

УДК 575:636.4

## **ЦИТОГЕНЕТИЧНІ ПАРАМЕТРИ ТА РЕПРОДУКТИВНІ ЯКОСТІ *SUS SCROFA* В УМОВАХ ХРОНІЧНОГО НИЗЬКОДОЗОВОГО ІОНІЗУЮЧОГО ОПРОМІНЕННЯ**

П.П. ДЖУС, С.О. КОСТЕНКО

Національний університет біоресурсів і природокористування України  
Україна, 03022, Київ, вул. Генерала Родімцева, 19  
e-mail: swetakostenko@mail.ru

*Проведено цитогенетичний аналіз тимчасових культур лімфоцитів периферійної крові свиней in vitro. В умовах низькодозового іонізуючого опромінення у свиноматок спостерігали вірогідне підвищення частоти лімфоцитів із мікроядрами, двоядерних лімфоцитів, відсоток анеуплоїдних клітин і хроматидних розривів порівняно з аналогічними показниками тварин з радіоекологічно благополучних територій утримання. При утриманні свиноматок великої білої породи в умовах низькодозового опромінення спостерігали зниження багатоплідності та збереженості поросят при відлученні та статистично вірогідне збільшення відсотка аварійних опоросів.*

*Ключові слова: Sus scrofa, свиня свійська, велика біла порода, низькодозове іонізуюче опромінення, мікроядра, анеуплоїдія, поліплоїдія, хроматидні аберації.*

**Вступ.** Внаслідок аварії на ЧАЕС вже 25 років поспіль відбувається вплив хронічного іонізуючого опромінення на екосистеми. Свиня свійська є не тільки важливою складовою частиною агроєкосистем, а також і вдалим модельним об'єктом для досліджень. Оскільки вид *Sus scrofa* біологічно близький до *Homo sapiens*, одержані дані досліджень мікропопуляцій свиней можуть бути прогностичними для популяцій людей.

Хоча на сьогодні відомо, що 0,47 % молодих кнурців є носіями конститутивних транслокацій [1], в Україні не здійснюється цитогенетичний контроль племінних тварин. Недослідженим залишається вплив геномних порушень на відтворні якості свиней.

Тому метою даної роботи було вивчення цитогенетичної мінливості та репродуктивних якостей свиней в різних радіоекологічних умовах утримання.

### **Матеріали і методи**

Дослідження проводили на свиноматках різних господарств України. Всі свиноматки були після першого опоросу, віком 13 місяців. На момент відбору крові тварини не хворіли та не піддавалися вакцинації.

Було сформовано чотири дослідні групи. Першу групу склали тварини господарства СТЗОВ «Дружба», Ковельського р-ну Волинської області. Другу – свиноматки великої білої породи господарства ДП Агроінвест Чернігівської області. Третя група представлена свиноматками м'ясного типу великої білої породи селекції ДДАУ ТОВ «Луговське» Дніпропетровської області. До четвертої

© П.П. ДЖУС, С.О. КОСТЕНКО, 2011

групи увійшли свиноматки великої білої породи господарства ТОВ «Шпилі» Іванківського р-ну Київської області.

Перші три господарства розміщені на територіях, для яких радіаційний фон відповідає середнім значенням по Україні – 11–15 мРн/год. Іванківський район Київської області знаходиться у південному сліді викидів при аварії на ЧАЕС [2]. За даними ветеринарної служби Іванківського району, загальний радіаційний фон території становить 96 мРн/год.

Цитогенетичні препарати готували з периферійної стабілізованої гепарином крові свиноматок за стандартною методикою [3]. При їхньому аналізі враховували кількість лімфоцитів з мікроядрами (МЯ) (рис. 1.), кількість двоядерних (ДЯ) (рис. 2) і апоптичних клітин (АП). Показниками мі-

тотичного індексу нехтували, оскільки проби крові у тварин відбирали в різні сезони, що суттєво відображається на показниках мітотичної активності клітин *in vitro*. Від кожної тварини аналізували не менше 3000 клітин.

При дослідженні метафазних пластинок визначали відсоток хромосомних та хроматидних розривів, а також відсоток клітин з анеуплоїдією ( $A1=2n\pm 2$ , (рис. 3)), поліплоїдією (ПП) та асинхронним розщепленням центромірних районів хромосом (АРЦРХ). У кожній тварини аналізували не менше 30 метафаз.

У досліджених свиноматок проаналізовано показники продуктивності при першому опоросі: багатоплідність, кількість поросят при відлученні, збереженість та відсоток аварійних опоросів.

