



УДК 636.1.013:575

ВПЛИВ ЗАГАЛЬНОЇ ХРОМОСОМНОЇ НЕСТАБІЛЬНОСТІ ТА ПОВНОЦІННОСТІ СТАТЕВОГО ЦИКЛУ КОБИЛ НА ВИХІД ЛОШАТ

Росоха В. І., к. с.-г. н.
Ткачова О. Л., к. с.-г. н.,
Інститут тваринництва НААН

Показано, що залежно від рівня загальної хромосомної нестабільності та структури аберацій змінюється кількість кобил із ректально підтвердженими ановуляторними статевими циклами. При загальній хромосомній нестабільності до 5 % ановуляторні цикли спостерігались у 1/3 самиць та було отримано вихід лошат при паруванні 76,74 %. Збільшення загальної хромосомної нестабільності більше 10 % супроводжується збільшенням кількості кобил із гіпофункцією яєчників до 80,5 % і зменшенням виходу лошат до 13,12 %. Пропонується проводити цитогенетичну оцінку коней для підвищення ефективності зоотехнічних та ветеринарних заходів поліпшення репродуктивної функції.

Ключові слова: загальна хромосомна нестабільність, кобили, статевий цикл, гіпофункція яєчників, вихід лошат.

Сьогодні в Україні спостерігається різке скорочення чисельності поголів'я коней, в тому числі і племінних тварин. Більшість порід вже не мають мінімально необхідної кількості племінних кобил та жеребців. Спостерігається постійне зниження середнього виходу лошат по галузі конярства [1-2]. Це може бути пов'язано з різними факторами, в тому числі, і з розповсюдженням хромосомних аберацій різного рівня серед конематок. У племінному конярстві цитогенетичні дослідження коней, а саме кобил не проводяться, а селекція за урахування цитогенетичних досліджень практично відсутня.

Цитогенетичний моніторинг дозволяє своєчасно виявити і вилучити із системи відтворення жеребців та кобил із хромосомними порушеннями. Проте, практикуючі фахівці галузі конярства України недостатньо уважно ставляться до обов'язкової цитогенетичної оцінки племінних коней, адже невідомо, як саме впливають особливості цитогенетичного профілю на вихід лошат.

Іншою причиною зниження виходу лошат можуть бути захворювання репродуктивної системи кобил. Найбільш поширеною в Україні патологією є гіпофункція яєчників кобил, яка здебільшого супроводжується ановуляторним статевим циклом, у результаті чого запліднення стає неможливим, адже яйцеклітина не виходить з фолікулу. Щоб ефективно лікувати гіпофункцію яєчників, треба чітко усвідомлювати її причини.

Метою даної роботи був аналіз впливу загальної хромосомної нестабільності кобил на вихід лошат при природному паруванні.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження проводили на 136 конематках української верхової породи, які належать ТОВ «Харківський кінний завод», племрепродуктору «Екопродукт-2009» Запорізької області, кінному заводу «Тракен» Полтавської області, кінно-спортивному клубу «Добромир» Луганської області. Виготовлення препаратів хромосом коней проводили згідно загальноприйнятих методик [3-4] у стерильному боксі. Постановка культури лімфоцитів периферійної крові коней передбачала виконання низки етапів: культивування лімфоцитів периферійної крові, стимульованих фітогемаглютинином (Sigma,



