УДК 575.224.4:619:616.993.1:636.1

КОРЕЛЯЦІЙНІ ЗВ'ЯЗКИ МІЖ ЦИТОГЕНЕТИЧНИМИ ПОКАЗНИКАМИ СОМАТИЧНИХ КЛІТИН КОНЕЙ ЗА СУМІЖНОЇ ІНВАЗІЇ ЗБУДНИКАМИ *BABESIA EQUI* ТА *ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM*

П.П. Джус, кандидат біологічних наук
Інститут розведення і генетики тварин НААН

Проведено цитогенетичний аналіз соматичних клітин коней інвазованих збудниками Babesia equi та Anaplasma phagocytophilum. Виявлено достовірне підвищення кількості лімфоцитів з мікроядрами, кількісних порушень каріотипу за типом анеуплоїдії та частоти хромосомних фрагментів. На основі кореляційного аналізу встановлено, що у тварин-носіїв суміжної інвазії мікроядра формуються саме хромосомними фрагментами.

Кровопаразитарна інвазія, коні, мікроядра, анеуплоїдія, фрагменти хромосом.

На сучасному етапі ведення конярства досить гостро постає питання щодо масштабів сезонних спалахів інфекційних захворювань, збудники яких переносяться іксодовими кліщами. Неналагодженість системи санітарно-карантинних заходів і контролю чисельності паразитів призводить до масового ураження сприйнятливих тварин і створення осередків інфекційних захворювань, що завдає відчутних щорічних економічних збитків агроформуванням усіх форм власності та приватним власникам коней [1, 2].

Порушення функціональної активності систем контролю і підтримання гомеостазу організму внаслідок дії збудників кровопаразитарних хвороб обумовлює високий ризик виникнення хромосомних аберацій, що перешкоджає повноцінній реалізації генетичного потенціалу продуктивності у коней [3, 4].

З огляду на результати комплексних досліджень М.П. Пруса та Н.С. Перегіняк наразі вперше доведено наявність у коней суміжної бабезіозно-анаплазмозної інвазії, що дає підстави для актуалізації проведення цитогенетичного аналізу лімфоцитів крові за такої форми перебігу кровопаразитарних захворювань у цього виду сільськогосподарських тварин [5]. Це обумовило **мету**

представленої роботи, яка полягала у визначенні взаємозв'язків між цитогенетичними показниками соматичних клітин коней, інвазованих збудниками *Babesia equi* та *Anaplasma phagocytophilum.*

Матеріал і методи досліджень. Цитогенетичні порушення за суміжної інвазії організму кровопаразитами роду *Babesia* та *Anaplasma* вивчали у коней порід новоолександрівська ваговозна і українська верхова. Новоолександрівська порода представлена кобилами віком 4–6 років Дібрівського державного кінного заводу № 62 Миргородського району Полтавської області (n=9). Українська верхова – жеребцями віком 3,5–6 років, які проходять випробування на Київському державному іподромі. Як контроль використовували дані попередньо проведеного цитогенетичного аналізу інтактних тварин відповідних порід.

Ідентифікацію збудників проводили методом ПЛР-реакції із використанням стандартних тест-систем виробництва «ИзоГен», Москва. Для підтвердження наявності збудника *Anaplasma phagocytophilum* додатково використовували метод трансмісійної електронної мікроскопії.

Цитогенетичний аналіз здійснювали в тимчасових культурах лімфоцитів крові, приготовлених з використанням фітогемаглютиніну L в робочій концентрації 0,001 мг/мл за стандартною методикою [6]. На цитогенетичних препаратах підраховували кількість лімфоцитів з мікроядрами (*ЛМЯ*), двоядерних (*ДЯ*), апоптичних клітин (*АП*) і мітотичний індекс (*МІ*). Розрахунок проводили на 1000 клітин (‰). Від кожної тварини аналізували не менше як 3000 клітин. За дослідження метафазних пластинок визначали частоту хромосомних та хроматидних розривів, а також відсоток анеуплоїдних *(А)* і поліплоїдних *(ПП)* клітин, асинхронність розщеплення центромерних районів хромосом *(АРЦРХ)* і хромосомні фрагменти. У кожної тварини аналізували не менше 30 метафазних пластинок. Для дослідження цитогенетичних препаратів тимчасових культур лімфоцитів використовували бінокулярний мікроскоп Carl Zeiss. Аналіз каріотипу здійснювали при збільшенні мікроскопа у 1000 разів.

