

ТИПИ МІКРОЯДЕР У КЛІТИНАХ ЗЯБЕР МАЛЬКА РАЙДУЖНОЇ ФОРЕЛІ ПІД ЧАС ФОРМУВАННЯ МІКРОБІОЦЕНОЗУ БІОФІЛЬТРА УЗВ

Н. Є. ГРИНЕВИЧ, кандидат ветеринарних наук, доцент кафедри іхтіології та зоології

Білоцерківський національний університет

М. Д. КУХТИН, доктор ветеринарних наук, професор кафедри харчової біотехнології і хімії

Тернопільський національний технічний університет ім. І. Пулюя

Н. В. СЕМАНЮК, кандидат ветеринарних наук, доцент кафедри мікробіології та вірусології

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького;

Н. М. ПРИСЯЖНЮК, кандидат ветеринарних наук, доцент кафедри іхтіології та зоології

Білоцерківський національний університет

E-mail: gnatbc@ukr.net, kucktynnic@gmail.com, semaniukn@ukr.net, natasha.prisjazhnyuk@ukr.net.

Анотація. Хронічна дія несприятливих чинників на організм призводить до порушень цитогенетичної стабільності та накопичення хромосомних аномалій в клітинах організму. Тому доцільним є використання мікроядерного тестування, яке належить до одного з найефективніших методів і дає змогу визначити дію речовин, що виникають під час запуску біофільтра, на структуру хромосом і виявити генетичні зміни в клітинах риби.

Метою роботи було дослідити утворення мікроядер у клітинах зябер малька райдужної форелі під час запуску біофільтра УЗВ за використання у ньому поліпропіленового наповнювача RK PLAST. У результаті проведеного гістологічного оцінювання клітин зябер райдужної форелі було виявлено три типи мікроядер. До 1-го типу було віднесено клітини зябер малька райдужної форелі, що містили 1 мікроядро, яке знаходилося на великій відстані від основного ядра, до 2-го типу – клітини зябер, що містили 2 мікроядра, які знаходилися ближче до периферії клітин, і до 3-го типу – клітини зябер, що містили 3 і більше мікроядер.

Переважає більшість клітин зябер райдужної форелі містила по 1–2 (80 %), а також зустрічалися клітини з 3 мікроядрами.

Ключові слова: нітрит, райдужна форель, біофільтр, мікроядра

Актуальність. Запуск біофільтра в умовах замкнутого водопостачання супроводжується зростанням у воді кількості нітритів [7, с. 900–905]. Їх перетворення в слаботоксичні для риби нітрати залежить від

нітрифікуючих і денітрифікуючих мікроорганізмів, які заселяють наповнювач реактора біофільтру [2, с. 184–187].

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Тривалий вплив утворених в УЗВ нітритів чинить на організм риби генотоксичний вплив [6, с. 4-8]. Настає порушення цитогенетичної стабільності та накопичення хромосомних аномалій в клітинах організму. Тому доцільним є використання мікроядерного тестування, яке належить до одного з найефективніших методів і дає змогу визначити дію речовин, що виникають під час запуску біофільтра, на структуру хромосом і виявити генетичні зміни в клітинах риби. Використання цитогенетичного підходу для вирішення цих завдань вважається перспективним як для характеристики генотоксичності середовища, так і для оцінювання фізіологічного стану організму [1, с.19-24, 3, с.77–85, 4, с. 170-179, 5, с. 227–231].

Мета дослідження – експериментально дослідити утворення різних типів мікроядер у клітинах зябер малька райдужної форелі під час запуску біофільтра УЗВ за використання у ньому поліпропіленового наповнювача RK PLAST.

Матеріали та методи дослідження. Для вивчення впливу несприятливих чинників на малька райдужної форелі, що виникають під час запуску біофільтра нами, враховуючи кількість нітритів у воді, було виділено чотири періоди, кожен з яких тривав 10 діб і лише останній – 5 діб. Останній період виявився найкоротшим через зниження, майже до норми, у воді нітритів, утворення біоплівки на поверхні наповнювача біофільтра, що підтверджувалося інтенсивною діяльністю мікроорганізмів-денітрифікаторів.

Для дослідження утворення мікроядер у клітинах зябер малька райдужної форелі було використано мікроядерний тест. Для цього зразки зябер малька райдужної форелі фіксували в двох змінах свіжовиготовленої та охолодженої суміші етилового спирту і оцтової кислоти (3:1) упродовж 30 хв кожна в об'ємі, який в 50 раз перевищує об'єм фіксованого матеріалу. Зразки поміщали в холодильник, через дві доби промивали 70 % етиловим спиртом та зберігали до проведення досліджень.

