



ЖИВОТНОВОДСТВО И ВЕТЕРИНАРИЯ

УДК 636.082.232

Е.В. Четвертакова, А.Е. Луценко, Ю.В. Базова

МЕТОДИКА ОЦЕНКИ БЫКОВ НА ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ГРУЗ

Представлена поэтапная методика оценки быков на генетический груз, которая способствует своевременному выявлению животных с обремененной наследственностью и выбраковке их из племенного использования.

Ключевые слова: быки, генетический груз, аномалии, оценка.

E.V. Chetvertakova, A.E. Lushchenko, Yu.V. Bazova

METHODOLOGY OF BULL ASSESSMENT ON THE GENETIC LOAD

The phased bull assessment methodology on the genetic load that contributes to the timely identification of animals with the burdened heredity and culling them from the breeding use is presented.

Key words: bulls, genetic load, anomalies, assessment.

Введение. Искусственное осеменение способствует быстрому распространению генотипов выдающихся производителей, но наряду с генами, способствующими улучшению продуктивных качеств скота, распространяются нежелательные аллели, вызывающие аномалии. Комплексной методики оценки быков на ранних стадиях на наличие генетического груза в настоящее время нет.

Отбор быков-производителей проводится в несколько этапов и, как правило, включает отбор по происхождению предков, собственную оценку быка по конституции и экстерьерным показателям, фертильности и качеству получаемой спермопродукции. В дальнейшем быка оценивают по качеству потомства, учитывая при этом в первую очередь продуктивность дочерей [12].

Однако существующие методики оценки быков не дают информации о мутантных генах, геномных мутациях и хромосомных aberrациях, которые при использовании ограниченного числа производителей на маточных стадах быстро распространяются. При бесконтрольном распространении этих мутаций усилия селекционеров, направленные на повышение продуктивности скота, можно очень быстро свести к нулю [14].

Поэтому **целью** данной работы является разработка методики ранней оценки генотипов быков на генетический груз.

Методика. Нами предложена методика проверки и оценки быков на генетический груз, состоящая из двух этапов.

На *первом этапе* оценивают бычков после рождения используя генеалогический метод, ДНК-тестирование и цитогенетический анализ (кариологический анализ).

При отсутствии положительных результатов на первом этапе тестирования бычка допускают ко второму этапу оценки.

На *втором этапе* оценивают сперматогенез быков, который может выражаться в таких аномалиях сперматогенеза, как олигоспермия, некроспермия и азооспермия, и морфологических нарушениях в строении спермиев. Схема методики проверки и оценки быков на генетический груз представлена на рисунке.

Этап I – Проверка бычков после рождения

Применение **генеалогического метода** позволит проанализировать родословную проверяемого бычка и определить тип наследования признака. На основе полученных сведений можно прогнозировать вероятность проявления изучаемого признака в потомстве, что имеет большое значение для предупреждения генетических аномалий. С помощью генеалогического метода может быть установлена наследственная обу-

словленность изучаемого признака, а также тип его наследования (аутосомно-доминантный, аутосомно-рецессивный, Х-сцепленный доминантный или рецессивный, Y-сцепленный). При анализе родословных по нескольким признакам может быть выявлен сцепленный характер их наследования. Этот метод позволяет изучать интенсивность мутационного процесса, оценить экспрессивность и пенетрантность аллеля [13].

