearson test (χ^2) [23]. The level of inbreeding of an individual was described according to Wright's F-statistic [24]. Calculation of the frequencies of allelic and genotypic variants, the level of genetic variability was processed in “Biosys-1” [25].

To evaluate the level of somatic mutagenesis, a micronucleus test was performed in peripheral blood cells of three groups of Amur carp and a group of scaly common carp. Blood was collected from the caudal vein with a sterile syringe. Two drops of physiological solution and a drop of blood were placed on pre-degreased slides, the smears were prepared by the crushed drop method and dried in air [26, 27]. The samples were fixed with methyl alcohol (30 min.), stained according to the Romanovsky method with standard Giemsa dye (3–4 h.). The frequency of erythrocytes with micronuclei (EMN), mononuclear lymphocytes with micronu-

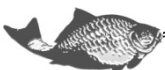
МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єкт досліджень — оцінка рівня мінливості генетичної структури амурського сазана за білковими та цитогенетичними параметрами. Амурський сазан був відібраний протягом 2009–2016 рр. у чотирьох господарствах України: ТзОВ «Карпатський водограй» Львівської обл. (n=29), ВАТ «Сумирибгосп» Сумської обл. (n=32), ДП ДГ «Великий Любін» Львівської обл. (n=32) та СФГ «Джерело» Рівненської обл. (n=15).

Відбір крові проводили з хвостової вени стерильним шприцом. В якості консерванту використовували гепарин з розрахунку 25 МО на 1 мл крові. Проводили електрофоретичний розподіл білкових систем крові — локусів трансферину (TF), альбуміну (ALB) і естерази (EST, 3.1.1.1) у поліакриламідному гелі з власними модифікаціями з наступним гістохімічним фарбуванням гелевих пластинок [20–22].

Відхилення генотипових частот від стану рівноваги оцінювали згідно з критерієм Пірсона (χ^2) [23]. Рівень інбридингу особини описано згідно з F-статистикою Райта [24]. Підрахунок частот алельних і генотипових варіантів, рівень генетичної мінливості опрацьовано з використанням програми «Biosys-1» [25].

Для оцінки рівня соматичного мутагенезу проводили мікроядерний тест в клітинах периферійної крові трьох груп амурського сазана та групи лускатого коропа. Кров відбирали з хвостової вени стерильним шприцом. На попередньо знежирені предметні скельця наносили дві краплі фізрозчину і краплю крові; мазки готували методом роздавленої краплі та сушили на повітрі [26, 27]. Зразки фіксували метиловим спиртом (30 хв), фарбували за методом Романовського стандартним барвником Гімза (3–4 год). На препаратах підраховували частоту еритроцитів із мікро-



clei (LMN), binuclear lymphocytes (BNL) were counted on the slides in at least in 1000 cells. A Primo Star Zeiss binocular microscope with 100×/1.25 magnification was used to analyse cells. The obtained results were expressed in ppm (%). The results of the study were processed using mathematical statistics in MS Excel (t-test).

STUDY RESULTS AND THEIR DISCUSSION

A analysis of the genetic structure of pedigree groups of Amur carp grown in different farms was carried out. The analysis of allele distribution showed a significant frequency of the Tf C₂ allele (0.390) in the group of Amur carps from SE EF “Velyky Lyubin” and the Tf C₁ allele (0.391) in fish from JSC “Sumyrybhosp” (Table 1).

At the albumin locus, a significant frequency of the slow-migrating Alb B allele was observed in the group of carp from “Karpatsky Vodogray” LLC (0.690) and from JSC “Sumyrybhosp” (0.719), compared to the fast-migrating Alb A allele.

The frequency of both alleles at the esterase locus in the studied groups of fish was similar and did not differ significantly in carp from SE EF “Velyky Lyubin” and JSC “Sumyrybhosp”. In contrast to the

ядрами (ЕМЯ), одноядерних лімфоцитів із мікроядрами (ЛМЯ), двоядерних лімфоцитів (ДЛ) не менше, ніж у 1000 клітин. Для аналізу клітин використовували бінокулярний мікроскоп «Primo Star Zeiss» зі збільшенням 100×/1,25. Одержані результати виражали в проміле (%). Результати досліджень були опрацьовані методами математичної статистики у програмі Excel (t_{st} — критерій Стьюдента).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Проведено аналіз генетичної структури племінних груп амурського сазана, якого вирощують у різних господарствах. Аналіз розподілу алелів показав значну частоту алелю Tf C₂ (0,390) у групі сазана з ДГ «Великий Любін» та алелю Tf C₁ (0,391) у сазанів з ВАТ «Сумирибгосп» (табл. 1).

За локусом альбуміну відмічалась значна частота повільномігруючого алелю Alb B у групі сазанів з ТзОВ «Карпатський водограй» (0,690) та сазанів з ВАТ «Сумирибгосп» (0,719), порівняно із швидкомігруючим алелем Alb A.

