

## ЧАСТОТА АБЕРАЦІЙ ХРОМОСОМ В СОМАТИЧНИХ КЛІТИНАХ УКРАЇНСЬКИХ БУЙВОЛІВ (*Bubalus bubalis* L.)

В.В. ДЗІЦЮК, Х.Т. ТИПІЛО

Інститут розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця НААН,  
09321 с. Чубинське, Бориспільський району, Київська обл.

E-mail: valentynadzitsiuk@gmail.com

З допомогою рутинного, GTG- і Ag-методів аналізу метафазних хромосом встановлено спонтанну частоту абераций хромосом і рівень хромосомної мінливості у лімфоцитах крові українських буйволів (*Bubalus bubalis* L.). Встановлено, що диплоїдний хромосомний набір тварин дослідженої популяції складається із 50 хромосом ( $2n = 50, XX$ ;  $2n = 50, XY$ ). Виявлено індивідуальна хромосомна мінливість у окремих тварин у вигляді клітин з анеуплойдним і поліплойдним набором хромосом та структурних абераций аутосом. Зокрема, аналізом диференційно забарвлених хромосом виявили у окремих самок дуплікацію у одній з хромосом другої пари, X-моносомію, химеризм за статевими хромосомами. Загальний спонтанний рівень хромосомної нестабільності у лімфоцитах периферичної крові в середньому проявився на рівні  $14,35 \pm 2,03\%$  за рахунок пошкоджень хромосомного і хроматидного типів. Ag-методом виявили активні ЯОР в шести парах хромосом ( $3p$ ,  $4p$ ,  $6q$ ,  $21q$ ,  $23q$ ,  $24q$ ).

**Ключові слова:** буйвол річковий, каріотип, хромосоми, аберрації.

**Вступ.** Цитогенетика тварин вирішує низку питань у селекційному вдосконаленні домашніх тварин і одним з таких питань є дослідження особливостей організації каріотипу як окремої особини, так і виду, що слугує основою для створення генетичних карт хромосом і точкою відліку для встановлення еволюційних зв'язків між видами. Особливе значення хромосомний аналіз має у характеристиці генетичної структури популяцій тварин з точки зору збереження їхньої генетичної різноманітності. Така характеристика важлива у програмах збереження малочисельних локальних популяцій сільськогосподарських тварин.

Однією з таких популяцій як об'єкту транскордонних генетичних ресурсів в Україні є одомашнена форма буйвола азіатського (*Bubalus bubalis*) – буйвол річковий *Bubalus bubalis bubalis* або *river buffalo* [1].

© В.В. ДЗІЦЮК, Х.Т. ТИПІЛО, 2020

Українські буйволи належать до карпатського типу, який є найпівнічнішою у світі гілкою розселення буйволячого стада і за зоологічною класифікацією належать до родини бикових (*Bovidae*) роду Буйвол (*Bubalus*) і підроду Буйвол азіатський (*Bubalus Bubalis*).

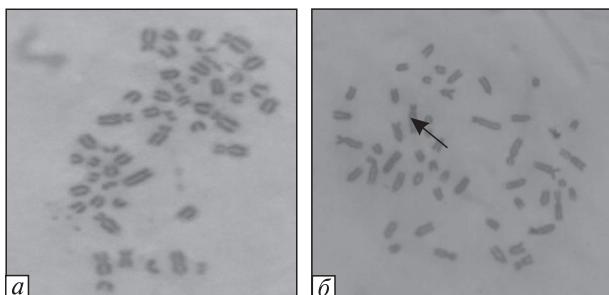
Чисельність буйволів азіатських у світі складає більше 182 млн голів, близько 174 млн голів в азіатських країнах, 3,7 млн голів у Єгипті, в Південній Америці розводять гібридних буйволів *river buffalo* × *swamp buffalo*, їх кількість становить 4,3 млн голів, в Європі 459 тис голів, в Австралії їх кількість варіє від 70 тис до 200 тис голів [2].

