

СЕЗОННА МІНЛИВІСТЬ ЦИТОГЕНЕТИЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КОРІВ УКРАЇНСЬКОЇ ЧОРНО-РЯБОЇ МОЛОЧНОЇ ПОРОДИ В УМОВАХ НИЗЬКОДОЗОВОГО ІОНІЗУЮЧОГО ОПРОМІНЕННЯ

О. В. Федорова, С. О. Костенко

Національний університет біоресурсів та природокористування України

Проведено моніторинг цитогенетичних показників корів української чорно-рябої молочної породи, які утримуються в умовах хронічного низькодозового іонізуючого опромінення. Виявлено, що в умовах впливу низькодозового іонізуючого опромінення, спостерігається сезонна мінливість клітин з мікроядрами та мітотичного індексу.

Ключові слова: УКРАЇНСЬКА ЧОРНО-РЯБА МОЛОЧНА ПОРОДА, МІКРОЯДРО, АНЕУПЛОДІЯ, ХРОМОСОМНІ АБЕРАЦІЇ, НИЗЬКОДОЗОВЕ ІОНІЗУЮЧЕ ОПРОМІНЕННЯ, ВЕЛИКА РОГАТА ХУДОБА, ДИЦЕНТРИЧНІ, КІЛЬЦОВІ ХРОМОСОМИ, АСИНХРОННІСТЬ

Постановка проблеми. Незважаючи на 26 років, які минули після аварії на ЧАЕС, оцінка впливу хронічного низькодозового іонізуючого опромінення на ссавців і передача геномної нестабільності наступним поколінням залишається відкритим питанням [1]. Продовження робіт у цьому напрямку на свійських тваринах має як практичну, так і теоретичну цінність, оскільки поруч з 30-кілометровою зоною відчуження відбувається їх розведення [6]. Більшість видів свійських тварин, в тому числі велика рогата худоба в порівнянні з *Homo sapiens* швидше досягає статевої зрілості, що дозволяє аналізувати вплив іонізуючого опромінення на більш пізні покоління. Це робить свійських тварин унікальними модельними об'єктами моніторингових досліджень [7]. 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 [6].

Оскільки радіаційну забрудненість середовища пов'язують зі збільшенням нестабільності геному, актуальним є проведення моніторингу цитогенетичних показників великої рогатої худоби. Не зважаючи на наявний значний доробок вчених у галузі вивчення цитогенетичної нестабільності, частина питань залишається невирішеними. Так, до цього часу недостатньо дослідженим є питання сезонної мінливості цитогенетичних показників у тварин [2], що обумовлює складність у екстраполяції даних соматичного мутагенезу при проведенні моніторингових досліджень.

У зв'язку з цим робота присвячена дослідженню сезонній мінливості цитогенетичних показників корів, що утримуються в умовах хронічного низькодозового іонізуючого опромінення.

Матеріали і методи

Досліджували корів української чорно-рябої молочної породи (6 гол.) СГВК «Мрія» с. Горностайпіль, Іванківського р-ну Київської обл., 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 готували згідно з методикою, описаною А. Шельовим та В. Дзіцюк [12]. У процесі досліджень враховували кількісні порушення хромосом — анеуплоїдію (А, рис. 4), поліплоїдію, частоту клітин із асинхронністю розщеплення центромірних районів хроматид (АРЦХ), структурні аберації — розриви хромосом та хроматид (рис. 5). Мікроядерний аналіз проводили на тих самих цитогенетичних препаратах, вираховували на 1000 клітин кількість клітин, що діляться (мітотичний індекс, МІ), а також двоядерні лімфоцити (ДЯ, рис. 1), одноядерні лімфоцити з мікроядрами (ЛМЯ, рис. 2) та клітини з апоптозом (рис. 3). Для кожної тварини було розглянуто не менше 3000 клітин.

Результати й обговорення

Результати цитогенетичного аналізу тварин відображені в таблиці 1. Порівняння отриманих показників з даними Джус П. П. щодо характеристик соматичного мутагенезу корів української чорно-рябої молочної породи в ТОВ Княжичі Броварського району 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 ($1,87 \pm 0,51\%$) [8].

