

ЦИТОГЕНЕТИЧНИЙ МОНІТОРИНГ УКРАЇНСЬКОЇ ЧОРНО-РЯБОЇ МОЛОЧНОЇ ПОРОДИ КОРІВ В УМОВАХ НИЗЬКОДОЗОВОГО ІОНІЗУЮЧОГО ОПРОМІНЕННЯ

Федорова О.В., Костенко С.О.

Національний університет біоресурсів та природокористування України

Проведено моніторинг цитогенетичних показників корів і телят української чорно-рябої молочної породи, які утримуються в умовах хронічного низькодозового іонізуючого опромінення. У результаті чого була виявлена сезонна мінливість у дорослих тварин за двома показниками, а саме за кількістю клітин з мікроядрами та мітотичним індексом.

Ключові слова: українська чорно-ряба молочна порода, мікроядро, анеуплоїдія, хромосомні аберації, низькодозове іонізуюче опромінення, велика рогата худоба, дицентричні, кільцеві хромосоми, асинхронність.

Cytogenetic monitoring of cows of Ukrainian black and white dairy breed in conditions of low ionizing radiation. Fedorova O.V., Kostenko S.O. – Cytogenetic analysis of Ukrainian black and white dairy breed cows from areas with chronic ionizing irradiation was carried out. Low doses of ionizing radiation increased frequency of cells. Seasonal changeability of cells, namely amount of micronucleus and mitotical index with and the presence of ring chromosomes was revealed only in adult animals.

Key words: Ukrainian black and white dairy breed, micronucleus, aneuploidy, chromosomal aberrations, low dose ionizing irradiation, cattle, dicentric and ring chromosomes.

ВСТУП

Все більшого впливу на організм людини і тварини в останні десятиліття набули саме техногенні фактори, які тягнуть за собою в тій чи іншій мірі небажані наслідки на різних рівнях організації живої матерії. Серед факторів, наслідки яких мають великий негативний вплив, можна відзначити іонізуюче випромінювання. Особливістю цього фактора є те, що для різних видів випромінювання характерні різні концентрації, рівень інтенсивності, діапазон дії, характер і напрями, а також властива динамічність, різні ступені шкідливих і гранично припустимих норм концентрації і поширення у просторі, далеко від джерел викидів. Реакція на нього може бути відстрочена в часі, характерна специфічність реакції як на організменому, так і на популяційно-видовому рівнях живої матерії. Багаточисленні дослідження наслідків аварій на підприємствах атомної промисловості на живі організми показали, що навіть невеликі дози опромінення підвищують вірогідність виникнення небажаних наслідків [15; 1; 6].

Для того щоб скласти науково-обґрунтований прогноз наслідків підвищеного радіаційного фону для біоти і людини, важливим є проведення комплексних дослідів і вибір об'єктів, які дозволять точніше оцінити ступінь

впливу іонізуючого випромінювання [15]. Більшість видів свійських тварин, у тому числі велика рогата худоба в порівнянні з *Homo sapiens* швидше досягає статевої зрілості, що дозволяє аналізувати вплив іонізуючого опромінення на майбутні покоління. Це робить свійських тварин унікальними модельними об'єктами моніторингових досліджень [13]. Велика рогата худоба, що відтворюється в зоні підвищеного радіаційного контролю, сильніше в порівнянні з іншими сільськогосподарськими тваринами, підпадає під вплив іонізуючого опромінення. Це обумовлено більш тісним контактом тварин, яких випасають на відкритих територіях, як із зовнішніми, так і з внутрішніми джерелами опромінення завдяки споживанню великої кількості зеленої маси [12]. Цитогенетичний моніторинг в екологічно несприятливих умовах середовища розведення тварин – практично необхідний елемент у системі ліквідації наслідків аварії на ЧАЕС [20].

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Нами були досліджені корови української чорно-рябої молочної породи (6 гол.) і їх телята (6 гол.), СГВК «Мрія» с.Горностайпіль Іванківського району Київської області, яке знаходиться в зоні дії хронічного низькодозового іонізуючого опромінення (24-96 мкР/год.). Відбір крові проводили двічі: в листопаді 2011 та березні 2012 року.

Цитогенетичні препарати були приготовлені згідно методики, описаної А.Шельовим та В.Дзіцюк [19]. У процесі досліджень враховували кількісні порушення хромосом – анеуплоїдію, поліплоїдію, частоту клітин з асинхронним розщепленням центромірних районів хроматид (АРЦХ), структурні аберації – розриви хромосом та хроматид. Мікроядерний аналіз проведений на тих самих цитогенетичних препаратах, враховували на 1000 клітин кількість клітин, що діляться (мітотичний індекс, МІ), а також двоядерні лімфоцити (ДЯ, рис.1), одноклітинні лімфоцити з мікроядрами (ЛМЯ, рис.2). Для кожної тварини було розглянуто не менше 3000 клітин.