Популяція українських буйволів нараховує трохи більше 120 буйволів різної статі і віку і перебуває на межі зникнення. Нині розведення буйволів в Україні здійснюється на фермі ТОВ «Голосіїво» Київської області (58 голів: з них 23 буйволиці, 7 буйволів-самців, 19 самок і 8 самців старше 1 року). Окрім цього, розведенням буйволів займаються у фермерському господарстві «Карпатський буйвол» (52 голови) та у кількох одноосібних господарствах Закарпатської і Одеської областей.

Вирощування буйволів в Україні не бізнес, а в першу чергу, збереження різноманіття природи України. Оскільки цей процес має здійснюватися на науковій основі, то для розроблення стратегії збереження біорізноманітності різних видів тварин необхідно провести дослідження генетичного різноманіття генофонду.

Зважаючи на це, очевидно є необхідність дослідження цитогенетичних характеристик українських буйволів (*river buffalo*).

**Матеріал та методи.** Матеріалом цитогенетичного дослідження була периферійна кров 49 річкових буйволів різних статево-вікових груп, які утримуються в ТОВ «Голосіїво» с. Гоголів Київської обл. Підготовка культури лімфоцитів і приготування препаратів хромосом проводи-



**Рис. 1.** Метафазні пластинки буйвола річкового в нормі: *а* – самець,  $2n = 50, XY$ ; *б* – самка  $2n = 50, XX$ , (стрілкою показана морфологічна особливість X-хромосоми). Збільшення: об.  $\times 100$ ; ок.  $\times 10$

лось у лабораторії генетики Інституту розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця НААН.

Для препаратів хромосом цільну венозну кров культивували впродовж 48 год (перший мітоз). Для приготування препаратів хромосом буйволів 0,5 мл цільної гепаринізованої периферичної крові інокулювали в стерильний культуральний флакон з 5 мл живильного середовища RPMI 1640 («Sigma», США), 0,1 мл ФГА («Sigma», США) як мітогену, і 15 % ембріональної телячої сироватки. Флакони з культуральною сумішшю поміщали в термостат при  $+37^{\circ}\text{C}$  на 48 год. Для припинення ділення клітин на стадії метафази за 2 год до закінчення терміну культивування вводили колхіцин («Serva», Німеччина) (0,3 мкг/мл). Центрифугуванням отримували осад клітин, який обробляли гіпотонічним розчином KCl (0,075 M)

#### Частота аберацій хромосом в лімфоцитах українських буйволів, %

Аберації хромосом	Аберантні клітини
<b>Геномні</b>	
анеуплоїдні клітини	$9,78 \pm 1,39$
поліплоїдні клітини	$0,35 \pm 0,05$
<b>Структурні</b>	
розриви	$1,50 \pm 0,75$
фрагменти	$2,21 \pm 0,27$
передчасний центромерний поділ	$1,49 \pm 0,21$
<b>Голів</b>	
Досліджених метафаз	1425
Всього аберантних клітин	$14,35 \pm 2,03$

впродовж 20 хв. Фіксацію клітин здійснювали в трьох змінах суміші метанол-оцтової кислоти у співвідношенні 3 : 1. Отриману в останній порції фіксатора клітинну суспензію бажаної густини наносили краплями на охолоджене зволожене предметне скло [3].

Для рутинного фарбування хромосом використовували 2%-ний розчин Гімза («Merk», Німеччина). Для диференційного G-фарбування використовували розчин трипсину («Merk», Німеччина) і барвник Гімза («Merk», Німеччина) [4].

