

ВНУТРІПОРОДНА КАРІОТИПОВА МІНЛИВІСТЬ КОРІВ УКРАЇНСЬКОЇ ЧЕРВОНО-РЯБОЇ МОЛОЧНОЇ ПОРОДИ РІЗНОГО СТУПЕНЯ СПОРІДНЕНOSTI

В. В. Дзіцюк, М. М. Передрій
valentynadzitsiuk@gmail.com

Інститут розведення і генетики тварин імені М. В. Зубця НААН,
вул. Погребняка, 1, с. Чубинське, Бориспільський район, Київська область, 08321, Україна

У статті викладені результати досліджень каріотипової мінливості корів української червоно-рябої молочної породи різного рівня спорідненості. Культивування лімфоцитів, приготування цитогенетичних препаратів, класифікація та облік аберацій хромосом здійснювали за загальноприйнятими методиками. До аналізу метафазних клітин входили такі цитогенетичні показники: частота анеуплоїдних і поліплоїдних клітин, частота клітин з структурними абераціями хромосом (хромосомні розриви, фрагменти хромосом, асинхронне розщеплення центромерних районів хромосом (АРЦРХ), асоціації хромосом).

У результаті досліджень виявили аномалії геномного типу (анеуплоїдія і поліплоїдія) та структурні аберації хромосом (фрагменти, розриви, асоціації хромосом). У жодної корови не було знайдено грубих конституціональних аномалій хромосомного набору. Найвищий рівень абераційних клітин зафіксовано у близькоспоріднених тварин. У корів з порушеною відтворювальною здатністю, незалежно від ступеня їх інбридингу, частота клітин, що мають геномні порушення і структурні аберації, вища, ніж у корів з нормальною відтворювальною функцією. Аналіз генетичної структури популяції за рівнем генетичного ризику показав, що у групі низького генетичного ризику найбільшу частку становлять корови без відхилень у репродуктивній системі. Найбільше корів з проблемами репродуктивної системи виявлено у групі високого генетичного ризику.

Цитогенетичне дослідження корів дозволяє не лише оцінити це стадо української червоно-рябої молочної породи за насиченістю небажаними абераціями хромосом, а й дає змогу використати отримані результати для прогнозування у ранньому віці стану репродуктивної здатності. Для запобігання накопиченню генетичних дефектів у стадах великої рогатої худоби при проведенні цілеспрямованої роботи з відтворення необхідно здійснювати систематичний цитогенетичний контроль тварин.

Ключові слова: УКРАЇНСЬКА ЧЕРВОНО-РЯБА МОЛОЧНА ПОРОДА, ВІДТВОРНА ЗДАТНІСТЬ, ІНБРИДИНГ, КАРІОТИП, АБЕРАЦІЇ ХРОМОСОМ

THE INNER-BREED KARYOTYPE VARIABILITY OF THE COWS OF THE UKRAINIAN RED-BROWN DAIRY CATTLE BREED WITH A VARYING DEGREE OF AFFINITY

V. Dzitsiuk, M. Peredriy
valentynadzitsiuk@gmail.com

Institute of Animal Breeding and Genetics named after M. V. Zubets of NAAS,
1 Pogrebnjaka str., Chubynske village, Boryspil district, Kyiv region, 08321, Ukraine

The paper describes the results of the research on karyotype variability for the cows of Ukrainian Red-Brown dairy breed with a varying degree of affinity. The purpose of research was comparative assessment of the effectiveness of various degrees of inbreeding Ukrainian red-spotted milk breed cows for economically useful traits. The research has been conducted at the experimental farm "Khrystynivka", Institute for Animal Breeding and Genetics of M. V. Zubets NAAS. The connection between chromosomal aberrations and viability, reproductive disorders and diseases of animals is displayed. Cultivation of lymphocytes, making of cytogenetic preparations, classification and registration of chromosomal aberrations were performed by conventional methods. In the analysis of metaphase cells, the following cytogenetic parameters were included: the proportion of aneuploid and polyploid cells, the frequency of cells with structural chromosome aberrations (chromosome breaks, chromosomal fragments, asynchronous cleavage of centromeric regions of chromosomes, chromosomal association).

