



ризовалося на рівні стандарту породи. Подопытное поголовье, с учетом обхвата груди, не соответствовало требованиям стандарту породи, а именно: двухлетнее от 3,3 см (л. Барчука 2.12,0) до 7,4 см (л. Пиона 2.00,1) и трехлетнее от 2,5 см (л. Барчука 2.12,0) до 6,2 см (л. Пиона 2.00,1).

Для улучшения резвости и линейного роста будущих поколений линии Пиона 2.00,1 нужно в подборе не планировать увеличение обхвата пясти, а улучшить данные промеров косої длинны туловища и обхвата груди.

Ключевые слова: жеребцы, екстерьер, ипподром, линия, резвость, стандарт, промер, орловская порода.

#### *DYNAMICS OF LINEAR GROWTH AND EFFICIENCY OF ORLOV TROTTER BREED STALLIONS OF DOMESTIC BREEDING*

*Glushak I. I., National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine*

*Given the age of the factory lines the dynamics of agility, linear growth, and the relationship of the data selection indicators is studied. It is proved that taking into account the metacarpus data of all two- and three-year population characterized at the level of the breed standard. Experimental population, taking into account the chest circumference, did not comply with the requirements of the breed standard, namely: a two-year by 3.3 cm (l. Barchukov 2.12,0) to 7.4 cm (l. Peony 2.00,1) and a three-year 2.5 cm (l. Barchukov 2.12,0) to 6.2 cm (l. Peony 2.00,1).*

*To improve the agility and linear growth of future generations of Peony 2.00,1 line there is no need in selecting an increase in metacarpus but to improve data measurements of oblique body length and chest circumference.*

*Key words: stallions, exterior, race track, line, agility, standard, ranging, Orlov breed.*

УДК 575: 639.371.52

### **ЦИТОГЕНЕТИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА СТРОКАТОГО ТА БІЛОГО ТОВСТОЛОБИКІВ ОКРЕМИХ РИБОГОСПОДАРСТВ УКРАЇНИ**

**Глушко Ю. М., к. с.-г. н.**

Інститут рибного господарства НААН

*Проведено порівняльний аналіз рівня цитогенетичних показників (еритроцитів з мікроядрами, лімфоцитів з мікроядрами, двухядерних лімфоцитів та апоптозів) у клітинах периферійної крові дворічок строкатого та білого товстолобиків ДВСРП «Лиманське» та ДП рибгоспу «Галицький». Встановлено, що група строкатого товстолобика ДП «Галицький» характеризується вищим значенням ЕМЯ ( $2,4 \pm 0,2\%$ ), ЛМЯ ( $1,5 \pm 0,3\%$ ), ДЛ ( $1,3 \pm 0,3\%$ ) та апоптозів ( $4,7 \pm 0,3$ ) порівняно з групою ДВСРП «Лиманське». Цитогенетичний аналіз дворічок білого товстолобика також показав, що група з ДВСРП «Лиманське» характеризується нижчим рівнем за всіма показниками. Статистично достовірні міжгрупові відмінності виявлено в групах строкатого товстолобика за частотою ЕМЯ ( $P < 0,05$ ) та апоптозів ( $P < 0,01$ ).*

**Ключові слова: строкатий товстолобик, білий товстолобик, мікроядерний тест, цитогенетичні показники, геномні мутації.**



Основними чинниками, що затримують розвиток аквакультури на внутрішніх водоймах України є недостатній рівень впровадження методів генетичного моніторингу племінних ресурсів риби. Погіршення умов навколишнього середовища призводить до накопичення у рибогосподарських водоймах мутагенів, які в свою чергу підвищують мутаційний статус представників аквакультури. Зниження негативної дії таких чинників потребує розвитку експрес-методів оцінки і контролю стабільності генетичного апарату риби, оскільки розвиток методів біологічного моніторингу з використанням риби дає можливість перевірити ступінь забруднення водойми і в той час дати швидку відповідь про фізіологічний стан представників аквакультури. Саме цим обумовлена актуальність впровадження в рибогосподарську практику цитогенетичних тестів. Серед існуючих цитогенетичних методів, мікроядерний аналіз визнаний як один з найуспішніших і надійних для вивчення характеру впливу генотоксинів на генетичний матеріал живих організмів [1-4].