США) у суміші поживного середовища Ігла протягом 48 годин у термостаті за температури +37 °С. Зупинку мітозів проводили за 2 години до закінчення культивування внесенням колхіцину у концентрації 0,1 мкг/мл. У стерильні флакони зі зразками крові вносили 5-8 мл культурального середовища 199 або Ігла, додавали до 2 мл ІСТ та ФГА (6-12 мкг/мл кінцевого об'єму культурального середовища), пеніцилін або стрептоміцин 100 мг/мл. Отриману суспензію ретельно перемішували і ставили на культивування на 48 годин за температури 37°С у термостат. За 30 хвилин до завершення культивування у кожену пробу вводили колхіцин у кількості 1 мг на 1 мл середовища. Після завершення культивування проводили центрифугування протягом 10 хвилин при 1000 обертів за хвилину. Після центрифугування виконували аспірацію супернатанту і додавали гіпотонічний розчин 0,5 % КСІ підігрітий до температури 37 °С. Потім на предметне скло з висоти 10-15 см капали 3-4 каплі клітинної суспензії і висушували. Після гіпотонічної обробки КСІ (0,075 М) протягом 20 хвилин клітини фіксували сумішшю етанолу та льодяної оцтової кислоти. Клітинну суспензію наносили на мокрі охолоджені предметні скельця, висушували. Аналіз препаратів хромосом проводили на забарвлених фарбником Гімза препаратах з використанням мікроскопу JenaVal (Carl Zeiss, Німеччина) із масляною імерсією при збільшенні у 1000 разів. При цьому враховували розриви хромосом з утворенням одиничних та парних фрагментів (аберації хроматидного та хромосомного типів), пробіли у хромосомах, кільцеві хромосоми або ацентричні кільця, геномні мутації та загальну хромосомну нестабільність [5-6]. Функціональний стан яєчників на ановуляторний цикл встановлювали з використанням ультразвукового сканеру «Aquila Pro» для ветеринарії з ректальним лінійним зондом 6-8 МГц. Статистичне опрацювання результатів здійснювали загальноприйнятими методиками [7].

Результати досліджень. При дослідженні цитогенетичного профілю лейкоцитів периферійної крові племінних конематок української верхової породи з ректально підтвердженою гіпофункцією яєчників було встановлено, що всі обстежені кобили мали нормальний диплоїдний каріотип $2n=64$. Особин із геномними мутаціями та збалансованими транслокаціями виявлено не було.

Аналіз отриманих результатів щодо індивідуального хромосомного профілю конематок дозволив розділити їх на три групи залежно від загальної хромосомної нестабільності: до 5 % метафазних пластинок із абераціями, 5-10 % та більше 10 % загальної хромосомної нестабільності (табл. 1).

Таблиця 1

Загальна хромосомна нестабільність та вихід лошат

Кількість кобил	Кількість метафаз	Загальна хромосомна нестабільність, %	Аберації, %			% кобил із гіпофункцією яєчників	Вихід лошат, %
			одиничні	парні	кільцеві		
до 5 %							
43	1905	3,04±0,28	54,18±5,23	45,82±5,23	0,00±0,00	30,1	76,74
5-10 %							
52	2611	7,16±0,32**	53,46±1,72	42,34±1,56	4,20±1,20	51,9*	53,85*
більше 10 %							
41	2132	13,91±1,50***	52,72±1,94	38,48±3,25	8,80±2,40***	80,5**	13,12***

Примітка. * - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$; *** - $P < 0,001$ (порівняно до першої групи з 43 кобил).



При зростанні загальної хромосомної нестабільності відбувалось збільшення кількості кобил, у яких було ректально підтверджено гіпофункцію яєчників з ановуляторним статевим циклом у першу охоту. При загальній хромосомній нестабільності до 5 % у третини кобил спостерігали легкий перебіг гіпофункції яєчників з одним циклом лікування. Загальна хромосомна нестабільність 5-10 % сприяла збільшенню кількості кобил із гіпофункцією яєчників на 21,8 % ($P < 0,05$). Крім того, перебіг гіпофункції ускладнювався і потребував не один, а два-три цикли лікування. Підвищення загальної хромосомної нестабільності у середньому більше 10 % супроводжувалось збільшенням кількості кобил із гіпофункцією яєчників у першу статеву охоту на 50,4 % ($P < 0,01$). При цьому спостерігалась важка форма гіпофункції яєчників, що вимагало проведення не менше трьох курсів лікування. Незважаючи на підтверджену гіпофункцію яєчників, тварин лікували і спаровували у наступну статеву охоту.

Встановлено, що вихід лошат при паруванні зменшувався при збільшенні загальної хромосомної нестабільності. При середній загальній хромосомній нестабільності від 5 до 10 % метафаз із аберациями вихід лошат зменшувався на 22,89 % ($P < 0,05$) порівняно до кобил із допустимим рівнем менше 5 %. Зростання загальної хромосомної нестабільності більше 10 % супроводжувалось зменшенням виходу лошат на 63,62 % ($P < 0,01$) від першої групи та на 40,73 % ($P < 0,05$) від другої групи обстежених конематок.