У досліджених груп риб частота обох алелів за локусом естерази була подібною і помітно не відрізнялась у сазанів з ДП ДГ «Великий Любін» та ВАТ «Сумирибгосп», на відміну від

Table 1. Distribution of allelic frequencies in Amur carp

| Locus | Alleles | Allele frequency | | |
|-------|---------|----------------------------------|--------------------------|------------------------------|
| | | «Karpatskyi Vodogray» LLC (n=29) | JSC «Sumyrybhosp» (n=32) | SE EF «Velyky Lyubin» (n=32) |
| TF | A | 0.276 | 0.109 | 0.078 |
| | B | 0.207 | 0.109 | 0.266 |
| | C1 | 0.190 | 0.391 | 0.266 |
| | C2 | 0.190 | 0.234 | 0.390 |
| | D | 0.138 | 0.156 | 0 |
| ALB | A | 0.310 | 0.281 | 0.484 |
| | B | 0.690 | 0.719 | 0.516 |
| EST | F | 0.707 | 0.438 | 0.422 |
| | S | 0.293 | 0.562 | 0.578 |



EVALUATION OF THE GENETIC VARIABILITY OF PEDIGREE STOCKS
OF AMUR CARP (*CYPRINUS RUBROFUSCUS* LACÉPÈDE, 1803)

group from the “Karpatskyi Vodogray” LLC, where the fast-migrating Est F (0.707) significantly predominated.

The equilibrium state of the genetic structure according to the distribution of genotypes of three loci was observed only in carp from “Karpatskyi Vodogray” LLC. There were statistically significant differences in the distribution of actual and expected genotypes in groups of carp from JSC “Sumyrybhosp” for all studied loci ($P < 0.01 - < 0.05$) and in the group from “Veliky Lyubin” for the TF locus ($P < 0.05$) and the EST locus ($P < 0.001$) (Table 2).

Heterozygosity is an important param-

групи з ТзОВ «Карпатський водограй», де значно переважав швидкомігруючий Est F (0,707).

Рівноважний стан генетичної структури за розподілом генотипів трьох локусів був лише у сазанів з ТзОВ «Карпатський водограй». Відмічались статистично достовірні відмінності за розподілом фактичних і очікуваних генотипів у груп сазана з ВАТ «Сумирибгосп» за всіма дослідженими локусами ($P < 0,01 - < 0,05$) та у групі з ДП ДГ «Великий Любін» за локусом TF ($P < 0,05$) і локусом EST ($P < 0,001$) (табл. 2).

Table 2. Distribution of actual (Go) and expected (Ge) genotypes of Amur carp

| Locus | Genotypes | «Karpatskyi Vodogray» LLC | | JSC «Sumyrybhosp» | | SE EF «Velyky Lyubin» | |
|-------|-------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|
| | | Go | Ge | Go | Ge | Go | Ge |
| TF | AA | 1 | 2.105 | 2 | 0.333 | 1 | 0.159 |
| | AB | 4 | 3.368 | 0 | 0.778 | 0 | 1.349 |
| | AC ₁ | 6 | 3.088 | 1 | 2.778 | 0 | 1.349 |
| | AC ₂ | 3 | 3.088 | 2 | 1.667 | 3 | 1.984 |
| | AD | 1 | 2.246 | 0 | 1.111 | – | – |
| | BB | 0 | 1.158 | 2 | 0.333 | 0 | 2.159 |
| | BC ₁ | 1 | 2.316 | 2 | 2.778 | 8 | 4.587 |
| | BC ₂ | 2 | 2.316 | 1 | 1.667 | 9 | 6.746 |
| | BD | 5 | 1.684 | 0 | 1.111 | – | – |
| | C ₁ C ₁ | 1 | 0.965 | 3 | 4.762 | 2 | 2.159 |
| | C ₁ C ₂ | 2 | 2.123 | 8 | 5.952 | 5 | 6.746 |
| | C ₁ D | 0 | 1.544 | 8 | 3.968 | – | – |
| | C ₂ C ₂ | 2 | 0.965 | 1 | 1.667 | 4 | 4.762 |
| | C ₂ D | 0 | 1.544 | 2 | 2.381 | – | – |
| DD | 1 | 0.491 | 0 | 0.714 | – | – | |
| | | $\chi^2=17.349$; $P=0.067$; ns | | $\chi^2=27.85$; $P=0.002$; ** | | $\chi^2=13.713$; $P=0.033$; * | |
| EST | FF | 15 | 14.386 | 2 | 6,0 | 1 | 5,571 |
| | FS | 11 | 12.228 | 24 | 16,0 | 25 | 15,857 |
| | SS | 3 | 2.386 | 6 | 10,0 | 6 | 10,571 |
| | | | $\chi^2=0.308$; $P=0.579$; ns | | $\chi^2=8.267$; $P=0.004$; ** | | $\chi^2=10.999$; $P=0.001$; *** |
| ALB | AA | 1 | 2.684 | 0 | 2,429 | 5 | 7,381 |
| | AB | 16 | 12.632 | 18 | 13,143 | 21 | 16,238 |
| | BB | 12 | 13.684 | 14 | 16,429 | 6 | 8,381 |
| | | | $\chi^2=2.162$; $P=0.141$; ns | | $\chi^2=4.583$; $P=0.032$; * | | $\chi^2=2.841$; $P=0.092$; ns |

Note. * $P < 0.05$ – significant level of statistical differences; ** $P \leq 0.01$ – high level of statistical significance; *** $P \leq 0.001$ – maximum level of statistical significance; ns – no statistically significant differences were detected.



eter in assessing the genetic status of the studied fish stocks. As is known, the mutation process, various types of selection, gene drift and other factors of population dynamics often affect the heterozygosity of the population, especially with limited gene flow, so its evaluation is a necessary condition in population studies [28]. The highest level of average heterozygosity was found in the group of Amur carp from SE EF “Velyky Lyubin”, which was 74%, compared to the expected 57.1%. At the same time, the fixation index had a negative value of $F_{is} = -0.344$, which indicates a high level of heterozygosity of the studied group of Amur carp (Fig. 1).