Облік мікроядер в інтерфазі технічно простіший та оперативніший порівняно з обліком частоти геномних мутацій та хромосомних аберацій у метафазі. Даний тест є додатковою характеристикою, яка об'єднує частину типів хромосомних аберацій, а також варіанти анеуплоїдії клітин. Для оцінки генотоксичності водойм в промислових та лабораторних умовах зазвичай використовують амфібій та риби [5]. Слід відзначити, що мікроядерний тест на рибах активно використовується в різних країнах світу, так зокрема в Туреччині, Росії, Бразилії, Польщі та ін. [6-9].

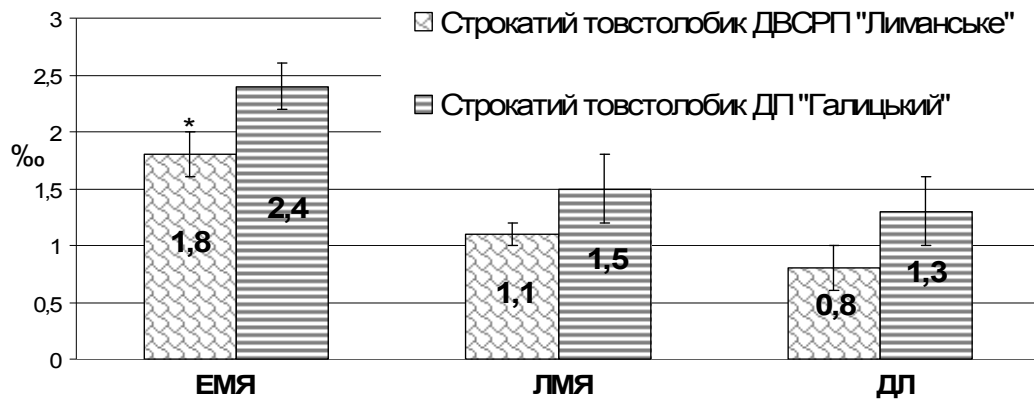
Із метою встановлення залежності рівня цитогенетичних показників риби від стану водного середовища було виконано мікроядерний тест в групах дворічок строкатих та білих товстолобиків, штучно вирощуваних у водоймах-охолоджувачах рибних господарств «Лиманське» Харківської обл. та «Галицький» Івано-Франківської обл.

**Матеріали та методи досліджень.** Для виконання цитогенетичного аналізу в червні 2013 р. у державному виробничому сільськогосподарсько-рибководному підприємстві «Лиманське» Харківської обл. та дослідному підприємстві «Галицький» Івано-Франківської обл. було відібрано по дві групи дворічок строкатого та білого товстолобика в кількості по 12 особин в кожній групі. Рибу вирощували в спеціальних садках даних господарств, організованих на базі водойм-охолоджувачів Зміївської та Бурштинської ТЕС відповідно. На господарствах у кожній особини з хвостової вени відбирали периферійну кров стерильним шприцом. На попередньо підготовані та промарковані предметні скельця наносили краплину 0,6% NaCl та крові і готували мазки методом роздавленої краплі. Підсушували препарати на повітрі та фіксували метиловим спиртом, фарбували за методом Романовського стандартним розчином Гімза. Аналізували препарати з використанням біокулярного мікроскопа "Primo Star Zeiss" зі збільшенням 100×10. На препаратах підраховували частоту еритроцитів із мікроядрами (ЕМЯ), не менше ніж у 3000 клітин, одноядерних лімфоцитів із мікроядрами (ЛМЯ), двухядерних лімфоцитів (ДЛ) та апоптозів не менше ніж у тисячі клітин [10]. Отримані дані виражали в проміле (‰). Статистичну обробку результатів проводили з використанням критерію Стюдента ( $t_s$ ).

**Результати досліджень.** Кровотворна система риби дуже чутлива до змін стану водного середовища, тому результати мікроядерного тесту в клітинах периферійної крові дають можливість більш об'єктивно оцінити вплив екзогенних генотоксичних чинників на геном риби. У попередніх дослідженнях було встановлено, що на другому році індивідуального розвитку товстолобика характеризуються



найнижчим рівнем індивідуальної мінливості за цитогенетичними показниками, порівняно з іншими віковими групами [11]. Тому для об'єктивної оцінки впливу умов існування було виконано порівняльний аналіз рівня цитогенетичних показників у дворічок строкатих товстолобиків рибних господарств ДВСРП «Лимарське» та ДП «Галицький» (рис. 1).



