

МІЖПОРОДНА ДИФЕРЕНЦІАЦІЯ КОРІВ ПОРІД АБЕРДИН-АНГУС І УКРАЇНСЬКА ЧОРНО-РЯБА МОЛОЧНА ЗА РІВНЕМ СОМАТИЧНОГО МУТАГЕНЕЗУ

Л. Ф. Стародуб, Л. І. Остаповець

Інститут розведення і генетики тварин НААН

Проведено цитогенетичний аналіз клітин периферійної крові in vitro у корів породи абердин-ангус і українська чорно-ряба молочна. Виявлено, що тварини молочної породи характеризуються підвищеним рівнем анеупloidії-I та II ($2,1 \pm 0,97$ і $2,5 \pm 0,94$) порівняно з коровами м'ясного ($0,4 \pm 0,20$ і $0,8 \pm 0,74$) напряму продуктивності. Вік та міжпородні відмінності суттєво впливають на частоту клітин із асинхронним розщепленням центромерних районів хроматид. Доцільно при проведенні цитогенетичного моніторингу племінних тварин різного напряму продуктивності враховувати міжпородні відмінності частот спонтанного рівня хромосомної мінливості, що буде стримувати накопичення в генофонді порід генетичного вантажу.

Ключові слова: УКРАЇНСЬКА ЧОРНО-РЯБА МОЛОЧНА ПОРОДА, ПОРОДА АБЕРДИН-АНГУС, СОМАТИЧНИЙ МУТАГЕНЕЗ, КАРІОТИПОВА МІНЛИВІСТЬ, ПОЛІПЛОЇДІЯ, АНЕУПЛОЇДІЯ, ХРОМОСОМНА АБЕРАЦІЯ, ХРОМАТИДНА АБЕРАЦІЯ

Процеси доместикації великої рогатої худоби та застосування методів ступінчастої селекції призвели до змін фізіологічних та морфологічних ознак, які пов'язані з продуктивністю корів. Сучасні методи селекції сільськогосподарських тварин базуються на використанні генетичного поліморфізму. Знання хромосомного поліморфізму дає змогу скласти уявлення про специфіку спадкового матеріалу і вияв окремих структурних чи числових особливостей каріотипу, для яких характерна співвідносна мінливість, що використовується для вирішення селекційних завдань [1].

Нині до кінця не визначеним залишається залежність напряму продуктивності і спонтанного рівня цитогенетичних аномалій у великої рогатої худоби, який необхідно враховувати під час проведення цитогенетичного моніторингу. Так, у вирішенні питань селекції м'ясних порід худоби актуальним є зв'язок поліплоїдії і енергії росту [2], а у тварин молочної породи напряму продуктивності асинхронне розходження центромерних районів хромосом є певною маркерною характеристикою молочної худоби [1].

Метою нашої роботи було виявлення рівня соматичного мутагенезу у корів порід різного напряму продуктивності та визначення взаємозв'язку між проявом хромосомної мінливості та віком тварин.

Матеріали і методи

Цитогенетичні дослідження проводили на маточному поголів'ї великої рогатої худоби (20 тварин породи абердин-ангус та 20 тварин української чорно-рябої молочної породи) фермерського господарства ім. Шевченка, Здолбунівського р-ну, Рівненської області. За віком досліджені тварини були від трьох до десяти років. Усі тварини перебували в умовах, що відповідали ветеринарно-санітарним нормам. Цитогенетичні препарати готували згідно традиційної методики [3]. Їх аналіз здійснювали під мікроскопом Axiostar plus (Carl Zeiss, Німеччина), збільшення ок. $10\times$, об. 100.

У корів визначали відсоток метафазних пластинок із кількісними (анеуплоїдія (А-I, $2n \pm 2$) і (А-II, $2n \pm 10$) та поліплоїдія (ПП)), клітини із асинхронністю розщеплення центромірних районів хромосом (АРЦРХ) та структурними порушеннями (хромосомні (ХР) і хроматидні розриви (ХМ)). У кожній тварини аналізували 100 метафазних пластинок (рис. 1). Загальний рахунок цитогенетичного аналізу складав понад 4000 метафазних пластинок.

