

гельминтами домашних уток / Г.А. Котельников // *Ветеринария*. – М., 1962. – № 9. – С. 38–40. 4. Линник, Л.М. *Птицеводство: учеб. пособие* / Л.М. Линник, Н.А. Стрибук, А.В. Вишневец; под ред. Л.М. Линник. – Витебск: ВГАВМ, 2005. – С. 4. 5. Орлов, И.В. Гельминты органов и тканей сельскохозяйственных животных / И.В. Орлов, О.В. Рыбалтовский, Н.Е. Косминков; под ред. И.В. Орлова. – М.: Колос, 1970. – 199 с. 6. Паудерс, В. Роль диких водоплавающих птиц в распространении гельминтозной инвазии среди домашних водоплавающих птиц / В. Паудерс, В. Михельсоне // *Труды Латвийской сельскохозяйственной академии*. – Рига, 1973. – Вып. 68. – С. 91–93. 7. Петроченко, В.И. Гельминтозы птиц / В.И. Петроченко, Г.А. Котельников. – М.: Сельхозиздат, 1963. – 248 с. 8. Петроченко, В.И. Ветеринарно-гельминтологическая оценка водоемов в отношении возможного заражения в них птиц гельминтозами / В.И. Петроченко, Г.А. Котельников // *Сборник н/техн. инф. ВИГИС*. – М., 1959. – № 6. – С. 12–20. 9. Разведение и содержание уток: метод. реком. / Я.С. Ройтер [и др.]; под общ. ред. Я.С. Ройтера. – Сергиев Посад: ВНИТИП, 2008. – С. 3–4. 10. Сторожева, А.М. К возрастной и сезонной динамике основных гельминтозов домашних водоплавающих птиц и их профилактика / А.М. Сторожева // *Птицеводство*. – 1957. – № 8. – С. 37–39. 11. Ятусевич, А.И. *Руководство по ветеринарной паразитологии* / А.И. Ятусевич [и др.], – Минск: Техноперспектива, 2007. – 481 с.

Статья передана в печать 23.04.2015 г.

УДК 619:616.99:636.98

ХРОМОСОМНЫЕ МУТАЦИИ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК ГОДОВИКОВ КАРПА ПРИ ИНВАЗИИ ЭКТОПАРАЗИТАМИ

Лобойко Ю.В., Стибель В.В.

Львовский национальный университет ветеринарной медицины и биотехнологий имени С.З. Гжицкого, г. Львов, Украина

*В статье приведены данные о частоте мутаций хромосом в клетках почек, крови и лимфоидного органа при различной интенсивности инвазии эктопаразитами. Установлено, что при поражении эктопаразитами *Lernaea cyprinacea* и *Dactylogyrus vastator* частота мутаций хромосом в клетках почек, крови и лимфоидного органа годовиков карпа значительно возрастает по сравнению с клинически здоровыми рыбами.*

*The article presents the data on frequency of chromosomal mutations in lymphoid structures and kidneys, blood under the conditions of different intensity of ectoparasites infestation. It is established that invasion of fishes by ectoparasites *Lernaea cyprinacea* and *Dactylogyrus vastator* significantly increases the level of fish genomic and chromosomal aberrations compared with clinically healthy fishes.*

Ключевые слова: карп, эктопаразиты, мутации, хромосомы, *L. cyprinacea*, *D. vastator*.

Keywords: carp, ectoparasites, mutations, chromosome, *L. cyprinacea*, *D. vastator*.

Введение. Значительный ущерб при выращивании карповых рыб наносят эктопаразитарные болезни, которые ухудшают физиологическое состояние рыб. Вследствие этого снижаются экономические показатели хозяйственной деятельности рыбоводческих хозяйств, уменьшается выход рыбы от посадки на выращивание, замедляются темпы ее роста. Поэтому, важным звеном в технологии товарного рыбоводства является организация и ведение постоянного контроля за состоянием выращиваемых рыб и принятие своевременных лечебно-профилактических мероприятий. Выращивание физиологически полноценной, здоровой рыбы в надлежащих санитарных условиях является залогом успешной деятельности рыбоводческих хозяйств [1,2].

Последние десятилетия характеризуются интенсивным развитием исследований в области цитогенетики у разных видов рыб. Важным достижением было обнаружение явления хромосомного полиморфизма, которое широко распространено у рыб. Однако механизмы, которые лежат в основе этих изменений, до сих пор не совсем понятны.