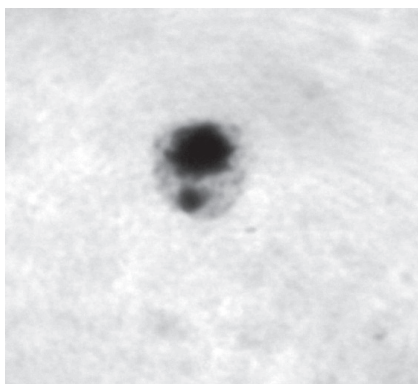


Рис. 1. Лімфоцит із мікроядром

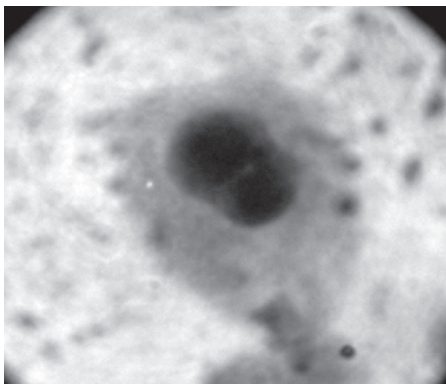


Рис. 2. Двоядерний лімфоцит

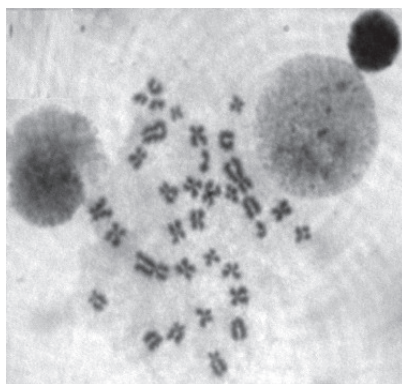


Рис. 3. Анеуплоїдія ( $2n=34$ )

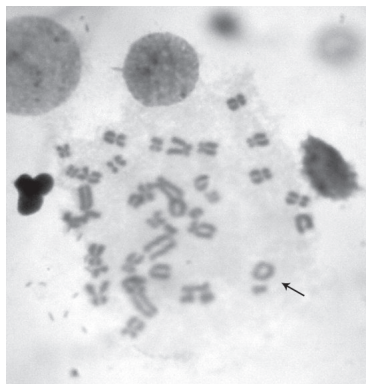


Рис. 4. Кільцева хромосома

Обробку результатів проводили з використанням програми *Microsoft Excel*.

### Результати та обговорення

Результати цитогенетичного аналізу тимчасових культур лімфоцитів периферійної крові свиней 4-х дослідних груп наведено в табл. 1.

Дані, представлені в табл. 1, свідчать про те, що частота клітин з МЯ у тварин 1, 2, 3 груп відповідає рівню, характерному для контрольних показників ссавців [4]. Частоти лімфоцитів із мікроядрами у свиней Волинської, Чернігівської та Дніпропетровської областей достовірно не відрізняються між собою.

Найвищу кількість лімфоцитів із МЯ в наших дослідженнях було виявлено у свинюматок 4-ї групи (господарство ТОВ «Шпили») – 7,13 ‰. У цих тварин спостерігали вірогідно вищі значення частот лімфоцитів із мікроядрами порівняно з тваринами інших господарств (різниця достовірна при  $P > 0,999$ ). Отриманий нами показник перевищує верхню межу параметрів умовного контролю клітин із МЯ для ссавців, яка становить 5,6 ‰ [4]. Крім того, у даній групі (№4) спостерігали досить значний загальний розмах кількості лімфоцитів із мікроядрами (від  $4,0 \pm 0,57$  ‰ до  $10,0 \pm 0,57$  ‰), що може свідчити про міжіндивідуальну варіабельність цитогенетич-

них ефектів організмів окремих тварин при ідентичній дії мутагенного чинника (в даному випадку хронічного низькодозового іонізуючого опромінення). Відмінності між дослідженими свинюматками можуть бути обумовлені особливостями роботи їхньої імунної та репараційної систем [5, 6].

Заданими *Hasanbasic Danica i Rukavina Dunja*, у свиней при опроміненні дозами 1-2 Гр спостерігали підвищення частоти мікроядер у лімфоцитах периферійної крові порівняно з неопроміненими тваринами. Слід зазначити, що в контролі досліду кількість клітин із мікроядрами становила 5,8 ‰. При опроміненні дозою в 1 Гр у свиней було 35,8 ‰ клітин з МЯ, дозою в 2 Гр – 69,2 ‰. Збільшення дози опромінення до 3 Гр призводить до зростання частоти клітин із мікроядрами, яка складає 76,2 ‰. Відсутність лінійної залежності між дозою опромінення і виходом мікроядер автори пояснили насиченням клітин опроміненого організму хромосомними порушеннями при збільшенні дози опромінення і, відповідно, асоціаціями різних порушень між собою. Тобто, на думку авторів, у формуванні одного мікроядра можуть брати участь декілька хромосом або хромосомних фрагментів одночасно [7].