**Рис. 1. Рівень цитогенетичних порушень дворічок строкатого товстолобика різних рибогосподарств.**

Встановлено, що група товстолобиків ДВСРП «Лимарське» характеризується нижчим рівнем ЕМЯ ( $1,8 \pm 0,2\%$ ), ЛМЯ ( $1,1 \pm 0,1\%$ ), ДЛ ( $0,8 \pm 0,2\%$ ) порівняно з групою ДП «Галицький». Статистично достовірні міжгрупові відмінності виявлено за частотою ЕМЯ ( $P < 0,05$ ). Еритроцити товстолобиків мають чітко виражені овальної форми ядра, що дало можливість легко диференціювати нормальні клітини та генетично дефектні, де окрім основного ядра в цитоплазмі були присутні мікроядра. За частотою лімфоцитів з мікроядрами та двоядерних лімфоцитів суттєвих міжгрупових відмінностей не виявлено, проте оцінюючи сумарне значення цитогенетичних порушень в клітинах даного ряду, можна говорити про те, що на імунну систему групи з ДП «Галицький» здійснюється більший тиск зовнішніх чинників.

У роботах різних дослідників неодноразово зазначалось, що рівень цитогенетичних порушень у клітинах периферійної крові риб безпосередньо залежить не лише від екологічного стану водойми, але і від досліджуваного виду [3, 5]. У моніторингових дослідженнях Ферга та Ель-Шехаві за використання мікроядерного тесту на чотирьох видах риб було показано різні ступені порушення хромосомного апарату [12]. Тому наступним етапом досліджень було проведення порівняльного аналізу рівня цитогенетичних порушень у дворічок білого товстолобика зазначених вище господарств (рис. 2).

Встановлено, що група білого товстолобика ДВСРП «Лимарське», так як і строкатого характеризується нижчим рівнем ЕМЯ, ЛМЯ та ДЛ, проте статистично достовірних міжгрупових відмінностей не виявлено. Результати мікроядерного тесту показали, що товстолобики обох видів досліджуваних рибогосподарств характеризуються відносно невисокими значеннями цитогенетичних порушень як в клітинах еритроцитарного, так і лейкоцитарного рядів. Проте варто зазначити, що група білого товстолобика ДВСРП «Лимарське», як і група ДП «Галицький», характеризувались вищими значеннями цитогенетичних порушень порівняно зі строкатими товстолобиками даних господарств, що говорить про вищу їх чутливість до дії генотоксичних чинників.

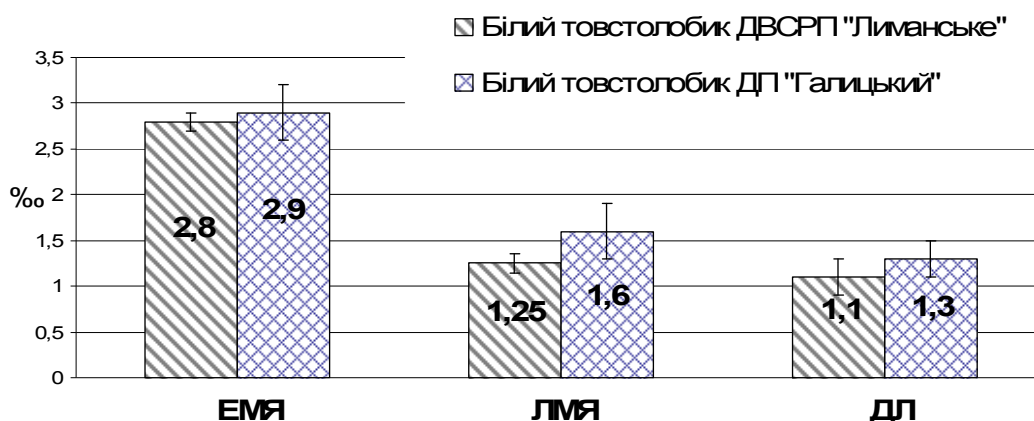


Рис. 2. Рівень цитогенетичних порушень дворічок білого товстолобика різних рибогосподарств.

Важливим показником цитодиференціації клітин риб є апоптоз. Як відмічають дослідники [13, 14], апоптоз є високо регульованою формою запрограмованої клітинної загибелі з характерними біохімічними та морфологічними ознаками, в результаті якого відбувається загибель генетично дефектної клітини. Встановлено, що група строкатого товстолобика ДП «Галицький» характеризується не лише вищими значеннями за результатами мікроядерного тесту, але і за частотою апоптозу ( $4,7 \pm 0,3$  %). Також у даних господарствах було виконано порівняльний аналіз рівня апоптозу в клітинах периферійної крові груп білого товстолобика та виявлено, що вищі значення ( $4,4 \pm 0,2$  %) у групи державного підприємства «Галицький» (табл. 1).