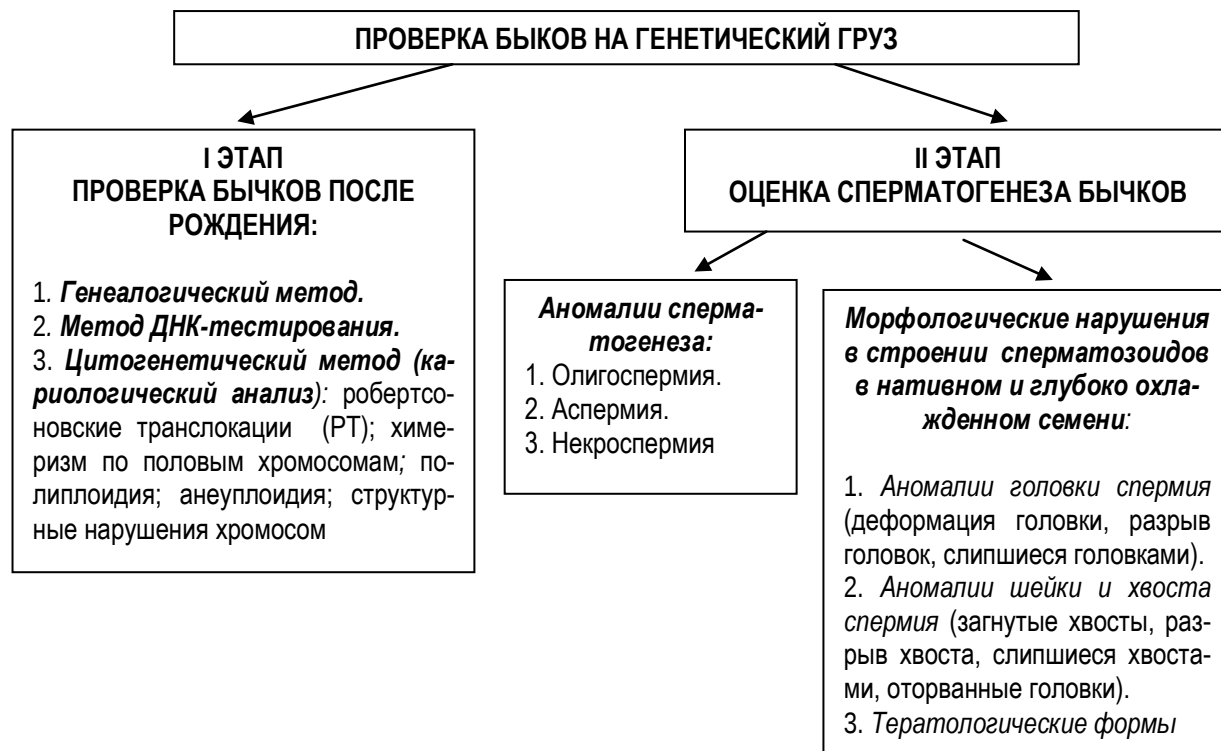


Схема методики проверки и оценки быков на генетический груз

После всестороннего анализа родословной проверяемого бычка переходим к более глубокой оценке генотипа с использованием современных молекулярных методов для выявления летальных рецессивных генов. Одним из методов является ДНК-тестирование.

Метод ДНК-тестирования позволяет выявить рецессивный аллель у гетерозиготных организмов.

У крупного рогатого скота выявлено свыше 400 генетически обусловленных морфологических и функциональных нарушений [19]. Обычно аномалия наследуется по рецессивному типу, и для её фенотипического проявления необходимо наличие одинаковых мутантных генов у обоих родителей.

С помощью метода ДНК-тестирования можно выявить летальный ген у гетерозиготного носителя и исключить возможность использования такого быка в воспроизводстве.

После или одновременно с тестированием на мутантные аллели проводят цитогенетический анализ.

Проведение **цитогенетического анализа** (кариологический анализ) имеет большое значение для практики, так как способствует выявлению в кариотипе племенных животных числовых или структурных aberrаций хромосом, нередко связанных с нарушением воспроизводительной функции, уродствами и болезнями [11, 15].

Одной из широко распространенных перестроек являются транслокации, в частности робертсоновские (РТ). Такая транслокация, как 1/29 хромосом, являясь конституциональной генетической аномалией, передается потомкам и приводит к снижению воспроизводительной способности коров-носительниц aberrаций [22]. У носительниц транслокаций наблюдается более продолжительный сервис-период и более высокая кратность осеменений [9].

I. Gustavsson [18] установил, что у быков-носителей транслокации 1/29 в среднем более низкий объем эякулята и показатель количества спермиев в эякуляте. У дочерей быков с РТ 1/29 хромосом показатели оплодотворяемости снижены на 6–10 % [8].

Основными носителями aberrации являются породы красного, палево-пестрого и бурого цвета и те, которые созданы на их основе. Между линиями также существуют различия в частоте носителей. Это под-

тверждает значительность роли родоначальника линии в распространении аберрации и наследовании ее через отдельные ветви в последующие поколения [17].