Микроядерное тестирование - один из эффективных методов, позволяющих определить суммарное действие токсикантов на структуру хромосом и выявить генетические изменения у конкретной особи. Хроническое воздействие неблагоприятных факторов на организм приводит к нарушениям цитогенетической стабильности и накоплению хромосомных аномалий в клетках организма. Кровотворная система рыб чутко реагирует на изменения экзогенных факторов. При патологических состояниях в крови рыб устанавливаются морфологические изменения клеточных элементов, клетки с разной степенью деструкции, в частности образованием микроядер. В качестве показателей дестабилизации хромосомного аппарата рыб используют микроядерный тест в эритроцитах [3].

Отмечено, что у рыб с определенной частотой встречаются клетки с хромосомными абберациями (разрывы, фрагментации), в связи с чем они считаются перспективными в использовании в качестве тест-объектов для цитогенетического мониторинга [6].

Хромосомный аппарат рыб, при всем его совершенстве, не остается неизменным, время от времени в генах и хромосомах происходят мутации - структурные изменения, которые передаются наследственно. По данным некоторых авторов, скорость мутационных процессов у рыб значительно повышается при действии биотических факторов, в частности паразитов рыб [4,5].

Однако, литературные данные свидетельствуют, что использование методов исследования кариотипа и образования спонтанных аббераций хромосом у карпа при действии эктопаразитов с целью цитогенетического мониторинга обособно недостаточно, что обуславливает актуальность исследований такого плана.

Поэтому, целью наших исследований было изучение влияния инвазии эктопаразитами на уровень хромосомных мутаций в соматических клетках годовиков карпа.

Материал и методы исследований. С целью определения уровня хромосомных мутаций в соматических клетках годовиков карпа при поражении эктопаразитами с разной степенью инвазии в аквариальных условиях проведены опытные исследования, в которых использовали спонтанно инвазированных возбудителями дактилогироза и лернеоза рыб.

Период акклиматизации рыб составлял 14 суток при температуре воды 16-18 °С. Перед выполнением эксперимента были проведены паразитологические исследования рыб и определены показатели уровня их инвазированности. Для этого было сформировано двенадцать групп (по три группы при моно- и смешанной инвазиях эктопаразитами *Lernaea cyprinacea* и *Dactylogyrus vastator*) рыб по 6 особей в каждой, массой тела 38,0±4,8 г. При моноинвазии *L. cyprinacea* рыбы первой группы были контрольными, второй – с интенсивностью инвазии до 0,08 лерней на 1 г массы тела (г м.т.), третьей – интенсивностью от 0,11 до 0,26 лерней на г м.т., четвертой – интенсивностью более 0,26 лерней на г м.т. рыбы. При моноинвазии *D. vastator* рыбы первой группы были контрольными, второй – с интенсивностью до 0,26 дактилогирусов на г м.т., третьей – интенсивностью от 0,29 до 0,53 дактилогирусов на г м.т., четвертой – более 0,53 дактилогирусов на г м.т. При смешанной инвазии рыбы первой группы были контрольными, второй – с интенсивностью инвазии до 0,08 лерней на г м.т. и до 0,26 дактилогирусов на г м.т., третьей – интенсивностью 0,11-0,26 лерней на г м.т. и 0,29-0,53 дактилогирусов на г м.т., четвертой – интенсивностью более 0,26 лерней г м.т. и 0,53 дактилогирусов на г м.т.

Ихтиопаразитологический анализ проводили по методу неполного паразитологического вскрытия по Е.И. Быховской-Павловской [7]. Видовую принадлежность паразитов определяли по «Определителю паразитов пресноводных рыб фауны СССР» [8].

Интенсивность инвазии (ИИ) определяли путем подсчета количества паразитов на теле и жабрах исследуемой рыбы.

Рыбу содержали в аквариумах емкостью 40 дм³ с искусственной аэрацией при температуре 18-20 °С. Уход за рыбой и ее кормление проводили согласно соответствующим нормам и рационам. В течение всего периода исследований наблюдали за поведением и клиническим состоянием рыб.

Для оценки состояния хромосом в качестве опытного материала использовали ткани почек и лимфоидного органа, из которых готовили препараты метафазных хромосом [9], поскольку они обладают высокой митотической активностью и рекомендуются для изучения хромосомного аппарата рыб.

Уровень хромосомных мутаций в соматических клетках годовиков карпа определяли согласно соответствующим методическим рекомендациям [10].

Для определения количества микроядер в эритроцитах каплю крови наносили на предметное стекло. Затем изготавливали мазки, высушивали на воздухе, фиксировали в метаноле в течение 10 минут и окрашивали по Гимзе. Подсчет проводили в ‰ [11].