Таблиця 1

Показники аналізу лімфоцитів крові у корів в різні сезони дослідження

№	Час відбору крові	n	На 1000 клітин, ‰			
			ЛМЯ	ДЯ	Апоптоз	МІ
1.	Листопад	6	$4,76 \pm 0,25^*$	$1,95 \pm 0,18$	$1,48 \pm 0,1$	$1,80 \pm 0,21^{***}$
2.	Березень	6	$3,32 \pm 0,31^*$	$1,89 \pm 0,24$	$1,40 \pm 0,19$	$3,4 \pm 0,26^{***}$

Примітка: * — при $p < 0,01$; ** — при $p < 0,05$; *** — при $p < 0,001$

Дані цитогенетичного аналізу свідчать про те, що досліджені корови української чорно-рябої породи, за показниками ДЯ, ($1,95 \pm 0,18 \%$) і клітинами з апоптозом ($1,48 \pm 0,1 \%$), отриманими восени статистично достовірно не відрізнялися від аналогічних, отриманих в березні ДЯ ($1,89 \pm 0,24 \%$). За частотою ЛМЯ дані, отримані восени ($4,76 \pm 0,25$) достовірно відрізняються від даних отриманих в березні ($3,32 \pm 0,31$). Також достовірна різниця відмічається між показниками мітотичного індексу.

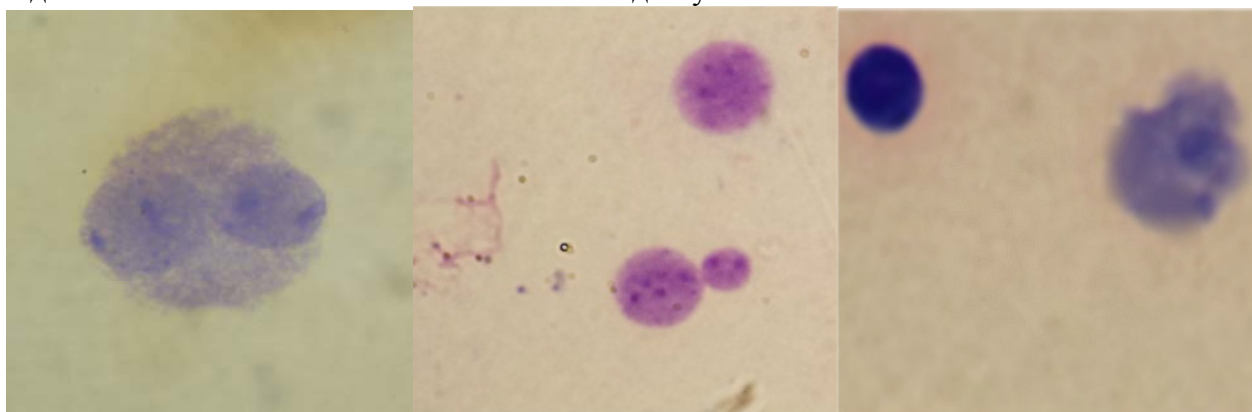


Рис. 1. Двоядерний лімфоцит

Рис. 2. Лімфоцит із мікроядром

Рис. 3. Клітина з апоптозом

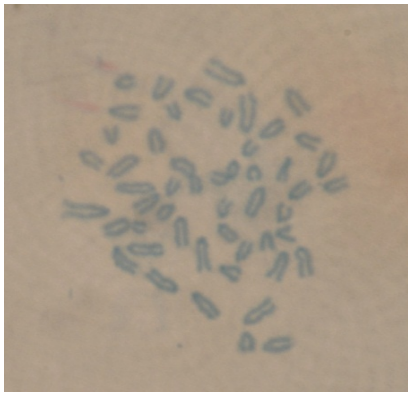


Рис. 4. Метафазна пластинка з анеуплоїдією ($2n=50$)