На рисунку 1 зображено гіпофункціональний яєчник та фізіологічно нормальний яєчник із преовуляторним фолікулом.

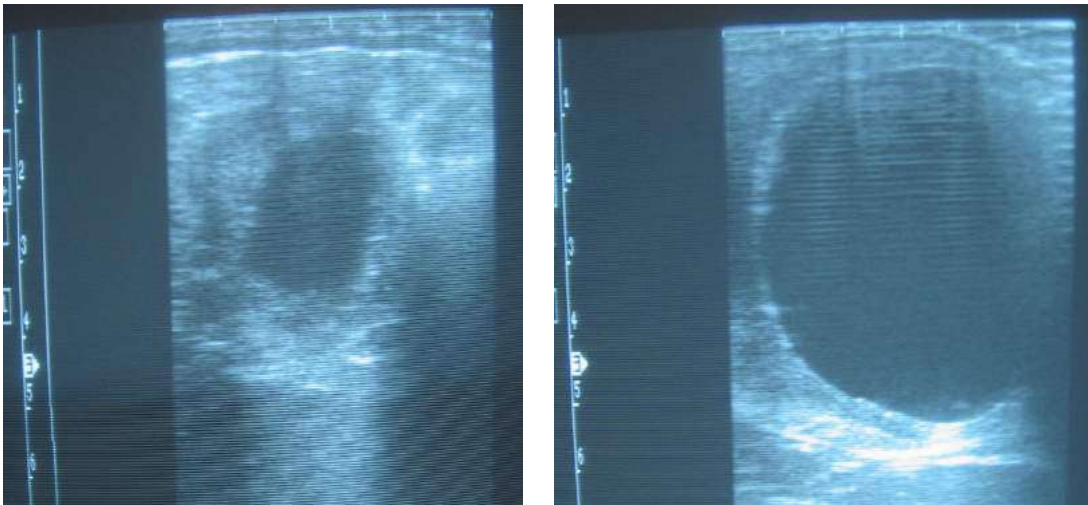


Рис.1 – Гіпофункціональний яєчник (ліворуч), фізіологічно нормальний фолікул (праворуч).

Цікавою тенденцією було те, що при зменшенні виходу лошат та зростанні загальної хромосомної нестабільності змінювалась структура хромосомних абераций. Спостерігалось зменшення одиничних та парних абераций та збільшувався відсоток кільцевих перебудов хромосом. Порівняно до самиць першої групи відсоток одиничних абераций зменшився у кобил другої та третьої груп на 0,72 та 1,46 % відповідно. Кількість парних абераций у кобил першої групи зменшилась на 3,48 %, а у конематок третьої групи на 7,37 % порівняно із кобилами першої групи з допустимим рівнем загальної хромосомної нестабільності менше 5 %. Кільцевих абераций у кобил першої групи із допустимим рівнем загальної хромосомної нестабільності не було встановлено. Кільцеві аберации виявлено у кобил другої групи, що, можливо, впливало на погіршенню важкості перебігу гіпофункції



яєчників. При зростанні загальної хромосомної нестабільності більш ніж 10 % і важкому перебігу гіпофункції яєчників, кількість кільцевих утворень хромосом була вище 8 %.

Зв'язок досліджених цитогенетичних характеристик із виходом лошат та частотою прояву гіпофункції яєчників наглядно простежується на рис. 2.

Отже, на важкість перебігу гіпофункції яєчників і зниження виходу лошат може впливати не лише зростання загальної хромосомної нестабільності, а також структура самих аберацій. Коефіцієнт негативної кореляції (r) загальної хромосомної нестабільності з виходом лошат склав $-0,77$ ($P < 0,01$), що може підтверджувати наявність зв'язку цих показників.



Рис.2 – Цитогенетичний профіль кобил у зв'язку з виходом лошат та гіпофункцією яєчників кобил.

Висновки:

1. Встановлено, що збільшення хромосомної нестабільності до 5-10 % супроводжується зниженням виходу лошат до 53,85 % та збільшенням кількості кобил із гіпофункцією яєчників до 51,9 %. Зростання загальної хромосомної нестабільності більше 10 % супроводжується зниженням виходу лошат до 13,1 % та збільшенням кількості кобил із гіпофункцією яєчників до 80,5 %. При допустимому рівні загальної хромосомної нестабільності менше 5 % спостерігається середній вихід лошат у 76,74 % та кількість кобил із гіпофункцією – 30,1 %.

