

УДК 575.08:614.876:636.4

Костенко С.О., кандидат с.-г. наук

Джус П.П., аспірант

Сидоренко О.В., аспірант

Національний університет біотехнологій і природокористування України

**ПІДВИЩЕННЯ ЯКОСТІ І БЕЗПЕКИ ВИРОБНИЦТВА СВИНИНИ В
УМОВАХ ХРОНІЧНОГО НИЗЬКОДОЗОВОГО ОПРОМІНЕННЯ**

Проведено цитогенетичний та молекулярно-генетичний аналіз за геном естроген рецептору (ESR) у свиноматок великої білої породи, які відтворюються в зоні постійного низькодозового опромінення. Встановлено підвищений рівень клітин з мікроядрами ($7,51 \pm 0,66$ %) та анеуплоїдії (AI) з частотою $18,55 \pm 3,39$. За геном рецептору естрогену були визначені наступні частоти генотипів: AA $-0,07 \pm 0,04$; AB $-0,9 \pm 0,05$; BB $-0,03 \pm 0,03$. Виявлено меншу плодючість свиноматок в умовах хронічного низькодозового опромінення в середньому на 0,87 голови.

Ключові слова: ген естроген-рецептору ESR, мікроядра, анеуплоїдія, низькодозове іонізуюче опромінення, репродуктивні якості, свиня свійська, велика біла порода.

Економічна доцільність відгодівлі свиней визначається їх біологічними особливостями, зокрема відтворними якостями, що детермінуються генетично. Ефективність реалізації генотипу залежить від зовнішніх факторів.

Одним із найбільш вивчених маркерів відтворних якостей у свиноматок вважається ген естроген-рецептору, що локалізований на першій хромосомі (1p.2.5-р.2.4.) [8]. В організмі самок естрогени регулюють ріст та розвиток яєчників, дозрівання овоцитів, зміну структури матки в залежності від фізіологічного стану, приживлюваність ембріонів, посилюють розвиток молочної залози, стимулюють біосинтез білків, жирів та глікогену [6].

В Україні після аварії на ЧАЕС склалися несприятливі радіоекологічні умови, в яких на даний час і відбувається розведення свиней. Господарства з інтенсивного утримання тварин досить часто розміщені на територіях з підвищеним радіаційним фоном. Оскільки радіація характеризується комплексною вражаючою дією на організм тварин, що знаходить негативне відображення на показниках їх продуктивності, то актуальним є всебічний моніторинг генетичного статусу організму свиней.

Проте, на даний час не проводять дослідження наслідків впливу іонізуючого опромінення різних доз і джерел походження на цитогенетичні параметри соматичних і генеративних клітин, а також на особливості реалізації генетичного потенціалу тварин за генами-маркерами репродуктивних функцій.

Тому, **метою** нашої роботи було дослідження свиноматок великої білої породи, які відтворюються в зоні хронічного низькодозового іонізуючого опромінення, за цитогенетичними параметрами та визначення показників їх продуктивності при першому опоросі з врахуванням генотипів за геном естроген рецептору.

Матеріали і методи дослідження. Дослідження проводилися на свиноматках великої білої породи господарства с. Шпилі Іванківського району Київської області.

Дана територія знаходиться у південному сліді викидів при аварії на ЧАЕС (Т.С. Плотко, 2008). Загальний радіаційний фон становить 96 мікроренген на годину.

Цитогенетичний аналіз проведено у 15 свиноматок після першого опоросу. Цитогенетичні препарати готували за методикою А.Ф.Яковлева із цільної крові тварин, яку відбирали з вушної вени з дотриманням максимальних умов стерильності [2]. При мікроскопії визначали частоти лімфоцитів з мікроядрами (МЯ), двоядерних (ДЯ) і апоптозних (АП) клітин, а також мітотичний індекс (МІ). Підрахунок здійснювали на 1000 клітин. Від кожної тварини аналізували не менше 3000 клітин. При дослідженні метафазних пластинок встановлювали відсоток хромосомних та хроматидних розривів, а також відсоток анеуплоїдних ($AI=2n\pm 2$, $AII=2n\pm 10$) і поліплоїдних (ПП) клітин, асинхронність розщеплення центромірних районів хромосом (АРЦРХ). У кожній тварини аналізували не менше 30 метафазних пластинок. Для дослідження цитогенетичних препаратів тимчасових культур лімфоцитів використовували біокулярний мікроскоп Carl Zeiss. Аналіз метафазних пластинок здійснювали при збільшенні мікроскопа у 1000 разів.