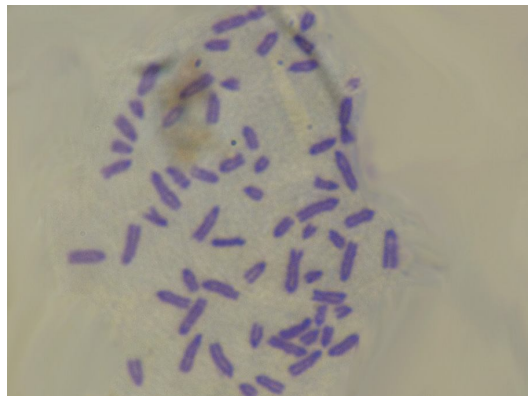


Рис. 1. Метафазна пластинка корови української чорно-рябої молочної породи ($2n=60$) в нормі

Статистичну обробку отриманих даних здійснювали стандартними методами [4, 5] із використанням комп'ютерної програми «Microsoft Excel», та «Statistica».

Результати й обговорення

У результаті цитогенетичного дослідження каріотипу корів порід молочного та м'ясного напрямку продуктивності виявлено зростання відсотка клітин із анеуплоїдією-I. У корів української чорно-рябої молочної породи у 5 разів ($P > 0,95$) у порівнянні з абердин-ангусами (табл. 1).

Таблиця 1

Цитогенетична мінливість у корів порід абердин-ангус і українська чорно-ряба молочно, %

| Кількість тварин, гол. | А-I | А-II | ПП | АРЦРХ | Розриви хроматид | Розриви хромосом |
|--------------------------------------|-----------|----------|-----------|----------|------------------|------------------|
| <i>Абердин-ангус</i> | | | | | | |
| 20 | 0,4±0,20* | 0,8±0,74 | 1,8±0,80* | 1,1±0,70 | 1,7±1,02 | 1,1±1,14 |
| <i>Українська чорно-ряба молочно</i> | | | | | | |
| 20 | 2,1±0,97* | 2,5±0,94 | 0,4±0,21* | 2,1±1,19 | 1,6±0,89 | 0,9±0,52 |

Примітка: * — $P > 0,95$

Основну кількість анеуплоїдних клітин становлять гіпоплоїдні клітини. Втрата хромосом може відбуватися як при порушенні їх розподілу при мітозі, так і за рахунок артефактів при приготуванні цитогенетичних препаратів, внаслідок порушення цитоплазматичної мембрани. Рівень міжпородної відмінності за частотою прояву А-II становив 3,1 раза (рис. 2).

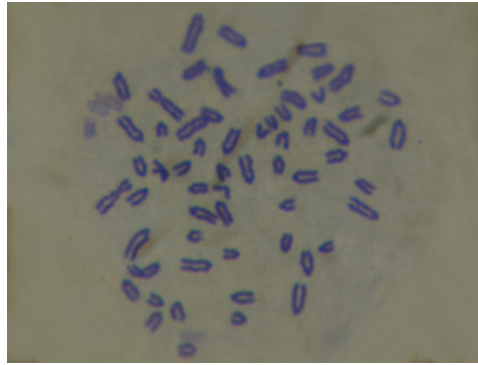


Рис. 2. Метафазна пластинка корови української чорно-рябої молочної породи. Каріотип тварини: $2n=59$

Отже, клітини крові корів української чорно-рябої молочної породи характеризуються підвищеним рівнем анеуплоїдії-I та анеуплоїдії-II. Наші дослідження співпали із дослідженнями інших вчених, що, підвищений рівень анеуплоїдних клітин є характерною цитогенетичною особливістю молочної худоби [6].

Концентрація поліплоїдних клітин у крові корів породи абердин-ангус та української чорно-рябої молочної породи становила 1,8 і 0,4 %, відповідно. Різниця середніх величин даної мінливості між двома групами тварин була достовірною при $P > 0,95$. У маточного поголів'я породи абердин-ангус спостерігався вищий рівень поліплоїдних клітин порівняно з коровами української чорно-рябої молочної породи. Отже, характерною рисою тварин м'ясного напрямку продуктивності є високий рівень поліплоїдних клітин. Середній показник поліплоїдних клітин у великої рогатої худоби становить 4,4 %, а той самий показник у тварин порід м'ясного напрямку — 5,9 % [7].

