

ЖИВОТНОВОДСТВО

УДК 636.4.082.2:576.3

ВЛИЯНИЕ ГЕНОФОНДА СВИНЕЙ НА АКТИВНОСТЬ И ПОЛИМОРФИЗМ
ИНТЕРФАЗНЫХ ЯДРЫШКОВЫХ ОРГАНИЗАТОРОВ ЛИМФОЦИТОВ

С. К. Бутеева, аспирант

Новосибирский государственный аграрный университет

E-mail: sybuteeva@yandex.ru

Ключевые слова: ядрышко, интерфазные ядрышкообразующие районы (ИЯОР), свиньи, активность и полиморфизм ИЯОР, продуктивные показатели

Реферат. *Представлены данные об активности и полиморфизме интерфазных ядрышкообразующих районов хромосом (ИЯОР) и их связь с продуктивными показателями у свиней разной селекции. Распределение клеток с разным количеством ИЯОР в группах свиноматок крупной белой породы в возрасте 1,5 года и свиноматок гибридов первого поколения крупной белой породы и ландрас в возрасте двух лет было различным. Наиболее часто и примерно с равной величиной встречались клетки с 2 (34 и 31,8 %) и 3 ИЯОР (25,9 и 30,5 %). Была выявлена существенная разница между животными 1-й и 2-й групп по числу клеток с 1 ИЯОР – соответственно 22,9 и 9,9 % ($P < 0,001$). Был отмечен также факт обнаружения клеток с 5 и 6 ИЯОР в обеих группах (3,4; 0,1 и 11,6; 6,5 %), при этом в группе свиноматок гибридов первого поколения крупной белой породы и ландрас в возрасте двух лет встречались животные, в клетках которых обнаружено 7 ИЯОР (1,8 %). Цитологический анализ показал, что среднее значение индекса отношения площади лимфоцита к площади ядрышка в 1-й группе было в 1,2 раза меньше ($P < 0,001$), чем во 2-й. Предполагается использовать коэффициент изменчивости значений индексов в качестве дополнительного критерия, характеризующего уровень активности ядрышек. Повышенная активность ЯОР хромосом сопряжена с синтезом белка, необходимым для реализации признаков продуктивности, а также с поддержанием физиологического гомеостаза животных. У 2-й группы импортированных животных выявлено повышение индекса ИЯОР и расширение границ полиморфизма ЯОР, что в данном случае отражает адаптацию животных к новой среде обитания.*

Цель селекционно-племенной работы в животноводстве – получение высокопродуктивного потомства с использованием различных методов оценки генетического потенциала животных. Это является актуальной задачей для современного свиноводства [1, 2]. Одним из ее решений является использование мирового генофонда высокопродуктивных пород и синтетических линий [3]. В этой связи возникает необходимость проведения оценки адаптивных возможностей и реализации продуктивности импортированных животных, а также их потомков в новых условиях среды обитания [4].

В качестве одного из маркеров оценки продуктивности животных может служить уровень

активности участков хромосом, ответственных за формирование ядрышка, называемых ядрышкообразующими районами (ЯОР), в которых локализованы кластеры рибосомных генов, ассоциированные с аргентофильными белками [5].

Количественное определение ЯОР в интерфазных клетках позволяет судить о пролиферативной активности клеток [6, 7]. Обнаружено, что в ходе онтогенетического развития организма происходит снижение индекса ЯОР в интерфазных ядрах лимфоцитов в результате уменьшения пролиферативных и метаболических процессов в клетках [7]. В ряде исследований показано, что некоторые заболевания, а также вредные вещества

окружающей среды вызывают повышение индекса ЯОР в лимфоцитах человека и животных и активизацию этих районов хромосом [7–9]. Кроме того, в первую очередь наблюдается перестройка именно ядрышкообразующих хромосом [10]. По данным А. С. Графодатского [11], А. Н. Дубровой [12], наибольшее число ядрышкообразующих районов хромосом характерно для видов, приспособленных к экологически сложным условиям существования [13].

В связи с этим, на наш взгляд, возможно использование индекса ИЯОР для характеристики физиологического состояния животных и оценки негативного влияния разных факторов на наследственность, хозяйственно полезные и интерьерные признаки сельскохозяйственных животных, а также адаптивных возможностей организма.