Результаты исследований. Исследованиями установлено, что диплоидный набор хромосом в соматических клетках почек и лимфоидного органа $2n = 100$ хромосом. Он включает 18- метацентрических, 32 - субметацентричных, 28 - акроцентрических и 22 - телоцентрических. Количество хромосомных плеч NF - 150.

После анализа хромосомного аппарата рыб, зараженных эктопаразитами *L. cyprinacea* и *D. vastator*, обнаружены хромосомные aberrации и геномные мутации. Наиболее часто установлены нарушения структуры хромосом (эндоредупликации, дицентрики, центрические кольца). Гипо- и гиперпloidные клетки были представлены в виде уменьшенного или увеличенного кариотипа, преимущественно на одну хромосому, полипloidных - увеличением количества хромосом, кратных гаплоидному набору. Значительную часть геномных мутаций составляли гипопloidы артефактного происхождения за счет потерянных хромосом при приготовлении препаратов.

Исследованиями кариотипа соматических клеток почек контрольных рыб было установлено, что количество геномных мутаций составляло $2,96 \pm 0,19 \%$, хромосомных aberrаций - $1,04 \pm 0,18 \%$ (таблица 1).

При инвазии *L. cyprinacea* до 0,08 экз./г м.т. в почках экспериментальных рыб проценты хромосомных aberrаций и геномных мутаций не превышали контрольные показатели. При интенсивности инвазии 0,11-0,26 экз./г м.т. процент хромосомных aberrаций был в 1,6 раза выше показателя контрольной группы ($P < 0,05$). При поражении $> 0,26$ экз./г м.т. процент геномных мутаций был в 1,3 раза выше, чем в контроле ($P < 0,05$). Количество хромосомных aberrаций превышало в 1,97 раза их число в контрольных ($P < 0,05$).

При исследовании геномных мутаций в лимфоидном органе рыб установлен их достоверный рост в 3-й и 4-й группах в 1,4 раза ($P < 0,05$) и 1,7 раза ($P < 0,01$), соответственно. Аналогичную тенденцию к росту хромосомных aberrаций наблюдали у рыб 3-й и 4-й опытных групп - в 2,3 ($P < 0,05$) и 3,0 раза ($P < 0,01$), соответственно.

Микроядерный тест за последние годы получил широкое признание при исследованиях прикладного мутагенеза, главным образом благодаря относительно простому приготовлению препаратов и быстрому их анализу. Примененная нами методика проведения микроядерного теста оказалась весьма надежной. В эритроцитах крови годовиков карпа отчетливо проявлялись микроядра.

Количество микроядер в эритроцитах крови годовиков карпа составляло $5,4 \pm 0,65 \%$. В крови рыб 2-й опытной группы их количество было несколько повышено до $5,7 \pm 0,62 \%$. Рост степени инвазии эктопаразитами *L. cyprinacea* обусловило достоверное увеличение количества микроядер в эритроцитах крови рыб 3-й и 4-й опытных групп на 35,7 % ($P < 0,05$) и 53,1 % ($P < 0,01$) соответственно.

Таблица 1 – Частота мутаций хромосом в клетках почек, крови и лимфоидного органа годовиков карпа, инвазированных *Lernaea cyprinacea*, % (M ± m, n = 6)

| Показатели | Группы рыб | | | |
|---------------------------------|------------|---------------------|-----------------------|--------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| ИИ, экз. | Контроль | до 0,08 экз./г м.т. | 0,11-0,26 экз./г м.т. | > 0,26 экз./г м.т. |
| Почки | | | | |
| Геномные мутации | 2,96±0,19 | 2,84±0,31 | 3,58±0,21 | 3,76±0,25* |
| Хромосомные aberrации | 1,04±0,18 | 1,18±0,12 | 1,67±0,14* | 2,05±0,27* |
| Лимфоидный орган | | | | |
| Геномные мутации | 2,76±0,32 | 3,38±0,27 | 3,92±0,31* | 4,58±0,24** |
| Хромосомные aberrации | 1,12±0,38 | 1,29±0,15 | 2,59±0,27* | 3,42±0,34** |
| Эритроциты | | | | |
| Микроядра (на 1000 эритроцитов) | 5,4±0,65 | 5,7±0,62 | 8,4±0,92* | 11,5±1,44** |

Примечания: * – P<0,05, ** – P<0,01

При инвазии дактилогирусами вероятных колебаний показателей хромосомных мутаций в клетках почек рыб не наблюдалось (таблица 2).