Механічну мацерацію проводили впродовж 5–10 хв, хімічну в 45 % розчині оцтової кислоти – 40–50 хв. Повітряно-сухі препарати фарбували 50 % розчином нітрату срібла в термостаті за 58–60 °С упродовж 5–6 хв до отримання коричневого кольору, дофарбовували 2 % розчином Гімза в фосфатному буфері (рН = 6,8) упродовж 1 хв [1, с.19-24, 8 pp. 1014–1015]. Число ядерець підраховували у кожного зразка у 500–700 клітин з використанням окулярів $\times 16$, об'єктивів $\times 100$ мікроскопа (Біолам) та вимірювали діаметр ядерець окуляр-мікрометром у 100 клітин за того ж збільшення об'єктиву [4, с. 170-179].

Результати дослідження та їх обговорення. У результаті проведеного гістологічного оцінювання клітин зябер райдужної форелі було виявлено три типи мікроядер, які представлено на рисунках 1–3. До 1-го типу (рис. 1) було віднесено клітини зябер малька райдужної форелі, що містили 1 мікроядро, яке знаходилося на великій відстані від

основного ядра, до 2-го типу (рис. 2) – клітини зябер, що містили 2 мікроядра, які знаходилися ближче до периферії клітин, і до 3-го типу (рис. 3) – клітини зябер, що містили 3 і більше мікроядер.

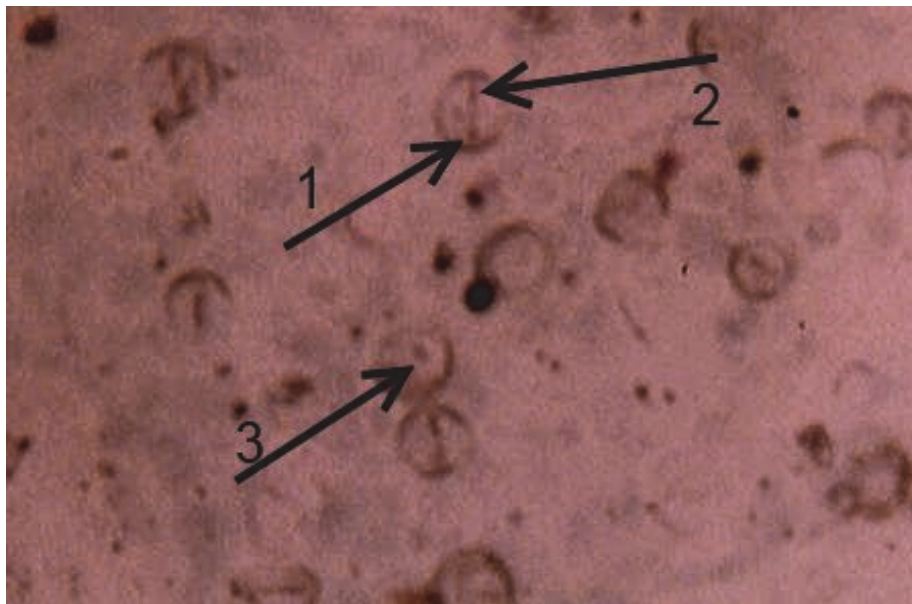


Рис. 1. Клітини зябер молоді форелі з мікроядрами 1-го типу:
1, 2, 3 – мікроядра в клітині



Рис. 2. Клітини зябер молоді форелі з мікроядрами 2-го типу:
1 – основне ядро; 2, 3 – мікроядра

Переважає більшість клітин зябер райдужної форелі містила по 1–2 (80 %), а також зустрічалися клітини з 3 мікроядрами.

Отже, під час запуску УЗВ переважна більшість клітин зябер молоді райдужної форелі містила по 1–2 (80 %), а також зустрічалися клітини з 3 мікроядрами.

