

during the first month of their life, and in more late dates of their development these changes are less expressed.

Дата надходження в редакцію: 27.11.2012 р.
Рецензент: д.с.-г.н., професор Г.П. Котенджи

УДК 636.2.034.082.2:575.22(477)

МОНІТОРИНГ ЦИТОГЕНЕТИЧНИХ ПОКАЗНИКІВ РІЗНИХ ПОРІД СВИНЕЙ

С.О. Костенко, к.б.н., доцент Національний університет біоресурсів і природокористування України
П.П. Джус, Інститут розведення і генетики тварин НААН України
Л.Ф. Стародуб, к.с.-г.н., с.н.с., Інститут розведення і генетики тварин НААН України
О.В. Сидоренко, Інститут розведення і генетики тварин НААН України
О.М. Коновал, Національний університет біоресурсів і природокористування України
М.В. Драгулян, Національний університет біоресурсів і природокористування України
К.В. Бодряшова, Інститут розведення і генетики тварин НААН України

Цитогенетичний аналіз тварин великої білої, великої чорної, уельської та української м'ясної порід не виявив носіїв конститутивних порушень каріотипу. Показники соматичного мутагенезу відповідають даним, характерним для його спонтанного рівня. Досліджені тварини великої чорної породи характеризуються меншим рівнем метафаз з анеуплоїдією, асинхронним розщепленням центромірних районів хромосом у порівнянні з особинами великої білої породи, відсутністю поліплоїдії та структурних порушень хромосом. Отримані дані можуть свідчити про генетично обумовлені високі антиоксидантні властивості тварин великої чорної породи.

Ключові слова: велика біла порода, велика чорна порода, уельська, українська м'ясна порода, свиня свійська, хромосомні аберації, мікроядра, асинхронність розщеплення центромірних районів хромосом, анеуплоїдія.

Постановка проблеми у загальному вигляді. У свинарстві, як і у інших галузях тваринництва, в зв'язку з інтенсифікацією селекційної роботи, з кожним роком зменшується біологічне різноманіття. Так, на сьогодні в Україні, в переважній більшості, використовують лише 10 комерційних порід свиней та їх селекційних ліній. В той же час, поза увагою залишається генетичний потенціал аборигенних порід, тварини яких несуть унікальні генні ансамблі.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Відсутність генетичного контролю племінних тварин призводить до обтяженості їх популяцій генетичним тягарем і все гостріше ставить проблеми їх здоров'я. Цьому сприяє не тільки накопичення мутацій під дією мутагенних факторів, а також часто неконтрольоване з боку фахівців розведення тварин, що дає можливість поширенню небажаних мутацій [1].

Цитогенетичний аналіз дозволяє виявляти тварин-носіїв конститутивних хромосомних та геномних мутацій, а також досліджувати рівень соматичного мутагенезу, обумовлений як генотиповими, так і паратиповими факторами. Однак, до цього часу популяції свиней України досліджені мало [2].

Формулювання цілей статті. Мета досліджень полягала в аналізі показників цитогенетичної мінливості свиней великої білої, великої чорної, уельської, української м'ясної порід та виявленні породоспецифічних особливостей їх соматичного мутагенезу.

Матеріали і методика досліджень. Було

досліджено 120 свиноматок великої білої, великої чорної, уельської та української м'ясної порід. Забір крові свиней породи велика біла проводився у свинокомплексах Черкаської (СВК «Розсішське» с. Розсішки (n=7), ДСПГ «Христинівське» УААН (n=4)) Київської області ВАР «Антонов» с. Круглик (n=11), ВАР «Маки» (n=6), с. Яблунівка (м'ясокомбінат) (n=10) ТОВ Агрікор Холдинг (15 гол.) та свиней вітчизняної селекції ДДАУ м'ясного типу великої білої породи ТОВ «Лугоське» Дніпропетровської області Солонянського району, с.Александропіль (n=12). Аналізували племінних тварин великої чорної (15 гол) господарства ПСП «Дзвеняче» Київської області, свиноматок уельської (n=42) та української м'ясної (n=25) порід ДПДГ «Гончарівка» Харківської області Вовчанського району. Всі досліджені тварини утримувались в умовах, які відповідають ветеринарно-санітарним нормам. Цитогенетичні препарати готували згідно традиційної методики [3].