2. Зміна структури хромосомних аберацій може впливати на зменшення виходу лошат та збільшення кількості кобил із гіпофункцією яєчників. Коефіцієнт негативної кореляції (r) загальної хромосомної нестабільності з виходом лошат склав $-0,77$ ($P < 0,01$).



Бібліографічний список

1. Буркат В. П. Використання цитогенетичного контролю при виявленні хромосомних аномалій / В. П. Буркат, С. І. Ковтун. - К., 2005, № 2. - С. 38-40.
2. Ткачова І. В. Стратегія розвитку галузі конярства в Україні / І. В. Ткачова // Наук.-техн. бюл. – Х., 2010. – № 103. – С. 8 – 16.
3. Исследование хромосом сельскохозяйственных животных: метод. рек. ; под. ред. Яковлева А. Ф. – Л., 1976. – 65 с.
4. Moorhead P. S. Chromosome preparations of leucocytes cultured from human peripheral blood / P. S. Moorhead, P. S. Nowell, W. I. Mellman // Exper. Cell Res. – 1960. – Vol. 20. – P. 613-616.
5. Графодатский А. С. Хромосомы сельскохозяйственных и лабораторных млекопитающих / А. С. Графодатский, С. И. Раджабли. – Новосибирск, 1988. – 128 с.
6. Спонтанная изменчивость хромосом и плодовитость свиней в разных экологических зонах / [Осипова Н. А., Петухов В. Л., Магер С. Н., Кочнева М. Л.] // Панова Б. Л., Петухова В. Л. Проблемы селекции сельскохозяйственных животных. – Новосибирск, 1997. – С. 93 - 95.
7. Плохинский Н. А. Руководство по биометрии для зоотехников / Н. А. Плохинский – М.: Колос, 1969. - 256 с.

ВЛИЯНИЕ ОБЩЕЙ ХРОМОСОМНОЙ НЕСТАБИЛЬНОСТИ И ПОЛНОЦЕННОСТИ ПОЛОВОГО ЦИКЛА КОБЫЛ НА ВЫХОД ЖЕРЕБЯТ

Россоха В. И., Ткачёва О. Л., Институт животноводства НААН

Показано, что в зависимости от уровня общей хромосомной нестабильности и структуры aberrаций меняется количество кобыл с ректально подтвержденными ановуляторными половыми циклами. При общей хромосомной нестабильности до 5 % ановуляторные циклы наблюдались у 1/3 самок и было получено выход жеребят при спаривании 76,74 %. Увеличение общей хромосомной нестабильности более 10 % сопровождается увеличением количества кобыл с гипофункцией яичников до 80,5 % и уменьшением выхода жеребят до 13,12 %. Предлагается проводить цитогенетическую лошадей для повышения эффективности зоотехнических и ветеринарных мероприятий улучшения репродуктивной функции.

Ключевые слова: общая хромосомная нестабильность, кобылы, половой цикл, гипофункция яичников, выход жеребят.

INFLUENCE OF GENERAL CHROMOSOMAL INSTABILITY AND FULLITY OF THE SEXUAL CYCLE FORMATION FOR IN MARES ON THE OUTPUT OF FOALS

Rossokha V. I., Tkachova O. L., Institute of animal science NAAS of Ukraine

It is shown that, depending on the level of total chromosomal instability and the structure of aberrations, the number of mares with rectally confirmed anovulatory sex cycles varies. With general chromosomal instability up to 5 %, anovulatory cycles were observed in 1/3 of the females and output of foals was 76.74 %. An increase in general chromosomal instability above 10 % is accompanied with an increase of the number of mares with ovarian hypofunction to 80.5 % and a decrease in the output of foals to 13.12 %. It is proposed to carry out cytogenetic assessment of horses to improve the efficiency of zootechnical and veterinary measures to improve reproductive function.

Key words: general chromosomal instability, mares, sexual cycle, ovarian hypofunction, output of foals.