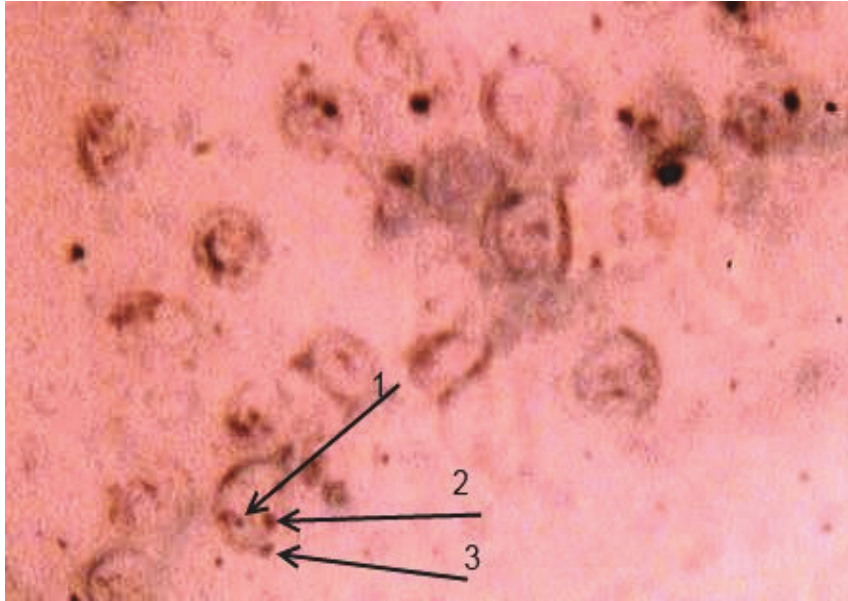


Рис. 3. Клітини зябер молоді форелі з мікроядрами 3-го типу: 1, 2, 3 – мікроядра в клітині

Висновки і перспективи. Під час запуску УЗВ переважна більшість клітин зябер молоді райдужної форелі містила по 1–2 (80 %), а також зустрічалися клітини з 3 мікроядрами.

Перспективи подальших досліджень полягають у використанні цитогенетичного підходу для оцінки санітарного стану УЗВ за кількістю мікроядер у клітинах зябер малька райдужної форелі як під час формування мікробіоценозу біофільтра, так і для оцінювання фізіологічного стану організму протягом технологічного процесу.

Список використаних джерел

1. Архипчук, В. В. Изменение количественных характеристик ядрышек в эмбриогенезе некоторых карповых рыб и в связи с разнокачественностью икры / В. В. Архипчук, В. Н. Жукинский. – К. : Рыбное хозяйство, 1987. – С. 19–24.
2. Гриневич, Н. Є. Вміст нітрифікуючих мікроорганізмів у воді реактора біофільтра установки замкнутого водопостачання за використання різних типів наповнювача / Н. Є. Гриневич // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. – 2017. – Т. 19, № 82. – С. 184–187.
3. Ковальова, О. А. Мікроядерний тест у великих та дрібних ссавців / О. А. Ковальова, Т. Т. Глазко, Л. П. Якименко // Вісник Державного агроєкологічного університету. – 2003. – № 2. – С.77–85.
4. Орджоникидзе, К. Г. Способы оценки цитогенетического гомеостаза в природных популяциях животных на разных этапах онтогенеза / К. Г. Орджоникидзе, Т. Б. Демидова, Е. Ю. Крысанов // Онтогенез. – 2014. – Т. 45, № 3. – С. 170–179.
5. Хева, С. Н. К механизму образования микроядер в ФГА-стимулированных лимфоцитах периферической крови человека / С. Н. Хева, Л. В. Щедрина, Р. П. Степанов // Цитология. – 1996. – Т. 28. – С. 227–231.
6. Черниченко, І. О. Обґрунтування критеріальної значущості комплексу генотоксичних та імунологічних показників для експрес-оцінки канцерогенів

навколишнього середовища / І. О. Черниченко, Н. В. Баленко, О. М. Остах // Довкілля та здоров'я. – 2013. – № 2. – С. 4–8.

7. Grynevych, N. Composition of psychrotrophic microflora of water and biofilter filler in recirculation aquaculture system on trout farm / N. Grynevych, T. Dyman, M. Kukhtyn, N. Semaniuk // Research journal of pharmaceutical biological and chemical sciences. – 2017. – № 8 (3). – P. 900–905.

8. Howel, W. M. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method / W. M. Howel, D. A. Black // Experientia. – 1980. – Vol. 36. – P. 1014–1015.

References

1. Arhipchuk, V. V., Zhukinsky, V. N. (1987). *Izmeneniye kolichestvennykh kharakteristik yadryshek v embriogeneze nekotorykh karpovykh ryb i v svyazi s raznokachestvennost'yu ikry* [Changes in quantitative characteristics of nucleoli in the embryogenesis of some carp fish and in connection with the diverse quality of caviar]. Kyiv, Rybnoye khozyaystvo, 19–24.

2. Grynevych, N. E. (2017). *Vmist nitryfikuyuchykh mikroorhanizmiv u vodi reaktora biofil'tra ustanovky zamknutoho vodopostachannya za vykorystannya riznykh typiv napovnyuvacha* [The content of nitrifying microorganisms in the water of the reactor biofilter installation of closed water supply for the use of different types of filler]. Scientific herald of the Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnology named after S.Z.Gzhytsky Lviv, 19 (82), 184–187.

3. Kovalyova, O. A, Glazko, T. T., Yakimenko, L. P. (2003). *Mikroyadernyy test u velykykh ta dribnykh ssavtsiv* [Micronucleus test in large and small mammals]. Bulletin of the State Agroecological University, 2, 77–85.