Виділення геномної ДНК проводили із відібраних у 40 свиноматок зразків волосяних фолікулів за допомогою комплекту реактивів «ДНК-сорб В» (АмпліСенс, Росія) відповідно до рекомендацій виробника. Генотипування свиней проводили за методикою, розробленою Українською лабораторією якості та безпеки продукції агропромислового комплексу НУБіП України [3]. Для рестрикції отриманого після ампліфікації продукту використовували ресриктазу Pvu II при 37⁰С впродовж 12–16 годин. Рестрикційні фрагменти розділяли в 4%-му агарозному гелі (Хелікон, Росія). Після дії ресриктази генотип AA давав фрагмент розміром 120 п.н., BB–65 та 55 п.н., а генотип AB–120, 65 та 55 п.н., відповідно. Оцінку основних показників продуктивності тварин проводили на основі матеріалів первинного зоотехнічного обліку. Статистичну обробку результатів дослідження здійснювали за допомогою програми Excel.

Результати дослідження та їх обговорення. Цитогенетичні параметри вважаються біоіндикатором генотоксичного впливу, в тому числі іонізуючого опромінення різних доз і джерел походження на організм тварин.

Результати цитогенетичного аналізу тимчасових культур лімфоцитів периферійної крові свиноматок, які утримуються в зоні постійного низькодозового іонізуючого опромінення, наведені в таблиці 1.

Таблиця 1. Цитогенетичні параметри свиноматок великої білої породи

МЯ		ДЯ		Апоптоз		МІ	
7,51±0,66		2,24±0,27		2,33±0,22		1,81±0,68	
AI	API	ПП	АРЦРХ	Хроматидний розрив	Хромосомний фрагмент		
18,55±3,39	28,82±6,11	2,98±1,75	2,89±0,03	5,69±0,12	1,32±0,02		

Середнє значення частот лімфоцитів з мікроядрами у групі досліджуваних свиноматок склало 7,51±0,66%, що перевищує верхню межу параметрів умовного контролю за кількістю клітин з мікроядрами для ссавців – 5,6% [4]. Досить значим виявився і відсоток анеуплоїдних клітин – 18,55±3,39%. Відомо, що у свиней

анеуплоїдія асоційована з показником їх відтворних функцій. За даними Л.Й.Єфіменко анеуплоїдія негативно корелює з багатоплідністю свиноматок ($r=-0,75$). У свиней при анеуплоїдії спостерігається також підвищення показника мертвородажуваності поросят до $18,22\pm 8,5\%$ [1]. За результатами досліджень Ю.Ф.Красавцева гіпоплоїдія у свиноматок досить часто обумовлюється саме втратою інактивованої X хромосоми [5].

Поряд з цитогенетичними параметрами показниками продуктивності асоціюють з генотипом свиней за генами-маркерами репродуктивних функцій. Ген естроген-рецептору є одним із QTL (гени кількісних ознак). Йому притаманний поліморфізм за рахунок наявності двох алелів *A* та *B*. Бажаним вважають алель *B*, носії якого характеризуються кращими показниками багатоплідності [9]. Результати генотипування свиноматок за геном *ESR* представлені у таблиці 2.

Таблиця 2. Частоти генотипів та алелів гена естроген-рецептору у свиноматок великої білої породи

Досліджені тварини	Кількість тварин, гол.	Генотип		Алелі		χ^2
Свиноматки	40	<i>A</i>	0,07±0,04		0,52±0,03 0,48±0,03	103,96***
		<i>B</i>	0,9±0,05			
		<i>B</i>	0,03±0,01			

Примітка: *** $P<0,001$ вірогідність різниці між фактичним та теоретичним розподілом згідно закону Харді-Вайнберга.