Дані цитогенетичного аналізу свідчать про те, що досліджені корови української чорно-рябої породи, за частотою ДЯ отримані восени ($1,95 \pm 0,18\%$), статистично достовірно не відрізнялися від аналогічних, отриманих в березні ДЯ ($1,89 \pm 0,24\%$).

За показниками ЛМЯ і мітотичним індексом, у дорослих тварин відмічається достовірна різниця, а саме збільшення частоти ЛМЯ в листопаді ($4,76 \pm 0,25$), в порівнянні з кількістю ЛМЯ в березні ($3,32 \pm 0,31^*$), та зменшення МІ збільшення мітотичного індексу в березні ($3,4 \pm 0,26$) відносно листопада, коли МІ становив $1,80 \pm 0,21\%$. Аналіз цитогенетичних даних за аналогічними показниками у теличок української чорно-рябої породи свідчить, що статично достовірної різниці між результатами отриманими восени і навесні не було.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Таблиця 1

Показники аналізу лімфоцитів крові у корів та телят в різні сезони дослідження

№	Час відбору крові	n	На 1000 клітин, ‰		
			ЛМЯ	ДЯ	МІ
1.	Листопад	6(корови)	4,76±0,25*	1,95±0,18	1,80±0,21***
2.	Березень	6(корови)	3,32±0,31*	1,89±0,24	3,4±0,26***
3	Листопад	6(телята)	1,87±0,15*	1,07±0,16	5,50±0,24***
4	Березень	6(телята)	1,84±0,35*	1,05±0,19	5,80±0,3***

*– при $p < 0,01$; **– при $p < 0,05$; *** – при $p < 0,001$

Ряд авторів відмітили, що у різних видів тварин спостерігається різна радіочутливість у залежності від пори року і навіть доби. Це пов'язано з тим, що більшість досліджуваних показників гомеостазу живого організму (температура, пульс, артеріальний тиск) також мають свою періодичність [1; 2; 14]. Значно коливаються показники радіочутливості у тварин у залежності від пори року, а саме, починаючи з січня, радіочутливість зменшується. При цьому мінімальне значення спостерігається в лютому, потім відбувається різке збільшення смертності тварин у березні. До квітня і травня радіочутливість тварин значно зменшується. А починаючи з червня відсоток загиблих мишей поступово зростає і досягає максимального значення в серпні [1; 2]. Так, залежність радіочутливості у щурів від пори року була показана в роботі Focan.C [1]. Автор проводив оцінку радіочутливості мишей дозою, що викликає 50% загибель тварин. У результаті в березні і серпні для 50% загибелі мишей знадобилась доза 6,53-6,88 Гр, в лютому досить було і дози в 3,45 Гр, а у травні - 3,68 Гр, з чого можна зробити висновки, що в літні місяці миші гинули в більш ранні строки, ніж взимку. Таку мінливість радіочутливості пов'язують з підвищенням обміну речовин у цей період [2].

Аналізуючи отримані нами результати можна зробити висновок, що у корів, які відтворюються в умовах хронічного низькодозового опромінення, частоти ЛМЯ та МІ мають сезонну залежність. Аналогічні результати стосовно збільшення МІ були отримані О.А.Ковальновою на лабораторних мишах лінії BALB/c [16].

Порівнюючи отримані нами показники, з даними Джус П.П. щодо характеристик соматичного мутагенезу корів української чорно-рябої молочної породи в ТОВ Княжичі Броварського району зробили висновки, які свідчать про наявність статистично достовірного збільшення частоти клітин з мікроядрами в порівнянні з тваринами, що утримуються на благополучних з точки зору наявності

хронічного низькодозового іонізуючого опромінення ($1,87 \pm 0,51\%$) [16]. Таким чином, як в умовах генотоксичного впливу у корів, так і в контрольних умовах у лінійних мишей спостерігається сезонна мінливість цитогенетичних показників. Але, за нашими дослідженнями, дана тенденція не спостерігається у теличок. Іншими дослідниками також показано, що максимальний рівень цитогенетичних аномалій у соматичних клітинах був зафіксований в осінній період, а мінімальний навесні [3]. Порівнюючи отримані нами дані із результатами мікроядерного аналізу голштинізованих корів, що утримувались на території 30-ти кілометрової зони відчуження ЧАЕС, Т.Т. Глазко і Н.А.Сафоновой виявили більш високі показники частоти ЛМЯ - у 1988 $7,52\%$, 1993 - $6,5\%$ [7;8]. Отримані нами показники у дорослих тварин, вірогідно нижчі, як за частотою МЯ, так і МІ. Відмінності у МІ можуть бути обумовлені використанням різних мітогенів при приготуванні цитогенетичних препаратів.

