

УДК 636.277:576.
312.32
© 2010

*В.В. Дзіцюк,
доктор сільсько-
господарських наук
Українська академія
аграрних наук*

С.Г. Круглик

*Національний
університет біоресурсів
і природокористування
України*

ХРОМОСОМНА МІНЛИВІСТЬ ТВАРИН, ОТРИМАНИХ МЕТОДОМ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНІВ

Досліджено цитогенетичні характеристики тварин, отриманих з використанням біотехнологічних методів. Показано переважання кількісних і структурних аберацій у тварин від ембріопересадок порівняно з тваринами, отриманими від штучного запліднення.

Упровадження біотехнологічних методів відтворення тварин, зокрема трансплантації ембріонів, дає змогу істотно збільшити інтенсивність використання племінних тварин. У США і Канаді понад 50% племінних бугаїв голштинської породи отримано в результаті трансплантації ембріонів. Теоретично обґрунтовано, що за отримання від кожної відібраної корови-донора до 5 телят на рік генетичний ефект поліпшення великих популяцій високопродуктивної молочної худоби досягне 47%.

Однак трансплантація ембріонів — складний біотехнологічний метод і тому актуальним є питання наскільки повноцінним буде потомство. У 90-х роках минулого століття рядом дослідників вивчено характеристики життєздатності тварин, отриманих завдяки пересадці ембріонів. На основі даних про ріст, розвиток і репродуктивні функції бугаїв-трансплантантів автори аргументовано доводять, що тварини, отримані методом ембріопересадок, не мають істотних відхилень від показників аналогів [2]. Спермопродуктивність молодих бугаїв-трансплантантів, за даними П.В. Павлова і А.М. Черкаєвої, дещо нижча, ніж у аналогів від штучного запліднення [4]. Результати досліджень Санаго Мамаду свідчать, що за кількістю і якістю відібраної сперми бугаїв-трансплантантів і їхні аналоги не мають відмінностей [5]. М.Л. Єрьоміною вивчено господарсько біологічні особливості корів-трансплантантів канадської і місцевої селекції [3]. За продуктивними показниками місцеві тварини не поступаються аналогам канадської селекції. Генетичні особливості, як вважає М.Л. Єрьоміна, розширюють базу селекції і можуть сприяти підвищенню її ефективності.

За даними літератури, цитогенетичні характеристики вивчали лише у корів-донорів ембріонів, бугаїв-трансплантантів і молодняк у цьому аспекті не досліджували [1]. Авторами показано, що для використання з метою отримання ембріонів придатнішими є тварини з низьким

рівнем хромосомних аберацій і анеуплоїдії, оскільки встановлено достовірний зв'язок між рівнем хромосомних аберацій і віком першого плодотворного запліднення.

Мета дослідження — аналіз цитогенетичних характеристик тварин, отриманих від пересадки цілих чи розділених зародків.

Матеріали і методи. Матеріалом для досліджень були проби крові бугайців, отриманих від пересадки цілих і розділених зародків у племзаводі «Більшовик» Донецької області (25 гол.) і бугайців 6-місячного віку від пересадки цілих зародків і їх аналогів у племзаводі «Бортничі» Київської області (30 гол.).

Для отримання препаратів метафазних хромосом кров тварин культивували в поживному середовищі 199 з фітогемаглютиніном (PHA-M «Gibco», США) протягом 48 год, останні 3 год — з колхіцином (Sigma, США) у концентрації 0,05 мкг/мл. Аналіз каріотипів проводили на рутинно пофарбованих за Гімза препаратах під масляною імерсією за збільшення $\times 1000$ під мікроскопом Axiostar plus (Carl Zeiss, Німеччина). Для аналізу використовували пластинки, на яких не було нашарувань хромосом одна на одну і які давали змогу підрахувати загальне число та ідентифікувати їх.

Метафазні пластинки фотографували за допомогою цифрової фотокамери Olympus D-460 ZOOM. Для обрахунків використовували всі аберації геномного, хромосомного і хроматидного типів. Статистичну обробку результатів досліджень здійснювали стандартними методами.

Результати досліджень свідчать, що цитогенетична структура тварин, отриманих від ембріопересадок і, зокрема, тварин від поділеного зародка, відрізняється від тварин контрольної групи.