Отрицательный эффект влияния данной мутации на плодовитость крупного рогатого скота и опасность его более широкого распространения при интенсивном использовании быков-носителей аберраций явились основанием для обязательной цитогенетической аттестации ремонтного поголовья и производителей. Наличие даже одного быка в сети искусственного осеменения с РТ 1/29 может быстро привести к накоплению генетического дефекта в популяции [10].

У крупного рогатого скота наиболее часто выявляется химеризм по половым хромосомам. Химеризм XX/XY хромосом относится к категории соматических мутаций и не передается по наследству. Носителей химеризма в системе половых хромосом следует выбраковывать [5, 15].

После оценки на наличие структурных нарушений хромосом переходим к выявлению геномных мутаций, в частности полиплоидии.

В кариотипах животных с нарушениями воспроизводительной функции выявлены основные формы аномалий хромосом – полиплоидии, разрывы и пробелы хромосом [15].

Высокий уровень анеуплоидии у коров связывают с нарушениями воспроизводительных качеств, структурные нарушения хромосом вызывают мертворождения, аборт, удлинение сервис-периода. Установлены положительные корреляции между структурными нарушениями хромосом и индексом осеменения, уровнем аббераций и межотельным периодом, уровнем анеуплоидии и индексом осеменения [1, 2].

Для сельскохозяйственных животных актуальными стали необходимость хромосомной диагностики в селекции, выбраковка из воспроизводства генетически дефектных особей.

Таким образом, цитогенетический контроль быков необходим для того, чтобы не допустить распространения аномалий хромосом, снижающих воспроизводительную способность самих быков-спермодоноров и их потомства. После успешного прохождения первого этапа оценки молодых бычков переходим ко второму этапу оценки, включающему анализ сперматогенеза быков.

Этап II – оценка сперматогенеза быков

Цитологический мониторинг позволяет оперативно реагировать на изменения, происходящие в ходе селекции. Создается возможность определения частоты и характера нарушений сперматогенеза. Постоянный мониторинг изменений генетической структуры популяций позволяет улавливать изменения и прогнозировать их дальнейшие последствия, выявлять наследственные аномалии спермиев и своевременно выбраковывать быков-носителей аномалий из племенного использования.

На данном этапе оценки быков проводим анализ сперматогенеза на аномалии, которые могут выражаться олигоспермией, аспермией, некроспермией, и оцениваем наличие морфологических нарушений в строении спермиев: 1) *аномалии головки спермия* (деформация головки, разрыв головок, слипшиеся головками); 2) *аномалии шейки и хвоста спермия* (загнутые хвосты, разрыв хвоста, слипшиеся хвостами, оторванные головки); 3) *тератологические формы* как в нативном, так и глубоко охлажденном семени.

Аномалии сперматогенеза. Л.К. Эрнст [16] указывает, что аспермия, олигоспермия, морфологические дефекты спермиев относятся к числу наследственных аномалий системы воспроизводства, в частности аплазии семенных протоков Вольфа.

Если при одинаковых условиях содержания, эксплуатации, соблюдении норм кормления регулярно возникают данные нарушения сперматогенеза, необходимо проанализировать, по возможности, наличие таких же нарушений у мужской части родословной быков. При обнаружении аномалий сперматогенеза среди родственных быков следует относить их к генетически обусловленным и исключать данных быков из воспроизводства как экономически нерентабельных для получения спермопродукции, а также для исключения возможности получения сыновей для использования в племенном воспроизводстве.

Морфологические нарушения в строении сперматозоидов. Часто процесс сперматогенеза нарушается, что приводит к отклонениям в морфологическом строении сперматозоидов [3]. Поэтому крайне важным является оценка быков-спермодоноров по качеству получаемой спермопродукции, выявление как единичных случаев нарушения сперматогенеза, так и отслеживание определённых закономерностей в родословных мужской половины.

Состав популяции сперматозоидов имеет специфические индивидуальные особенности и в норме остаётся стабильным [6].