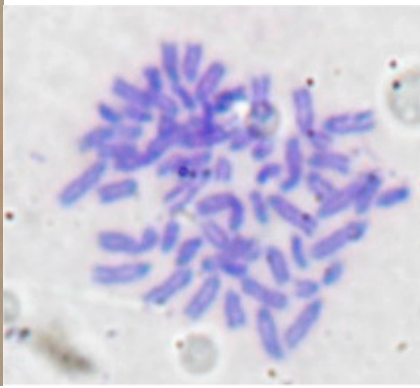


Рис. 5. Розрив хроматид

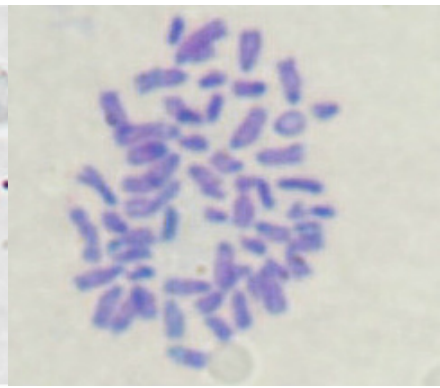


Рис. 6. Кільцева хромосома

Аналізуючи отримані результати, можна зробити висновок, що у корів, які відтворюються в умовах хронічного низькодозового опромінення, частоти ЛМЯ та МІ мають сезонну залежність. Зменшення частоти ЛМЯ весною може бути обумовлено зміною у раціоні годівлі. Ці зміни могли призвести як до збільшення радіонуклідного навантаження на досліджених тварин, так і до появи в організмах більш високих концентрацій антиоксидантів, в тому ж числі антимутагенів.

Стосовно збільшення МІ слід зазначити, що аналогічні результати були отримані О. А. Ковальновою на лабораторних мишах лінії BALB/c [10].

Цитогенетичний аналіз лускатого коропа у весняний та осінній сезони 2010 року свідчить про наявність статистично вірогідних відмінностей за рівнем еритроцитів з мікроядрами та апоптозом. Слід зазначити, що за даними Ю. М. Глушко риби, досліджені весною, мають нижчі частоти еритроцитів з МЯ та апоптозу [4].

Таким чином, як в умовах генотоксичного впливу у корів, так і в контрольних умовах у лінійних мишей та у риб, спостерігається сезонна мінливість цитогенетичних показників.

Порівнюючи отримані дані із результатами мікроядерного аналізу голштинізованих корів, що утримувались на території 30-кілометрової зони відчуження ЧАЕС, Т. Т. Глазко і Н. А. Сафонова виявили більш високі показники частоти ЛМЯ — у 1988 7,52 %, 1993 — 6,5 % [2, 3]. Отримані показники вірогідно нижчі, як за частотою МЯ, так і МІ. Відмінності у МІ можуть бути обумовлені використанням різних мітогенів при приготуванні цитогенетичних препаратів. Що стосується частоти клітин з МЯ, то слід зазначити, що досліджених Т. Т. Глазко і Н. А. Сафонову корів утримували безпосередньо на території 30-кілометрової зони, частина з них пережила аварію на ЧАЕС, а інші були їхніми нащадками. Тому імовірно припустити, що дози іонізуючого опромінення, отримані тваринами на момент 1988 та 1993 року були вищими в порівнянні з дослідженими нами коровами. Іншими дослідниками також показано, що максимальний рівень цитогенетичних аномалій у соматичних клітинах був зафіксований в осінній період, а мінімальний навесні [7].

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

Таблиця 2

Сезонна мінливість цитогенетичних показників корів

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

Порівняння отриманих нами показників з результатами цитогенетичного аналізу Т. Т. Глазко та Н. А. Сафонові свідчить, що у досліджених ними корів частота метафаз з АРЦРХ досягала 9 %, відсоток анеуплоїдних клітин (15,0 %) і ПП (9,0 %) був також вищим [3].

За рівнем структурних порушень отримані 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. Слід зазначити, що спонтанний рівень мінливості цитогенетичних показників, який наводять В. В. Дзіцюк [5], А. В. Шельов [11], Л. Ф. Стродуб [9] має широкий діапазон мінливості і залежить від багатьох факторів, в тому числі: умов утримання, показники продуктивності, фізіологічний стан, наявність запальних процесів, тощо.

Загалом, отримані дані узгоджуються з концепцією Т. Т. Глазко згідно з якою радіація низької потужності не індукує нових порушень генетичного матеріалу, а лише посилює фоновий рівень цитогенетичної нестабільності геному [3].