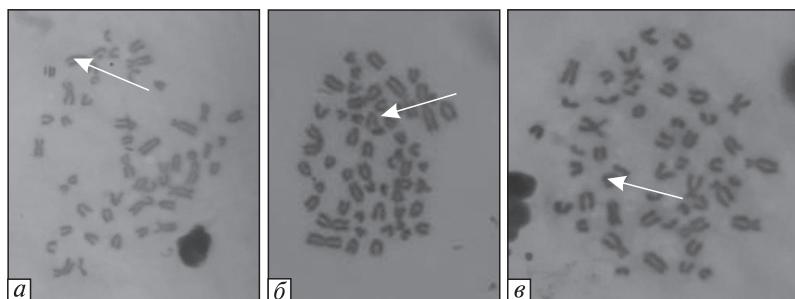
Для виявлення ядерцеорганізуючих районів хромосом (ЯОР) на предметне скло наносили 50%-ний розчин нітрату срібла і 0,2%-ної мурашиної кислоти (рН 2,6–2,7) у співвідношенні 1 : 1 [5]. Препарат розміщували в чашці Петрі на зволоженому фільтрувальному папері і витримували в термостаті 5–8 хв при температурі  $62^{\circ}\text{C}$ . ЯОР виявляли на теломерах відповідних хромосом як темні цятки.

При аналізі препаратів метафазних хромосом за допомогою бінокулярного мікроскопа фірми «Carl Zeiss» Jena (Німеччина) за збільшення у 1000 разів реєстрували аберації геномного, хромосомного і хроматидного типів. При виконанні роботи проаналізували 1425 рутинно- і GTG-забарвлених метафаз.

**Результати дослідження та їх обговорення.** За даними цитогенетичного дослідження диплоїдний каріотип буйвола річкового (*river buffalo*) української популяції складається із 50 хромосом ( $2n = 50$ , NF = 60). Це узгоджується із результатами хромосомного аналізу дослідників у інших країнах [6, 7].

Хромосомний набір досліджених тварин представлений п'ятьма парами метацентричних і субметацентричних аутосом і 19-ма парами акроцентричних хромосом. Статева X-хромосома є найбільшою за розміром акроцентричною хромосомою, яку можна ідентифікувати і за рутинного забарвлення. Ця хромосома має морфологічну особливість: перетинку в довгому плечі, за якою цю хромосому легко вирізнити серед інших (рис. 1). Y-хромосома – найменша акроцентрична хромосома.

Аналіз цитогенетичних показників у лімфоцитах периферійної крові українських буйволів показав, що середня частота аберацій хромосом у спонтанному мутаційному процесі склав в  $14,35 \pm 2,03$  на 100 метафаз (таблиця). У спектрі



**Рис. 2.** Метафазні пластинки з структурними аберациями хромосом (стрілкою): *а* – розриви і фрагменти; *б* – ПЦП; *в* – хромосома зі зміненою структурою (S-подібна). Збільшення: об.  $\times 100$ ; ок.  $\times 10$

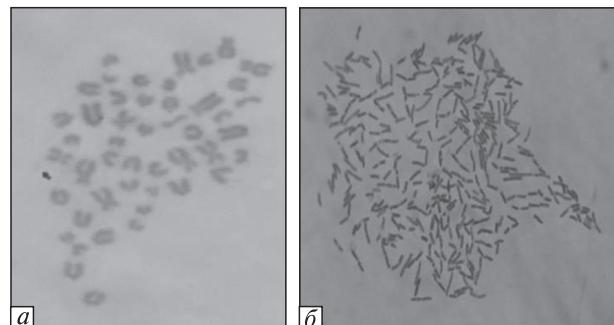
зареєстрованих абераций числові порушення каріотипу представлені анеуплойдією і поліплойдією та зустрічались із частотами  $9,78 \pm 1,39$  і  $0,35 \pm 0,05$  на 100 метафаз відповідно. Серед різних типів хромосомних перебудов найпоширенішими виявилися розриви ( $1,50 \pm 0,75\%$ ), одиночні і парні фрагменти ( $2,21 \pm 0,27\%$ ).

Отримані результати дещо відрізняються від даних, одержаних S. Ahmed у цитогенетичному обстеженні буйволів, проведенному в National Research Center (Department of Cell Biology, Egypt) нижчою частотою сумарної кількості абераций хромосом, але вищим показником розривів хромосом (4,4 % порівняно із 1,50 у наших дослідженнях) [8].