The genomic type anomalies such as aneuploidy and polyploidy were discovered, as well as structural chromosome aberrations: fragments, breaks, chromosome associations. The highest level of aberrant cells was

spotted for the closely related animals. The cows with disturbed reproductive ability contained genomic disorders and structural aberrations in their cells 20–22 % times more often than the cows with normal reproductive ability, regardless of the degree of their inbreeding. The analysis of genetic structure of the population by level of genetic risk showed the fact that the group with the least genetic risk was represented by the cows without disorders in their reproductive system. It was stated that all studied animals had a positive correlation between the service period and the major cytogenetic indicators. The obtained results give the reason to use indicators of karyotype variability as a criterion for assessing the reproductive performance of milk herd cows.

The cytogenetic research not only makes it possible to estimate the level of saturation with undesired chromosome aberration inside the given herd of Ukrainian red-brown dairy breed, but also it gives an ability to use the collected results to foresee the reproductive ability for the cows in their youth. Thus, the findings of research show that reproductive qualities better than inbred cows are moderate inbreeding. To prevent the accumulation of genetic defects in cattle herds during application of biotechnology techniques and carrying out purposeful work on reproduction, it is necessary to maintain the systematic cytogenetic control animals.

Keywords: UKRAINIAN RED-BROWN DAIRY BREED, REPRODUCTIVE ABILITY, INBREEDING, KARYOTYPE, CHROMOSOME ABERRATION

ВНУТРИПОРОДНАЯ КАРИОТИПИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ КОРОВ УКРАИНСКОЙ КРАСНО-ПЕСТРОЙ МОЛОЧНОЙ ПОРОДЫ РАЗНЫХ СТЕПЕНЕЙ РОДСТВА

В. В. Дзицюк, М. М. Передрий
valentynadzitsiuk@gmail.com

Институт разведения и генетики животных имени М. В. Зубца НААН,
ул. Погребняка, 1, с. Чубинское, Бориспольской район, Киевская область, 08321, Украина

В статье изложены результаты исследований кариотипической изменчивости коров украинской красно-пестрой молочной породы разных степеней родства. Культивирование лимфоцитов, приготовление цитогенетических препаратов, классификация и учет aberrаций хромосом осуществляли по общепринятым методикам. В анализ метафазных клеток включали такие цитогенетические показатели: частоту анеуплоидных и полиплоидных клеток, частоту клеток со структурными aberrациями хромосом (хромосомные разрывы, фрагменты хромосом, асинхронное расщепление центромерных районов хромосом, ассоциации хромосом).

В результате исследований обнаружили аномалии геномного типа (анеуплоидию и полиплоидию) и структурные aberrации хромосом (фрагменты, разрывы, ассоциации хромосом). Ни у одной коровы не было найдено грубых конституциональных аномалий хромосомного набора. Самый высокий уровень aberrантных клеток зафиксировано в близкородственных животных. У коров с нарушенной воспроизводительной способностью, независимо от степени их инбридинга, частота клеток, имеющих геномные нарушения и структурные aberrации, выше, чем у коров с репродуктивной функцией в норме. Анализ генетической структуры популяции по уровню генетического риска показал, что в группе низкого генетического риска наибольшую долю составляют коровы без отклонений в репродуктивной системе. Коров с проблемами репродуктивной системы больше выявлено в группе высокого генетического риска.

Цитогенетическое исследование коров позволяет не только оценить данное стадо украинской красно-рябой молочной породы по насыщенности нежелательными aberrациями хромосом, но и дает возможность использовать полученные результаты для прогнозирования у коров в раннем возрасте уровень репродуктивной способности. Для предупреждения накопления генетических дефектов в стадах крупного рогатого скота при проведении целенаправленной селекционной работы необходимо проводить систематический цитогенетический контроль животных.

Ключевые слова: УКРАИНСКАЯ КРАСНО-ПЕСТРАЯ МОЛОЧНАЯ ПОРОДА, ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНАЯ СПОСОБНОСТЬ, ИНБРИДИНГ, КАРИОТИП, АБЕРРАЦИИ ХРОМОСОМ

За інтенсивного використання обмеженої кількості плідників у господарствах генетична різноманітність популяції звужується

навіть за своєчасної ротації ліній. Це призводить до поєднання споріднених за генотипом плідників і маток, в тому числі і можливих

гетерозиготних носіїв небажаних генів. При цьому певна частина генів переходить в гомозиготний стан і проявляється фенотипово. У потомків гетерозиготних носіїв небажаних мутацій зникає маскувальна дія домінантних алелів, яка є причиною збереження і розповсюдження в популяції шкідливих рецесивних алелів. Аналогічно і з хромосомними абераціями: в гетерозиготному стані негативна дія аберації в одній з гомологічних хромосом може не проявитись. Однак із використанням близькоспорідненого парування зростає ймовірність переходу аберації у гомозиготний стан. Хромосомні аберації, на відміну від генних мутацій, за відсутності близькоспорідненого парування трапляються лише в гетерозиготному стані у поєднанні з нормальними хромосомами або іншими абераціями. За інбридингу ж можливе утворення гомозиготних особин, що виявить у них дію небажаних хромосомних пошкоджень. Ставлення до інбридингу як методу розведення дуже неоднозначне, оскільки це складне біологічне і багатофакторне явище і, як один із методів підбору в племінній роботі, дає суперечливі результати [4, 11].