Цитогенетичний аналіз, проведений нами, виявив частоту клітин із асинхронним розщепленням центромірних районів хромосом у абердин-ангусів у межах 1,1 та 2,1 % у корів української чорно-рябої молочної породи. У тварин української чорно-рябої молочної породи дана аномалія проявляється майже у 2 рази частіше порівняно з абердин-ангусами. Це може бути обумовлене особливостями напрямку селекційної роботи з дослідженою нами групою тварин. Визначено, що у тварин української чорно-рябої молочної породи цей показник є певною маркерною характеристикою молочності худоби [1].

Структурні порушення хромосом у корів проявлялися у вигляді хромосомних та хроматидних розривів (рис. 3). Кількість розривів хроматид у тварин двох груп не відрізнялися між собою. Хроматидні розриви у абердин-ангусів становили 1,7 % та 1,6 % у маточного поголів'я української чорно-рябої молочної породи. Не спостерігалось суттєвої різниці і між розривами хромосом у популяціях двох груп корів. Для абердин-ангусів вони становили 1,1 % і для тварин української чорно-рябої молочної породи — 0,9 %.



Рис. 3. Метафазна пластинка корови породи абердин-ангус (стрілкою показано розрив хромосом)
Біологія тварин, 2012, т. 14, № 1–2

Таким чином, аналіз отриманих результатів свідчить, що мінливість і нестабільність хромосом відображають як внутрішньоклітинні процеси організму, так і дію різних чинників зовнішнього середовища на організм тварини.

Використовуючи методику інтегральної цитогенетичної оцінки племінних тварин, ми змогли дослідити збалансованість та стійкість каріотипу у протестованих тварин порід абердин-ангус та українська чорно-ряба молочна [1]. Для цього встановили, співвідношення між абераціями хромосомного та хроматидного типів у двох популяціях тварин, яка в середньому становила 1:1,5 та 1:1,4, тобто домінували аберації хроматидного типу.

Співвідношення хромосомних і хроматидних аберацій може бути інформативним показником стабільності геному. Частка аберацій хроматидного типу переважає при спонтанному мутагенезі, а аберації хромосомного типу переважають за впливу радіаційних факторів [8]. Звідси робимо висновок, що структурні порушення хромосом та хроматид, у досліджуваних нами тварин, виникли внаслідок спонтанного мутагенезу.

З метою дослідження збалансованості та стійкості каріотипу тварин порід абердин-ангус і українська чорно-ряба молочна ми оцінили співвідношення частот хромосомних (ХР) та хроматидних (ХТ) розривів. У абердин-ангусів співвідношення дорівнювало 1:1,5, а у тварин породи молочного напрямку — 1:1,4. Ці показники (Хр:Хм) не перевищують співвідношення 1,0:2,0, що може свідчити про те, що тварини несуть збалансований стійкий каріотип [1].

Для визначення оцінки залежності хромосомної мінливості корів від їх віку, групу досліджуваних тварин української чорно-рябої молочної породи розділили на дві групи: 3–6 років і 9–10 років (табл. 2).

Таблиця 2

Оцінка залежності хромосомної мінливості корів української чорно-рябої молочної породи від їх віку, %

| Вік тварин, роки | n | A-I | A-II | III | Розриви хроматид | Розриви хромосом | АРЦРХ |
|------------------|----|----------|-----------|----------|------------------|------------------|----------|
| 3–6 | 10 | 1,6±1,28 | 1,4±0,49* | 0,4±0,20 | 0,8±0,21* | 0,8±0,61 | 1,4±1,34 |
| 9–10 | 10 | 2,4±0,89 | 3,2±0,83* | 0,6±0,34 | 2,0±0,60* | 1,4±0,54 | 2,8±2,69 |

Примітка: *— P > 0,95

Встановлено, що у тварин 9–10-річного віку лімфоцити периферійної крові з А-I у 1,5 раза зустрічаються частіше, ніж у тварин 3–6-річних, але різниця оцінки середніх величин є статистично недостовірною. Кількість клітин периферійної крові з А-II у 2,2 раза більша в тварин другої вікової групи у порівнянні з першою. Між тваринами двох вікових груп спостерігається вірогідна різниця за цитогенетичними параметрами А-II, при P > 0,95. Результати наших досліджень підтверджують думку про те, що зміна числа хромосом у старості характерна як для людини, так і для тварин різних видів [9].