Аномалии сперматозоидов ассоциируют с мужским бесплодием и стерильностью у большинства видов животных. Морфологические нарушения спермиев могут отрицательно влиять на оплодотворение и исход беременности у самок [20].

Большинство исследователей считают, что морфологически аномальные сперматозоиды не могут оплодотворять яйцеклетку. Однако не исключено, что некоторые морфологически изменённые формы способны к оплодотворению и с этим может быть связана гибель зародыша [4, 21]. Ряд морфологических изменений спермиев является наследственным признаком аутосомного рецессивного типа наследования. Такие морфологические изменения зафиксированы в международном списке летальных дефектов [7].

В связи с этим возникает серьёзная необходимость обследования быков-спермодоноров и их спермы, так как ущерб от недополучения потомков и рождения потомков со сниженной плодовитостью и жизнеспособностью может быть гораздо выше улучшающего эффекта по продуктивности, если производитель – носитель вредных генов. И в зависимости от частоты заболеваемости и глубины проявления процесса – исключать или ограничивать дальнейшее использование. Особенно строго следует проверять импортных производителей, так как племенные свидетельства не содержат полной характеристики генотипа.

Заключение. Таким образом, предложенная методика проверки и оценки быков на генетический груз будет способствовать своевременному выявлению животных с обременённой наследственностью и выбраковке их из племенного использования.

Литература

1. Бакай А., Бакай Ф., Кровикова А. Связь кариологических показателей с воспроизводительными качествами коров // Главный зоотехник. – 2012. – № 3. – С. 11–16.
2. Бакай Ф., Бакай А., Пирязев К. Анализ геномных мутаций у коров с нарушениями репродуктивных функций // Главный зоотехник. – 2009. – № 9. – С. 21–24.
3. Современные проблемы сперматогенеза / С.А. Бурнашова, И.С. Габаева, Л.В. Данилова [и др.]. – М.: Наука, 1982. – 229 с.
4. Сперматогенез и его регуляция / Е.С. Габер, Л.В. Данилова, Е.Ф. Князева [и др.]. – М.: Наука, 1983. – 231 с.
5. Гольдман И.Л., Бегмуродов М., Смирнов О.К. Цитогенетическая диагностика фримартинизма крупного рогатого скота // Сельскохозяйственная биология. Сер. Биология животных. – 1991. – № 4. – С. 17–21.
6. Данилова Л.В. Ультраструктурные исследования. – М.: Наука, 1978. – 204 с.
7. Емельянов А.В. Генетические аспекты наследуемости болезней крупного рогатого скота // Ветеринария. – 1990. – № 3. – С. 54–56.
8. Жигачёв А.И., Никитин Н.С., Черкасов В.В. О частоте транслокации 1/29 хромосом в спонтанной выборке крупного рогатого скота // Докл. ВАСХНИЛ. – 1984. – № 4. – С. 21–22.
9. Жигачёв А.И., Богачева Т.В., Марусяк В.Г. Распространение аббераций хромосом в отдельных родственных группах симментальского скота // Цитогенетика и биотехнология: мат-лы 2-й Всерос. конф. по цитогенетике с.-х. животных (Ленинград, Пушкин, 1988). – Л., 1989. – С. 27–29.
10. Канапин А.К. О цитогенетических нарушениях у крупного рогатого скота алатауской породы и влияние их на фенотип и продуктивность // Сельскохозяйственная биология. – 1989. – № 6. – С. 6–9.
11. Куликова С.Г., Эрнст Л.К., Петухов В.Л. Соматические хромосомные абберации у крупного рогатого скота // Докл. РАСХН. – 1996. – № 6. – С. 33–34.
12. Мымрин В., Ткачук О., Шавтукова Н. Использование геномных индексов для отбора быков-производителей // Зоотехния. – 2012. – № 5. – С. 2–3.
13. Петухов В.Л., Эрнст Л.К. Генетические основы селекции животных. – М.: Агропромиздат, 1989. – 448 с.
14. Четвертакова Е.В., Пущенко А.Е. Мониторинг генетических заболеваний в популяции крупного рогатого скота Красноярского края // Вестник КрасГАУ. – 2012. – № 6. – С. 120–126.
15. Эрнст Л.К., Жигачев А.И. Профилактика генетических аномалий крупного рогатого скота. – Л.: Агропромиздат, 1990. – 240 с.
16. Эрнст Л.К., Жигачёв А.И. Роль генетических факторов в возникновении пупочных грыж у крупного рогатого скота // Генетика. – 1981. – Т. 17. – № 6. – С. 1103–1105.
17. Christensen K., Agerholm J., Larsen B. Dairy breeds bull with complex chromosome translocation fertility and linkage studies // Hereditas. – 1992. – 117. – № 3. – P. 199–202.
18. Gustavsson I. Culling rates in daughters of sires with a translocation of centric fusion type // Hereditas. – 1971. – V. 67. – P. 65–74.
19. Millar P., Lauvergne J., Dolling C. Mendelian inheritance in cattle // Wasenigen. – 2000. – P. 101.
20. Saacke R.G. What is a BSE–SFT standards: the relative importance of sperm morphology: an opinion // Proc Soc Theriogenol. – 2001. – 81–7.