4. Ordzhonikidze, K. G., Demidova, T. B., Krisanov, E. Yu. (2014). *Sposoby otsenki tsitogeneticheskogo gomeostaza v prirodnykh populyatsiyakh zhyvotnykh na raznykh etapakh ontogeneza* [Methods for estimating cytogenetic homeostasis in natural animal populations at different stages of ontogenesis]. Ontogenesis, 45 (3), 170–179.

5. Heva, S. N., Shchedrin, L. V., Stepanov, R. P. (1996). *K mekhanizmu obrazovaniya mikroyader v FGA-stimulirovannykh limfotsitakh perifericheskoy krovi cheloveka* [To the mechanism of the formation of a micro nucleus in human pharyngeal stimulated lymphocytes]. Cytology, 28, 227–231.

6. Chernychenko, I. O., Balenko, N. V., Ostash, O. M. (2013). *Obgruntuvannya kryterial'noyi znachushchosti kompleksu henotoksychnykh ta imunolohichnykh pokaznykiv dlya ekspres-otsinky kantseroheniv navkolyshn'oho seredovyscha* [Justification of the criterion significance of the complex of genotoxic and immunological parameters for express evaluation of environmental carcinogens]. Environment and health, 2, 4–8.

7. Grynevych, N., Dyman, T., Kukhtyn, M., Semanuk, N. (2017). *Composition of the psychrotrophic microflora of water and biofilter filler in the recirculation aquaculture system in the trout farm*. Research journal of pharmaceutical biological and chemical sciences, 8 (3), 900–905.

8. Howel, W. M., Black, D. A. (1980). *Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method*. Experientia, 36, 1014–1015.

ТИПЫ МИКРОЯДЕР В КЛЕТКАХ ЖАБР МАЛЬКОВ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ ПРИ ФОРМИРОВАНИИ МИКРОБИОЦЕНОЗА БИОФИЛЬТРОВ УЗИ

Н. Е. Гриневич, Н. Д. Кухтин, Н. В. Семанюк, Н. М. Присяжнюк

Аннотация. Хроническое воздействие неблагоприятных факторов на организм приводит к нарушениям цитогенетической стабильности и накопления хромосомных аномалий в клетках организма. Поэтому целесообразным является использование микроядерного тестирования, которое относится к одному из самых эффективных методов и позволяет определить действие веществ, возникающих при запуске биофильтра, на структуру хромосом и выявить генетические изменения в клетках рыбы.

Целью работы было исследовать образования микроядер в клетках жабр малька радужной форели при запуске биофильтра УЗИ при использовании в нем полипропиленового наполнителя RK PLAST.

В результате проведенного гистологического оценивания клеток жабр радужной форели были обнаружены три типа микроядер. К 1-му типу были отнесены клетки жабр малька радужной форели, содержащие 1 микроядро, которое находилось на большом расстоянии от основного ядра, ко 2-му типу - клетки жабр, содержащих 2 микроядра, которые находились ближе к периферии клеток, и к 3-му типу - клетки жабр, содержащие 3 и более микроядер.

Подавляющее большинство клеток жабр радужной форели содержали по 1-2 (80 %), а также встречались клетки с 3 микроядрами.

Ключевые слова: нитриты, радужная форель, биофильтр, микроядра

TYPES OF MICROLAWNER IN THE CELLS OF THE LOWER PULMONARY SOURCE AT THE TIME OF MICROBIOCENOSIS FORMATION BIOFILTER DOS

N. E. Grinevich, N. D. Kukhtin, N. V. Semanyuk, N. M. Prisyazhnyuk

Abstract. Chronic action of adverse factors on the body leads to violations of cytogenetic stability and accumulation of chromosomal anomalies in cells of the body. Therefore, it is expedient to use the micronuclear test, which belongs to one of the most effective methods, and allows to determine the action of substances, which occur during the start of biofilter, on the structure of chromosomes and to detect genetic changes in cells of the fish.

The purpose of work was to investigate the formation of micronuclei in cells of gills of hatchling of rainbow trout during the launch of biofilter RAS for the use of polypropylene filler RK PLAST in it. As a result of histological evaluation of cells of gills of rainbow trout, three types of micronuclei were identified. The 1st type included cells of gills of hatchling of rainbow trout that contained 1 micronucleus, which was located at a great distance from the main nucleus, the 2nd type included cells of gills that contained 2 micronuclei, which were closer to the periphery of cells, and the 3rd type - cells of gills that contained 3 or more micronuclei.

The vast majority of cells of gills of rainbow trout contained 1-2 (80 %), and also cells with 3 micronuclei were encountered.

Keywords: nitrite, rainbow trout, biofilter, micronuclei