Між кількістю поліплоїдних клітин у тварин першої та другої групи, яка становить 0,4 та 0,6 %, різниця оцінки середніх величин є статистично недостовірною. Кількість поліплоїдних клітин у досліджуваних корів не перевищує кількості цих клітин (0,54 %) у контрольної групи голштинізованих корів чорно-рябої породи племзаводу «Повадіно» у Московській області досліджених іншими вченими, тобто, показники даної мінливості хромосом характерні для тварин молочного напрямку продуктивності [10].

Асинхронність розщеплення центромірних районів хромосом у старших тварин у 2 рази вища в порівнянні з молодшими. Оскільки групи мали високу внутрішньогрупову гетерогенність за даним показником, ми не отримали статистично вірогідних величин за критерієм Ст'юдента.

Щодо частоти хроматидних розривів, то їх кількість у тварин другої групи (9–10 років) у 2,5 раза більша, ніж у тварин першої групи (3–6 років). Різниця між середніми величинами даної ознаки є достовірною при $P > 0,95$. У корів 9–10-річного віку розриви хромосом зустрічаються частіше у 1,8 раза, ніж у 3–6-річних корів.

Отримані результати з вивчення хромосомної мінливості корів української чорнорябої молочної породи співпадають із дослідженнями проведеними на даній породі у господарстві СВК ім. Щорса Білоцерківського району Київської області [11]. Проведені розрахунки показують, що найбільше з віком проявляється мінливість таких цитогенетичних показників: А-І, розриви хромосом та хроматид, а також встановлено прямий кореляційний зв'язок між віком тварини і проявом цитогенетичної мінливості.

У дослідженнях проведених нами було виявлена вікова мінливість кількості хромосом та їх структурні порушення (хромосомні та хроматидні розриви) у каріотипі корів породи абердин-ангус. Популяцію корів даної породи згрупували у дві вікові групи: перша група — 3–5-річні тварини, друга група — 8–10-річні тварини (табл. 3).

Таблиця 3

Оцінка залежності хромосомної мінливості корів породи абердин-ангус від їх віку, %

| Вік тварин, роки | n | А-І | А-ІІ | ІІІ | Розриви хроматид | Розриви хромосом | АРЦРХ |
|------------------|----|----------|----------|----------|------------------|------------------|----------|
| 3–5 | 10 | 0,4±0,26 | 0,8±0,41 | 1,2±0,98 | 1,2±0,38* | 0,4±0,30 | — |
| 8–10 | 10 | 0,6±0,24 | 1,2±0,68 | 2,4±1,36 | 2,2±0,39* | 1,8±1,25 | 1,4±1,34 |

Примітка: * — $P > 0,95$

Цитогенетичний аналіз свідчить про те, що з віком у корів породи абердин-ангус спостерігається тенденція підвищення частоти А-І та А-ІІ (0,4 і 0,6 %) та (0,8 і 1,2 %) відповідно. Аналогічна картина описана в роботах Ильинских (1984), де висловлюється думка, що з віком у лімфоцитах крові людини з'являються клітини з порушенням числа хромосом. Такі особливості характерні не тільки для людини, але також для курей, амфібій і інших хребетних тварин [12].

Кількість поліплоїдних клітин у крові маточного поголів'я породи абердин-ангус першої вікової групи у два рази менша у порівнянні з другою віковою групою і не перевищує середнього показника, характерного для великої рогатої худоби порід м'ясного напрямку продуктивності, що становить 5,86 % [7]. Частота клітин із асинхронним розходженням центромірних районів хромосом, яка відображає передумови виникнення кількісних порушень, спостерігається лише у 8–10-річних тварин. У тварин першої групи (3–5-річних) дана хромосомна мінливість відсутня, що пояснює причину збільшення кількісних аномалій хромосом з віком [13].