Під час аналізу враховували кількісні порушення хромосом (анеуплоїдію (А) та поліплоїдію (ПП)), а також клітини із асинхронним розщепленням центромірних районів хромосом (АРЦРХ), структурні аберації – розриви хромосом (ХР) і хроматид (ХМ) з розрахунку на 100 проаналізованих метафаз. На тих самих цитогенетичних препаратах виявляли двоядерні лімфоцити (ДЯ), одноядерні лімфоцити з мікроядрами (МЯ), мітотичний індекс (МІ) з розрахунком на 1000 клітин, досліджуючи у кожній тварини не менше 3000 клітин.

Виклад основного матеріалу. Результати

цитогенетичного аналізу досліджених тварин | представлені у таблиці 1.

Таблиця 1. Показники цитогенетичної мінливості свиней різних порід, ‰

Господарство		Кількість клітин на 1000		
		МЯ	ДЯ	МІ
		Велика біла порода		
a	СВК «Розсішське» с. Розсішки (n=7)	***1,3±0,3	***4,2±0,3	5,1±0,2
b	ДСПГ «Христинівське» УААН (n=4)	***3,2±0,3	***4,3±0,4	10,4±0,4
c	с.Яблунівка (м'ясокомбінат) (n=10)	***3,3±0,2	***4,1±0,1	8,3±0,5
d	ВАТ «Антонов», с. Круглик (n=11)	***4,2±0,1	***3,1±0,5	9,3±0,6
e	ВАТ «Маки» (n=6)	***4,1±0,4	***5,2±0,3	8,2±0,1
f	ТОВ Агрікор Холдинг(15 гол.)	***2,3±0,17	***0,72±0,27	1,5±0,53
g	В середньому для породи (n=53)	*3,06±0,05	**3,6±0,07	7,13±0,14
k	м'ясний тип великої білої породи ТОВ «Луговське» (n=12)	2,50±0,29*	***1,53±0,14	1,97±0,34
		Велика чорна порода		
l	ПСП «Дзвеняче» (15 гол)	***1,00±0,31	**3,7±0,45	0,8±0,43
		Уельська порода		
m	ДПДГ «Гонтарівка» (n=42)	**4,66±0,19	*2,50±0,17	6,3±0,37
		Українська м'ясна порода		
n	ДПДГ «Гонтарівка» (n=25)	***3,85±0,36	**2,4±,19	4,40±0,27

Примітка 1. *0,95<P<0,99 - статистично достовірні відмінності між частотою клітин з мікроядрами популяцій *l m, g i n*

** 0,99<P<0,999, - статистично достовірні відмінності між частотою клітин з мікроядрами популяцій *a i b, k i l, k i n*

*** P>0,999 - статистично достовірні відмінності між частотою клітин з мікроядрами популяцій *a i c, a i d, a i e, a i f, b i d, c i d, c i f, d i f, e i f*.

Примітка 2. *0,95<P<0,99 - статистично достовірні відмінності між частотою двоядерних клітин популяцій *l i m,*

** 0,99<P<0,999, - статистично достовірні відмінності між частотою двоядерних клітин популяцій *g i n, l i n,*

*** P>0,999 - статистично достовірні відмінності між частотою двоядерних клітин популяцій *a i f, b i f, c i e, c i f, d i e, d i f, e i f, g i k, g i m, k i l, k i m, k i n.*