Водночас збільшення гомозиготності в інбредних особин дає можливість консолідувати стадо за бажаними фенотиповими ознаками та стабілізувати спадковість певних генотипів [2, 7]. Тому для селекціонера важливо мати інформацію про розмах і складові генетичної мінливості як додатковий критерій добору у підконтрольному йому стаді. Метою наших досліджень є оцінка каріотипової мінливості корів-первісток української червоно-рябої молочної породи різного рівня спорідненості.

Матеріали і методи

Дослідження проведені на базі відділу генетики і біотехнології Інституту розведення і генетики тварин імені М. В. Зубця НААН. Як матеріал для досліджень використовували периферійну кров корів стада української червоно-рябої молочної породи ДП «ДГ «Христинівське» Інституту розведення і генетики тварин.

Відтворну функцію і рівень каріотипової мінливості дослідили у 103 корів стада, з яких 47 % (49 голів) отримані неспорідненим

паруванням, 34 % (35 голів) — із застосуванням віддаленого інбридингу і 14 % (14 голів) — помірного інбридингу. Методом кровозміщення отримано 5 % (5 голів) дослідженого поголів'я. Корови інбредні на бугаїв Бернаро 359855968 (лінія Хановера), Май 5573 (лінія Імпрувера), Джупі 114386896 (лінія Чіфа).

Для оцінки відтворної здатності у корів різного ступеня спорідненості з обстежених тварин за станом їх репродуктивної системи сформуvalи три групи: I група — тварини з порушеною відтворною здатністю, наявністю мертвонароджень і спонтанних викиднів, II група — корови з сервіс-періодом після першої лактації більше 150 днів, III група — корови, у яких сервіс-період після першої лактації становив 50–90 днів (умовно контрольна група).

Цитогенетичні дослідження проводили за методом Moorhead et al. [6]. До аналізу метафазних клітин входили такі цитогенетичні показники: частка анеуплоїдних і поліплоїдних клітин, частота клітин з структурними абераціями хромосом (хромосомні розриви, фрагменти хромосом, асинхронне розщеплення центромерних районів хромосом (APCPX), асоціації хромосом).

Біометричну обробку результатів досліджень проводили методами варіаційної статистики відповідно до Н. А. Плохинського [9] і Г. Ф. Лакина [5] з використанням стандартного пакету прикладних статистичних програм.

Результати й обговорення

У результаті аналізу препаратів хромосом у жодної корови з досліджених груп не виявлено грубих конституціональних аномалій хромосомного набору. Водночас вивчення неконституціональної каріотипової мінливості показало, що поряд із нормальними диплоїдними клітинами в культурі лімфоцитів певна їх частина має аномалії геномного типу і структурні аберації хромосом (табл. 1).

Середній рівень абераційних клітин виявився найвищим у близькоспоріднених тварин, що вірогідно перевищує показники аутбредних корів на 6,0 %, тварин з віддаленим та помірним ступенем інбридингу — на 6,4 та 6,7 % при $P < 0,999$ у всіх випадках.

Каріотипова мінливість аутбредних та інбредних корів-первісток ($M \pm m$, %)
The karyotype variability of the outbred and inbred firstborn cows ($M \pm m$, %)

Частота клітин Cell frequency	Варіанти підбору батьківських пар Options for selecting parental pairs			
	Аутбридинг Outbreeding (n=49)	Інбридинг / Inbreeding		
		Близький Close (n=5)	Помірний Moderate (n=14)	Віддалений Remote (n=35)
З абераціями / With aberrations	12,5±0,40***	18,5±0,62	11,8±0,33***	12,1±0,71 ***
Анеуплоїдних / Aneuploidy	4,20±0,70	4,90±0,55	2,78±0,72	2,50±0,70
Поліплоїдних / Polyploidy	0,77±0,32	0,41±0,02	0,57±0,20	0,86±0,71
З розривами хромосом / With chromosome breaks	3,35±0,19	5,50±0,84	2,35±0,22	2,31±0,60
З фрагментами хромосом / With fragments of chromosomes	3,20±1,74	3,90±0,94	1,85±0,33	2,86±0,90
З АРЦРХ / With ACCRC	3,06±1,43	5,85±0,74	2,78±0,49	2,36±0,70