Among the studied groups, the lowest level of heterozygosity was observed in Amur carp from “Karpatskyi Vodogray” LLC, which was 58.6% and did not significantly differ from the expected one $H_e = 55.4\%$.

The equilibrium state of the studied group of Amur carp according to the actual and expected values of the heterozygosity level was confirmed by a slight negative value of the fixation index ($F_{is} = -0.084$).

Further, a cytogenetic evaluation of the

Важливим параметром при оцінці генетичного стану досліджуваних стад риб є гетерозиготність. Як відомо, мутаційний процес, різні типи відбору, дрейф генів та інші чинники популяційної динаміки часто впливають на гетерозиготність популяції, особливо при обмеженому потоці генів, тому її оцінка є необхідною умовою в популяційних дослідженнях [28]. Найвищий рівень середньої гетерозиготності виявлений у групі амурського сазана з ДП ДГ «Великий Любін» — 74%, порівняно з очікуваним 57,1%. Індекс фіксації при цьому мав від’ємне значення $F_{is} = -0,344$, що вказує на високий рівень гетерозиготності дослідженої групи амурського сазана (рис. 1).

З досліджених груп найнижчий рівень гетерозиготності присутній у амурського сазана з ТЗОВ «Карпатський водограй», де даний показник становив 58,6% та помітно не відрізнявся від очікуваного $H_e = 55,4\%$. Рівноважний стан досліджуваної групи амурського сазана за фактичним та очікуваним значеннями рівня гетерозиготності підтверджувався незначним від’ємним значенням

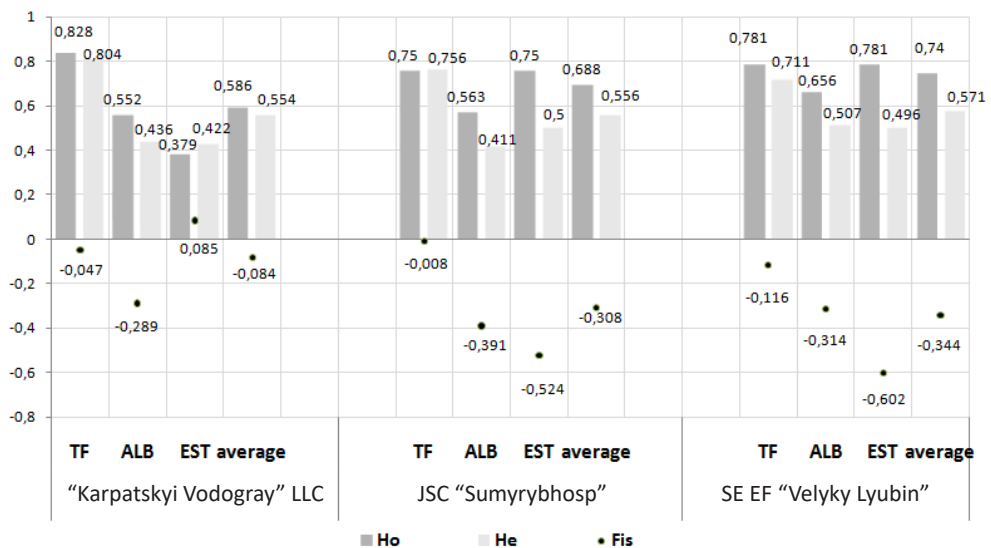


Fig. 1. Actual (H_o), expected (H_e) levels of heterozygosity and fixation index (F_{is}) in Amur carp



Amur carp grown in ponds of “Karpatskyi Vodogray” LLC of the Lviv region was carried out (Fig. 2).

The results of the cytogenetic analysis showed that the studied group of carp was characterized by a relatively high level of erythrocytes with micronuclei ($4.7 \pm 0.3 \%$), but it is worth noting that this group of fish was characterized by low values of lymphocytes with micronuclei (Fig. 2) and binuclear lymphocytes, the total number of which was ($3.5 \pm 0.3 \%$), which indicated normal breeding conditions. The increased level of apoptosis ($5.6 \pm 0.4 \%$) in peripheral blood cells of the Amur carp is the result of the elimination of mutant lymphocytes by this way.

In order to establish the species-specific dependence of the level of cytogenetic parameters of fish artificially reproduced in the conditions of the fish farm of JSC “Sumyrybhos” of the Sumy region, a comparative analysis of the results of the micronucleus test and the frequencies of apoptosis of Amur carp and scaly common carp was performed. These objects were not chosen by chance, since the wild ancestor of the common carp is the wild carp,

індексу фіксації ($Fis = -0,084$).

Далі у наших дослідженнях було проведено цитогенетичну оцінку амурського сазана, вирощеного в ставках ТзОВ «Карпатський водограй» Львівської обл. (рис. 2).

Результати цитогенетичного аналізу показали, що досліджувана група сазана характеризувалася відносно підвищеним рівнем еритроцитів з мікроядрами ЕМЯ ($4,7 \pm 0,3\%$). Проте, варто зазначити, що для цієї групи риб характерні невисокі значення лімфоцитів з мікроядрами (рис. 2) та двоядерних лімфоцитів, загальна кількість яких становила ($3,5 \pm 0,3\%$), що свідчить про нормальні умови розведення. Підвищений рівень апоптозу ($5,6 \pm 0,4\%$) в клітинах периферійної крові амурського сазана є результатом елімінації мутантних лімфоцитів даним шляхом.