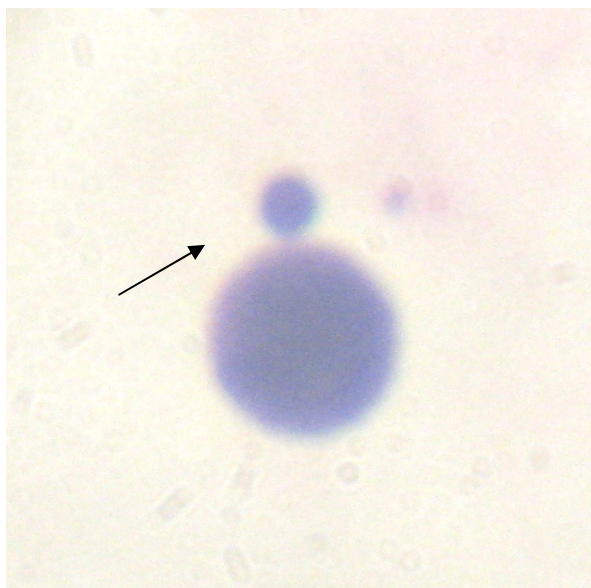


Рис. 1. Лімфоцит з мікроядром в периферичній крові свиноматки (СТЗОВ «Дружба»)

Кількість клітин з мікроядрами (рис. 1) в різних популяціях свиней великої білої породи коливалась в межах від 1,3 ‰ (СВК «Розсішське») до 4,2 ‰ (ВАТ «Антонов»). В середньому для цієї породи виявили 3,06±0,05 ‰ з клітин мікроядрами. Частота клітин з мікроядрами у тварин м'ясного типу великої білої породи була в межах внутрішньопородної мінливості за цим показником. Слід зазначити, що частота клітин з мікроядрами є інтегральним показником мутагенезу. У формуванні мікроядер приймають участь як окремі хромосоми, так і їх фрагменти. Ссавці за відсутності дії мутагенних чинників характеризуються частотою клітин з мікроядрами в межах – від 2,7 до 5,6 ‰ [4]. Таким чином, виявлені частоти клітин з мікроядрами у досліджених тварин великої білої породи та її м'ясного типу знаходяться в межах контролю.

Порівняльний аналіз частот клітин з мікроядрами у тварин досліджених порід (рис. 2) виявив, що найнижче значення цього показника було характерне для великої чорної породи (1,00±0,31‰). Статистично достовірна різниця між частотами лімфоцитів з мікроядрами великої чорної та інших порід свідчить про низький рівень спонтанних мутацій. На користь цього вказують інші цитогенетичні показники, представлені в таблиці 2.

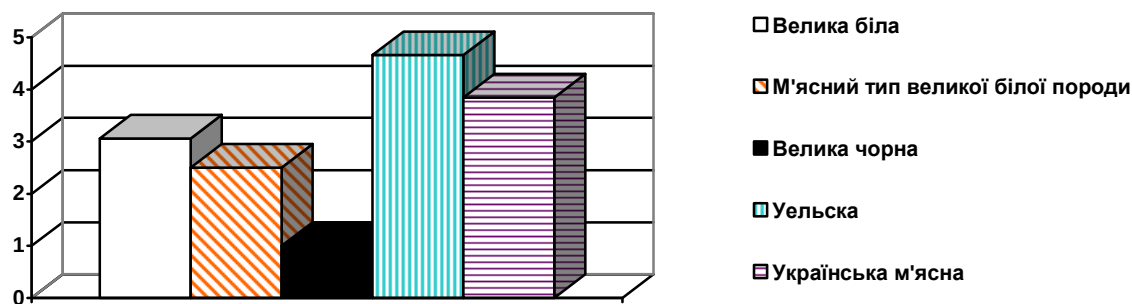


Рис. 2. Кількість клітин з мікроядрами (%) у різних порід свиней

Таблиця 2. Показники цитогенетичної мінливості свиней великої чорної та великої білої порід

Порода	A, %	ПП, %	АРЦРХ, %	ХР, %	ХМ, %
Велика чорна	0,1±0,10	-	0,4±0,31	-	-
Велика біла	*** 4,0±0,42	0,3±0,21	*2,3±0,68	1,6±0,96	0,9±0,64

Примітка: * $P>0,95$; *** $P>0,999$

Так, у великій чорній породі був відмічений статистично вірогідно нижчий рівень анеуплоїдії (рис. 3) та відсоток метафаз з асинхронним розщепленням центромірних районів хроматид (рис. 4) порівняно з великою білою породою. У дослі-

джених тварин великої чорної породи не були виявлені клітини з хромосомними та хроматидними абераціями (рис. 5), відмічені у великій білій породі.