Таблица 2 – Частота мутаций хромосом в клетках почек, крови и лимфоидного органа годовиков карпа, инвазированных *Dactylogyrus vastator*, (M±m, n=6)

| Показатели | Группы рыб | | | |
|---------------------------------|------------|---------------------|-----------------------|--------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| ИИ, экз. | Контроль | до 0,26 экз./г м.т. | 0,29-0,53 экз./г м.т. | > 0,53 экз./г м.т. |
| Почки | | | | |
| Геномные мутации | 2,65±0,31 | 2,59±0,35 | 2,79±0,41 | 2,92±0,25 |
| Хромосомные aberrации | 0,98±0,28 | 1,08±0,15 | 1,17±0,32 | 1,05±0,44 |
| Лимфоидный орган | | | | |
| Геномные мутации | 2,36±0,26 | 2,54±0,36 | 3,46±0,24* | 3,88±0,27** |
| Хромосомные aberrации | 1,14±0,38 | 1,23±0,35 | 2,57±0,33* | 2,47±0,24* |
| Эритроциты | | | | |
| Микроядра (на 1000 эритроцитов) | 5,2±0,72 | 4,9±0,75 | 6,2±0,86 | 9,5±1,05** |

Примечания: * – P<0,05, ** – P<0,01

Однако, отмечали достоверный рост геномных мутаций клеток лимфоидного органа у рыб 3-й и 4-й опытных групп: в 1,5 (P<0,05) и 1,6 раза (P<0,01). Одновременно возрастало количество хромосомных aberrаций в 3-й и 4-й опытных группах в 2,3 (P<0,05) и 2,2 раза (P<0,05).

При поражении рыб дактилогирусами достоверный рост количества микроядер в эритроцитах крови рыб установлен при интенсивности инвазии > 0,53 экз. / г м.т.- на 45,3 % (P<0,01).

При исследовании мутаций хромосом в тканях почек при смешанной инвазии был установлен достоверный рост геномных мутаций у рыб 3-й и 4-й опытных групп в 1,4 раза (P<0,05) (таблица 3). Вместе с тем, наблюдалось достоверное возрастание хромосомных aberrаций в клетках почек рыб 3-й и 4-й опытных групп, в 1,8 (P<0,05) и 2,4 раза (P<0,01). В клетках лимфоидного органа наблюдали достоверное возрастание показателей геномных мутаций во 2-й, 3-й и 4-й опытных группах, а именно в 1,5 (P<0,05), 1,9 (P<0,01) и 1,9 раза (P<0,001), соответственно. Аналогичная тенденция к росту отмечалась при исследовании хромосомных мутаций в клетках лимфоидного органа рыб 3-й и 4-й опытных групп, соответственно, в 2,3 (P<0,01) и 2,7 раза (P<0,001).

При исследовании количества микроядер в эритроцитах крови годовиков карпа при смешанной инвазии был установлен достоверный их рост в 3-й и 4-й опытных группах, соответственно на 42,1 % (P<0,05) и 58,9 % (P<0,01).

Результаты исследований показали, что при поражении годовиков карпа лернеями частота мутаций хромосом в клетках почек (P<0,05) и лимфоидного органа (P<0,05) (P<0,01) достоверно возрастала в 3-й и 4-й группах.

При поражении годовиков карпа дактилогирусами частота мутаций хромосом в клетках лимфоидного органа (P<0,05) (P<0,01) достоверно возрастала в 3-й и 4-й опытных группах.

При смешанной инвазии частота мутаций хромосом в клетках почек (P<0,05) (P<0,01) и лимфоидного органа (P<0,01) (P<0,001) достоверно возрастала в 3-й и 4-й опытных группах. Таким образом, можно сделать вывод о том, что после анализа хромосомного аппарата рыб, зараженных эктопаразитами *L. cyprinacea* и *D. vastator*, выявлено достоверное увеличение хромосомных aberrаций и геномных мутаций в 3-й и 4-й опытных

группах. Поражение рыб эктопаразитами приводит к ослаблению иммунной системы, сопровождается увеличением частоты генетических нарушений в клетках крови рыб. Следует отметить, что именно эритроциты крови являются наиболее чувствительной мишенью для воздействия паразитов. В этом контексте определение количества клеток с микроядрами позволяет оценить интегральное влияние достаточно широкого спектра эктопаразитарных инвазий на состояние пресноводных рыб. С методической точки зрения, сочетание гематологических и цитологических методов исследований для изучения рыб позволяет получить более точную информацию о механизме токсического действия эктопаразитов.

