

ВПЛИВ ГЕНЕТИЧНИХ АНОМАЛІЙ НА ВІДТВОРЮВАЛЬНУ ЗДАТНІСТЬ БУГАЇВ-ПЛІДНИКІВ ГОЛШТИНСЬКОЇ ПОРОДИ ЧОРНО-РЯБОЇ ТА ЧЕРВОНО-РЯБОЇ МАСТІ

*І. С. Каменська, кандидат сільськогосподарських наук
ДВНЗ «Переяслав-Хмельницький ДПУ імені Григорія Сковороди»*

Викладено результати досліджень впливу хромосомних аберацій на формування відтворювальної здатності бугаїв-плідників голштинської породи чорно- та червоно-рябої масті.

Бугаї, об'єм, концентрація, загальна кількість сперміїв, рухливість сперміїв, хромосомні аберації, ферменти, кров.

Вавілов М. І. зазначав, що селекція – це еволюція, яка спрямовується волею людини. Отже, систематичний аналіз еволюції генофонду провідних заводських стад із залученням комплексу генетичних методів, які становлять експериментальну базу генетико-селекційного моніторингу, має теоретичну і практичну цінність [4]. З огляду на це, актуальним є постійний селекційно-генетичний моніторинг генофонду племінних стад з метою встановлення оптимальних шляхів ведення племінної роботи з породою [1].

Останнім часом для вирішення питань селекції та розведення великої рогатої худоби достатньо часто застосовують цитогенетичний метод дослідження, який розробили науковці відділу генетичних основ селекції Інституту розведення і генетики тварин УААН для виявлення генетичного вантажу хромосомного, хроматидного та геномного характеру. Як відомо, наслідками генетичних аномалій є: аборти, мертвонароджені телята, потомство, непридатне до продовження роду, народження потвор і тварин із вадами тощо. Також числові та структурні хромосомні аномалії можуть бути причиною зниження продуктивності, відтворювальної функції та життєздатності тварин. Завдяки цитогенетичному аналізу, ми можемо виявляти генетичні аномалії та вилучати із селекційного процесу тварин – носіїв конститутивних хромосомних аномалій. Племпідприємствам, які

мають племінних тварин і генетичний матеріал, важливо мати інформацію щодо їх генетичної характеристики та спермопродукції.

Мета досліджень – визначити вплив генетичних аномалій на відтворювальну здатність бугаїв-плідників голштинської чорно- та червоно-рябої масті.

Матеріали та методи досліджень. Цитогенетичні дослідження крові проводили на 24 бугаях-плідниках голштинської породи чорно- та червоно-рябої масті на базі ДСП «Головний селекційний центр України» (м. Переяслав-Хмельницький Київської обл.). Кров відбирали з яремної вени тварин через спеціальну систему одноразового використання для взяття крові (ВК – 10-01). Дослідження виконували за методикою А. В. Шельова та В. В. Дзіцюк (2005).

Дослідження активності ферментів сперми проведено в Центрі радіологічної медицини (м. Київ) за такими методиками: активність аміно-трансфераз – за методикою S. Reitman, S. Frankel у модифікації Т. С. Пасхіної (1974), активність сукцинатдегідрогенази – за допомогою 2,3,5-трифенілтетразолію хлористого, активність лактатдегідрогенази – за допомогою 2,4-динітрофенілгідазину (метод Севела, Товарек), активність лужної та кислої фосфатази – методом Бодански. Було досліджено еякуляти 14 бугаїв-плідників голштинської породи чорно- та червоно-рябої масті.

Було використано матеріали зоотехнічного обліку та досліджень лабораторії технології отримання й кріоконсервації сперми, згідно з ГОСТ 20909. 3-75 – ГОСТ 20909. 6-75 та ГОСТ 27777-88 (СТ. СЭВ 5961-87).

Результати наукових досліджень обробляли методом варіаційної статистики за методиками Н. А. Плохінського (1969), Е. К. Меркурєвої (1970) та пакета прикладних програм Microsoft Office Excel 2003.

Результати досліджень. Результати наших досліджень показали, що плідники голштинської породи чорно- та червоно-рябої масті мають певні цитогенетичні відмінності. Так, тварини чорно-рябої масті мали значно менший відсоток частоти цитогенетичних аномалій, ніж тварини червоно-рябої масті (табл. 1).