Одержані дані обробляли методами варіаційної статистики з використанням стандартного пакету програми *Microsoft Excel.*

Результати досліджень. Інтенсивність ураження еритроцитів кровопаразитами у досліджуваних тварин не перевищувала 5 %. Це свідчить про те, що піддослідні тварин були носіями збудників і не проявляли клінічних ознак захворювання або перебіг хвороби у

них відбувався латентно. За інфікування організму коней збудниками кровопаразитарних хвороб роду *Babesia* та *Anaplasma* не виявлено виникнення нових видів геномних і хромосомних аберацій. Кількісні зміни каріотипу у тварин досліджених порід були представлені анеуплоїдією і поліплоїдією. Структурні порушення хромосом проявлялися як хроматидні розриви і хромосомні фрагменти (*ХФ*).

Для коней української верхової породи характерна вища частота анеуплоїдії (7,63 %), що достовірно переважала значення аналогічного показника у групі тварин новоолександрівської ваговозної ($p<0,05$). У кобил новоолександрівської ваговозної породи відмічено вищий відсоток *АРЦРХ* ($p<0,05$) порівняно із тваринами української верхової породи. За частотою поліплоїдії, хроматидних розривів і хромосомних фрагментів не було виявлено статистично значущих міжпородних відмінностей.

Цитогенетичні показники тісно взаємодіють між собою і за різних умов впливу тих чи інших чинників на організм ці взаємодії по-різному проявляються. Кореляційна залежність між окремими показниками має індивідуальні та групові особливості. У сільськогосподарських тварин пошуки зв'язків між цитогенетичними показниками набувають важливого значення як маркерні системи оцінки породних, видових і популяційних генетичних характеристик. Для встановлення взаємозв'язків між цитогенетичними показниками соматичних клітин коней за умов спонтанного мутагенезу проведено кореляційний аналіз, результати якого наведені на рисунку 1.

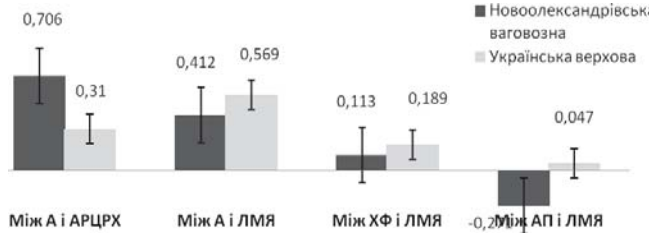

Рис. 1. Кореляція між цитогенетичними показниками лімфоцитів периферійної крові коней за спонтанного мутагенезу

Згідно кореляційного аналізу у коней досліджуваних порід спостерігається деяка породна різниця за значеннями кореляції між

окремими показниками. Так у кобил новоолександрівської ваговозної породи відмічено достовірний кореляційний зв'язок ($p<0,05$) високої сили ($r=0,706$) анеуплоїдії та асинхронного розщеплення центромерних районів хромосом. У коней української верхової породи за аналогічними показниками кореляція була недостовірною з низькою силою зв'язку ($r=0,310$).

Прямий зв'язок середньої сили у тварин досліджених порід виявлено між анеуплоїдією та лімфоцитами з мікроядрами. В обох випадках кореляція недостовірна. Це співпадає з результатами досліджень С.О. Костенко із співавторами, за якими у коней російської рисистої породи також виявлено пряму кореляцію з середньою силою зв'язку ($r=0,6$) між анеуплоїдією та лімфоцитами з мікроядрами [7].