Щодо кількості двоядерних лімфоцитів, статистично достовірно вищі значення було виявлено у тварин ТОВ «Шпили» і ТОВ

**Таблиця 1.** Цитогенетичні параметри соматичних клітин свиней

Група	Господарство	Кількість тварин	Частота клітин із, ‰		
			МЯ	ДЯ	АП
1.	СТЗОВ «Дружба» Волинська обл.	10	2,12±0,30*	0,49±0,11*	1,89±0,40
2.	ДП Агроінвест Чернігівська обл. (у.к.г.)	10	1,97±0,14*	0,33±0,11*	2,11±0,11
3.	ТОВ «Луговське» Дніпропетровська обл.	10	2,5±0,29*	1,53±0,14*	1,77±0,16
4.	ТОВ «Шпили» Іванківський р-н, Київська обл.	15	7,13±0,82*	2,07±0,33*	1,4±0,81

Примітка. \* – При  $p < 0,001$  (за частотою клітин з мікроядрами між 1 і 4, 2 і 4, 3 і 4 групами; за частотою двоядерних клітин між 1 і 4, 2 і 4, 1 і 3, 2 і 3 групами).

«Луговське» порівняно із свиноматками СТЗОВ «Дружба» та ДП Агроінвест (при  $P > 0,999$ ). Такі результати можуть свідчити про вищі темпи клітинного поділу та про високу міцність цитоплазматичних мембран лімфоцитів у свиноматок перших двох господарств. За частотою апоптозних клітин не було знайдено вірогідних відмінностей між тваринами досліджених груп.

Результати цитогенетичного аналізу метафазних пластинок наведено в табл. 2.

Як свідчать дані табл. 2, у свиноматок, які утримуються на території з підвищеним радіаційним фоном, статистично достовірно вищою (при  $P > 0,999$ ) є частота анеуплоїдних клітин порівняно з аналогічним показником тварин з радіаційно благополучних районів утримання. Також одержані нами дані перевищують частоту анеуплоїдних клітин, що наводять інші автори [8, 9]. Крім того, у тварин ТОВ «Шпилі» дещо вищі значення відсотка хроматидних розривів порівняно із СТЗОВ «Дружба». У свиноматок ТОВ «Луговське» взагалі не виявлено хроматидних розривів.

У тварин, що утримуються в умовах хронічного низькодозового опромінення (ТОВ «Шпилі») було виявлено потенційні маркери радіаційного впливу – кільцеві хромосоми (рис. 4).

У тварин ТОВ «Шпилі» зафіксовано статистично достовірно вищу частоту метафаз із АРЦРХ порівняно із аналогічним показником у тварин інших господарств та порівняно із даними, одержаними іншими

авторами. Так, за результатами досліджень В.В. Дзіцюк у свиней великої білої породи відсоток АРЦРХ становив  $3,30 \pm 1,93$ , частота поліплоїдних клітин (ПП) –  $4,5 \pm 1,6$  % Як відомо, поліплоїдія корелює із м'ясними якостями і найвищий її відсоток зафіксовано для свиней породи ландрас (м'ясний напрям продуктивності)  $7,8$  % [6]. Тому пояснити вірогідно нижчі частоти ПП, отримані нами, можна з огляду на комбінований напрямок продуктивності досліджених свиноматок великої білої породи, для яких характерна значна внутрішньопородна індивідуальна варіабельність за показником поліплоїдії.

Оскільки мікроядра можуть утворюватися цілими хромосомами при їхньому відставанні в анафазі, ацентричними фрагментами і фрагментами із центромерою, то для встановлення залежності між частотою лімфоцитів із мікроядрами, відсотком анеуплоїдії та хромосомних фрагментів було використано метод парної кореляції. В результаті аналізу у досліджених тварин виявлено позитивний кореляційний зв'язок середньої ( $r = 0,66$ , при  $P > 0,99$ ) і високої сили ( $r = 0,78 - 0,96$ , при  $P > 0,999$ ) між відсотком анеуплоїдії і частотою мікроядер. Це свідчить про утворення останніх цілими хромосомами, які втрачалися під час мітотичного поділу лімфоцитів.