При визначенні генотипів за геном естрогену-рецептору виявлено, що серед групи досліджуваних тварин найбільше спостерігаємо гетерозиготних носіїв бажаного алелю *B*. Їх частота складає $0,9\pm 0,05$. Частота свиноматок з генотипом *AA* становить $0,07\pm 0,04$. Гомозиготи за бажаним алелем *B* зустрічаються з частотою $0,03\pm 0,01$. Аналіз відповідності отриманих нами частот з розподілом згідно закону Харді-Вайнберга свідчить про те, що свиноматки великої білої породи мають достовірно більш високу частоту гетерозигот ($P<0,001$).

У досліджуваних свиноматок було проаналізовано такі показники продуктивності при першому опоросі як багатоплідність, кількість поросят при відлученні, збереженість та відсоток аварійних опоросів. Одержані дані наведено в таблиці 3.

Таблиця 3. Показники продуктивності свиноматок при першому опоросі

Багатоплідність, гол.	Кількість поросят при відлученні, гол.	Збереженість, %	Відсоток аварійних опоросів, %
10,75±0,386	8,63±0,430	80,63±3,026	8,33±0,260

Для порівняння отриманих нами даних обрано результати аналізу генотипів свиноматок великої білої породи СВАН «АК «Калита» Броварського району Київської області. Господарство розташоване в радіакологічно благополучному районі. Частота

гомозигот з бажаним генотипом *BB* становить 0,36, гетерозигот – 0,46, носіїв генотипу *AA* – 0,18. При першому опоросі показники продуктивності свиноматок були наступними: багатоплідність – $11,62 \pm 0,14$ голови, збереженість – $89,25 \pm 0,68$ відсотків, кількість поросят при відлученні – $8,9 \pm 0,57$ голів, відсоток аварійних опоросів – 3,85 [7]. За багатоплідністю у свиноматок, що відтворюються в Іванківському районі спостерігаємо менший показник на 0,87 голови. Збереженість та кількість поросят при відлученні у досліджених свиноматок також виявилися нижчими порівняно із тваринами що утримуються в радіоекологічно більш сприятливій території на 8,62 відсотків і на 0,27 голови, відповідно. Значно вищим у досліджуваних свиней, що відтворюються в умовах хронічного низькодозового іонізуючого опромінення, виявився відсоток аварійних опоросів.

З огляду на результати проведених досліджень варто зауважити, що при виборі території господарювання, в даному випадку створення господарств по вирощуванню свиней, варто враховувати такий фактор як радіоекологічне забруднення. Адже, умови утримання тварин в господарстві, на базі якого були проведені дослідження повністю відповідають санітарно-гігієнічним та зоотехнічним нормам. Тварини споживають концентровані корми, які завозять з радіоекологічно благополучних районів, що дозволяє максимально виключити вплив інших паратипових факторів на цитогенетичні параметри свиноматок, особливості реалізації їх генотипів за геном-маркером багатоплідності естроген-рецептором та на показники їх продуктивності. Тобто, в Україні у зв'язку із 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.

Подальші дослідження слід спрямувати на вивчення впливу хронічного іонізуючого опромінення на репродуктивні якості кнурів. Доцільно вивчати також вплив речовин-антимутагенів, здатних до зниження частот спонтанних та індукованих мутацій.

Висновки. 1. У свиноматок, які відтворюються на територіях з підвищеним радіаційним фоном спостерігається підвищення частоти лімфоцитів з мікроядрами ($7,51 \pm 0,66$ %) та відсотку анеуплоїдних клітин, який становить $18,55 \pm 3,39$.

2. За геном рецептору естрогену більша частина досліджуваних свиноматок виявилася гетерозиготними носіями бажаного алелю *B*. Їх частота склала $0,9 \pm 0,05$.

3. Показники багатоплідності, збереженості та кількості поросят при відлученні виявилися нижчими в порівнянні з тваринами, що утримуються в СВАТ «АК «Калита», а відсоток аварійних опоросів – вищим.