В нашому дослідженні частота клітин з передчасним центромерним поділом (ПЦП), який відображає передумови утворення числових абераций, зокрема, анеуплойдії і поліплойдії, також переважала серед виявлених абераций хромосом структурного характеру. ПЦП, який виникає в результаті нерозходження чи відставання розходження хромосом під час поділу клітини і призводить до числових хромосомних порушень, найчастіше виявляли у хромосомах акроцентричного типу.

Аналізуючи частоту хромосомних мутацій у різних статевих груп буйволів встановили, що середні рівні абераций в усіх статево-вікових групах вірогідно не розрізнялися між собою і становили  $13,6 \pm 6,78$  і  $13,39 \pm 1,07$  на 100 клітин у повновікових самок і буйволів-плідників відповідно.

Дослідження хромосомних наборів буйволів показало наявність в окремих зразках таких абераций, як розриви хромосом (рис. 2, *а*), клітини з передчасним центромерним поділом (рис. 2, *б*), фрагменти хромосом (рис. 2, *в*),



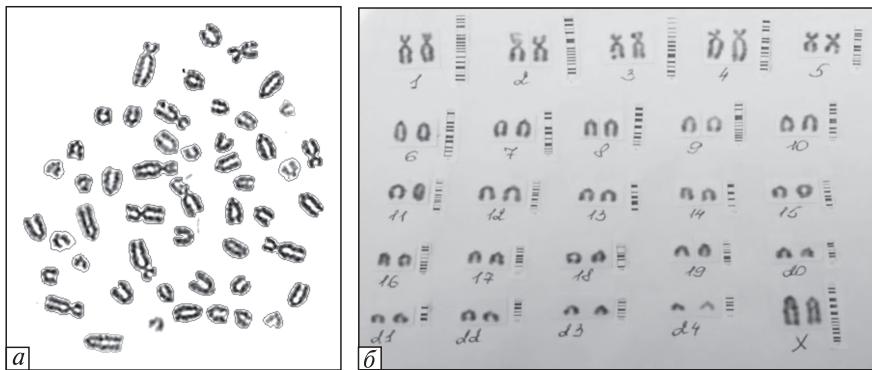
**Рис. 3.** Клітини: *а* – з анеуплойдним ( $2n = 47, XX$ ); *б* – оліплойдним ( $4n = 200$ ) наборами хромосом. Збільшення: об.  $\times 100$ ; ок.  $\times 10$

кільцеві хромосоми (рис. 2, *г*), структурні зміни хромосом (S-подібна хромосома) (рис. 2, *д*), а також клітини з анеуплойдним і поліплойдними наборами хромосом (рис. 3).

Про аналогічні аберациї хромосом у каріотипах буйволів повідомляють індійські дослідники з Institute of Integrated Study and Research in Biotechnology and Allied Sciences (ARIBAS) [9].

В ході цитогенетичного аналізу методом GTG (G-banding) встановили, що структурний гетерохроматин у хромосомах метацентричної будови у досліджених буйволів представлений невеликими блоками у районах центромер, а у акроцентричних хромосомах візуалізується в районах центромер крупними блоками.

Наше дослідження виявило у буйвола-плідника з нормальними фенотипом і фертильністю часткову моносомію через термінальну делецію хромосоми з 2-ї пари (2p-). Про схожий факт повідомили дослідники R. Kotikalapudi et al., виходячи із своїх результатів досліджень. Автори кваліфікували дану хромосомну аберацію як випадок мозаїцизму через структурну



**Рис. 4.** Метафазна пластинка самки буйвола річкового з аберраціями хромосом (а) і відповідна каріограма (б)

зміну в одній із метацентричних аутосом буйвола [10, 11].

При проведенні аналізу диференційно забарвленіх хромосом у однієї дорослої самки вдалося виявити дуплікацію хромосоми з 2-ї пари і розрив хромосоми у 3 парі (рис. 4).