Отже, при утриманні свиней в умовах підвищеного радіаційного фону спостерігали збільшення частоти лімфоцитів із мікроядрами, двоядерних клітин, що свід-

**Таблиця 2.** Цитогенетичні показники свиноматок великої білої породи, %

Господарство	Кількість метафаз	АІ	ПП	АРЦРХ	ХР	ХФ
ТОВ «Шпилі»	386	$15,2 \pm 1,10$ *	$0,38 \pm 0,26$	$6,12 \pm 1,12$ *	$4,51 \pm 0,67$	$4,08 \pm 0,73$
ТОВ «Луговське»	343	$4,52 \pm 0,03$ *	-	$1,34 \pm 0,02$ *	-	-
СТЗОВ «Дружба»	364	$4,50 \pm 0,98$ *	$0,71 \pm 0,50$	$2,85 \pm 0,76$ *	$3,31 \pm 0,98$	$2,11 \pm 0,84$

Примітка. \* – При  $P > 0,999$ .

**Таблиця 3.** Показники продуктивності свиноматок при першому опоросі

Господарство	Багатоплідність, гол.	Кількість поросят при відлученні, гол.	Збереженість, %	Відсоток аварійних опоросів, %
ТОВ «Шпилі»	10,75±0,38	8,63±0,43	80,63±3,03	8,33±0,26
ТОВ «Луговське»	11,75±0,81	8,9±0,57	89,25±0,68	3,33±0,2

чить про дестабілізацію геному організму. Таким чином, можна рекомендувати цитогенетичний аналіз для вивчення радіорезистентності та особливостей прояву адаптаційних функцій в умовах низькодозового іонізуючого опромінення при формуванні маточного поголів'я свиней.

Дані продуктивності досліджених свиноматок наведено в табл. 3.

У свиноматок, що відтворюються в Іванківському районі, виявлено на 1,0 голови менший показник багатоплідності порівняно з аналогами інших господарств. Збереженість та кількість поросят при відлученні у досліджених свиноматок ТОВ «Шпилі» також були нижчими порівняно із тваринами, що утримуються в радіоекологічно сприятливішій території на 8,62 % і на 0,27 голови, відповідно. Значно вищим у досліджуваних свиней, що відтворюються в умовах хронічного низькодозового іонізуючого опромінення, був відсоток аварійних опоросів. Враховуючи дані цитогенетичного аналізу, можна припустити, що зменшення багатоплідності могло відбуватися за рахунок анеуплоїдії. За даними Л.Й. Єфіменко, вона негативно корелює з багатоплідністю свиноматок ( $r = -0,75$ ), виявлено також, що у тварин з підвищеним відсотком анеуплоїдних клітин підвищується відсоток мертвонароджених поросят [10].

При молекулярно-генетичному аналізі свиноматок ТОВ «Шпилі» за геном-маркером багатоплідності естроген-рецептором визначено, що більшість досліджених тварин є гетерозиготними носіями бажаного алеля В (їхня частота складає  $0,9 \pm 0,05$ ). Тобто підвищений радіаційний фон території утримання свиней негативно впливає на реалізацію генотипу свиноматок за ге-

ном естроген-рецептора. Зважаючи на вищесказане, це зниження репродуктивних показників свиноматок може бути обумовлене цитогенетичними порушеннями [11].

Отже, в Україні у зв'язку з наявними проблемами радіоактивного забруднення територій доцільним є стратегічне планування щодо розміщення об'єктів відгодівлі свиней для забезпечення максимальної ефективності, якості та економічної доцільності виробництва свинини.

### Висновки

В умовах низькодозового іонізуючого опромінення у свиноматок спостерігали вірогідне підвищення частоти лімфоцитів із мікроядрами і двоядерних лімфоцитів порівняно з аналогічними показниками тварин з радіоекологічно благополучних територій утримання. При хронічному іонізуючому опроміненні у свиноматок збільшується відсоток анеуплоїдних клітин і метафаз із асинхронним розходженням центромерних ділянок хромосом. При утриманні свиноматок великої білої породи в умовах низькодозового опромінення спостерігали зниження багатоплідності та збереженості поросят при відлученні та вірогідне збільшення відсотка аварійних опоросів.

Роботу проведено за підтримки Державного фонду фундаментальних досліджень МОН України.

