

7. East E. M. The production of homozygotes through induced parthenogenesis. // Science. - 1930. - V. 72. - № 1858. - P. 148-149.
8. Schieman E. Artkreuzungen bei *Fragaria*.-Z. f. Induct. Abstammungs und Vererbungslehre. – 1937. - Bd 73. - H 2. - S. 375-390.
9. Yarnell S.H. Genetics and cytological studies on *Fragaria* // Genetics. - 1931. - № 16. - P. 422- 454.

Резюме

В сибирских дикорастущих популяциях *Fragaria vesca* регулярно формируются нередуцированные женские гаметы. В результате участия в половом процессе таких гамет либо возникают N-гибриды (триплоиды), либо диплоидные потомки партеногенетического происхождения. Эволюционное значение нередукции женских гамет состоит в формировании геномной изменчивости, а также реализации страховочного механизма семяобразования.

Unreduced female gametes regularly develops in Siberian wild populations of *Fragaria vesca*. Participation of such gametes at sexual reproduction leads to development of N-hybrids – double fertilization, or to development of parthenogenetic diploid seedlings (single fertilization - pseudogamy). An evolution significance of unreduced female gametes consists in formation of genomic variety, and at the same time at additional mechanism of seed formation.

ВЕРГОЛЯС М. Р., ГОНЧАРУК В. В.

*Інститут колоїдної хімії і хімії води ім.А.В.Думанського НАН України,
Україна, 03680, Київ, бульв. акад. Вернадського, 42e-mail: vergolyas@meta.ua*

ВИКОРИСТАННЯ ЦИТОЛОГІЧНИХ БІОМАРКЕРІВ НА РИБАХ ДЛЯ ОЦІНКИ АНТРОПОГЕННОГО ЗАБРУДНЕННЯ МОРСЬКИХ ПРІСНИХ ВОД

Виявлення забруднення морських та прісних вод у результаті антропогенної дії, що посилюється, є одним з актуальних завдань нашого часу. Риби є одним з найбільш зручних об'єктів для дослідження впливу антропогенних забруднювачів водного середовища, оскільки вони зазвичай реагують на токсиканти подібно до вищих хребетних, і можуть бути використані для виявлення речовин, що потенційно викликають токсичний або канцерогенний ефекти у людини. Окрім вивчення загального токсичного впливу на біоту, риби можуть стати модельним об'єктом для виявлення потенційного генотоксичного впливу шкідливих речовин, присутніх у водному середовищі.

Для виконання поставлених завдань використовували стандартизовані методи дослідження токсичності, модифікований метод дослідження генотоксичності - мікроядерний тест. Мікроядерний тест на клітинах риб успішно використовується як метод дослідження генотоксичності водних розчинів різних класів сполук *in vivo*, так і для моніторингу хімічного забруднення води *in situ* [2].

Збільшення числа клітин з мікроядрами та з патологіями поділу, як правило, супроводжується пригніченням мітотичної активності. Це може бути зумовлено зниженою життєздатністю клітин з мікроядрами [1, 3]. Так, було показано, що при високих концентраціях токсичних сполук порушується лінійний характер залежності кількості мікроядер від дози мутагену. Токсичні дози можуть призвести до інгібування поділу клітин та їх загибелі поряд із зменшенням кількості клітин з мікроядрами [4].

Проведене дослідження впливу антропогенного забруднення морських та прісних водних об'єктів на цитологічні показники риб *Mugil cephalus* та *Carassius auratus*, одержані на репрезентативних станціях у затоці Саронікос, поблизу м. Афіни (Греція), з високим і низьким рівнями антропогенного забруднення моря, та з рік Десна та Дніпро, поблизу м. Київ (Україна). Було отримано зразки тканин крові і зябер. Кров і зябра використовувалися для приготування цитологічних препаратів, на яких проводилось визначення частоти появи клітин з мікроядрами і подвійними ядрами, що відображає рівень генотоксичної дії присутніх у воді речовин.

Метою даної роботи було вивчення на рибах цитологічних біомаркерів генотоксичності у відповідь на антропогенне забруднення в морських і прісних водах, для подальшого застосування цих тестів у моніторингу відповідних водних об'єктів.

Матеріали і методи.

Матеріалом для роботи були 32 екземпляра *Carassius auratus gibelio* та 30 екземплярів *Mugil cephalus*. Риби *Carassius auratus gibelio* були отримані в дослідному рибному господарстві в Київській області. Адаптація риб до умов утримання в лабораторії тривала 30 діб. Морські риби *Mugil cephalus* були піймани під час експерименту на репрезентативних станціях у затоці Саронікос, поблизу м. Афіни (Греція), з високим і низьким рівнями антропогенного забруднення моря.

Риби *Carassius auratus gibelio* вагою 15-20 г, довжиною 80-100 мм вміщували у судини із зразками річкової води та із контрольною водою. Воду постійно насичували повітрям, щоб уникнути явища гіпоксії. Після 4 діб інкубації отримували зразки тканин для цитологічного аналізу. Для визначення дії природних вод на кількості клітин з наявністю порушень геному від кожної особини відбирали зразки тканин зябер і крові. Кров відбирали з хвостової вени, приготовані мазки фіксували в 96 % етанолі протягом 30 хв і забарвлювали за Романовським-Гімза. Фрагменти зябер фіксували сумішшю гліцерину, оцетової кислоти і води (1:1:10). Одержані відбитки тканин забарвлювали за Романовським-Гімза. Визначали наявність клітин з мікроядрами та подвійними ядрами. Препарати аналізували під світловим мікроскопом при загальному збільшенні $\times 1000$. На кожному препараті вивчали не менш 6000 клітин. Статистичну обробку даних проводили з використанням t-критерію Стьюдента, $p < 0,05$ вважали статистично значущим.