1. Цитогенетична характеристика крові бугаїв-плідників голштинської породи чорно- та червоно-рябої масті, %

Масть тварин	Статистичний показник	Метафазні клітини, %			Аберації, %	
		анеуплоїдія I (2n±1)	аберантні клітини	АРЦХ	хромосом	хроматид
Г	n	19	19	19	19	19
	M±m	3,6±1,32	3,5±0,50	4,0±1,41	2,0±0,40	2,2±0,37
	Cv, %	82,2	40,28	70,5	40,5	37,72
Г*	n	5	5	5	5	5
	M±m	5,3±1,25	8,4±3,04	9,0±4,56	3,0±1,08	6,8±2,17
	Cv, %	47,61	80,95	101,33	72	64,29

Відповідно, частота метафаз із асинхронністю розщеплення центромірних районів хроматид у плідників голштинської породи червоно-рябої

масті була більшою на 5 %, частота метафаз із аберантними клітинами – на 4,9, частота метафазних пластинок з анеуплоїдією ($2n\pm 1$) – на 1,7, розриви хромосом – на 1 та розриви хроматид – на 4,6 % ($P < 0,10$), ніж у тварин голштинської породи чорно-рябої масті. Таких генетичних порушень, як поліплоїдія, гаплоїдія, парні та поодинокі фрагменти, кільцеві хромосоми та транслокації у тварин голштинської породи чорно- та червоно-рябої масті не виявлено.

З метою виявлення впливу генетичних аномалій на відтворювальну здатність плідників за результатами досліджень бугаїв-плідників поділили на три групи: *перша* – плідники, в яких відсутні порушення хромосомного апарату; *друга* – хромосомні порушення в межах допустимої норми; *третья* – тварини, в яких підвищений рівень аберантних клітин (табл. 2).

Результати досліджень показують, що бугаї-плідники третьої групи мали найкращі кількісні та якісні показники спермопродукції, крім об'єму еякуляту. За об'ємом еякуляту тварини другої групи переважали плідників третьої групи на 3,42, а першої – на 15,89 %, різниця була невірогідною. Концентрація сперміїв у плідників першої групи була меншою на 19,42, а другої – на 11,51 %, порівняно з бугаями третьої групи. За загальною кількістю сперміїв в еякуляті між тваринами першої і третьої групи різниця становила 26,82 % (1,55 млрд), другої і третьої – 3,98 % (0,23 млрд) та першої й другої – 23,78 % (1,32 млрд). За рухливістю сперміїв різниця між плідниками була несуттєвою.

2. Кількісні та якісні показники спермопродукції бугаїв-плідників голштинської породи залежно від порушень хромосомного апарату

Група бугаїв	Статистичний показник	Одержано еякулятів на одного бугая	Об'єм еякуляту, мл	Концентрація сперміїв, млрд/мл	Загальна кількість сперміїв в еякуляті, млрд.	Рухливість сперміїв, бали
I (n=6)	$M\pm m$ $Cv, \%$	$61,16\pm 17,56$ 70,32	$3,44\pm 0,33$ 23,25	$1,12\pm 0,14$ 32,14	$4,23\pm 0,67$ 39,24	$8,00\pm 0,42$ 18,45
II (n=10)	$M\pm m$ $Cv, \%$	$61,20\pm 10,43$ 58,88	$4,09\pm 0,30$ 23,47	$1,23\pm 0,06$ 17,07	$5,55\pm 0,63$ 36,03	$8,51\pm 0,24$ 12,47
III (n=8)	$M\pm m$ $Cv, \%$	$81,50\pm 19,12$ 57,46	$3,95\pm 0,44$ 27,08	$1,39\pm 0,11$ 19,42	$5,78\pm 0,79$ 33,39	$8,59\pm 0,27$ 11,02

Аналіз мінливості показників спермопродукції плідників різних груп свідчить, що об'єм еякуляту, концентрація сперміїв, загальна кількість сперміїв в еякуляті та рухливість сперміїв у тварин усіх дослідних груп мали високий ступінь мінливості – відповідно, 23,25–27,08, 17,07–32,14, 33,39–39,24 та 11,02–18,45 %.