Таблиця 1

Рівень апоптозу в клітинах периферійної крові строкатого та білого товстолобиків ДВСРП «Лиманське» та ДП «Галицький»

| Строкатий товстолобик |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |               |
|-----------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|---------------|
| № особи               | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | М $\pm$ m, %  |
| ДВСРП «Лиманське»     | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 4 | 4 | 5 | 4 | 4  | 4  | 4  | 3,6 $\pm$ 0,2 |
| ДП «Галицький»        | 3 | 4 | 6 | 5 | 3 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5  | 5  | 5  | 4,7 $\pm$ 0,3 |
| Білий товстолобик     |   |   |   |   |   |   |   |   |   |    |    |    |               |
| ДВСРП «Лиманське»     | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 4  | 4  | 3  | 3,1 $\pm$ 0,2 |
| ДП «Галицький»        | 5 | 5 | 6 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4  | 5  | 4  | 4,4 $\pm$ 0,2 |

В організмах риб апоптоз відіграє надзвичайно важливу роль в забезпеченні розвитку та функціонування імунної системи та має позитивну кореляцію з концентрацією канцерогенів в навколишньому середовищі. Тому, на нашу думку, відносно високі значення апоптозу у групах строкатого та білого товстолобиків ДП «Галицький» є результатом елімінації генетично дефектних клітин даним шляхом та свідченням менш сприятливих умов розведення риб в даному госпо-

дарстві порівняно з ДВСРП «Лиманське». Загалом за результатами мікроядерного тесту та частот апоптозу спостерігали нижчі значення в групах дворічок строкатого та білого товстолобиків ДВСРП «Лиманське», що свідчать про нижчу інтегральну генотоксичну дію екзогенних та ендогенних чинників і відповідно більш сприятливі умови розведення в господарстві «Лиманське» Харківської обл. порівняно з ДП «Галицький» Івано-Франківської обл.

#### **Висновки:**

1. Результати досліджень показують, що мікроядерний тест є біомаркером фізіологічного стану риб та може бути використаний для контролю генотоксичності середовища.

2. Встановлено, що групи строкатого та білого товстолобиків ДВСРП «Лиманське» характеризуються нижчим рівнем за частотою ЕМЯ, ЛМЯ, ДЛІ та апоптозу порівняно з групою ДП «Галицький».

3. У групах строкатого товстолобика статистично достовірні міжгрупові відмінності виявлено за частотою ЕМЯ ( $P < 0,05$ ) та апоптозів ( $P < 0,01$ ). Порівняльний аналіз груп білого товстолобика різних рибогосподарств не показав статистично достовірних міжгрупових відмінностей.

#### **Бібліографічний список**

1. Micronuclei as an index of cytogenetic damage: past, present, and future / J. A. Heddle, M. C. Cimino, M. Hayashi [et al.] // Environmental and Molecular Mutagenesis. – 1991. – Vol. 18, iss. 4. – P. 277–291.
2. The Micronucleus Assay in Fish Species as an Important Tool for Xenobiotic Exposure Risk Assessment / Carlos Alberto Machado Da Rocha, Raquel Alves Dos Santos, Marcelo De Oliveira Bahia [et al.] // Reviews in Fisheries Science. – 2009. – Vol. 17, № 4. – P. 478–484.
3. Архипчук В. В. Исследования в области цитогенетики рыб и биотестирования : [сборник научных трудов] / В. В. Архипчук ; сост. : М. В. Малиновская, В. И. Архипчук. – К. : Реликвии, 2008. – 536 с.
4. River water genotoxicity evaluation using micronucleus assay in fish erythrocytes / Clarice Torres de Lemos, Patricia Milan Rödel, Nara Regina Terra [et al.] // Ecotoxicology and Environmental Safety. – 2007. – Vol. 66, Iss. 3. – P. 391–401.
5. Kamel Ahmad. Clastogenic studies on Tandaha Dam water in Asser / Kamel Ahmad, Jaber Salehl // Mediterranean Environment. – 2010. – Vol. 16, № 1. – P. 33–42.
6. Кузина Т. В. Анализ патологических форм эритроцитов крови судака (*Stizostedion lucioperca*) Волго-Каспийского канала / Т. В. Кузина // Фундаментальные науки и практика. – 2010. – Т. 1, № 1. – С. 37–41.
7. Изюмов Ю. Г. Количество микроядер в эритроцитах периферической крови плотвы *Rutilus rutilus* и леща *Abramis brama* Рыбинского и Горьковского водохранилищ / Ю. Г. Изюмов, М. Г. Таликина, Ю. В. Чеботарева // Биология внутренних вод. – 2003. – № 1. – С. 98–101.
8. Fish as bioindicators to assess the effects of pollution in two southern Brazilian rivers using the Comet assay and micronucleus test / V. M. Andrade, J. Silva, F. R. Silva [et al.] // Environ. Mol. Mutagen. – 2004. – Vol. 44. – P. 459–468.
9. Tolga Cavas. Micronucleus test in fish cells: a bioassay for in situ monitoring of genotoxic pollution in the marine environment / Tolga Cavas, Serap Ergene-Gozukara // Environmental and Molecular Mutagenesis. – 2005. – Vol. 46, № 1. – P. 64–70.