### Перелік літератури

1. Ducos A., Berland H.M., Bonnet N., Calgaro A., Billoux S., Mary N., Garnier-Bonnet A., Darre R., Pinton A. Chromosomal control of pig populations in France // Genet Sel Evol. – 2007. – № 9. – P. 27.
2. Плотко Т.С., Сирацкий И.З. Использование биостимуляторов и стрессоустойчивость коров в условиях радиационного прессинга // Проблемы



- интенсификации производства продуктов животноводства : тезисы докладов международной научно-практической конференции (9–10 октября 2008 г.). – Жодино, 2008. – С. 314–315.
3. Яковлев А. Ф., Бавин В. Г., Стефанов В. Н. и др. Кариологический анализ свиней – Ленинград, 1984.–240с.
  4. Guidle C., Etcheberey K.F.C., Dulton F.N. Induction in micronuclei in mouse bone marrow cells by the flavonoid // *Mutat. Res.* – 1983. – Vol. 119, № 3. – P. 339 – 345.
  5. Бочков Н.П., Чеботарев А.Н. Наследственность человека и мутагены внешней среды. – М. –1989. – 270 с.
  6. Ильинских Н. Н., Медведев М. А., Бессуднова С. С., Ильинских И. Н. Мутагенез при различных функциональных состояниях организма. — Томск, 1990.– 228 с.
  7. Hasanbasic D., Rukavina D. Micronuclei in lymphocytes of horses and pigs after *in vitro* irradiation. // *Acta Veterinaria.* – 2007. – Vol. 57, № 4. – P. 341–350.
  8. Дзіцюк В.В. Хромосомний поліморфізм окремих видів і порід сільськогосподарських тварин : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора с.-г. наук : спец. 03.00.15. «Генетика». – Чубинське, 2009. – 30 с.
  9. Кленовицкий П.М., Завада А.Н., Лобан Н.А. Вопросы прикладной цитогенетики свиней / *Материалы III международной науч.-прак. конф.* – Дубровицы, 2005. – С. 183–186.
  10. Єфіменко Л.І. Використання цитогенетичних показників в селекції свиней / *Генетика продуктивності тварин: Матеріали Всеукр. Ювілейної конф., присвяченої 90-річчю з дня народження видатного вченого Колесника М.М., 20–21 грудня 1994 р.* – Київ, 1994. – С. 8.
  11. Костенко С.О., Джус П.П., Сидоренко С.О. Підвищення якості і безпеки виробництва свинини в умовах хронічного низькодозового опромінення / *Зб. наукових праць Вінницького НАУ.* – 2010. – №5. – С. 172–176.

Представлено В.С. Коноваловим  
Надійшла 18.04.2011

**ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ И РЕПРОДУКТИВНЫЕ КАЧЕСТВА *SUS SCROFA* В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО НИЗКОДОЗОВОГО ИОНИЗИРУЮЩЕГО ОБЛУЧЕНИЯ**

*П.П. Джус, С.О. Костенко*

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины  
Украина, 03022, Киев, ул. Генерала Родимцева, 19  
e-mail: swetakostenko@mail.ru

Проведен цитогенетический анализ временных культур лимфоцитов периферийной крови свиней *in vitro*. В условиях низкодозового ионизирующего облучения у свиноматок наблюдается достоверное повышение частоты лимфоцитов с микроядрами, двухъядерных лимфоцитов, процент анеуплоидных клеток и хроматидных разрывов по сравнению с аналогичными показателями животных из радиоэкологически благополучных территорий содержания. При содержании свиноматок крупной белой породы в условиях низкодозового ионизирующего облучения наблюдается снижение многоплодия и сохранности поросят при отлучении и статистически достоверное увеличение процента аварийных опоросов.

*Ключевые слова:* *Sus scrofa*, свинья домашняя, крупная белая порода, низкодозовое ионизирующее облучение, микроядра, анеуплоидия, полиплоидия, хроматидные aberrации.

**CYTOGENETIC PARAMETERS AND GENESIAL QUALITIES OF *SUS SCROFA* IN THE CONDITIONS OF CHRONIC LOW DOSES OF IONIZING IRRADIATION**

*P.P. Dzhus, S.O. Kostenko*

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine  
Ukraine, 03022, Kiev, street General Rodimceva, 19  
e-mail: swetakostenko@mail.ru

The cytogenetic analysis of pig peripheral blood lymphocytes from temporal cultures *in vitro* has been conducted. In the conditions of low doses ionizing irradiation sows demonstrated apparent increase in frequency of lymphocytes with micronuclei, double-nuclear lymphocytes, amount of aneuploid cells and chromatid breaks as compared to similar indices of animals from radio-environmentally friendly territories of maintenance. Sows of large white breed at maintenance in the conditions of low doses ionizing irradiation displayed decline of multiple pregnancy and safety of piglings upon weaning as well as statistically significant increase in amount of emergency farrows.

*Key words:* *Sus scrofa*, Large White breed, low doses ionizing irradiation, micronucleus, aneuploidy, poliploidy, chromatid breaks.