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.

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

O. V. Fedorova, S. O. Kostenko

SEASONAL VARIATIONS OF CYTOGENETIC INDICATORS OF COWS OF UKRAINIAN BLACK AND WHITE DAIRY BREED IN CONDITIONS OF LOW IONIZING RADIATION

S u m m a r y

The cytogenetic analyses of the Ukrainian black and white dairy breed cows from areas with chronic ionizing irradiation was carry out. The low doses ionizing radiation increased frequency of cells. There is seasonal changeability of cages, namely amounts of micronucleus r and mitotical index with and the presence of ring chromosomes.

E. B. Фёдорова, С. А. Костенко

СЕЗОННАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КОРОВ УКРАИНСКАЯ ЧЕРНО-РЯБОЙ МОЛОЧНОЙ ПОРОДЫ, В УСЛОВИЯХ НИЗКОДОЗОВОГО ИОНИЗИРУЮЩЕГО ОБЛУЧЕНИЯ

А н н о т а ц и я

Проведён мониторинг коров украинской чёрно-рябой молочной породы, которые содержатся при хроническом низькодозовом ионизирующем облучении. Выявлено, что в условиях влияния низькодозового ионизирующего облучения, наблюдается сезонная изменчивость клеток, а именно количества микроядер и митотического индекса.

1. *Алексахин Р. М.* Радиоэкология: Столетняя история об этой области естествознания — уроки эволюции и современные задачи. Биологические эффекты малых доз ионизирующей радиации и радиоактивное загрязнение среды : Материалы международной конференции (Сыктывкар Республика Коми, Розсип, 28 сентября–1 октября 2009г.) / Р. М. Алексахин. — Сыктывкар, 2009. — С. 7–9.
2. *Глазко Т. Т.* Мікроядерний тест у великої рогатої худоби / Т. Т. Глазко // Вісник аграрної науки. — 2001. — № 39. — С. 45–48.
3. *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.
4. *Глушко Ю. М.* Генетичний моніторинг і оцінка племінних ресурсів коропа в Україні : автореферат на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук 03.00.15 — генетика / Ю. М. Глушко. — Чубинське, 2012. — 21 с.
5. *Дзіцюк В. В.* Використання цитогенетичних методів у селекції плідників / В. В. Дзіцюк. — К. : Аграрна наука, 2009. — 60 с.
6. *Кленовицкий П. М.* Влияние генетических и средовых факторов на кариотип и распространённость 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.
7. *Костенко С. О.* Прогрес у галузі генетичних маркерів здоров'я свійських тварин / С. О. Костенко // Біологія тварин. — 2010. — Т. 12, № 2. — С. 367–373.
8. *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 (подано до друку).
9. *Костенко С. О.* Цитогенетический контроль молочного и мясного крупного рогатого скота : Collection of works of Scientific symposium with international participation dedicated to 55th anniversary of the founding of the Scientific and practical institute of biotechnologies in animal husbandry and veterinary medicine «Achievements and perspectives in animal husbandry, biotechnology and veterinary medicine» 6–8 october, 2011, Maximovka / С. О. Костенко, Л. Ф. Стародуб. — С. 417–422.
10. *Ковальова О.* Мікроядерний тест як метод определения сезонной изменчивости цитогенетических показателей у млекопитающих / О. Ковальова, Н. Кобозева, Е. Бурдо, Т. Глазко // Раритетна теріофауна та її охорона. — 2008. — Вип. 9. — С. 266–269.
11. *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. — Чубинське, 2008. — 17 с.
12. *Шельов А. В.* Методика приготування метафазних хромосом лімфоцитів периферійної крові тварин / А. Шельов, В. Дзіцюк. — К. : Аграрна наука, 2005. — 240 с. — (Методики наукових досліджень із селекції, генетики та біотехнології)
13. *Эрнст Л. К.* Мониторинг генетических болезней у животных в системе крупномасштабной селекции / Л. К. Эрнст, А. И. Жигачев. — Москва, 2006. — С. 288.

Рецензент: старший науковий співробітник лабораторії імунології, кандидат сільськогосподарських наук Смолянінов К. Б.