Встановлено, що у бугаїв-плідників голштинської породи чорно- та червоно-рябої масті між об'ємом еякуляту та концентрацією сперміїв коефіцієнти кореляції мали пряmolінійний характер і, залежно від групи тварин, були в межах 0,174–0,585 ($P < 0,10$) (табл. 3). Взаємозв'язки між загальною кількістю сперміїв в еякуляті та їх концентрацією та об'ємом еякуляту і загальною кількістю сперміїв в еякуляті у плідників усіх трьох

груп були значними і були в межах 0,703–0,845 ($P<0,05$) та 0,718–0,951 ($P<0,05$ –0,001), відповідно.

Під час досліджень встановлено, що порушення хромосомного апарату тварин не впливають на відтворювальну здатність бугаїв. Крім кількісних і якісних показників спермопродукції слід враховувати ріст живої маси тварин, життєздатність, резистентність, відсутність аномалій у одержаного приплоду.

Відомо, що вдосконалення порід з метою підвищення продуктивних і племінних якостей неможливе без всебічного вивчення фізіологічних і біохімічних процесів, які відбуваються в живому організмі [5, 6].

3. Коефіцієнти кореляції між показниками спермопродукції бугаїв-плідників голштинської породи залежно від порушень хромосомного апарату, $r, M \pm m^*$

Група тварин	Поєднання показників		
	об'єм еякуляту – концентрація сперміїв	концентрація сперміїв – загальна кількість сперміїв в еякуляті	об'єм еякуляту – загальна кількість сперміїв в еякуляті
I (n=6)	0,271±0,481	0,845±0,267**	0,718±0,348
II (n=10)	0,585±0,286*	0,788±0,217**	0,951±0,109****
III (n=8)	0,174±0,492	0,703±0,355	0,819±0,286**

*Примітка. * – $P<0,10$, ** – $P<0,05$, *** – $P<0,01$, **** – $P<0,001$.

Ми встановили, що за ферментативною активністю плазми сперми бугаїв-плідників різних груп відрізнялися між собою (табл. 4). Так, активність аспартатамінотрансферази (463,5±15,34 од. акт.) та аланінаміно-трансферази (147,5±10,53 од. акт.) була найвищою у тварин I групи, сукцинатдегідрогенази (34,9±14,35 од. акт.), лактатдегідрогенази (833,33±23,22 од. акт.) та кислотої фосфатази (11,76±0,76 од. акт.) – у тварин II групи і ацетилхолінестерази (125,27±4,53 од. акт.) та лужної фосфатази (44,95±2,45 од. акт.) – у тварин III групи, однак різниця за цими показниками між бугаями різних груп була невірогідною.

4. Активність ферментів плазми сперми бугаїв плідників голштинської породи залежно від порушень хромосомного апарату, $M \pm m$ (од. акт.)

Показник	I група (n=4)	II група (n=4)	III група (n=4)
Активність АСТ	463,50±15,34	447,33±26,49	436,00±28,43
Активність АЛТ	147,50±10,53	140,00±21,20	136,00±9,42
Активність СДГ	30,38±11,22	34,90±14,35	25,46±6,42
Активність ЛДГ	817,50±6,75	833,33±23,22	829,75±11,63
Активність АХЕ	124,60±3,79	121,27±11,39	125,27±4,53
Активність ЛФ	37,98±2,03	44,76±4,21	44,95±2,45
Активність КФ	11,46±0,16	11,76±0,76	10,15±0,92

Встановлено, що між активністю аланінаміно-трансферази (АЛТ), аспартатамінотрансферази (АСТ), сукцинатдегідрогенази (СДГ), лактат-