У іншої самки з нормальнюю морфологічною конституцією і нормальнюю відтвореною здатністю нами спостерігалося співіснування двох генетично різних клітинних популяцій, отриманих від однієї зиготи. У полі зору мікроскопа виявили частину клітин з каріотипом 50,XX і наряду з ними зустрічались клітини з моносомією через відсутність однієї Х-хромосоми (48,X0). В літературі теж описані випадки виявлення у буйволів статевих хромосомних анеуплоїдів, таких як ХО [12].

Про аномалії статевих хромосом (Х-трисомія, Х-моносомія, XX/XY-мозаїцизм) повідомляють багато дослідників у своїх роботах [13–15].

На думку Yimer N., найчастіше у буйволів зустрічаються такі аномалії статевих хромосом, як фримартинізм, як причина безпліддя тварин. Наряду з цим, транслокації у буйволів є рідкісними хромосомними аберраціями [16].

В той же час літературі є низка повідомень інших авторів про хромосомні аномалії, що включають аутосоми, зокрема транслокації [17, 18], інверсії [19], крихкі ділянки [20]. Iannuzzi повідомляє, що плече хромосоми 5р річкового буйвола є гомологічним хромосомі 29 великої рогатої худоби, що бере участь у знаменитій транслокації 1/29 [21].

У наших дослідженнях українських буйволів транслокацій хромосом за типом робертсонівських не виявлено.

Як показав аналіз хромосомних наборів буйволів, не всі, а лише окремі хромосоми залучені

у аберрації: найчастіше це хромосоми 2-ї, 3-ї, 5-ї і 7-ї пар. В результаті досліджень нами не виявлено розривів, делецій чи дуплікацій в хромосомах дрібного розміру. Однак анеуплоїдію та передчасне розходження центромер під час мітотичного поділу клітини виявляли завдяки частіше дрібним хромосомам, ніж великим. Аналогічний ефект спостерігали і дослідники у медичній цитогенетиці [22].

Для глибшого вивчення каріотипу українських буйволів і враховуючи, що хромосоми, що несуть ядерцеутворюючі райони (ЯОР), беруть участь у хромосомних перебудовах, відповідальних за каріотипові відмінності, ми використали в дослідженнях метод фарбування хромосом сріблом (Ag-NOR).

Фарбування Ag-NOR виявило активні ЯОР на шести парах хромосом – на коротких плечах двох пар (3р, 4р) і на довгих плечах чотирьох пар хромосом (6, 21, 23 і 24). ЯОР-сайти річкових буйволів є гомологічними таким у великої рогатої худоби на теломерах хромосом 3-ї, 22-ї, 26-ї і 27-ї 28-ї пар. В ході аналізу виявлено від 1 до 12 ЯОР на клітину, а їх середнє число становило 2,82.

Хромосомний набір буйвола як представника родини *Bovidae* розглядається дослідниками із точки зору еволюції каріотипів та цитогенетичної подібності з іншими видами цієї родини.

За характером диференційної смугастості каріотип буйвола подібний до такого великої рогатої худоби [23]. Вважається, що каріотип *Bos taurus* L. є предковою моделлю для еволюційних порівнянь з іншими видами родини *Bovidae* [24].

Порівняння каріотипів річкових буйволів та великої рогатої худоби свідчить, що п'ять метацентричних хромосом каріотипу буйвола відповідають п'яти центричним злиттям гомоло-

гічних хромосом великої рогатої худоби – 1-й і 25-й; 2-й і 23-й; 8-й і 19-й; 5-й і 28-й; 16-й і 29-й, що підтверджує гіпотезу про спільногого предка даних видів ссавців [25, 26].

Отже, класичний цитогенетичний аналіз дозволяє отримати інформацію не лише про особливості організації хромосомного апарату, а і брати участь у вирішенні питань систематики і філогенезу ссавців.