Частота анеуплоїдних клітин у близькоспоріднених первісток перевищує цей показник в аутбредних тварин з невірогідною різницею. Така ж невірогідна різниця за рівнем анеуплоїдних клітин виявлена і між аутбредними та інбредними особинами від помірного і віддаленого ступеня спорідненості. Дещо вищу загальну частоту клітин з анеуплоїдією, очевидно, можна пояснити артефактним походженням, що пов'язано із технічними прийомами під час обробки культури і приготування препаратів хромосом.

Встановлено, що маніпуляції, які проводяться під час приготування препаратів хромосом, зокрема перенесення на предметне скло клітин після їх культивування в гіпотонічному середовищі, можуть призводити до втрати частини хромосомного набору. Втрата хромосом може мати й іншу природу і бути результатом елімінації пошкоджених хромосом. Наявність індивідуальних відмінностей за цим показником, на думку окремих авторів, залежить від гормональних впливів; інші вважають, що існує зв'язок частоти виявлених анеуплоїдних клітин із продуктивними характеристиками тварин [3, 7, 10].

Частка поліплоїдних клітин у всіх досліджених корів не перевищує одного відсотка, що є нормою для великої рогатої худоби. Різниця між групами аутбредних й інбредних тварин невірогідна.

До структури загальної оцінки генетичного вантажу в популяціях сільськогосподарських тварин входить інформативний цитогенетичний показник: частота і види аберацій хро-

мосом. Аналізом хромосом на стадії метафази нами виявлені розриви хромосом, хромосомні і хроматидні пробіли, фрагменти хромосом і хроматид, несинхронність розходження хромосом у процесі мітозу і їх частоти появи (рис. 1.)

Частота клітин з розривами хромосом в середньому коливається від 2,31 % у клітинах корів з віддаленим до 5,50 % у тварин з близьким інбридингом, різниця між цими показниками становить 3,19 % і є статистично вірогідною ($P < 0,999$), як і різниця між аутбредними тваринами й особинами з помірним інбридингом ($P < 0,95$).

Різниця між аутбредними й інбредними тваринами за частотою клітин, де наявні фрагменти хромосом, виявилась невірогідною.

Корови з типами інбридингу віддалений-близький за показником АРЦРХ (асинхронності розходження центромерних районів хромосом в кінці метафази) вірогідно різняться на 3,49 % ($P < 0,95$) з меншим значенням у тварин, отриманих внаслідок віддаленого інбридингу. В літературі трапляються припущення про тісний зв'язок АРЦРХ з механізмами формування анеуплоїдних клітин [1].

Із 103 досліджених за цитогенетичними показниками корів різного ступеня спорідненості до групи тварин з порушеною відтворною здатністю (І група) потрапили 24 корови, що становить 23,3 % від дослідженого поголів'я (табл. 2). Найбільшу частку в цій групі склали корови, отримані в результаті віддаленого інбридингу (11,6 %). У групі корів із сервіс-періодом понад 150 днів найбільше було аутбредних особин (16,5 %). У ІІІ групі (з сервіс-періодом