За результатами аналізу хромосомної мінливості тварин-трансплантантів (таблиця), спектр аберацій складається з анеуплоїдії, поліплоїдії, порушень синхронності мітозу (асинхронне роз-

Хромосомна мінливість тварин, отриманих із застосуванням біотехнологічних методів

Група	Число тварин/метафаз	Усього аберантних клітин	Анеуплоїди	Поліплоїди	АРЦРХ	Клітин з аберациями	
						хромосомними	хроматидними
%							
Від штучного осіменіння («Бортничі»)	14/725	20,1±3,0	14,5±0,79	2,1±0,04	2,9±0,13	5,3±0,1	5,2±0,72
Від ембріопересадок («Бортничі»)	16/800	29,4±1,5	26,2±2,25	4,0±0,03	6,5±0,05	9,1±0,7	5,05±0,22
Від ембріопересадок («Більшовик»)	19/988	31,6±2,7	24,2±1,21	2,5±0,55	8,5±0,35	5,7±0,6	7,9±0,28
Від розділених ембріонів («Більшовик»)	6/300	40,8±2,3	38,8±2,16	2,4±0,42	12,8±2,9	9,4±0,7	7,3±0,32

щеплення центромерних районів хромосом — АРЦРХ) і структурних абераций (хромосомних і хроматидних фрагментів і розривів). Геномні аберации (анеуплоїдія і поліплоїдія) трапляються з різною частотою, тим самим виявляючи індивідуальну варіабельність за цим показником. У групах тварин-трансплантантів ліміт клітин з анеуплоїдними аберациями становить 14,5–38,8%, поліплоїдними — 2,4–4%. Водночас їхні середні величини достовірної різниці не мають. Анеуплоїдія належить до розповсюдженого типу каріотипових змін і утворюється внаслідок нерозходження хромосом чи хроматид під час мітозу, а також унаслідок елімінації пошкоджених хромосом. Дані літератури свідчать, що підвищена частота анеуплоїдних клітин має зв'язок із погіршенням відтворних функцій тварин. Аналіз анеуплоїдії свідчить, що тварини, отримані від розділених ембріонів, за частотою гіпоплоїдних клітин достовірно переважають цей показник у тварин, отриманих від пересадок цілих ембріонів (38,8 проти 24,2%). Водночас частка гіперплоїдних клітин у всіх групах досліджених тварин невисока і не перевищує 0,5%. Значну перевагу гіпоплоїдних клітин над гіперплоїдними важко пояснити природними причинами. Очевидно, велика частина гіпоплоїдних клітин має артефактне походження і пов'язана з технічними прийомами в процесі приготування препаратів хромосом. Проте втрата хромосом може мати й іншу природу, наприклад, елімінацію пошкоджених аутосом. Дослідження частоти поліплоїдії не виявило істотної різниці між тваринами-трансплантантами і їхніми аналогами, отриманими методом штучного запліднення.

Окрім анеуплоїдії і поліплоїдії, у спектрі хромосомних абераций виявлено хроматидні проби, розриви, делеції аутосом і утворені внаслідок цього фрагменти. Найбільшу кількість абераций становлять фрагменти і розриви. Крім того, трапляються і складніші хромосомні перестройки — дицентрики. Аналіз препаратів свід-

чить про наявність хромосом з так званою «пульверизацією» — комплексною структурною хромосомною аберацияю, суть якої полягає у фрагментації і «розпиленні» цілих хромосом на велику кількість дрібних фрагментів.

У тварин, отриманих від ембріопересадок у племзаводі «Більшовик», виявлено нижчий порівняно з іншими дослідженими групами показник структурних абераций, хоча загальний рівень їхньої хромосомної мінливості доволі високий за рахунок анеуплоїдії і поліплоїдії.