**Висновки.** З використанням рутинного, GTG- і Ag-забарвлення метафазних хромосом встановлено, що каріотип українських буйволів річкових (*river buffalo*) відповідає нормальному:  $2n = 50, XY$  у самців ( $2n = 50, XX$  – у самок). Спонтанний рівень хромосомної нестабільності у лімфоцитах периферичної крові в середньому проявився на рівні  $14,35 \pm 2,03\%$  за рахунок пошкоджень хромосомного і хроматидного типу. Проблема, яка виникла нині щодо збереження українських буйволів, на жаль, залишається невирішеною. Неважаючи на їх високу генетичну різноманітність і, що не менш важливо, на високу якість продукції, яку отримують від буйволів, їх чисельність в нашій країні залишається мізерною. Тому генетичні, зокрема цитогенетичні, дослідження сприятийуть створенню програм зі збереженням даної унікальної популяції українських буйволів.

**Дотримання етичних стандартів.** Всі міжнародні, національні та інституційні принципи додгляду та використання тварин були дотримані. **Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

**Фінансування.** Це дослідження не отримало будь-якого конкретного грантуну від фінансових установ в державному, комерційному чи некомерційному секторах.

#### THE FREQUENCY OF CHROMOSOME ABERRATIONS IN SOMATIC CELLS OF UKRAINIAN BUFFALOES (*BUBALUS BUBALIS* L.)

*V. Dzitsiuk, Kh. Typylo*

Institute of Animal Breeding and Genetics nd.a. M.V. Zubets of NAAS, Chubynske, Ukraine  
E-mail: valentynadzitsiuk@gmail.com

The routine, GTG- and Ag-methods of metaphase chromosome analysis were used to determine the spontaneous frequency of chromosomal aberrations and the level of chromosomal variability in the lymphocytes of Ukrainian buffaloes (*Bubalus bubalis* L.). It was established

that within the studied animal population the diploid set of chromosomes consisted of 50 chromosomes ( $2n = 50, XX$ ;  $2n = 50, XY$ ). The individual chromosomal variability was discovered for several animals in the form of the cells with aneuploid and polyploid sets of chromosomes as well as of the structural autosomal aberrations. In particular, using the method of differentially dyed chromosomes, it was found that individual females had a duplicate in one of the chromosomes of the second pair, an X-monosomia, and a chimerism by sex chromosomes. The total chromosomal instability level in peripheral blood lymphocytes averaged at  $14,35 \pm 2,03\%$  due to the damaged states of chromosomal and chromatid types. The application of Ag-method helped reveal the active NOR in six pairs of chromosomes (3p, 4p, 6q, 21q, 23q, 24q).

#### ЧАСТОТА ХРОМОСОМНЫХ АБЕРРАЦИЙ В СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТКАХ УКРАИНСКИХ БУЙВОЛОВ (*BUBALUS BUBALIS* L.)

*V.B. Дзіциук, Х.Т. Типило*

С помощью рутинных, GTG- и Ag-методов метафазного хромосомного анализа установлено спонтанная частота хромосомных аберраций и уровень хромосомной изменчивости в лимфоцитах украинских буйволов (*Bubalus bubalis* L.). У животных исследованной популяции диплоидный набор состоял из 50 хромосом ( $2n = 50, XX$ ;  $2n = 50, XY$ ). Индивидуальная хромосомная изменчивость была обнаружена у нескольких животных в виде клеток с анеуплоидными и полиплоидными наборами хромосом, а также со структурными аутосомными аберрациями. В частности, с использованием метода дифференциально окрашенных хромосом было обнаружено у отдельных самок дупликация одной из хромосом второй пары, X-моносомия и химеризм по половым хромосомам. Общий уровень хромосомной нестабильности в лимфоцитах периферической крови в среднем составил  $14,35 \pm 2,03\%$  из-за повреждений хромосомного и хроматидного типов. Применение Ag-метода помогло выявить активное NOR в шести парах хромосом (3р, 4р, 6q, 21q, 23q, 24q).