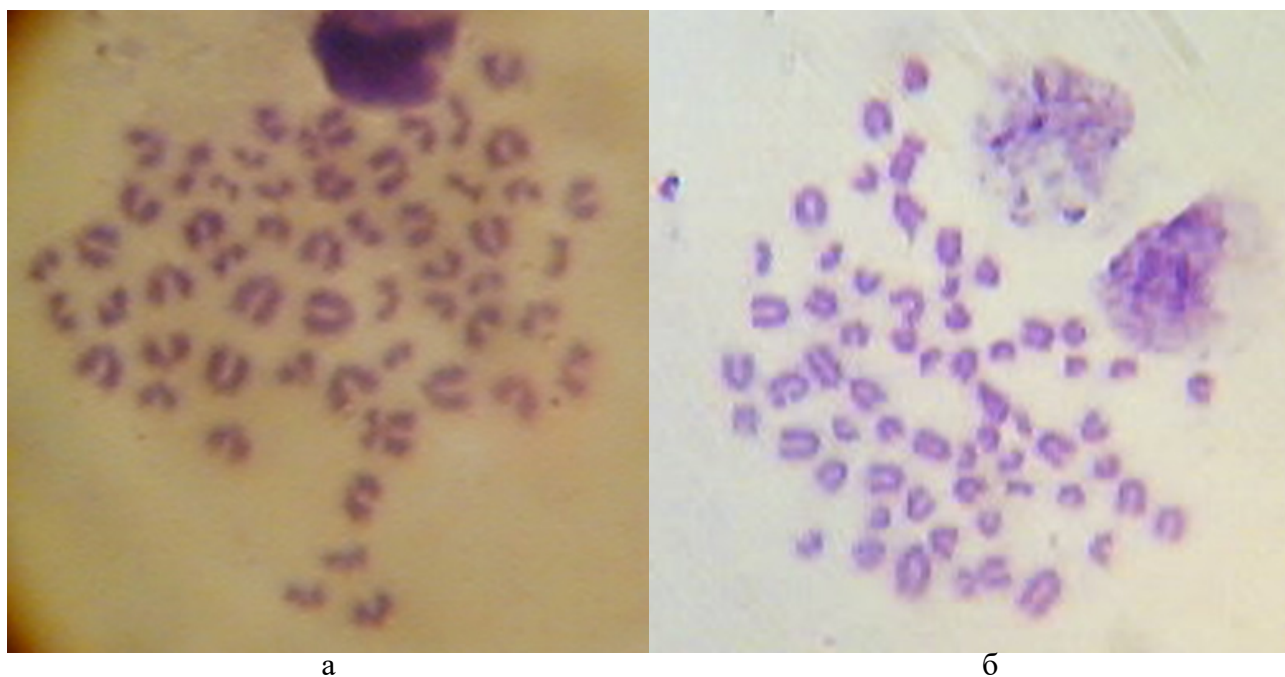


Рис. 1. Каріотиби корів української червоно-рябої молочної породи (ДП ДГ «Христинівське»): а) в нормі; б) містить хромосому з розривом. Збільшення: об. $\times 100$; ок. $\times 10$.

Fig. 1. Karyotypes of cows of ukrainian red-brown dairy cattle breed ("Khrystynivske"): a) norm; b) containing a chromosome with a break

у корів 50–90 днів) виявилось найбільше аутбредних корів і тварин, отриманих у результаті віддаленого інбридингу. Їх частки були однакові і склали по 8,7 % кожна. Таким чином, залежності стану репродуктивної системи корів від їх спорідненості не встановлено.

У корів з порушеною відтворювальною здатністю, незалежно від ступеня їх спо-

рідненості, частота клітин з хромосомами, що мають структурні аберації, на 4,2–3,5 % більша ($P < 0,999$), ніж у корів з нормальною відтворювальною функцією. У межах кожної групи корів за виявом відтворювальної здатності різниця у частоті хромосомних аберацій (ХА) між аутбредними і інбредними тваринами невірогідна.

Таблиця 2

Рівень хромосомних аберацій у групах корів з різною відтворною здатністю з урахуванням методів підбору батьківських пар
The level of chromosomal aberrations in the groups of cows that have various reproductive ability taking into account the methods of selection of parent pairs

Групи корів Groups of cows	Аутбридинг Outbreeding		Інбридинг Inbreeding					
	Число корів у групі Number of cows in the group	Клітин з ХА, % Cells with aberrations, %	Близький / Close		Помірний / Moderate		Віддалений / Remote	
			Частка корів у групі, % Quota of cows in the group, %	Клітин з ХА, % Cells with aberrations, %	Частка корів у групі, % Quota of cows in the group, %	Клітин з ХА, % Cells with aberrations, %	Частка корів у групі, % Quota of cows in the group, %	Клітин з ХА, % Cells with aberrations, %
I група 1 st group	6 (5,8 %)	20,9 \pm 0,8	3 (2,91 %)	23,3 \pm 0,9	3 (2,91 %)	20,4 \pm 0,9	12 (11,6 %)	21,9 \pm 0,7
II група 2 nd group	17 (16,5 %)	17,4 \pm 0,5	1 (0,97 %)	21,3 \pm 0,7	5 (4,85 %)	20,6 \pm 0,2	14 (13,6 %)	20,4 \pm 0,3
III група 3 rd group	9 (8,7 %)	16,7 \pm 0,4	1 (0,97 %)	18,9 \pm 0,5	6 (5,8 %)	17,9 \pm 0,4	9 (8,7 %)	17,1 \pm 0,5

На основі характеристики каріотипової мінливості з урахуванням груп за відтворювальною здатністю аутбредних і інбредних корів оцінили за рівнем генетичного ризику: низький (НРГР), середній (СРГР) і високий (ВРГР) (рис.2).