Установлено, что виды млекопитающих существенно различаются по числу ЯОР и их локализации. Практически для всех изученных видов свойствен межклеточный и межиндивидуальный полиморфизм по ЯОР, что может выражаться в виде гетероморфизма зон вторичных перетяжек или в разном числе ЯОР внутри видов с множественной их локализацией. Это правило имеет большое число исключений, которые только подчеркивают важность и необходимость ядрышка в жизненном цикле клетки. К таким исключениям относятся клетки дробящихся яиц, где ядрышки отсутствуют на ранних этапах эмбриогенеза, или клетки, закончившие развитие и необратимо специализировавшиеся, например, некоторые клетки крови [14].

Для расположения ядрышковых организаторов особенно характерны места вторичных перетяжек хромосом, однако могут встречаться как вторичные перетяжки без ядрышковых организаторов, так и последние в местах хромосом, где перетяжек нет [15].

У домашней свиньи ЯОР соответствуют местам вторичных перетяжек хромосом 8 и 10. Для вида описан межклеточный и межиндивидуальный полиморфизм по числу ЯОР, которое может варьировать от двух ЯОР (только на гомологах 10-й пары) до четырёх (на обоих гомологах 8-й и 10-й пар) [16].

В связи с вышеизложенным проблема оценки полиморфизма и изучения активности ЯОР у животных остается актуальной.

Целью нашего исследования было изучение активности и полиморфизма ИЯОР в связи с продуктивными показателями у животных разной селекции.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проведены в 2012–2013 гг. на свиноводческих комплексах Новосибирской области. Было сформировано 2 группы животных: 1-я группа – свиноматки крупной белой породы в возрасте 1,5 года (14 голов), 2-я группа – свиноматки гибриды первого поколения крупной белой породы и ландрас в возрасте двух лет (16 голов).

Животные 1-й группы были получены на предприятии от импортированных хряков-производителей чешской селекции, 2-й группы – при использовании материнской (отцовской) линии С (крупная белая порода), материнской (отцовской) линии D (ландрас) мировой генетической компании Нурог.

Материалом для исследования послужили клетки периферической крови, взятой из ушной вены животных.

После изготовления мазков крови на предметных стёклах стандартным способом провели их фиксацию в метаноле в течение 5 мин. Для выявления транскрипционно активных ЯОР хромосом в интерфазных ядрах лимфоцитов провели их окраску 50%-м раствором азотно-кислого серебра. Для определения индекса ЯОР животного общее число выявленных ядрышек делили на проанализированное число клеток (200) [12, 17]. Индекс радиуса (1) рассчитывали по отношению среднего радиуса лимфоцита к среднему радиусу ядрышка. Индекс площади (2) – по отношению средней площади лимфоцита к средней площади ядрышка. Всего было проанализировано 6000 клеток лимфоцитов. Активность ИЯОР (размер ядрышек) определяли с помощью прикладной программы AxioVs40 V 4.8.1.0.

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли с помощью ППП MS Office Excel 2003. Различия между группами устанавливали с использованием критерия Стьюдента и ф-преобразования критерия Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Цитологический анализ препаратов животных выявил полиморфизм интерфазных ядрышкообразующих районов хромосом, число которых на одно ядро варьировало от 1 до 7 (рис. 1, 2).

Распределение клеток с различным количеством ИЯОР в исследуемых группах отличалось. Так, в 1-й и во 2-й группах наиболее часто и примерно с равной величиной встречались клетки с 2 (34 и 31,8%) и 3 ИЯОР (25,9 и 30,5%).

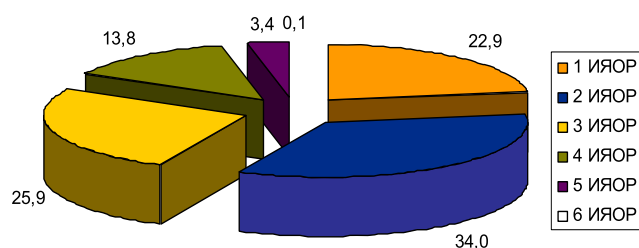


Рис. 1. Распределение ИЯОР в клетках животных 1-й группы

По числу клеток с 1 ИЯОР животные 1-й и 2-й групп существенно различались – 22,9 и 9,9% ($P < 0,001$).