Аналізуючи такий показник, як частота клітин з МЯ, слід зазначити, що досліджених Т.Т.Глазко і Н.А.Сафоновой корів утримували безпосередньо на території, і можна зробити припущення, що дози іонізуючого опромінення, отримані тваринами на момент 1988 та 1993 року були вищими в порівнянні з дослідженими нами коровами. Слід зазначити, що спонтанний рівень мінливості цитогенетичних показників, який наводять В.В. Дзіцюк [19], А.В. Шельов [18], Л.Ф. Стродуб [14] має широкий діапазон мінливості і залежить від багатьох факторів, у тому числі: умови утримання, показників продуктивності, фізіологічний стан, наявності запальних процесів тощо.

Аналіз метафазних пластинок тимчасових культур клітин корів *in vitro* свідчить, що статистично вірогідних відмінностей за дослідженими показниками соматичного мутагенезу, пов'язаними з сезоном досліджень, нами виявлено не було (табл.2).

Таблиця 2

Цитогенетичні показники корів української чорно-рябої породи

№	Час відбору крові	n	% метафаз з цитогенетичними порушеннями				
			А	ПП	Хромосомні розриви	Хроматидні розриви	АРЦРХ
1.	Листопад	6	$7,23 \pm 1,28$	$0,81 \pm 0,63$	$3,4 \pm 1,54$	$2,62 \pm 1,90$	$3,86 \pm 1,1$
2.	Березень	6	$8,0 \pm 1,73$	$0,80 \pm 0,84$	$2,68 \pm 0,89$	$2,06 \pm 1,4$	$3,32 \pm 0,68$

Порівняння отриманих нами показників з результатами цитогенетичного аналізу Т.Т. Глазко та Н.А. Сафоновой свідчить, що у досліджених ними корів частота метафаз з АРЦРХ досягала 9 %, відсоток анеуплоїдних клітин ($15,0\%$) і ПП ($9,0\%$) був також вищим [8]. За рівнем структурних порушень отримані нами показники соматичного мутагенезу є вищими за величини аналогічних, виявлених

у корів чорно-рябої молочної породи як в контрольних умовах, так і за дії низькодозового іонізуючого опромінення.

Загалом, отримані нами дані узгоджуються з концепцією Т.Т. Глазко, згідно якої радіація низької потужності не індукує нових порушень генетичного матеріалу, а лише посилює фоновий рівень цитогенетичної нестабільності геному [8].

ВИСНОВКИ

Цитогенетичний моніторинг корів української чорно-рябої молочної породи дозволив виявити сезонну мінливість частоти клітин мікроядрами та мітотичного індексу в умовах хронічного впливу низькодозового іонізуючого опромінення лише у дорослих тварин, у теличок віком до 6 місяців такої залежності нами виявлено не було.

Перспективи подальших досліджень полягають у продовженні моніторингу цитогенетичних показників свійських тварин у різні сезони та аналізі наступних поколінь в умовах хронічного низькодозового іонізуючого опромінення.

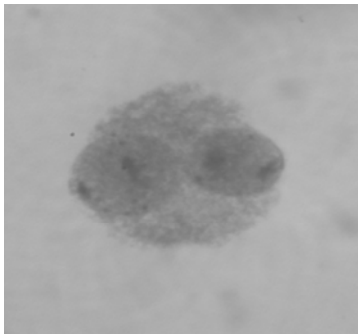


Рис. 1. Двоядерний лімфоцит

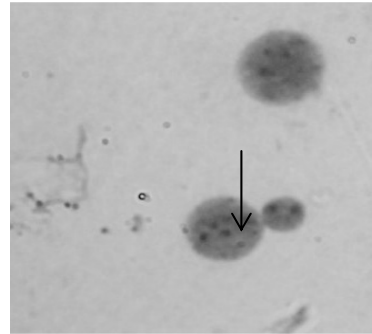


Рис. 2. Лімфоцит із мікроядром

Література

1. Focan C. Pharmacoeconomic comparative – evaluation of combination chronotherapy is standard chemotherapy for colorectal cancer / C.Focan // Chronobiol. – 2002. – Vol.19, № 1. – P. 289–298.
2. Theofilopoulos A.N. The biology and detection of immune complex / A.N. Theofilopoulos, F.J. Dixon // Adv. Immunol. – 1999. – Vol. 28. – P. 89–220.
3. X-irradiation chronosensitivity and circadian rhythmic proliferation in healthy and sarcoma-bearing rats bone marrow / M.A. Blank, V.A.Gushchin, F. Halberg [et al.] // In vivo. – 1995. – N 4. – P. 395–400.
4. Гилева Э. А. Хромосомная нестабильность у потомков полевок из зоны радиационного неблагополучия / Э. А. Гилева, Д. Ю. Нохрин, В. И. Стариченко // Генетика. – 2000. – Т. 36. – № 5. – С.714–717.
5. Гилева Э.А. Наследуемая хромосомная нестабильность у обыкновенной полевки (*Microtus arvalis*) из района Кыштымской ядерной аварии – факт или

гипотеза? / Э. А. Гилева, Н. М. Любашевский, В. И. Стариченко [и др.] // Генетика. – 1996. – Т. 32. – № 1. – С. 114–119.