Рис. 3. Метафазна пластинка свиноматки (норма $2n=38$)



Рис. 4. Метафазна пластинка свиноматки з асинхронним розщепленням центромірних районів хроматид

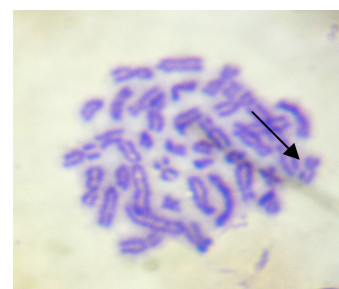


Рис. 5. Прицентромірний хроматидний розрив (метафазна пластинка свиноматки СТЗОВ «Дружба»)

Слід зазначити, що згідно даних І.Г.Кобидзе (1989) частота метафазних пластинок з анеуплоїдією у тварин великої білої породи в контрольних умовах коливається в межах 4,5 – 19,4% [4]. Таким чином, отриманий нами показник відповідає спонтанному рівневі, характерному для великої білої породи. Статистично вірогідні відмінності між дослідженими породами можуть бути обумовлені особливостями тварин великої чорної породи, що сприяють зменшенню рівня клітин з анеуплоїдією. Це може стосуватися механізмів забезпечення точного розходження хромосом, про що свідчить різниця у частоті асинхронного розщеплення їх центромірних районів. Найвищий відсоток клітин (2,3%) із асинхронним розщепленням центромірних районів хромосом, який відображає передумови виникнення числових порушень, спостерігали у свиней породи велика біла, що у 6 разів більше при $P>0,95$ ніж у тварин породи велика чорна. Не були виявлені також

поліплоїдні клітини у досліджених тварин великої чорної породи.

Іншою причиною відмінностей у рівні клітин з анеуплоїдією може слугувати різна міцність цитоплазматичної мембрани, оскільки при приготуванні цитогенетичних препаратів саме порушення її цілісності може призводити до втрати хромосом.

Відсутність структурних порушень хромосом у тварин великої чорної породи свідчить про низький рівень соматичного мутагенезу у досліджених тварин і може слугувати ознакою того, що проаналізовані тварини мають природну породоспецифічну більш високу антиоксидантну активність ферментів. Наші данні підтверджують результати досліджень В.В.Дзіцюк, щодо кращої пристосованості локальних порід до «жорстких» умов середовища, та стабільності їх геному [2].

Також були знайдені статистично достовірні відмінності за частотою клітин з мікроядрами між

дослідженими тваринами великої білої породи та уельською ($P>0,999$) і українською м'ясною ($P>0,95$). Слід зазначити, що уельська порода мала найвищу кількість клітин з мікроядрами. Наявність статистично достовірної різниці між уельською та українською м'ясною породами ($P>0,95$), які утримуються в одному господарстві свідчить, що відмінності обумовлені не паратиповими, а спадковими особливостями метаболізму досліджених тварин, які потребують подальшого вивчення.

Таким чином, мікроядерний тест виявив низку породоспецифічних особливостей соматичного мутагенезу у свиней. Найнижчий рівень клітин з мікроядрами був характерний для великої чорної породи, а найвищий – для уельської породи.

Кількість двоядерних клітин (рис. 6) та мітотичні індекси, характерні для різних порід свиней відображені на рисунках 7 і 8, відповідно.