З метою встановлення видоспецифічної залежності рівня цитогенетичних показників риб, штучно відтворюваних в умовах рибного господарства ВАТ «Сумирибгосп» Сумської обл. ,було виконано порівняльний аналіз результатів мікроядерного тесту та частот апоптозів амурського сазана та лускатого коропа.

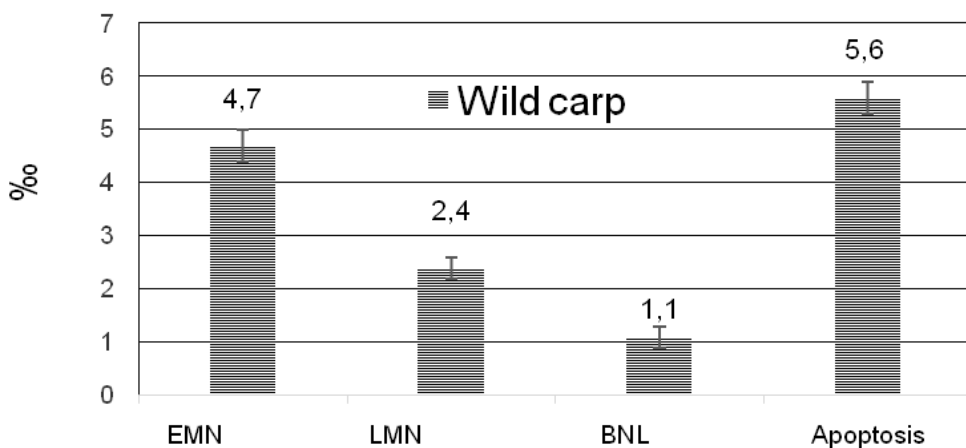
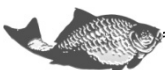


Fig. 2. Level of cytogenetic parameters in the peripheral blood cells of Amur carp from the fish farm of “Karpatskyi Vodogray” LLC (EMN – erythrocytes with micronuclei; LMN – lymphocytes with micronuclei; BNL – binuclear lymphocytes)



and among various species of carp, as our studies previously found [29], the scaly common carp is characterized by a more stable chromosomal apparatus compared to mirror and framed carps (Fig. 3).

At the same time, it can be said that the intergroup differences according to these parameters were insignificant, since no statistically significant differences according to cytogenetic parameters were found. By the number of apoptoses, Amur carp, on the contrary, was characterized by higher values compared to common carp. Since mutant cells are eliminated by apoptosis, in our opinion, the lower rates of EMN, LMN, and BNL are related to this process.

To determine the dependence of the level of cytogenetic variability of Amur carp on the conditions of cultivation, a comparative analysis of the results of the micronucleus test on the frequency of apoptosis in groups of Amur carp from the "Karpatskyi Vodogray" LLC of the Lviv region and JSC "Sumyrybhosp" of the Sumy region was carried out (Table 3).

The results of the cytogenetic analysis showed that the group of carps from the farm of "Karpatskyi Vodogray" LLC was characterized by an increased level of erythrocytes with micronuclei (4.7

Дані об'єкти були обрані не випадково, оскільки диким предком коропа є сазан, а серед різних порід коропа згідно з результатами наших попередніх досліджень [29], лускатий короп характеризується більш стабільним хромосомним апаратом, порівняно з дзеркальним та рамчастим (рис. 3).

В той же час, можна сказати, що міжгрупові відмінності за даними показниками незначні, оскільки статистично достовірної різниці за цитогенетичними параметрами не було виявлено. За кількістю апоптозів сазан, навпаки, характеризувався вищими значеннями, порівняно з коропом. Оскільки шляхом апоптозу елімінуються мутантні клітини, на нашу думку, нижчі показники за частотою ЕМЯ, ЛМЯ, та ДЛ пов'язані саме з цим процесом.

Для встановлення залежності рівня цитогенетичної мінливості сазана від умов вирощування був використаний порівняльний аналіз результатів мікроядерного тесту на частоту апоптозів у групах амурського сазана з ТЗОВ «Карпатський водограй» Львівської обл. та ВАТ «Сумирибгосп» Сумської обл. (табл. 3).

Результати цитогенетичного аналізу показали, що група сазана з госпо-

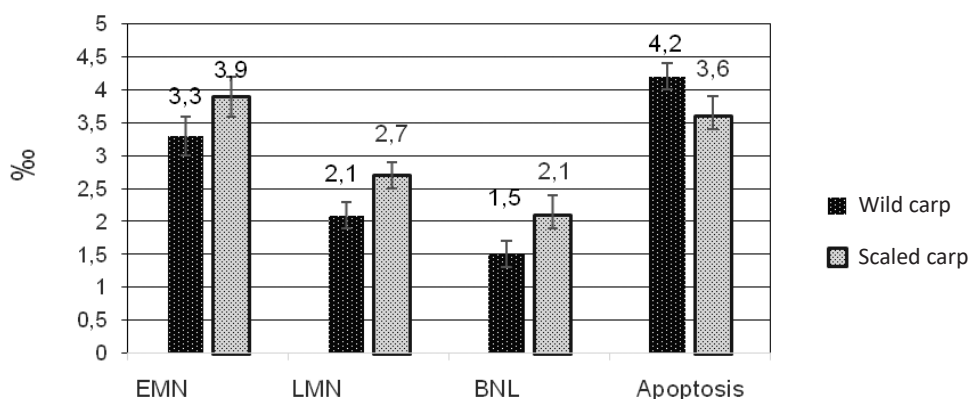


Fig. 3. Cytogenetic parameters of Amur carp and Ukrainian scaly common carps from fish farm of JSC "Sumyrybhosp"