дегідрогенази (ЛДГ), ацетилхолінестерази (АХЕ), лужної фосфатази (ЛФ) і кислій фосфатази (КФ) плазми сперми та показниками спермопродукції існував певний взаємозв'язок (табл. 5, 6, 7). У тварин першої групи коефіцієнти кореляції, залежно від показника, були в межах 0,052–0,922 ($P < 0,10$), у тварин другої групи – у межах 0,273–0,999 ($P < 0,001$) та у тварин третьої групи – у межах 0,114–0,986 ($P < 0,05$). Вірогідні кореляції встановлено між активністю аспартатамінотрансферази (АСТ), аланінамінотрансферази (АЛТ), сукцинатдегідрогенази (СДГ) та рухливістю сперміїв ($r = 0,902$ – $0,975$, $P < 0,10$ – $0,05$) у плідників першої групи; між активністю сукцинатдегідрогенази (СДГ) та об'ємом еякуляту ($r = 0,999$, $P < 0,001$) і загальною кількістю сперміїв в еякуляті ($r = 0,999$, $P < 0,001$), активністю аланінамінотрансферази (АЛТ) та рухливістю сперміїв ($r = 0,990$, $P < 0,10$), вмістом ацетилхолінестерази (АХЕ) і активністю лужної фосфатази (ЛФ) та концентрацією сперміїв ($r = 0,994$, $P < 0,10$) у тварин другої групи; між активністю кислій фосфатази (КФ) та рухливістю сперміїв ($r = 0,953$, $P < 0,05$), активністю сукцинатдегідрогенази (СДГ) ($r = 0,986$, $P < 0,05$) і вмістом ацетилхолінестерази (АХЕ) ($r = 0,962$, $P < 0,05$) та концентрацією сперміїв у бугаїв третьої групи.

5. Взаємозв'язки між ферментативною активністю показників плазми сперми та показниками спермопродуктивності бугаїв-плідників голштинської породи (перша група), r ($n=4$)*

Показник	Об'єм еякуляту	Рухливість сперміїв	Концентрація сперміїв	Загальна кількість сперміїв в еякуляті	Кількість спермодоз
Активність АСТ	0,383	0,922*	0,221	0,772	0,762
Активність АЛТ	-0,402	0,902*	0,526	0,150	0,177
Активність СДГ	0,052	0,975**	0,561	0,680	0,702
Активність ЛДГ	0,558	-0,567	-0,989	-0,257	-0,332
Активність АХЕ	0,266	0,272	0,368	0,503	0,536
Активність ЛФ	-0,811	0,500	0,472	-0,413	-0,374
Активність КФ	-0,147	0,911	0,761	0,601	0,644

*Примітка. * – $P < 0,10$, ** – $P < 0,05$.

6. Взаємозв'язки між ферментативною активністю показників плазми сперми та показниками спермопродуктивності бугаїв-плідників голштинської породи (друга група), r ($n=4$)*

Показник	Об'єм еякуляту	Рухливість сперміїв	Концентрація сперміїв	Загальна кількість сперміїв в еякуляті	Кількість спермодоз
Активність АСТ	0,915	0,591	0,692	0,883	0,692
Активність АЛТ	0,789	0,990*	0,964	0,831	0,964
Активність СДГ	0,999****	0,881	0,935	0,999****	0,935
Активність ЛДГ	0,273	0,717	0,619	0,342	0,619
Активність АХЕ	0,957	0,973	0,994*	0,976	0,994*
Активність ЛФ	0,960	0,971	0,994*	0,977	0,994*
Активність КФ	0,976	0,953	0,985	0,989	0,985

*Примітка. * – $P < 0,10$, ** – $P < 0,05$, *** – $P < 0,01$, **** – $P < 0,001$.

7. Взаємозв'язки між ферментативною активністю показників плазми сперми та показниками спермопродуктивності бугаїв-плідників голштинської породи (третья група), r (n=4)*

Показник	Об'єм еякуляту	Рухливість сперміїв	Концентрація сперміїв	Загальна кількість сперміїв в еякуляті	Кількість спермодоз
Активність АСТ	0,568	-0,985	-0,520	-0,114	-0,500
Активність АЛТ	0,551	-0,637	-0,949	-0,502	-0,225
Активність СДГ	-0,470	0,307	0,986**	0,572	0,137
Активність ЛДГ	-0,409	0,222	-0,671	-0,969	-0,773
Активність АХЕ	-0,124	0,277	0,962**	0,842	0,539
Активність ЛФ	-0,921	0,739	0,664	-0,075	-0,562
Активність КФ	-0,311	0,953**	0,231	0,055	0,734

*Примітка. * – P<0,10, ** – P<0,05.