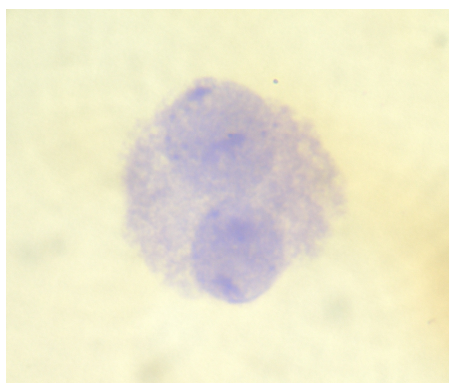


Рис. 6. Двоядерний лімфоцит в периферичній крові свиноматки (ТОВ «Луговське»)

На відміну від мітотичного індексу, за яким не були знайдені статистично достовірні відмінності між тваринами різних порід, виявленні породоспецифічні особливості за частотою двоядерних клітин. Найвища частота двоядерних клітин була характерна для тварин великої чорної породи, яка статистично не відрізнялась від також високого показника великої білої породи. Слід зазначити, що велика біла порода мала найвищий мітотичний індекс. Це узгоджується прямим пропорційним співвідношенням цих двох параметрів, які стосуються тривалості різних стадій мітозу. Незрозумілим є відносно низький мітотичний індекс, характерний для великої чорної породи загалом і в порівнянні з високою частотою двоядерних клітин. Цей феномен може бути обумовлений як особливостями культивування клітин, так і породними особливостями, які на сьогодні залишаються практично невивченими для великої чорної породи.

Таким чином, подальше дослідження біологічних особливостей тварин різних порід та їх продукції, може дати можливість отримання якісно нової інформації, що дозволить підвищити конкурентну спроможність аборигенних порід і буде запорукою їх збереження.

Традиційно свинина – одна з важливих складових у харчуванні населення України. Високоякісна продукція з унікальними антиоксидантними властивостями [6], отримана за допомогою аборигенних порід, сприятиме підвищенню імунітету українців, значна частина яких проживає в умовах впливу низькодозового іонізуючого опромінення, хімічного забруднення навколишнього середовища.

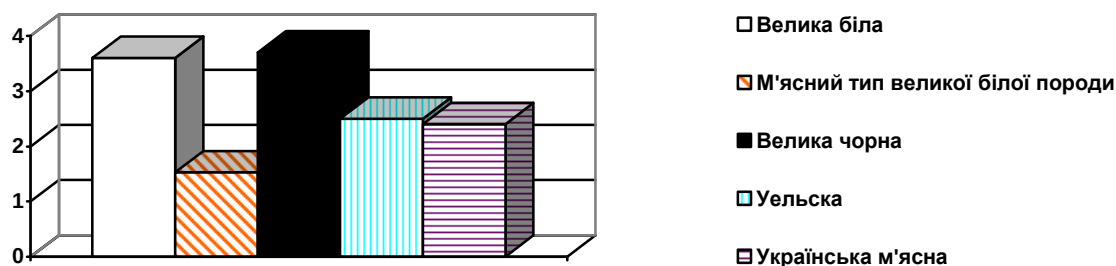


Рис. 7. Кількість двоядерних клітин (%) у різних порід свиней

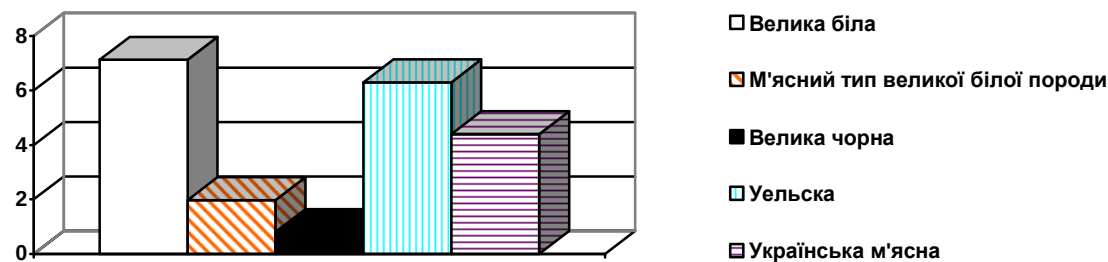


Рис. 8. Мітотичний індекс (%) у різних порід свиней

Висновки та перспективи досліджень. Виявлені породоспецифічні особливості соматичного мутагенезу тварин порід велика біла, велика чорна, уельська та українська м'ясна. Одержані дані свідчать, що свині великої чорної породи характеризуються більшою стабільністю кариотипу порівняно з іншими дослідженими породами.