Количество ядрышек в клетках лимфоцитов у здоровых свиней в норме должно составлять 4 [6]. В нашем исследовании был отмечен факт обнаружения клеток с 5 и 6 ИЯОР в обеих группах (3,4; 0,1 и 11,6; 6,5%), также во 2-й группе встречались животные, в клетках которых обнаружено 7 ИЯОР (1,8%). Ядрышко – лабильный компонент клетки, и при определенных физиологических и патологических состояниях организма может либо активироваться (при усилении функции клетки), либо инактивироваться и редуцироваться (при экспериментальных воздействиях и в онтогенезе) [18]. Полагают, что кроме активации ранее неактивных ЯОР причиной увеличения числа ядрышек может быть разьединение слившихся ядрышек [19]. Другое возможное объяснение уве-

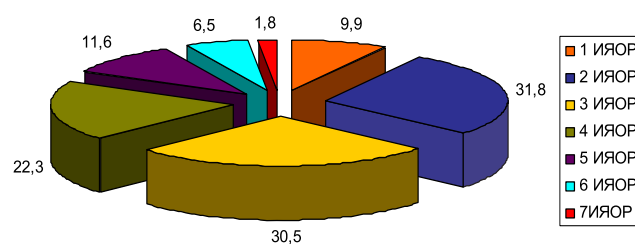


Рис. 2. Распределение ИЯОР в клетках животных 2-й группы

личения числа ЯОР – aberrации ядрышкообразующих хромосом [17].

Анализ основных продуктивных показателей животных сравниваемых групп (таблица) выявил превосходство свиноматок 1-й группы над 2-й ($P < 0,001$).

Возможно, данные различия обусловлены влиянием генофондов пород, а также влиянием адаптационного потенциала животных, так как свиноматки 2-й группы являются завезенными из европейской части нашей страны, в то время как свиноматки 1-й группы являются потомками импортированных хряков-производителей, уже прошедших адаптацию в наших условиях.

Большой интерес представляло изучение размера ядрышек, который отражает активность синтеза белка в клетке (рис. 3). Известно, чем активнее клетка, тем больше ядрышко.

Уровень продуктивных качеств животных разной селекции

Группа	Многоплодие, гол.	Масса гнезда, кг	В 21 день	
			количество животных, гол.	масса гнезда, кг
1-я	12,80±0,38***	19,10±0,67***	10,80±0,39***	59,10±1,75***
2-я	10,80±0,41	12,90±0,40	9,00±0,31	45,30±1,91

*** $P < 0,001$.

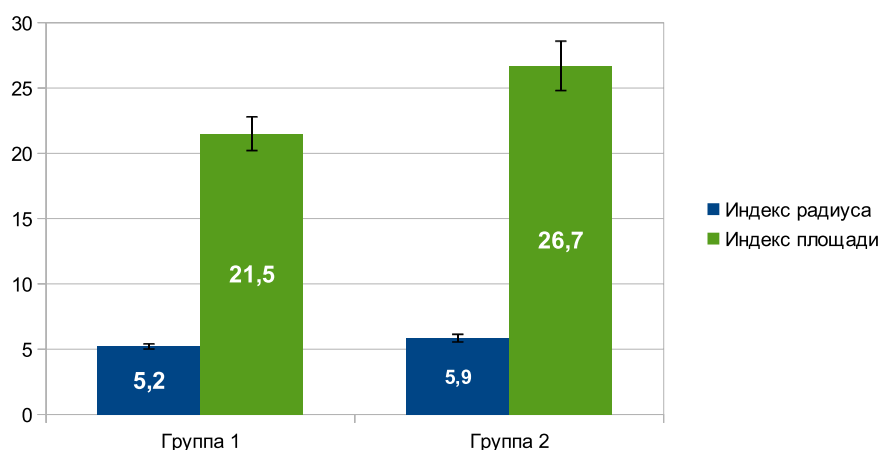


Рис. 3. Распределение индексов активности ИЯОР в сравниваемых группах животных

Исследования показали, что среднее значение индекса 2 (отношение площади лимфоцита к площади ядрышка) в 1-й группе было меньше в 1,2 раза ($P < 0,001$), чем во 2-й.