Встановлено, що бугаї-плідники голштинської породи червоно-рябої масті мали більший відсоток порушень хромосомного апарату, ніж тварини чорно-рябої масті. Коновалов В. С. зазначає, що факт підвищення спонтанного мутагенезу у червоно-рябих голштинів дає право висловити свою точку зору про плейотропний вплив проміжних метаболітів меланінового обміну на чистоту утворення анеуплоїдів та різного типу хромосомних аберацій. Дана рецесивно-пігментна мутація brown («red») локус № 001249 (міжнародна класифікація за ДНК-маркіруванням) контролює біосинтез пігменту червоного забарвлення феомеланіну. Утворення червоного пігменту відбувається у результаті приєднання до проміжного метаболіту чорного пігменту – еумеланіну (домінантна мутація Black-чорний) діоксифенілаланіну амінокислоти цистеїну. У результаті мутації «red» порушується система раніше існуючої кластерної організації основного локусу забарвлення [2].

Унаслідок того, що видозмінюється процес утворення довгоживучих вільних радикалів у полімерних молекулах еумеланіну, у порід «червоного кореня» хромосоми менш захищені від мутагенної дії високореактивних внутрішньоклітинних мутагенів [3]. Шельов А. В. [7] встановив, що такі цитогенетичні характеристики, як частота анеуплоїдних та поліплоїдних метафаз, а також клітин із асинхронним розходженням центромерних районів хроматид показали високий рівень породної та видової залежності.

Висновки

Нами виявлено, що кількісні та якісні показники спермопродукції у групі бугаїв-плідників із підвищеним рівнем аберантних клітин вищі, ніж в інших групах. Це свідчить про те, що цитогенетичні аномалії не впливають на показники спермопродукції, тобто, порушення хроматидного та геномного характеру передаються майбутньому поколінню. Встановлено, що сперма плідників у різних груп мала неоднакову ферментативну активність, а саме: активність АСТ, АЛТ, СДГ та КФ у тварин третьої групи була найменшою.

Для вдосконалення методів і критеріїв оцінки відтворювальної здатності, росту й розвитку плідників, слід проводити цитогенетичний моніторинг їх крові.

Список літератури

1. Аналіз генофонду української чорно-рябої молочної породи / [М. Я. Єфіменко, Б. Є. Подоба, О. Д. Бірюкова та ін.] // Розведення і генетика тварин. – К. : Аграрна наука, 2007. – Вип. 41. – С. 83–93.
2. Коновалов В. С. Меланины, их радиопротекторные и мутагенные свойства. Критерии необходимых и достаточных тест-систем для идентификации потенциальных мутагенных и канцерогенных факторов в окружающей среде : тез. докл. / В. С. Коновалов // Совещ. учас. I сов.-амер. симпоз., май – июнь 1978 г. Пущино – Баку. – М., 1978. – С. 45–47.
3. Коновалов В. С. Мутація «RED» як провокатор спонтанного мутагенезу червоно-рябої великої рогатої худоби / В. С. Коновалов, Л. Ф. Стародуб. // Розведення і генетика тварин. – К. : Аграрна наука, 2009. – Вип. 43. – С. 173–178.
4. Подоба Б. Е. Применение генетических маркеров при ведении селекционной работы в заводском стаде крупного рогатого скота / Б. Е. Подоба, Д. Т. Винничук, М. Я. Ефименко // Цитология и генетика. – 1992. – Т. 26, № 5. – С. 41–48.
5. Сирацкий И. З. Физиолого-генетические основы выращивания и эффективного использования быков-производителей / И. З. Сирацкий. –К. : УкрИНТЭИ, 1992. – 152 с.
6. Фізіолого-біохімічні та біотехнологічні показники сперми бугаїв-плідників / [Й. З. Сірацький, Є. І. Федорович, В. В. Федорович та ін.] ; за ред. Й. З. Сірацького та Є. І. Федорович. – К. : ЛЮКСАР, 2008. – 208 с.
7. Шельов А. В. Цитогенетична оцінка племінних ресурсів сільськогосподарських тварин : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. с.-г. наук : спец. 03.00.15 «Генетика» / А. В. Шельов. – Чубинське, 2008. – 21 с.

Изложены результаты исследований влияния хромосомных aberrаций на формирование воспроизводительной способности быков-производителей голштинской породы черно- и красно-пестрой масти.

Быки-производители, объем, концентрация, общее количество спермиев, подвижность, хромосомные aberrации, ферменты, кровь.

The results of researches of influence of chromosomal aberration on reproductive bulls-sires of the Holstein bulls of black-white and red- white colours.

Bulls-sires, volume, concentration, common quantity of spermatozoon, mobility, chromosomal aberration, enzymes, blood.