Структурні порушення хромосом були виражені хромосомними та хроматидними розривами. Рівень розривів хромосом у даних вікових груп тварин становив 0,4 і 1,8 %, що у 4,5 раза більше у тварин 8–10 років у порівнянні з 3–5-річними тваринами. Розмах мінливості частот хроматидних розривів у корів породи абердин-ангус двох груп коливався в межах від 1,2 % (3–5-річних) до 2,2 % у (8–10-річних) із статистично достовірною різницею середніх величин при $P > 0,95$.

На нашу думку, підвищення рівня спонтанних хромосомних порушень, який спостерігався у тварин 8–10-річного віку досліджувальних порід пояснюється зниженням адаптаційних і відновлюючих процесів, які виникають у організмі внаслідок метаболічних змін.

Висновки

Серед досліджених тварин маточного поголів'я породи абердин-ангус і української чорно-рябої молочної не були виявлені тварини носії конститутивних (постійних) хромосомних перебудов. Тварини молочного напрямку продуктивності (українська чорно-ряба молочна порода) характеризувалися підвищеним рівнем А-I ($2,1 \pm 0,97$ %) порівняно з коровами м'ясного напрямку продуктивності (порода абердин-ангус) ($0,4 \pm 0,20$ %). Тварини м'ясного напрямку продуктивності характеризувалися підвищеним рівнем поліплоїдних клітин ($1,8 \pm 0,80$ %) порівняно з коровами молочного напрямку продуктивності ($0,4 \pm 0,20$ %) і не перевищували показника поліплоїдності клітин, характерного для тварин м'ясного напрямку — 5,86 %.

Асинхронне розходження центромірних районів хромосом у тварин української чорно-рябої молочної породи ($2,1 \pm 1,19$ %) у 2 рази проявилось частіше порівняно з абердин-ангусами ($1,1 \pm 0,70$ %) і є певною маркерною характеристикою молочності худоби. Структурні порушення хромосом та хроматид, у тварин двох породних груп, виникли внаслідок спонтанного мутагенезу. Співвідношення частот хромосомних та хроматидних розривів, яке у абердин-ангусів дорівнювало 1:1,5, а у тварин молочного напрямку — 1:1,4 є показником збалансованого, стійкого каріотипу тварин двох породних груп. Встановлено вікову мінливість прояву кількості хромосом (А-I, А-II) та структурних порушень хромосом (хромосомні та хроматидні розриви) у клітинах периферійної крові корів порід молочного та м'ясного напрямку продуктивності. Цитогенетичний аналіз можна використовувати як прогностичний для відбору маточного поголів'я корів.

Перспективи подальших досліджень У майбутньому за допомогою цитогенетичного аналізу дослідити індукований мутагенез у тварин даних порід і цим самим здійснювати підбір батьківських пар для одержання нащадків з бажаним генотипом.

L. F. Starodub, L. I. Ostapovets

INTERBREED DIFFERENTIATION OF ABERDEEN ANGUS AND UKRAINIAN BLACK-AND-WHITE DAIRY CATTLE BREED AT SOMATIC MUTAGENESIS

S u m m a r y

The cytogenetic estimation of features somatic chromosomal variability cows of Aberdeen Angus and Ukrainian Black-and-White dairy cattle breed are presented. It was found that the animals of dairy breeds are characterized by the enhanceable level of aneuploidy-I and II as compared to cattle of beef direction of the productivity. Age and interbreed differences substantially influence on frequency of metaphase plates with the asynchronous breaking up of centromer districts of chromatids. During the keeping of the cytogenetic monitoring of pedigree animals of different direction of the productivity it is needed to take into account the interbreed differences of frequencies of spontaneous level of chromosomal changeability.