Коэффициент изменчивости значений индексов был невысокий и находился в пределах от 4,3 до 6% в 1-й группе и от 5,1 до 7,2% – во 2-й.

Поскольку изменчивость индексов, оценивающих активность ИЯОР, была невысокой как в той, так и в другой группе, представляется возможным использование этих показателей в качестве дополнительного критерия, характеризующего уровень активности ядрышек.

Поскольку исследованные животные были разной селекции, интересно было выяснить, существуют ли различия между ними по индексу ИЯОР, который используют для характеристики физиологического состояния животных, что, в свою очередь, может дать оценку их продуктивных показателей.

Установлено, что среднее значение индекса ИЯОР было меньше ($P < 0,001$) в 1-й группе (2,41) при колебаниях от 2,12 до 2,63, чем во 2-й (3,18), – в пределах от 2,93 до 3,6.

Повышенная активность ЯОР хромосом сопряжена с синтезом белка, который необходим для реализации признаков продуктивности. Во

2-й группе на фоне меньших значений показателей продуктивности животных наблюдается повышение индекса ИЯОР и расширение границ полиморфизма ЯОР, что, по нашему мнению, в данном случае отражает работу ядрышковых организаторов, направленную на поддержание физиологического гомеостаза животных, и в частности, адаптацию импортированных животных к новым условиям среды, а не на рост продуктивности.

ВЫВОДЫ

1. Среднее значение индекса ИЯОР, индекса площади (отношение площади лимфоцита к площади ядрышка) в группе свиноматок, полученных от импортированных хряков, адаптированных к местным условиям разведения, было меньше ($P < 0,001$), чем в группе импортированных свиноматок (3,18).
2. При меньших значениях показателей продуктивности у импортированных свиноматок наблюдается повышение индекса ИЯОР и расширение границ полиморфизма ИЯОР, что связано с работой ИЯОР, направленной на поддержание физиологического гомеостаза животных, а не продуктивности.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Иммуногенетические системы сывороточных белков крови свиней* / А. И. Желтиков, М. Л. Кочнева, О. И. Себежко [и др.] // Докл. РАСХН. – 2003. – № 5. – С. 38–40.
2. *Кочнева М. Л.* Мониторинг популяций сельскохозяйственных животных в разных экологических условиях: дис. ... д-ра биол. наук. – Новосибирск, 2005. – 291 с.
3. *Химич Н. Г., Нестеренко Н. Н., Кочнева М. Л.* Продуктивность коров приобского типа черно-пестрой породы в зависимости от линейной принадлежности // Достижения науки и техники АПК. – 2012. – № 3. – С. 46–48.
4. *Тихонов В. Н., Бобович В. И., Жучаев К. В.* К вопросу о генетике пороодообразования свиней // Свиноводство. – 2008. – № 5. – С. 2–5.
5. *Анализ хромосомных aberrаций и ядрышкообразующих районов хромосом у рабочих производства пиромеллитового диангидрида: о возможной адаптивной роли вариантов Ag-ЯОР* / Т. В. Викторова, Э. К. Хуснутдинова, В. В. Викторов [и др.] // Генетика. – 1994. – Т. 30, № 7. – С. 992–998.
6. *Бучинская Л. Г., Полищук Л. З.* Районы ядрышкового организатора в клетках эндометрия при железистой гиперплазии и раке // Экспериментальная онкология. – 2001. – Т. 23, № 9. – С. 157–160.
7. *Количественный анализ ядрышкообразующих районов хромосом у крупного рогатого скота в норме и патологии* / С. И. Логинов, О. Н. Семенова, Н. И. Илюшина [и др.] // Сиб. вестн. с.-х. науки. – 2004. – № 3. – С. 103–106.
8. *Стаценко Ю. В.* Состояние нуклеолярного аппарата лимфоцитов крови при профессиональном воздействии металлов-аллергенов и электромагнитных полей диапазона радиочастот: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – М., 2006. – С. 13–22.
9. *Минина В. И., Дружинин В. Г.* Геномные дозы активных генов рРНК у рабочих коксохимического производства // Генетика. – 2004. – Т. 40, № 12. – С. 1702–1708.