Між хроматидними фрагментами та лімфоцитами з мікроядрами кореляція була низької сили $r=0,113$ і $r=0,189$ для новоолександрівської ваговозної та української верхової порід відповідно. У коней новоолександрівської ваговозної породи відмічено зворотну кореляцію низької сили ($r=-0,205$) між апопотозом і лімфоцитами з мікроядрами. У тварин української верхової породи між вказаними показниками кореляція була відсутньою ($r=0,047$).

На основі кореляційного аналізу отримано інформацію про особливості формування анеуплоїдних метафаз і лімфоцитів з мікроядрами у коней за інвазії кровопаразитами. Його результати наведено на рисунку 2.

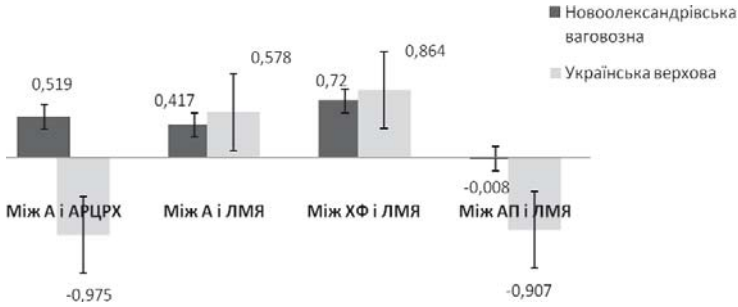

Рис. 2. Кореляція між цитогенетичними показниками лімфоцитів периферійної крові коней за бабезіозно-анаплазмозної інвазії

Згідно рисунку 2, у кобил новоолександрівської ваговозної породи відмічено прямий кореляційний зв'язок середньої сили між

частотою анеуплоїдії і асинхронністю розщеплення центромерних районів хромосом (r=0,519 – кореляція не достовірна). У коней української верхової породи між вказаними цитогенетичними параметрами спостерігали зворотну кореляцію з високою силою зв'язку r=-0,868 і r =-0,975 відповідно. Це свідчить про формування анеуплоїдних клітин не за рахунок відставання сестринських хроматид, а можливо, через знижену стійкість мембран лімфоцитів периферійної крові коней. Вона може бути пов'язана з інтоксикацією організму, спричиненою інвазією збудниками кровопаразитарних хвороб.

З результатів вивчення закономірностей формування мікроядер помітно, що у коней досліджуваних порід існує пряма залежність із середньою силою зв'язку між частотою лімфоцитів з мікроядрами і відсотком анеуплоїдії, проте, кореляція недостовірна. У тварин, інфікованих кровопаразитами, спостерігається прямий кореляційний зв'язок високої сили між *ЛМЯ* і хромосомними фрагментами із ступенем достовірності $p<0,05$. Між апоптозом і кількістю *ЛМЯ* у новоолександрівських ваговозів відсутній кореляційний зв'язок. У тварин української верхової породи відмічено зворотну кореляцію з високою силою зв'язку (r=-0,907) між апоптозом і лімфоцитами з мікроядрами.

Отже, за інфікування коней збудниками кровопаразитарних хвороб з середньою інтенсивністю інвазії 4,25 % спостерігається статистично достовірне підвищення частоти лімфоцитів з мікроядрами в периферійній крові порівняно із значеннями цих показників у неінфікованих тварин. З огляду на результати кореляційного аналізу, у коней, інвазованих кровопаразитами, кількісні порушення каріотипу за типом анеуплоїдії виникають, як правило, в результаті порушення міцності цитоплазматичних мембран клітин. Мікроядра формуються, переважно, окремими фрагментами хромосом, а також цілими хромосомами. Фрагменти хроматину, що виникають за апоптозної загибелі клітин не приймають участь в утворенні мікроядер, про що свідчить відсутність кореляційного зв'язку.

Висновки

1. За суміжної інвазії збудниками *Babesia equi* та *Anaplasma phagocytophilum* у коней відбувається підвищення частот цито-генетичних порушень ядровмісних клітин крові порівняно із величинами аналогічних показників за спонтанного мутагенезу.

2. Взаємодії між цитогенетичними паказниками соматичних клітин коней мають залежність від породи досліджуваних тварин та характеру напруженості гомеостатичних реакцій організму.