Л. Ф. Стародуб, Л. И. Остаповец

МЕЖПОРОДНАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ КОРОВ ПОРОД АБЕРДИН-АНГУС И УКРАИНСКАЯ ЧЕРНО-ПЁСТРАЯ МОЛОЧНАЯ ПО УРОВНЮ СОМАТИЧЕСКОГО МУТАГЕНЕЗА

Біологія тварин, 2012, т. 14, № 1–2

А н н о т а ц и я

Проведена цитогенетическая оценка особенностей соматической хромосомной изменчивости у коров породы абердин-ангус и украинская черно-пестрая молочная. Выявлено, что для коров молочной породы характерный повышенный уровень анеуплоидии-I и II по сравнению с коровами пород мясного направления продуктивности. Возраст и межпородные отличия существенно влияют на частоту встречаемости клеток с асинхронным расщеплением центромерных районов хроматид. При проведении цитогенетического мониторинга племенных животных разного направления продуктивности необходимо учитывать межпородные отличия за частотой спонтанного уровня хромосомной изменчивости.

1. Дзіцюк В. В. Використання цитогенетичних методів у селекції плідників / В. В. Дзіцюк. — К. : Аграрна наука, 2009. — 60 с.
2. Gustavsson L. Chromosome abnormality in three cases of lymphatic leucaemia in cattle / L. Gustavsson, G. Rockborn // Nature. — 1964. — V. 203, N 4950. — P. 990–991.
3. Шельов А. В. Методика приготування метафазних хромосом лімфоцитів периферійної крові тварин / А. В. Шельов, В. В. Дзіцюк // Методики наукових доліджень із селекції, генетики та біотехнології у тваринництві. — К. : Аграрна наука, 2005. — С. 210–213.
4. Плохинский Н. А. Руководство по биометрии для зоотехников / Н. А. Плохинский. — М. : Колос, 1969. — 255 с.
5. Меркурьева Е. К. Генетика с основами биометрии / Е. К. Меркурьева, Г. Н. Шангин-Березовский. — М. : Колос, 1983. — 400 с.
6. Кобозева Н. А. Цитогенетична мінливість у ВРХ у зв'язку з різними факторами добору : автореф. дис... канд. с.г. наук : спец. 03.00.15. «генетика» / Н. А. Кобозева. — К., 2001. — 14 с.
7. Дзіцюк В. Цитогенетичний аналіз бугаїв м'ясних порід / В. Дзіцюк, В. Гуменний // Вісник аграрної науки. — 2008. — № 10. — С. 36–39.
8. Дзіцюк В. В. Цитогенетические и канцерогенные эффекты у ликвидаторов последствий Чернобыльской аварии / В. В. Дзіцюк, Э. А. Демина // Цитология и генетика. — 2002. — № 5. — С. 11–15.
9. Кузнецова С. М. Хромосомы. Старение. Долголетие / С. М. Кузнецова, М. Ю. Зарицкой // Цитология и генетика. — 1986. — Т. 20, № 4. — С. 304–313.
10. Бакай А. И. Воспроизводительные качества голштинизированных коров с разным уровнем кариотипической нестабильности : автореф. дис... канд. биол. наук спец. 06.02.01 «Разведение, селекция, генетика и воспроизводство сельскохозяйственных животных» / А. И. Бакай. — Москва, 2009. — 20 с.
11. Стародуб Л. Ф. Зв'язок цитогенетичної мінливості з селекційними ознаками молочної худоби / Л. Ф. Стародуб, С. О. Костенко, І. А. Рудик, В. П. Олешко // Вісник Сумського національного аграрного університету. — 2010. — № 7. — С. 135–139.
12. Ильинских Н. Н. Цитогенетический гомеостаз и иммунитет / Н. Н. Ильинских, И. Н. Ильинских, Б. Ф. Бочаров. — Новосибирск : Наука, 1984. — 256 с.
13. Pellman D. Cell biology: aneuploidy and cancer / D. Pellman // Nature. — 2007. — P. 38–39.

Рецензент: доктор біологічних наук, професор Інституту розведення і генетики тварин НААН В. С. Коновалов.

Рецензент: провідний науковий співробітник лабораторії репродуктивної біотехнології та розведення тварин, кандидат сільськогосподарських наук, с. н. с. Кузів М. І.