10. Киселева Т.Ю., Яковлев А.Ф., Смирнов А.Ф. О полиморфизме активности районов ядрышкового организатора хромосом у различных пород крупного рогатого скота // С.-х. биология. – 1985. – № 4. – С. 100–103.
11. Графодатский А.С. Сравнительная цитогенетика трех видов собачьих (CARNIVORA, CANIDAE). Сообщ. III: Распределение ядрышкообразующих районов // Генетика. – 1983. – Т. 19, № 5. – С. 778–783.
12. Дуброва А.Н. Ядрышковые организаторы хромосом как адаптивный элемент вида // Журн. общ. биологии. – 1989. – Т. 50, № 2. – С. 213–217.
13. Жиденова А.Н., Кочнева М.Л., Куликова С.Г. Экологические аспекты изучения полиморфизма ядрышкообразующих районов хромосом у крупного рогатого скота // Стратегия развития зоотехнической науки: тез. докл. Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 60-летию зоотехн. науки Беларуси (22–23 окт. 2009 г.). – Минск, 2009. – С. 55–56.
14. Ченцов Ю.С., Поляков В.Ю. Ультраструктура клеточного ядра. – М.: Наука, 1974.
15. Челидзе П.В., Зацепина О.В. Морфофункциональная классификация ядрышек // Успехи современной биологии. – 1988. – Т. 105, № 2. – С. 252–268.
16. Графодатский А.С., Раджабли С.И. Хромосомы сельскохозяйственных и лабораторных млекопитающих. – Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1988.
17. Исследование количества ядрышек в ядрах лимфоцитов периферической крови у ликвидаторов последствий аварии на ЧАЭС / Н.В. Ибрагимова, Л.В. Туголукова, В.Ю. Кравцов, А.М. Никифоров // Цитология, 2001. – Т. 43, № 10. – С. 941–943.
18. Кикнадзе И.И. Функциональная организация хромосом. – Л., 1972. – 212 с.
19. On the position of nucleolus organizer regions (NORs) in interphase nuclei studies with a new, non-autoradiographic in situ hybridization method / F. Wachtler, A.H.N. Hopman, F. Wilgant, H. G. Schwarzbacher // Experimental Cell Research, 1986. – Vol. 167. – P. 227–240.

THE INFLUENCE OF PIG GENE POOL ON THE ACTIVITY AND POLYMORPHISM OF INTERPHASE NUCLEOLAR ORGANIZERS OF LYMPHOCYTES

S. K. Buteeva

Key words: nucleolus, interphase nucleolus-forming regions (INFR), pigs, INFR activity and polymorphism, productive indices

Summary. The paper presents the data on the activity and polymorphism of interphase nucleolus-forming regions of chromosomes and their relationship with productive indices in pigs of different breeding. The distribution of cells with different INFR number was unlike in the groups of Large White sows aged 1.5 years and the sows of Large White x Landrace F_1 hybrids aged 2 years. The cells with 2 (34 and 31.8%) and 3 INFR (25.9 and 30.5%) occurred most frequently and roughly equally. Significant difference was revealed between the animals of the 1st and 2nd groups for the number of cells with 1 INFR – 22.9 and 9.9% ($P < 0.001$), respectively. The fact of finding out the cells with 5 and 6 INFR in the both groups (3.4; 0.1 and 11.6; 6.5%) was also marked; at the same time, there happened to occur the animals which cells had 7 INFR (1.8%) in the group of sows of Large White x Landrace F_1 hybrids aged 2 years. Cytological analysis showed that the mean value in the index of ratio of lymphocyte square to the square of nucleolus in the 1st group was 1.2 times less ($P < 0.001$) than that in the 2nd group. It is suggested to use the coefficient of index values variability as an additional criterion that characterizes the level of nucleoli activity. Increased NFR activity in chromosomes conjugates with protein synthesis required to realize productivity traits as well as to maintain physiological homeostasis of animals. Increased INFR index and extended boundaries of NFR polymorphism are revealed in the 2nd group of imported animals, which reflects the adaptation of animals to a new habitat in the case concerned.