Уельська порода має найвищий рівень соматичного мутагенезу. Подальше дослідження біологічних особливостей аборигенних і локальних порід сприятиме їх використанню як джерела високоякісної продукції, а також популяризації та збереженню.

Список використаної літератури:

1. Эрнст Л.К., Жигачев А.И. Мониторинг генетических болезней животных в системе крупномасштабной селекции / Л.К.Эрнст, А.И.Жигачев. - Москва, 2006. - 383 с.
2. Дзіцюк В.В. Хромосомний поліморфізм локальних порід сільськогосподарських тварин України / Дзіцюк В.В. // Науковий вісник національного університету біоресурсів і природокористування України. – 2011. – № 160. – С. 300-303.
3. Шельов А.В. Методика приготування метафазних хромосом лімфоцитів периферійної крові тварин / А. Шельов, В. Дзіцюк. - К. : Аграрна наука, 2005.-240с. - (Методики наукових досліджень із селекції, генетики та біотехнології).
4. Cea G.F. Induction of micronuclei in mouse bone-marrow cells by the flavonoid 5,3',4'-trihydroxy-3,6,7,8-tetramethoxy-flavone (THTMF) / Cea G.F., Etcheberry K.F., Dulout FN. // Mutat Res.-1983.- Mar.- N 119(3).- P. 339-42.
5. Кобидзе И.Г. Цитогенетическое обследование племенных хрячков пород крупная белая и ландрас / И.Г. Кобидзе // Вопросы производства свиней. Бюллетень научных работ ВИЖа, 1989. – Вып. 93. – С. 56 – 58.
6. Стойко Ф. Опыт выращивания органических свиней – порода Мангалица в Карпатском регионе / Ф.Стойко // Материалы 2-ой Международной конференции «Развитие Органического Сектора в Центральной, Восточной Европе и странах Средней Азии», 10-11 сентября 2009 г., г. Тбилиси, Грузия, ел.ресурс: <http://organicconference.elkana.org.ge/files/conf/c1/2.pdf>

Цитогенетический анализ животных крупной белой, крупной черной, уэльской и украинской мясной пород не выявил носителей конститутивных нарушений кариотипа. Показатели соматического мутагенеза соответствуют данным, характерным для его спонтанного уровня. Исследованные животные крупной черной породы характеризуются меньшим уровнем метафаз с анеуплоидией, асинхронным расщеплением центромерных районов хромосом по сравнению с особями других пород, отсутствием полиплоидии и структурных нарушений хромосом. Полученные данные могут свидетельствовать о генетически обусловленных высоких антиоксидантных свойствах животных крупной черной породы.

Ключевые слова: крупная белая, крупная черная, уэльская, украинская мясная порода, свинья домашняя, хромосомные аберрации, микроядра, асинхронность расщепления центромерных районов хроматид, анеуплоидия.

Cytogenetic analysis of animals Large White, LargeBlack, Welsh and Ukrainian Meat breeds and found no violations of constitutive karyotype. Indicators of somatic mutagenesis correspond to the features of its spontaneous level. Investigated animals Large Black breed are characterized by lower levels of aneuploidy metaphase, asynchronism splitting centromere areas chromatids compared to individuals of Large White breed, absence of polyploidy and structural chromosome disorders. These data may indicate a genetically conditioned high antioxidant properties of animals LargeBlack breed.

Key words: Large White breed, Large Black breed, Welsh and Ukrainian Meat breed, the domestic pig, chromosome aberrations, micronucleus, asynchronism splitting centromere areas chromatids, aneuploidy.

Дата надходження в редакцію: 19.11.2012 р.

Рецензент: д.с.г.н., професор Л.М.Хмельничий