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Castello, J. R., Bovids of the World: Antelopes, Gazelles, Cattle, Goats, Sheep, and Relatives. Princeton University Press., 2016, pp. 596–601. <https://doi.org/10.1002/jwmg.21197>.
2. Guzeev, Y.V., Melnyk, J.V., Gladyr, O.O., and Zinovieva, N.A., Polymorphism of a population of Ukrainian river buffaloes (river buffalo) for microsatellite DNA loci. Breeding and genetics of animals, 2016, vol. 51. pp. 276–81.
3. Pourourali, M., Tarang, A., and Mashayekhi, F., Chromosomal analysis of two buffalo breeds of Mazani

- and Azeri from Iran. *Iran. J. Veter. Sci. Technol.*, 2015, vol. 7, no. 1, pp. 22–31. <https://doi.org/10.22067>.
4. Burgos, M., Rapid, A., Jiménez, R., and Diaz De La Guardia, R., Simple and Reliable Combined Method for G-Banding Mammalian and Human Chromosomes. *Stain Technol.*, 1986, vol. 61, no. 5, pp. 257–60. doi: 10.3109/10520298609109950.
  5. Supanuam, P., Tanomtong F., Jantarat, S., Kakampuy, W., Kaewsri, S., and Kentha, A., Standardized karyotype and idiogram of Thai native swamp buffalo, *Bubalus bubalis* (Artiodactyla, Bovidae) by convention staining, G-banding, C-banding and NOR-banding techniques. *Thai J. Genetics*, 2010, vol. 3, no. 1, p. 83. doi.org/10.14456/tjg.2010.8.
  6. Iannuzzi, L., Standard karyotype of the river buffalo (*Bubalus bubalis* L., 2n = 50). Report of the committee for the standardization of banded karyotypes of the river buffalo. *Cytog. Cell Genet.*, 1994, vol. 67, no. 2, pp. 102–13. doi:10.1159/000133808.
  7. Shaari, A.L., Jaoi-Edward, M., Loo, S.S., Salisi, M.S., Yusoff, R., Nurul Izza Ghani, A., Mohd Zamri Saad, M.Z., and Ahmad H., Karyotypic and mtDNA based characterization of Malaysian water buffalo. *BMC Genetics*. 2019. vol. 20, no. 37, pp. 1–6. doi. org/10.1186/s12863-019-0741-0.
  8. Alikhani, J., Mohammadi, G., and Shariati, G. Cytogenetic identification of Khuzestani water Buffalo. *Vet Res Forum.*, 2018, vol. 9, no. 4, pp. 357–60. doi: 10.30466/vrf.2018.33075.
  9. Patel, A. V., Patel, R., Parth, B., Shah, R., and Priti, P., Cytogenetic studies of the dairy bulls. *Wayamba J. Anim. Sci.*, 2011, vol. 20, pp. 190–4.
  10. Kotikalapudi, R., Patel, R.K., Nagaraju Naik Sugali, Kommuri, M., Structural chromosomal mosaicism due to partial monosomy (3q-) in a Murrah buffalo (*Bubalus Bubalis*) bull, *Inter. J. Adv. Res. Develop.*, 2016, vol. 1; no. 9, pp. 25–7.
  11. Patel, R.K., Kotikalapudi, R., Medidi, H., and Nagaraju Naik Sugali, Sancar, S., Structural Chromosome Mosaicism in Peripheral Blood Cells of Murrah Buffalo (*Bubalus Bubalis*). *J. Chem., Biol. Physic. Sci.*, 2015, vol. 5, no. 4, pp. 4224–30. <http://www.jcbsc.org/>.
  12. Yadav, B.R., Kumar, R., Tomar, O.S., and Balain, D.S., Monosomy X and gonadal dysgenesis in a buffalo heifer (*Bubalus bubalis*). *Theriogenol.*, 1990, vol. 34, pp. 99–105. doi: [https://doi.org/10.1016/0093-691x\(90\)90580-m](https://doi.org/10.1016/0093-691x(90)90580-m).
  13. Iannuzzi, L., Di Meo, G.P., Perucatti, A., Cirotola, F., Incarnato, D., Di Palo, R., Peretti, V., Campanile, G., and Zicarelli, L., 2005. Freemartinism in river buffalo: clinical and cytogenetic observations. *Cytogen. Genome Res.*, 2005, vol. 108, pp. 355–8. doi: 10.1159/000081531.