Table 3. Cytogenetic characteristics of Amur carp from three fish farms from different regions of Ukraine

| Enterprise | EMN | LMN | BNL | Apoptosis |
|---------------------------|---------|---------|---------|-----------|
| JSC "Sumyrybhosп" | 3.3±0.3 | 2.1±0.2 | 1.5±0.2 | 4.2±0.3 |
| "Karpatskyi Vodogray" LLC | 4.7±0.3 | 2.4±0.2 | 1.1±0.2 | 5.6±0.4* |
| PFE "Dzherelo" | 3.2±0.3 | 1.9±0.1 | 1.8±0.1 | 4.3±0.3 |

Note. *P<0.05.

± 0.3 %) compared to the group of JSC "Sumyrybhosп" of the Sumy region and PFE "Dzherelo" of the Rivne region. According to the frequency of genetically defective lymphocytes, all groups were characterized by low values that indicated a lower negative effect of a complex of exogenous factors on their immune system and relatively favorable breeding conditions. Statistically significant intergroup differences were observed in the frequency of apoptosis. A relatively high level of apoptosis in peripheral blood cells of carps of "Karpatskyi Vodogray" LLC (5.6 ± 0.4 %) is the result of the elimination of genetically defective cells and may indicate a lower negative pressure of a complex of exogenous and endogenous factors on the genetic apparatus of Amur carp of JSC "Sumyrybhosп" and PFE "Dzherelo".

CONCLUSION AND PERSPECTIVES OF FURTHER DEVELOPMENT

A comprehensive analysis of the variability of the genetic structure of Amur carp from the farms of Ukraine according to protein systems and cytogenetic parameters was carried out.

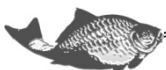
According to the obtained results, an unbalanced state of the genetic structure was found in the group of carp from SE EF "Velyky Lyubin", where the frequency of heterozygous individuals was $H_o = 74\%$ and it was significantly different from

дарства ТзОВ «Карпатський водограй» характеризувалася підвищеним рівнем еритроцитів з мікроядрами ЕМЯ (4,7±0,3%), порівняно з групою ВАТ «Сумирибгосп» Сумської обл. та СФГ «Джерело» Рівненської обл. За частотою генетично дефектних лімфоцитів, всі групи характеризувались невисокими показниками, що свідчить про меншу негативну дію комплексу екзогенних чинників на їх імунну систему та відносно сприятливі умови розведення. Статистично достовірні міжгрупові відмінності спостерігали за частотою апоптозів. Відносно підвищений рівень апоптозу в клітинах периферійної крові сазана ТзОВ «Карпатський водограй» (5,6±0,4%) є результатом елімінації генетично дефектних клітин та може свідчити про менший негативний тиск комплексу екзогенних та ендогенних чинників на генетичний апарат амурського сазана ВАТ «Сумирибгосп» та СФГ «Джерело».

ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШОГО РОЗВИТКУ

Проведено комплексний аналіз мінливості генетичної структури амурського сазана з господарств України за білковими системами та цитогенетичними показниками.

За результатами досліджень виявлено нерівноважний стан генетичної структури в групі сазана з ДП ДГ «Великий Любін», де частота гетерозиготних особин становила $H_o = 74\%$, значно відрізняючись від очікуваної ($H_e = 57,1\%$), а показник, який свідчить про



the expected one ($H_e = 57.1\%$), while the parameter indicating the superiority of heterozygotes was the maximum ($F_{is} = -0.344$) compared to groups from other farms. Violation of the genetic balance due to the predominance of heterozygous individuals was observed in carps from JSC “Sumyrybhosп” ($F_{is} = -0.308$) and the group of Amur carps from “Karpatskyi Vodogray” LLC ($F_{is} = -0.084$).

A comparative analysis of the results of the micronucleus test in peripheral blood cells of Amur carp and scaly common carp grown in the conditions of JSC “Sumyrybhosп” showed that Amur carp was characterized by a lower frequency of EMN ($3.3 \pm 0.3\%$), LMN ($2.1 \pm 0.2\%$) and BNL ($1.5 \pm 0.2\%$), which indicated a more stable genetic apparatus of Amur carp.

It was found that the group of Amur carp of “Karpatskyi Vodogray” LLC was characterized by higher values for the frequency of EMN (4.7 ± 0.3), LMN (2.4 ± 0.2) and a slightly increased frequency of apoptosis ($5.6 \pm 0.4\%$) compared to the stock from JSC “Sumyrybhosп” and PFE “Dzherelo”, which indicated more favorable conditions in this enterprise at the time of the study.

REFERENCES

1. Martseniuk, V. M. (2019). Osoblyvosti rehuliyatsii enerhozabezpechennia adaptatsii ryb do dii abiotychnykh ta antropohennykh chynnykiv. *Candidate's thesis*. Kyiv.
2. Hrystyniak, I. I. (2008). Biologichni osoblyvosti ta faktory pidvyshchennia produktyvnosti koropiv liubinskykh vnutrishnoporidnykh typiv, yikh pomisei ta hibrydiv. *Doctor's thesis*. Kyiv.
3. Jiang, Y., Yu, M., Dong, C., Xu, J., Chang, S., Zhang, Q., Feng, J., Zhang, H., Zhu, Y., & Wu, B. (2022). Genomic features of common carp that are relevant for resistance against *Aeromonas hydrophila*

перевагу гетерозигот, був максимальним ($F_{is} = -0,344$), порівняно з групами з інших господарств. Порушення генетичної рівноваги через переважання гетерозиготних особин спостерігалось у сазанів з ВАТ «Сумирибгосп» ($F_{is} = -0,308$) та групи амурського сазана з ТзОВ «Карпатський водограй» ($F_{is} = -0,084$).