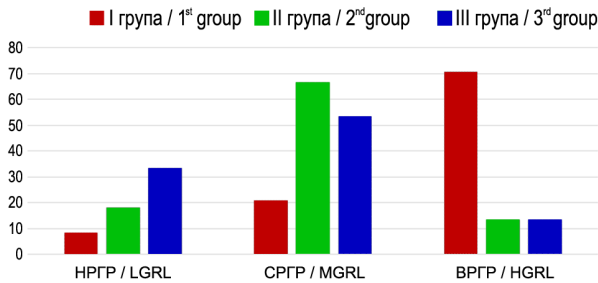


Рис. 2. Розподіл корів різного ступеня спорідненості за рівнем генетичного ризику: НРГР — низький рівень генетичного ризику, СРГР — середній рівень генетичного ризику, ВРГР — високий рівень генетичного ризику
Fig. 2. Distribution of cows with various degrees of affinity according to the level of genetic risk: LGRL — low genetic risk, MGRL — moderate genetic risk, HGRL — high genetic risk

Аналіз генетичної структури популяції червоно-рябої молочної породи показав, що в групі низького генетичного ризику найбільшу частку становлять корови з сервіс-періодом 50–90 днів (III група). Найбільше корів з проблемами репродуктивної системи (I група) виявлено у групі високого генетичного ризику.

Висновки

Частота геномних і структурних порушень каріотипу, виявлених у корів української червоно-рябої молочної породи, достатньо об'єктивно відображає стан їх репродуктивної системи. Цитогенетичне дослідження корів української червоно-рябої молочної породи дозволяє не лише оцінити насиченість популяції небажаними показниками каріотипової нестабільності, а й дає змогу використати отримані

результати для прогнозування рівня репродуктивної здатності корів у ранньому віці.

Перспективи подальших досліджень.

Зважаючи на важливість і маловивченість питання співвідносності каріотипових порушень та інших генетичних характеристик у великої рогатої худоби, актуальним є продовження досліджень у цьому напрямку.

1. Bakai F. R., Semenov A. S. Aneuploidy in Holsteinized cattle in connection with indicators of reproductive ability. *Natural Sciences*, Astrakhan, 2009, no. 2, pp. 189–191. (in Russian)

2. Ivanova O. A. Some theoretical issues of line breeding. *Animal husbandry*, 1959, no. 11, pp. 34–43. (in Russian)

3. Klenovitskiy P. M. Influence of genetic and environmental factors on karyotype and prevalence of chromosomal abnormalities in agricultural animals. *Avtref. of Doctor biol. Sci.*, Moscow, 1997, 30 p. (in Russian)

4. Kuznetsov V. M. *Inbreeding in Animal Husbandry: Methods of Estimation and Prognosis*. Kirov, Zonal Scientific Research Institute of the North-East, 2000, 66 p. (in Russian)

5. Lakin G. F. *Biometrics*. Moscow, Vyssh. shk., 1990, 352 p. (in Russian)

6. Moorhead P. S., Nowell P. C., Mellman W. J., Batipps D. M., Hungerford D. A. Chromosome preparations of leucocytes cultured human peripheral blood. *Exp. Cell Res.*, 1960, no. 20, pp. 613–616.

7. Nekrasov D. Zelenovsky O. Types of mating, taking into account inbreeding and lifelong milk productivity of cows. *Milk and meat cattle breeding*, 2004, no. 5, pp. 19–21. (in Russian)

8. Pidpala T. V., Khomik A. V. Inbreeding and breeding process in dairy cattle breeding, *Visnyk of Sumy National Agrarian University. Livestock Series*, 2016, vol. 5, pp. 80–85. (in Ukrainian)

9. Plohinskiy N. A. *Guide to Biometrics for livestock*. Moscow, Kolos, 1969, 256 p. (in Russian)

10. Vig B. K. Sequence of centromere separation: occurrence, possible significance and control. *Cancer Genet. Cytogen.*, 1983, vol. 8, no. 3, pp. 249–274.

11. Vinnychuk D. T. Reproductive function of cows. *Ahroekol. and biotechnology*, 1998, no. 2, pp. 404–408. (in Ukrainian)