Результати та обговорення

Одержані результати свідчать про наявність впливу антропогенного забруднення річкової води на частоту появи клітин крові з порушенням генетичного апарату. Кількість таких клітин у порівнянні із контролем зростає на порядок (1,75 проти 0,17 мікроядер на 1000 клітин, відповідно для крові риб, яких інкубували у зразках води з р. Дніпро та у лабораторній воді, $p < 0,01$, $n = 14$). Таке ж явище мало місце для кількості клітин крові з подвійними ядрами (0,33 проти 3,63 на 1000 клітин відповідно для риб, яких інкубували у лабораторній та дніпровській воді, $p < 0,01$, $n = 14$). Після інкубації у річковій воді суттєво збільшувалась кількість мікроядер у клітинах зябер карасів (0,33 проти 4,5 на 1000 клітин відповідно для контролю та групи риб, яких інкубували у дніпровській воді, $p < 0,01$, $n = 14$). Зростала також кількість клітин зябер з подвійними ядрами у риб, яких інкубували 4 доби у дніпровській воді (відповідно 0,167 проти 1,63, $p < 0,05$, $n = 14$), проте статистична похибка при вимірюванні цього показника на тканині зябер виявилась дуже значною.

Результати цитологічного аналізу тканин морських риб *Mugil cephalus*, визначення кількості клітин з наявністю мікроядер та подвійних ядер на тканинах зябер та крові дозволило виявити вплив антропогенного забруднення морської води на рівень порушень геному у досліджуваних тканинах риб. Співставлення кількості клітин крові з мікроядрами для риб, виловлених на станціях Перама та Анавісос, вказує та вірогідне збільшення таких клітин у районі Перама з наявністю забруднюючих факторів (2 проти 0,75 мікроядра на 1000 клітин, відповідно для районів

Перама та Анавісос, $p < 0,05$, $n = 15$). Ще більш вираженою ця різниця була для частоти клітин з подвійними ядрами (1,67 проти 0,38 на 1000 клітин відповідно для районів Перама та Анавісос, $p < 0,01$, $n = 14$). Така ж сама тенденція мала місце у випадку зябрової тканини, але знайдена різниця між рибами обох груп була статистично невірною. Так, кількість клітин з мікроядрами у зразках зябер становила 3,13 проти 2 на 1000 клітин, відповідно для Перама та Анавісос ($p > 0,05$, $n = 16$). Кількість клітин з подвійними ядрами становила 1,5 проти 0,75 на 1000 клітин відповідно для Перама та Анавісос ($p > 0,05$, $n = 16$).

Висновки

Таким чином, наявність факторів антропогенного забруднення річкової та морської води призводить до активації процесів біотрансформації ксенобіотиків, з іншого боку, збільшенню кількості генетичних порушень в клітинах крові і зябрової тканини прісноводних риб. Ці результати з виявлення змін у генетичному апараті гідробіонтів під впливом полутантів прісної води, можуть бути екстрапольовані, певною мірою, на здоров'я людини, враховуючи той факт, що річкова вода є одним з основних джерел постачання питної води для населення України та інших країн Європи. Відносно прості та швидкі методи цитологічного аналізу тканин риб дозволяють проводити оцінку токсикологічного ризику присутності антропогенних забруднювачів прісної води.

Література

1. *Архипчук В.В., Гончарук В.В.* Биотестирование качества воды на клеточном уровне // *Химия и технология водм*, 2001, т.23, №5. - С.531 -544.
2. *Al-Sabti K, Metcalfe CD.* 1995. Fish micronuclei for assessing genotoxicity in water. *Mutat Res.* 343, 121-135.
3. *Cavas T., Ergene- Gozukara S.* 2005. Micronucleus test in fish cells: a bioassay for in situ monitoring of genotoxic pollution in the marine environment. *Environ. Mol. Mutagen.* 46, 64-70.
4. *Lowe DM., Moore M.N., Evans B.M.* Contaminant impact on interactions of molecular probes with lisosomes in living hepatocytes from lab Limanda // *Acjuatie Toxicol.*, 1995, v.33. - P. 101-126.

Резюме

Был проведен анализ частоты появления клеток с микроядрами и двойными ядрами в различных тканях пресноводных рыб *Carassius auratus gibelio*, морских рыб *Mugil cephalus* из загрязненного и чистого природного водоема. Загрязненная природная вода вызывала многократное увеличение ядерных нарушений после четырех дней инкубации.

The analysis of frequency of cells with micronuclei and double nuclei in various tissues of *Carassius auratus gibelio* and seas fishes *Mugil cephalus* from the polluted and clean natural reservoir has been performed. Polluted natural water caused the multiple increase of nuclear failures after four days of incubation.

ВОЛЫНКИН В.А., ПОЛУЛЯХ А.А.

*Национальный институт винограда и вина «Магарач» УААН
Украина, 98600, Крым, г. Ялта, ул. Кирова, 31, e-mail: select_magarach@ukr.net*