Порівняльний аналіз результатів мікроядерного тесту в клітинах периферійної крові амурського сазана та коропа лускатого, вирощених в умовах господарства ВАТ «Сумирибгосп», показав, що сазан характеризується нижчою частотою ЕМЯ ($3,3 \pm 0,3\%$), ЛМЯ ($2,1 \pm 0,2\%$) та ДЛ ($1,5 \pm 0,2\%$), що свідчить про більш стабільний генетичний апарат амурського сазана.

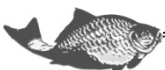
Встановлено, що група амурського сазана ТзОВ «Карпатський водограй» характеризувалась вищими значеннями за частотою ЕМЯ ($4,7 \pm 0,3$), ЛМЯ ($2,4 \pm 0,2$) та дещо підвищеною частотою апоптозу ($5,6 \pm 0,4\%$), порівняно зі стадом з ВАТ «Сумирибгосп» та СФГ «Джерело», що свідчить про більш сприятливі умови у даному рибному господарстві на час проведення досліджень.

ЛІТЕРАТУРА

1. Марценюк В. М. Особливості регуляції енергозабезпечення адаптації риб до дії абіотичних та антропогенних чинників : дис. ... кандидата біол. наук : 06.02.03. Київ, 2019. 225 с.
2. Грициняк І. І. Біологічні особливості та фактори підвищення продуктивності коропів любінських внутрішньопорідних типів, їх помісей та гібридів : дис. ... доктора с-г. наук : 06.02.03. Київ, 2008. 264 с.
3. Genomic features of common carp that are relevant for resistance against *Aeromonas hydrophila* infection / Jiang Y. et al. // *Aquaculture*. 2022. P. 547—559.



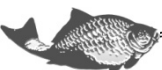
- infection. *Aquaculture*, 547-559.
- Songhuan, Chang, Jiali, Wang, Chuanju, Dong, & Yanliang, Jiang. (2023). Intestinal microbiota signatures of common carp (*Cyprinus carpio*) after the infection of *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture Reports*, 30.
 - Xian-Liang, Zhao-Hui, JIN, Gui-Lan, DI, Li, LI, & Xiang-Hui, Kong. (2019). Molecular characteristics, pathogenicity and medication regimen of *Aeromonas hydrophila* isolated from common carp (*Cyprinus carpio* L.). *J Vet Med Sci.*, 81(12), 1769-1775. DOI: <https://10.1292/jvms.19-0025>.
 - Tarasiuk, S. I., Bochkov, V. M., Postoienko, D. M., & Mariutsa, A. E. (2021). Adaptivni osoblyvosti henetychnoi struktury sazana amurskoho. *Tsili staloho rozvytku tretoho tysiacholittia: vyklyky dlia universytetiv nauk pro zhyttia: materialy mizhnarodno-naukovoi konferentsii*, 3, 335-337.
 - Solopova, Kh. Ya. (2021). Stan antyoksydantnoi y imunnoi system u koropiv, urazhenykh aeromonozom i saprolehnirozom, ta yikh likuvannia. *Candidate's thesis*. Lviv.
 - Borysenko, N. O., Mariutsa, A. E., & Bielikova, O. Yu. (2023). Porivnialnyi analiz henetychnoi struktury luskatykh ta ramchastykh koropiv PrAT Chernihivrybhosp. *Rozvedennia i henetyka tvaryn*, 65, 168-176. DOI: <https://doi.org/10.31073/abg.65.15>.
 - Mariutsa, A. E., Borysenko, N. O., Hancevych, B. O., & Bielikova, O. Yu. (2023). Analiz henetychnoi struktury ukrainskykh porid koropiv z vykorystannia bilkovykh markeriv. *Visnyk ahrarynykh nauk*, 4 (841), 52-57.
 - Bielikova, O., Zaloilo, O., Tarasjuk, S., Mruk, A., & Romanenko, V. (2019). Genetic structure of the Chernivtsi local stock of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as determined by SSR-markers *Faktyry eksperymentalnoi evoly-*
 - Intestinal microbiota signatures of common carp (*Cyprinus carpio*) after the infection of *Aeromonas hydrophila* / Songhuan Chang et al. // *Aquaculture Reports*. 2023. Vol. 30. 101585.
 - Molecular characteristics, pathogenicity and medication regimen of *Aeromonas hydrophila* isolated from common carp (*Cyprinus carpio* L.) / Xian-Liang et al. // *J Vet Med Sci*. 2019. Vol. 81(12). P. 1769—1775. DOI : <https://10.1292/jvms.19-0025>.
 - Адаптивні особливості генетичної структури сазана амурського / Тарасюк С. І. та ін. // Цілі сталого розвитку третього тисячоліття: виклики для університетів наук про життя : Міжнар. наук. конф. : матер. Київ, 2021. Т. 3. С. 335—337.
 - Солопова Х. Я. Стан антиоксидантної й імунної систем у коропів, уражених аеромонозом і сапролегніозом, та їх лікування : дис. ... кандидата вет. наук : 03.00.04. Львів, 2021. 200 с.
 - Борисенко Н. О., Маріуца А. Е., Білікова О. Ю. Порівняльний аналіз генетичної структури лускатих та рамчастих коропів ПрАТ «Чернігіврибгосп» // Розведення і генетика тварин. 2023. Вип. 65. С. 168—176. DOI : <https://doi.org/10.31073/abg.65.15>.
 - Аналіз генетичної структури українських порід коропів з використання білкових маркерів / Маріуца А. Е. та ін. // Вісник аграрних наук. 2023. № 4 (841). С. 52—57.
 - Genetic structure of the Chernivtsi local stock of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) as determined by SSR-markers / Bielikova O. et. al. // Фактори експериментальної еволюції організмів. 2019. Т. 25. DOI : <https://doi.org/10.7124/FEEO.v25.1134>.
 - Клименко М. О., Бедункова О. О. Біоіндикація стану гідросистем за морфологічними та цитогенетичними характеристиками гомеостазу