Привертає увагу високий відсоток клітин з АРЦРХ у тварин, отриманих від звичайних ембріопересадок і пересадок розділених ембріонів. У тварин від розділеного зародка на тлі підвищеного загального рівня абераций виявлено в 4 рази більше частку клітин з АРЦРХ, ніж у тварин, отриманих методом штучного запліднення. Кількість парних і одиночних фрагментів у тварин від розділених зародків теж є більшою у кілька разів, ніж у тварин від штучного запліднення. У ході аналізу хромосомних препаратів тварин-трансплантантів (племзавод «Бортничі») виявлено невелику кількість метафазних пластинок з асоціаціями хромосом. Можна припустити, що це пов'язано з маніпуляціями із зародками, оскільки ймовірність утворення хромосомних асоціацій у тварин української чорно-рябої молочної породи дуже мала в звичайних умовах. За даними літератури відомо, що міжхромосомні асоціації виявлені в каріотипах корів чорно-рябої породи до і після введення фолікулостимулюючого гормону (ФСГ), що стимулює суперовуляцію [6]. Показано, що у корів під час суперовуляції, зумовленої дією ФСГ, достовірно зростає частота асоціацій, а у корів, які не прореагували на ін'єкцію гормону, частка клітин з асоціаціями зберігається на контрольному (без ФСГ) рівні [7]. Отже, корови після суперовуляції здатні до утворення хромосомних асоціацій, що свідчить про їхню реакцію на штучну зміну гормонального статусу.

Висновки

Результати досліджень свідчать про більшу частку клітин з хромосомними аберациями у тварин, отриманих методом ембріо-трансплантації. Можна припустити, що маніпуляції з ембріонами під час вимивання, зберігання та заморожування-розморожуван-

ня впливають на якість ембріонів, силу цього впливу досі не досліджено. Тому з метою недопущення отримання неякісного генетичного спадкового матеріалу слід проводити цитогенетичний моніторинг тварин-трансплантантів.

Бібліографія

1. Бакай Ф.Р. Цитогенетический мониторинг коров-доноров эмбрионов/Ф.Р. Бакай, М.Д.Кама-чо Чаваррия, Д.М. Старостин//Современные проблемы в зоотехнии: Сб. науч. тр. — Ч. 1. — Моск. гос. акад. вет. мед. и биотехнол. — М., 2001. — С. 20—22.
2. Бугров А.Д., Ткачев И.В., Макаров В.М. Развитие и репродуктивная функция быков-эмбрио-трансплантантов//Зоотехния. — 1998. — № 11. — С. 28—30.
3. Еремина М.Л. Продуктивность коров трансплантантов различного происхождения/М.Л. Еремина//Там само. — 1995. — №6. — С. 25—26.
4. Павлов П.В., Черкаева А.Н. Спермопродук-

ция молодых быков-трансплантантов// Там само. — 1990. — № 11. — С. 60—62.

5. Санаго Мамаду. Качество спермопродукции быков-трансплантантов// Там само. — 1993. — № 9. — С. 31—32.

6. Чернева Ф.Р. Ассоциативная способность хромосом у коров-доноров эмбрионов/Ф.Р. Чернева//Актуальн. вопр. селекц.-племен. работы в животноводстве. — М., 1989. — С. 20—22.

7. Чернева Ф.Р. Влияние хромосомных аномалий коров-доноров на жизнеспособность зародышей крупного рогатого скота при трансплантации/Ф.Р. Чернева//Особенности плем. работы с с.-х. животными. — М., 1991. — С. 31—33.

ОГОЛОШЕННЯ

Інститут розведення і генетики тварин Української академії аграрних наук оголошує прийом до аспірантури (з відривом та без відриву від виробництва) на 2010—2011 роки зі спеціальностей:

06.02.01 — розведення та селекція тварин

03.00.15 — генетика (сільськогосподарські науки)

03.00.20 — біотехнологія

06.02.04 — технологія виробництва продуктів тваринництва.

Вступникам до заяви на ім'я директора Інституту необхідно додати такі документи: особовий листок з обліку кадрів, завірений за місцем роботи або навчання (2 прим.) та 2 фотокартки;

автобіографію;

характеристику-рекомендацію з останнього місця роботи або навчання;

копію диплома про вищу освіту (спеціаліста або магістра) з додатком (2 прим.), завірених за місцем роботи;

копію трудової книжки;

список опублікованих наукових праць і винаходів або реферат з обраної спеціальності;

медичну довідку про стан здоров'я за формою № 286-у;

ідентифікаційний номер;

витяг з протоколу засідання вченої ради ВУЗу (для осіб, які рекомендуються в аспірантуру безпосередньо після закінчення навчання).

Паспорт та диплом про вищу освіту подаються вступником особисто.

Термін подання документів до аспірантури до 30 вересня 2010 р. Вступні іспити у травні, жовтні 2010 р.

Адреса інституту:

вул. Погребняка, 1 (кім. 315),

с. Чубинське, Бориспільський район, Київська область, 08321.

Довідки за телефоном (04595)-3-00-45; Рясенко Євгенія Михайлівна.