Таблица 3 – Частота мутаций хромосом в клетках почек, крови и лимфоидного органа годовиков карпа при смешанной инвазии *L. cyprinacea* и *D. vastator*, ($M \pm m$, n=6)

| Показатели | Группы рыб | | | |
|---------------------------------|------------|--|---|---|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| ИИ, экз. | Контроль | до 0,8 лерней / г м.т.; до 0,26 дактилогирисов / г м.т. | 0,11-0,26 лерней / г м.т.; 0,29-0,53 дактилогирисов / г м.т. | > 0,26 лерней / г м.т.; > 0,53 дактилогирисов / г м.т. |
| Почки | | | | |
| Геномные мутации | 2,74±0,35 | 2,78±0,31 | 3,82±0,41* | 3,78±0,25* |
| Хромосомные aberrации | 1,12±0,23 | 1,79±0,18 | 2,07±0,32* | 2,69±0,34** |
| Лимфоидный орган | | | | |
| Геномные мутации | 2,47±0,28 | 3,74±0,45* | 4,71±0,43** | 4,68±0,38*** |
| Хромосомные aberrации | 1,08±0,21 | 1,49±0,65 | 2,53±0,34** | 2,89±0,27*** |
| Эритроциты | | | | |
| Микроядра (на 1000 эритроцитов) | 5,1±0,62 | 6,7±0,48 | 8,8±1,04* | 12,4±1,65** |

Примечания: * – P<0,05, ** – P<0,01, *** – P<0,001

Заключение. При поражении годовиков карпа моно- и смешанной инвазией лернеями и дактилогирисами частота геномных мутаций, хромосомных aberrаций и микроядер в клетках почек, лимфоидного органа и эритроцитах крови достоверно возрастала у рыб 3-й и 4-й опытных групп.

Литература. 1. Беліба, В. Г. Паразитофауна рыб природних та штучних водоем Харківської обл. / В. Г. Беліба // Ветеринарна медицина. – 2006. – № 86. – С. 30–39. 2. Євтушенко, А. В. Аналіз паразитофауни рыб басейну річки Уди. / А. В. Євтушенко // Ветеринарна медицина. – 2006. – № 86. – С. 142–149. 3. Давыдов О. М. Патология крови рыб / О. М. Давыдов, Ю. Д. Темниханов, Л. Я. Куровская – Фирма «Икос», 2006. – 206 с. 4. Тафійчук, Р. І. Исследование кариотипов в системе паразит-хозяин при филометраидозе карпа / Р. І. Тафійчук, К. В. Секретарюк // Сборник материалов международной конференции асоциации паразитологов СНГ, Витебск, – 1999. – С. 38. 5. Тафійчук, Р. І. Вплив нематоцидних препаратів на частоту та спектр хромосомних aberrаций в соматичних клітинах імунокомпетентних органів коропа // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького, Львів-2012, Том 14, №2 (52). Ч. 1 – С. 334–337. 6. Ганасси, Е. Э. Проблемы хромосомного мутагенеза и цитологического мониторинга / Е. Э. Ганасси, С. И. Заичкина, О. М. Розанова // Радиобиол. – 1991. – Т. 31, – В. 6. – С.882–888. 7. Быховская – Павловская, Е. И. Паразиты рыб. Руководство по изучению / Е. И. Быховская – Павловская. – Л.: Наука, 1985. – 121 с. 8. Определитель паразитов пресноводных рыб фауны СССР: В 3т./ Под ред. О.Н. Бауера. – Ленинград: Наука, 1987. – Т. 3: Паразитические многоклеточные. – Ч. 2. – 584 с. 9. Баршене, Я. В. Методические рекомендации по цитогенетическим исследованиям различных видов рыб в их ареалах / Я. В. Баршене // Типовые методики исследования продуктивности видов рыб в пределах ареалов. – Вильнюс. – 1981. – Часть IV. – С. 86–89. 10. Руководство по изучению генетических эффектов в популяции человека. Женева. ВОЗ, – 1989. – 121 с. 11. Житнева Л. Д. Атлас нормальных и патологически измененных клеток крови рыб / Л. Д. Житнева, Т. Г. Полтавцева, О. А. Рудницкая. – Ростов н / Д: Ростовское кн. изд-во, 1989. – 112 с.

Статья передана в печать 31.03.2015 г.

УДК 619:616.995.132.2:636.1.053:612.11/.12

ВЛИЯНИЕ СТРОНГИЛОИДОЗНОЙ ИНВАЗИИ НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ СОСТАВ КРОВИ И ФАКТОРЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ ЖЕРЕБЯТ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ

Маковский Е.Г.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

Стронгилоидозная инвазия приводит к изменениям морфологического состава крови и снижению активности клеточных и гуморальных факторов неспецифической защиты у жеребят первого года жизни.

Strongyloidiasis invasion leads to changes of morphological composition of blood and to reduction the activity of cellular and humoral factors of nonspecific protection in one-year old foals.