- utsii organizmiv*, 25. DOI: <https://doi.org/10.7124/FEEO.v25.1134>.
11. Klymenko, M. O., & Biedunkova, O. O. (2017). *Bioindykatsiia stanu hidrosystem za morfolohichnymy ta tsytohenetychnymy kharakterystykamy homeostazu ryb: monohrafiia*. Rivne: NUVHIP.
 12. Hrytsyniak, I. I., Tarasiuk, S. I., Zaloilo, O. V., Mariutsa, A. E., Hlushko, Yu. M., & Habuda, O. A. (2018). Henetychna struktura sazana amurskoho TzOV Karpatskyi vodohrai. *Visnyk ahrarnoi nauky*, 7, 37-45. DOI: <https://10.31073/agrovisnyk201807-06>.
 13. Kohlmann, K., Gross, R., Murakaeva A., & Kersten P. (2003). Genetic variability and structure of common carp (*Cyprinus carpio*) populations throughout the distribution range inferred from allozyme, microsatellite and mitochondrial DNA markers. *Aquatic Living Resources*, 16(5), 421-431. DOI: [https://10.1016/S0990-7440\(03\)00082-2](https://10.1016/S0990-7440(03)00082-2).
 14. Nedoluzhko, A. V., & Gladysheva-Azgari, M. V. (2021). Genetic contribution of domestic European common carp (*Cyprinus carpio carpio*) and Amur carp (*Cyprinus carpio haematopterus*) to the wild Vietnamese carp population as revealed by ddRAD sequencing. *Aquaculture*, 544.
 15. Desvignes, Jean-Francois, Jean, Laroche, & Jean-Dominique, Durand (2021). Genetic variability in reared stocks of common carp (*Cyprinus carpio* L.) based on allozymes and microsatellites. *Aquaculture*, 194(3), 291-301. DOI: [https://10.1016/S0044-8486\(00\)00534-2](https://10.1016/S0044-8486(00)00534-2).
 16. Obiakor, M. O., Okonkwo, J. C., & Nnabude, P. (2012). Chigozie Damian Ezeonyejiaku Eco-genotoxicology: micronucleus assay in fish erythrocytes as *In situ* Aquatic Pollution Biomarker. *J Anim Sci Adv.*, 2(1), 123-133.
 - риб : монографія. Рівне : НУВГП, 2017. 302 с.
 12. Генетична структура сазана амурського ТзОВ «Карпатський водограй» / Грициняк І. І. та ін. // Вісник аграрної науки. 2018. № 7. С. 37—45. DOI : 10.31073/agrovisnyk201807-06.
 13. Genetic variability and structure of common carp (*Cyprinus carpio*) populations throughout the distribution range inferred from allozyme, microsatellite and mitochondrial DNA markers / Kohlmann K. et al. // Aquatic Living Resources. 2003. Vol. 16(5). P. 421—431. DOI : [https://10.1016/S0990-7440\(03\)00082-2](https://10.1016/S0990-7440(03)00082-2).
 14. Nedoluzhko A. V., Gladysheva-Azgari M. V. Genetic contribution of domestic European common carp (*Cyprinus carpio carpio*) and Amur carp (*Cyprinus carpio haematopterus*) to the wild Vietnamese carp population as revealed by ddRAD sequencing // Aquaculture. 2021. Vol. 544.
 15. Jean-Francois Desvignes, Jean Laroche Jean-Dominique. Durand Genetic variability in reared stocks of common carp (*Cyprinus carpio* L.) based on allozymes and microsatellites // Aquaculture. 2001. P. 291—301 DOI : [https://10.1016/S0044-8486\(00\)00534-2](https://10.1016/S0044-8486(00)00534-2).
 16. Eco-genotoxicology: micronucleus assay in fish erythrocytes as *In situ* Aquatic Pollution Biomarker / Obiakor M. O. et al. // J Anim Sci Adv. 2012. Vol. 2(1). P. 123—133.
 17. Kamel Ahmad, Jaber Salehl. Clastogenic studies on Tandaha Dam water in Asser // Mediterranean Environment. 2010. Vol. 16, № 1. P. 33—42.
 18. Protocol for the single cell gel electrophoresis/comet assay for rapid genotoxicity assessment / Dhawan A. et al. // Developmental Toxicology Division Industrial Toxicology Research Centre Marg. 2009. № 3. P. 38—52.