4. Виявлено меншу плодючість свиноматок в умовах хронічного низькодозового опромінення в середньому на 0,87 голови.

Робота проведена за підтримки Державного фонду фундаментальних досліджень МОН України.

Література

1. Єфіменко Л. Використання цитогенетичних показників в селекції свиней / Л. Єфіменко // Генетика продуктивності тварин : Всеукр. ювілейна конф. присвячена 90-річчю з дня народження видатного вченого, професора М.М.Колесника, 20 – 21 грудня 1994 р. : тези доп. – К., 1994. – С. 8.
2. Кариологический анализ свиней / Яковлев А.Ф., Бавин В.Г., Стефанова В.Н. [и др.] // Методические рекомендации. – Ленинград. – 1984. – 44с.
3. Коновал О. Ідентифікація алельних варіантів генів ESR та MC4R, які впливають на господарсько-корисні ознаки свині свійської *Sus scrofa*, L. / О.М.Коновал, С.О. Костенко, В.Г. Спиридонов, С.Д. Мельничук // К. : Видавничий центр НУБіП України. – 2008. – 24 с.
4. Костенко С.О. Показники цитогенетичної мінливості *Sus scrofa* / С.О.Костенко, О.М.Коновал, О.В.Сидоренко, В.Т.Сметанін // Фактори експериментальної еволюції організмів : Зб. наук. праць. – К. : Логос. Т. 6 – 2009. – С. 149 – 154.
5. Красавцев Ю.Ф. Кариотипическая изменчивость у домашней свиньи в связи с возрастными, половыми и другими характеристиками : автореф. дис. на соискание уч. степени канд. биол. наук : спец. 03.103 «Генетика» / Ю.Ф.Красавцев – К., 1971. – 26 с.
6. Полиморфизм гена эстрогенного рецептора свиноматок различных пород, разводимых в РУСП «СГЦ «Заднепровский» / Т.И. Епишко, И.П. Шейко, О.П.Курак [и др.] // Зоотехническая наука Беларуси : сб. науч. тр. Т. 40, ч. 1. – 2005. – С. 59 – 63.
7. Сидоренко О.В. Вплив генотипу свиноматок за геном естроген-рецептору (*ESR*) на вікову динаміку показників їх продуктивності // О.В.Сидоренко, С.О.Костенко // Збірник наукових праць Подільського державний аграрно-технічний університету. Серія «Технологія виробництва і переробки тваринництва». – Кам'янець-Подільський. : видавець ПП Зволейко Д.Г., – 2010. – Вип. 18. – С. 184 – 187.
8. A physically anchored linkage map of pig chromosome 1 uncovers sex- and position-specific recombination rates / H. Ellegren, B. Chowdhary, M. Fredholm [et al.] // Genomics – 1994. – № 24. – P. 342 – 350.
9. The estrogen receptor locus is associated with a major gene influencing litter size in pigs / M. Rothschild, C. Jacobson, D. Vaske [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA– 1996. – № 93 – P. 201 – 205.

Summary

Improvement of quality and safety of pork production in conditions of chronic lowdose radiation / Kostenko S.O., Dzhus P.P., Sydorenko O.V.

A cytogenetic and molecular genetic analysis is conducted after a gene estrogen to the receptor (ESR) for the sows of large white breed, which are reproduced in the area of permanent lowdose irradiation. The enhanceable level of cells with micronucleus ($7,51 \pm 0,66$ %) and aneuploidy (AI) is set with frequency $18,55 \pm 3,39$. After a gene to the receptor of estrogen the followings frequencies of genotypes were certain: AA $-0,07 \pm 0,04$; AB $-0,9 \pm 0,05$; BB $-0,03 \pm 0,03$. Diminishing of fecundity of sows in the conditions of chronic lowdoses ionizing irradiation on the average on 0,87 heads is found out.

Key words: estrogen-receptor gene (ESR), micronucleus, aneuploidy, lowdoses ionizing irradiation, reproductive quality, *Sus scrofa*, Large White pigs breed