10. Давыдов О. Н. Патология крови рыб / Давыдов О. Н., Темниханов Ю. Д., Куровская Л. Я. – К. : ИНКОС, 2006. – 206 с.
11. Глушко Ю. М. Цитогенетичний аналіз різновікових груп білого та строкатого толстолобиків ДП рибгоспу «Галицький» / Ю. М. Глушко, Н. О. Борисенко, С. І. Тарасюк // Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин. – 2014. – Вип. 15. – № 4. – С.133-139.
12. Fagr Kh. Ali. Micronucleus test in fish genome: A sensitive monitor for aquatic pollution / Fagr Kh. Ali, A. M. El-Shehawi, M. A. Seehy // African Journal of Biotechnology. – 2008. – Vol. 7, № 5. – P. 606–612
13. Варга О. Ю. Что такое апоптоз и что дает знание о нем / О. Ю. Варга, В. А. Рябков // Экология человека. – 2006. – № 7. – С. 28.
14. Williams G. T. Molecular regulation of apoptosis: genetic controls on cell death / G. T. Williams, C. A. Smith // Cell. – 1993. – Vol. 74, № 5. – P. 777–779.

### ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕСТРОГО И БЕЛОГО ТОЛСТОЛОБИКОВ ОТДЕЛЬНЫХ РЫБОВОДЧЕСКИХ ХОЗЯЙСТВ УКРАИНЫ

Глушко Ю. Н., Институт рыбного хозяйства НААН

Проведен сравнительный анализ уровня цитогенетических показателей (эритроцитов с микроядрами, лимфоцитов с микроядрами, двухядерных лимфоцитов и апоптозов) в клетках периферической крови двухгодовиков пестрого и белого толстолобика ГПСРП «Лиманское» и ГП рыбхоза «Галицкий». Установлено, что группа пестрого толстолобика ГП «Галицкий» характеризуется высшими значениями ЭМЯ ( $2,4 \pm 0,2$  %), ЛМЯ ( $1,5 \pm 0,3$  %), ДЛ ( $1,3 \pm 0,3$  %) и апоптозов ( $4,7 \pm 0,3$ ) сравнительно с группой ГПСРП «Лиманское». Цитогенетический анализ двухгодовиков белого толстолобика также показал, что группа с ГПСРП «Лиманское» характеризуется ниже уровнем по всем показателям. Статистически достоверные межгрупповые различия выявлены в группах пестрого толстолобика по количеству ЭМЯ ( $P < 0,05$ ) и апоптозов ( $P < 0,01$ ).

Ключевые слова: пестрый толстолобик, белый толстолобик, микроядерный тест, цитогенетические показатели, геномные мутации.

### CYTOGENETIC CHARACTERISTICS OF BIGHEAD AND SILVER CARPS FROM DIFFERENT FISH FARMS OF UKRAINE

Glushko Y., Institute of Fisheries of NAAS

The comparative analysis of frequency of cytogenetic indicators (erythrocytes with micronucleus, lymphocytes with micronucleus, binuclear lymphocytes and apoptosis) in the peripheral blood cells of two-years bighead and silver carps from fish farms "Lymanske" and "Galytskyi" has been carried out. It was established that the group of bighead carp from fish farm "Galytskyi" was characterized by higher level of EMN ( $2.4 \pm 0.2$  %), LMN ( $1.5 \pm 0.3$  %), BL ( $1.3 \pm 0.3$  %) and apoptosis ( $4.7 \pm 0.3$ ) compared with the group from fish farm "Lymanske". Cytogenetic analysis of two-year silver carp also demonstrated that the group from fish farm "Limanskoe" was characterized by lower levels according to all rates. Statistically reliable intergroup differences in the group of bighead carps were found by the number of EMN ( $P < 0.05$ ) and apoptosis ( $P < 0.01$ ).

Keywords: bighead carp, silver carp, micronucleus test, cytogenetic indicators, genomic mutations