17. Kamel, Ahmad, & Jaber, Salehl. (2010). Clastogenic studies on Tandaha Dam water in Asser. *Mediterranean Environment*, 16, 1, 33-42.
18. Dhawan, A., Bajpayee, M., Pandey, A. K., & Parmar, D. (2009). *Protocol for the single cell gel electrophoresis/comet assay for rapid genotoxicity assessment*. Lucknow: Developmental Toxicology Division Industrial Toxicology Research Centre Marg.
19. Mariutsa, A. E., Nahorniuk, T. A., & Hlushko, Yu. M. (2023) Peculiarities of genetic variability of valuable fish species. *Achievements and research prospects in animal husbandry and veterinary medicine : Scientific monograph*. Riga, Latvia: Baltija Publishing.
20. Davis, B. J. (1964). Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. *Annals of the New York Academy of Sciences*.
21. Shaklee, J. B., et al. (1990). Gene nomenclature for protein-coding loci in fish. *Transactions of the American Fisheries Society*.
22. Топтіков, В. А., Yershova, O. M., Kovtun, O. O., Lavrenyuk, T. I., & Toczkyj, V. M. (2017). *Genetyko-biohimichni doslidzhennya adaptivnosti tvaryn ta yix ugrupovan` : navchal`no-metodychny`j posibnyk*. Odesa: Odes`ky`j nacional`ny`j universytet imeni I. I. Mechny`kova.
23. Трофименко, О. Л., Гыл` М. І., & Сметана, О. Ю. (2018). *Genetyka populyacij: pidruchny`k*. Mykolayiv: Gel`vetyka.
24. Wright, S. (1951). The genetical structure of populations. *Ann. Eugenics*, 15(4), 323-354.
25. Swofford, D. L., & Selander, R. B. (1981). BIOSYS-1: Fortain programm for the comprehensive analysis of electroforetic data in population genetics and systematics *J. Heredity*, 72, 281-283.
26. Stoika, Yu. O., Haranko, N. M., & Arkhynchuk, V. V. (2001). Rozrobka
19. Mariutsa A. E., Nahorniuk T. A., Hlushko Yu. M. Peculiarities of genetic variability of valuable fish species // Achievements and research prospects in animal husbandry and veterinary medicine : scientific monograph. Riga, Latvia : Baltija Publishing, 2023. 476 p.
20. Davis B. J. Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins // Annals of the New York Academy of Sciences. 1964. Vol. 121. P. 404—408.
21. Gene nomenclature for protein-coding loci in fish / Shaklee J. B. et al. // Transactions of the American Fisheries Society. 1990. Vol. 119. P. 2—15.
22. Генетико-біохімічні дослідження адаптивності тварин та їх угруповань : навчально-методичний посібник / Топтіков В. А. та ін. // Одеса : Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, 2017. 140 с.
23. Трофименко О. Л., Гиль М. І., Сметана О. Ю. Генетика популяцій : підручник. Миколаїв : Гельветика, 2018. 254 с.
24. Wright S. The genetical structure of populations // Ann. Eugenics. 1951. Vol. 15(4). P. 323—354. DOI: <https://10.1111/1/j.1469-1809.1949.tb02451.x>.
25. Swofford D. L., Selander R. B. BIOSYS-1: Fortain programm for the comprehensive analysis of electroforetic data in population genetics and systematics // J. Heredity. 1981. Vol. 72. P. 281—283.
26. Стойка Ю. О., Гаранько Н. М., Архипчук В. В. Розробка прижиттєвого мікроядерного тесту на рибках // Наукові записки Тернопільського державного педагогічного університету ім. В. Гнатюка. 2001. Вип. 4 (15). С. 157—159. (Серія : Біологія).
27. Дзіцюк В. В., Братиця Х. Т., Гузеватий О. Є. Атлас хромосом сільськогосподарських та домашніх тварин. Київ : Аграрна наука, 2022. 128 с.



- pryzhyttievoho mikroiadernoho testu na rybakh. *Naukovi Zapysky – Scientific notes*, 4, 15-16.
27. Dzitsiuk, V. V., Bratytsia, Kh. T., & Huzevatyi, O. Ye. (2022). *Atlas khromosom silskohospodarskykh ta domashnikh tvaryn*. Kyiv: Ahrarna nauka.
28. Hrytsyniak, I. I., Mariutsa, A. E., Borysenko, N. O., & Tushnytska, N. Y. (2021). Zastosuvannia molekuliarno – henetychnykh markeriv v rybnytstvi. *Formuvannia novoi paradyhmy rozvytku ahropromyslovoho sektoru v XXI stolitti: Kolektyvna monohrafiia*. Kherson.
29. Hlushko, Yu. M., & Tarasiuk, S. I. (2012). Analiz henetychnoi struktury ukrainskykh koropiv ramchatoi ta luskatnoi porid. *Problemy ekolohichnoi biotekhnolohii*, 2, 54-70.
28. Грициняк І. І. Застосування молекулярно-генетичних маркерів в рибицтві // Формування нової парадигми розвитку агропромислового сектору в ХХІ столітті : колективна монографія. Херсон, 2021. С. 509—537.
29. Глушко Ю. М., Тарасюк С. І. Аналіз генетичної структури українських коропів рамчатої та лускатної порід // Проблеми екологічної біотехнології. 2012. № 2. С. 54—70. URL : http://nbuv.gov.ua/UJRN/peb_2012_2_7 (дата звернення : 19.09.2023).