  14. Whitacre, L., Hoff, J., and Schnabel, R., Elucidating the genetic basis of an oligogenic birth defect using whole genome sequence data in a non-model organism. *Bubalus bubalis. Sci. Rep.*, 2017, vol. 7, no. 39719. doi: 10.1038/srep39719.
  15. Albarella, S., Cirotola, F., D'Anza, E., Coletta, A., Zicarelli, L., and Peretti, V., Congenital Malformations in River Buffalo (*Bubalus bubalis*). *Animals (Basel)*, 2017, vol. 7, no. 2, pp. 1–15. doi: 10.3390/ani7020009.
  16. Yimer, N., Chromosomal Anomalies and Infertility in Farm Animals: A review. *Pertanika J. Trop. Agriult. Sci.*, 2014, vol. 37, no. 1, pp. 1–18. <http://psasir.upm.edu.my/id/eprint/36786>.
  17. Patel, R.K., Singh, K.M., Soni, K.J., and Chauhan, J.B., Novel cytogenetic finding: an unusual X/X-translocation in Mehsana buffalo (*Bubalus bubalis*). *Cytogen. Genome Res.* 2006, vol. 115, pp.186–8. doi.org/10.1159/000095241.
  18. Chauhan, J., Patel R., and Singh, K., Impact of a novel cytogenetic finding (unusual X;X translocation) on fertility of a buffalo bull (*bubalus bubalis*), *Buffalo Bull.*, 2009, vol.28, no.3, pp. 151–3.
  19. Mohammadi, G., Sariati, G., and Alikhani, J., Cytogenetic identification of Khuzestani water Buffalo. *Vet. Res. Forum.* 2018 vol. 9, no. 4, pp. 357–60. doi: 10.30466/vrf.2018.33075.
  20. Sanghamitra, K., Patel, R.K., Sambasiva Rao, K.R.S., and Singh, K.M., Preliminary study on detection of fragile site on chromosomes of sub-fertile Murrah buffalo bull, Harry. *Vet.*, 2004, vol. 43, pp. 68–71.
  21. Iannuzzi, L., Di Meo, G., Perucatti, A., and Ferrara, L., The high resolution G – and R-banding pattern in chromosomes of river buffalo (*Bubalus bubalis* L.), *Hereditas*, 1990, vol. 112, pp. 209–15.
  22. Nastyukova, V.V., Stepanova, E.I., and Glazko V.I., Cytogenetic effects in children under different conditions of exposure to small doses of radiation. *Cytol. Genet.*, 2002, no. 6, pp. 38–45.
  23. Oraby, H.A., Nahas E.I., de Hondt, S.M., El Ghor, H.A., and Samad, M. Assignment of PCR markers to river buffalo chromosomes. *Genet., Select., Evolut.*, 1998, GSE, vol. 30, no. 1, pp. 71–8. doi: 10.1186/1297-9686-30-1-71.
  24. Iannuzzi, L., The water buffalo: evolutionary, clinical and molecular cytogenetics, *Ital. J. Anim. Sci.*, 2016, vol. 6, no. 2, pp. 227–36. doi.org/10.4081/ijas.2007.s2.227.
  25. Nahas S.M.El, Hondt, H.A., Soussa, S.F., Ghor, A.El., and Hassan, A.A., Assignment of new loci to river buffalo chromosomes confirms the nature of chromosomes 4 and 5, *J. Anim. Breed. Genet.*, 2005, vol. 116. pp. 21–8. doi: 10.1111/j.1439 0388.1999.00167.x.
  26. Degrandi, T.M., Pita, S., Panzera, Y., de Oliveira, E.H., Marques, J.R., Figueiry, M.R., Marques, L.C., Vinadé, L., Gunski, R.J., and Garnero, A.V., Karyotypic evolution of ribosomal sites in buffalo subspecies and their crossbreed. *Genet. Mol. Biol.*, 2014, vol. 37, no. 2, pp. 375–80. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-47572014000300009>.

Надійшла в редакцію 24.05.19  
Після доопрацювання 04.07.19  
Прийнята до друку 18.03.20