3. Інвазія збудниками кровопаразитарних хвороб супроводжується виникненням хроматидних фрагментів, які беруть участь у формування мікроядер, внаслідок чого підвищується їх частота порівняно з інтактними тваринами.

Список літератури

1. Штрикуль Н. С. Стан проблеми бабезіозу коней в Україні / Н. С. Штрикуль // Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. С. З. Гжицького. – 2009. – Т. 11. – № 2 (41). – Ч. 1. – С. 347-350.

2. Прус М. П. Епізоотична ситуація щодо бабезіозу сільськогосподарських тварин у Волинській області / М. П. Прус, А. Ф. Курман, Н. С. Штрикуль // Ветеринарна біотехнологія. − 2009. − № 15. − С. 307–310.

3. Терлецкий А. Биология паразитирования и методы цитологической диагностики представителей рода Babesia в крови животных и человека / А. Терлецкий, Л. Ахмерова, Э. Галиева [и др.] // Ветеринария сельскохозяйственных животных. − 2009. − № 7. − С. 28−30.

4. Джус П. П. Зв'язок цитогенетичної мінливості з молочною продуктивністю кобил новоолександрівської ваговозної породи / П. П. Джус, А. П. Тарадайко // Науковий вісник НУБіП України. – К., 2011. – Вип. 160. – С. 295–300.

5. Прус М. П. Діагностика анаплазмозу коней та цитогенетичних порушень їх організму за інвазії кровопаразитами / М. П. Прус, Н. С. Перегіняк, П. П. Джус // Ветеринарна медицина : міжвідомчий тематичний науковий збірник. – Харків, 2012. − Вип. 96. – С. 319−321.

6. Шельов А. В. Методика приготування метафазних хромосом лімфоцитів периферійної крові тварин / А. В. Шельов, В.В. Дзіцюк // Методики наукових досліджень із селекції, генетики та біотехнології у тваринництві : наук. зб. – К., 2005. – С. 210–213.

7. Костенко С.О. Цитогенетичне тестування коней російської рисистої породи / С. О. Костенко, Л. Ф. Стародуб // Розведення і генетика тварин. – К. : Аграрна наука, 2009. – Вип. 43. – С. 187–192.

Проведен цитогенетический анализ соматических клеток лошадей, инвазированных возбудителями Babesia equi и Anaplasma phagocytophilum. Выявлено достоверное увеличение количества лимфоцитов с микроядрами, количественных нарушений кариотипа по типу анэуплоидии и частоты хромосомних фрагментов. На основе корреляционного анализа установлено, что у животных – носителей смежной инвазии микроядра формируются именно за сет хромосомних фрагментов.

Кровопаразитарная инвазия, микроядра, лошади, анэуплоидия, фрагменты хромосом.

The results by cytogenetic analysis of somatic cell horses infested pathogens Babesia equi and Anaplasma phagocytophilum. A significant increase in the number of lymphocytes with micronuclei, quantitative karyotype disorders by type aneuploidy and frequency of chromosomal fragments. On the basis of analysis for korellyatsionnogo found that animal-related media invasion micronuclei formed precisely for set chromosome fragments.

Blood parasites invasion, micronuclei, horses, aneuploidy, chromosome fragments.

УДК 636.127.082.2

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ ИНБРИДИНГА И АУТБРИДИНГА ПРИ ПОЛУЧЕНИИ РЫСАКОВ ОРЛОВСКОЙ ПОРОДЫ КЛАССА 2.10,0 И РЕЗВЕЕ

Е.О. Елтышева, С.Ю. Пьянкова
ФГБОУ ВПО Пермская ГСХА

Работа посвящена изучению применения инбридинга и аутбридинга при получении рысаков орловской породы класса 2.10,0 и резвее на стандартной дистанции 1600 м. Родственное спаривание достаточно распространено в коневодстве при получении ценных животных. Выявлено положительное влияние применения топкросса, как формы аутбридинга и комплексной формы инбридинга на резвость.