6. Глазко В. И. Агроэкологический аспект биосферы: проблема генетического разнообразия / В. И. Глазко. – К. : Нора-принт, 1998. – 209 с.

7. Глазко Т. Т. Мікроядерний тест у великої рогатої худоби / Т. Т. Глазко // Вісник аграрної науки. – 2001. – № 39. – С. 45–48.

8. Глазко Т. Т. Частоты встречаемости цитогенетических аномалий в клетках крови крупного рогатого скота разных направлений продуктивности при действии низких доз ионизирующего излучения / Т. Т. Глазко, С. Е. Дубицкий, Г. Ю. Косовский // Сельскохозяйственная биология. – 2007. – № 6. – С. 58–62.

9. Дзіцюк В. В. Використання цитогенетичних методів у селекції плідників / В. В. Дзіцюк – К. : Аграрна наука, 2009. – 60 с.

10. Дзіцюк В. В. Використання цитогенетичних методів у селекції плідників / В. В. Дзіцюк – К. : Аграрна наука, 2009. – 60 с.

11. Ермакова О. В. Современные аспекты радиобиологической безопасности / О. В. Ермакова // Актуальные проблемы биологической безопасности: сборник научных статей ; [под общ. ред. доктора с.-х. наук А. А. Афолина]. – Брянск : Курсив, 2011. – С. 67–77.

12. Кленовицкий П. М. Влияние генетических и средовых факторов на кариотип и распространенность хромосомных аномалий у сельскохозяйственных животных : автореф. дис. на соискание уч. степени д.б.н.: спец. 06.02.01 «Разведение, селекция и воспроизводство сельскохозяйственных животных» / П. М. Кленовицкий. – Дубровицы, 1997. – 38 с.

13. Костенко С. О. Прогрес у галузі генетичних маркерів здоров'я свійських тварин / С. О. Костенко // Біологія тварин. – 2010. – Т. 12, № 2. – С. 367–373.

14. Костенко С. О. Цитогенетичний моніторинг української чорної-рябої молочної породи в різних радіоекологічних умовах утримання / С. О. Костенко, Л. Ф. Стародуб, П. П. Джус // Вісник ЖНЕАУ. – 2012.

15. Кудряшева Л. Г. Биологические эффекты радиоактивного загрязнения в популяциях мышевидных грызунов / Л. Г., Кудряшева, Л. Н. Шишкина и др. – Екатеринбург: УрО РАН, 2004. – С. 3.

16. Микроядерный тест как метод определения сезонной изменчивости цитогенетических показателей у млекопитающих / Ковальова О., Кобозева Н., Бурдо Е., Глазко Т. // Раритетна теріофауна та її охорона. Праці Теоріологічної школи. – Луганськ, 2008. – Випуск 9. – С. 266–269.

17. Поспишил М. Индивидуальная радиочувствительность, ее механизмы проявления / М. Поспишил, И. Ваха. – М.: Энергоатомиздат, 1986.

18. Шельов А. В. Цитогенетична оцінка племінних ресурсів сільськогосподарських тварин : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня кандидата с.-г. наук : спец. 03.00.15 «Генетика» / А. В. Шельов. – с. Чубинське, 2008. – 17 с.

19. Шельов А. В. Методика приготування метафазних хромосом лімфоцитів периферійної крові тварин / А. Шельов, В. Дзіцюк. – К. : Аграрна наука, 2005. – 240 с.

20. Эрнст Л. К. Мониторинг генетических болезней у животных в системе крупномасштабной селекции / Л. К. Эрнст, А. И. Жигачев. – М. , 2006. – С. 288.

Цитогенетический мониторинг украинской черно-рябой молочной породы в условиях низкодозового ионизирующего облучения. Фёдорова Е.В., Костенко С.А. – Проведён мониторинг коров украинской чёрно-рябой молочной породы, которые содержатся при хроническом низкодозовом ионизирующем облучении. Выявлено, что в условиях влияния низкодозового ионизирующего облучения, наблюдается сезонная изменчивость клеток, а именно количества микроядер и митотического индекса только у взрослых животных.

Ключевые слова: украинская черно-рябая молочная порода, микроядро, анеуплоидия, хромосомная аберрация, анеуплоидия, полиплоидия, низкодозовое ионизирующее облучение, крупный рогатый скот, кольцевая хромосома.