21. Shamsuddin M. & Rodriguez-Martinez, H. A simple, non- traumatic culture method for the selection of spermatozoa for in vitro fertilization in the bovine // Anim. Reprod. Sci. – 1994. – № 36. – P. 61–75.
22. 1/29 Robertsonian translocation in Blond Aquitaine bulls: frequency and effects on semen characteristics / F. Gary, D. Cohcordet, H.M. Berland [et al.] // Genet.-Selec., Evol. – 1991. – № 23. – Suppl. 1. – P. 117–119.



УДК 48:597.94

Н.В. Донкова, А.А. Рубай

МИКРОСТРУКТУРА РЕГЕНЕРИРУЮЩИХ ТКАНЕЙ ГРУДНОЙ КОНЕЧНОСТИ ТРИТОНА

В статье приведены результаты микроструктурного исследования регенерирующих тканей грудной конечности тритона после тотальной резекции и рассмотрены сроки формирования различных отделов конечности.

Ключевые слова: гистология, тритон, регенерация, грудная конечность.

N.V. Donkova, A.A. Rubai

THE MICROSTRUCTURE OF THE NEWT PECTORAL LIMB REGENERATING TISSUES

The results of the microstructure research on the newt pectoral limb regenerating tissues after total resection are presented in the article, the formation periods of the limb various divisions are considered.

Key words: histology, newt, regeneration, pectorallimb.

Введение. Тритоны – хвостатые амфибии семейства саламандровых, отличающиеся у большинства сплюснутым с боков хвостом (в связи с приспособлением к плаванию) и отсутствием околушных кожных желез, столь развитых у саламандр. Задние конечности – пятипалые, передние – четырехпалые [2].

Весьма значительна у тритонов способность воспроизводить утраченные части тела (регенерация). Целая конечность, будучи отрезанной у тритона, снова вырастает [1].

Цель исследования. Изучить микроструктуру регенерирующих тканей грудной конечности тритона.

Материалы и методы исследования. Исследования проводились в гистологической лаборатории кафедры анатомии, патологической анатомии и хирургии Института прикладной биотехнологии и ветеринарной медицины Красноярского государственного аграрного университета в 2011–2014 гг.

Объектом исследования послужили самки иглистого тритона.

Материалом для исследования послужили грудная конечность и хвостовые позвонки тритона.

Экспериментальную ампутацию моделировали путем удаления правой грудной конечности на уровне 2–3 мм дистальнее плечевого сустава. Ампутацию проводили после введения животного в состояние анабиоза путем постепенной гипотермии, то есть понижения температуры тела с 23 до 0°C с использованием кусочков льда. При этом наступало обездвиживание и снижение порога тактильной и болевой чувствительности. Данный способ анестезии является более эффективным и гуманным по сравнению с применением наркотических средств.

При использовании в качестве наркоза рометара или золетила у одной из особей после ампутации возникло осложнение в виде кровотечения, а в случае гипотермии кровотечения не наблюдалось.

За тритонами установили постоянное наблюдение. После ампутации животное вышло из состояния анабиоза через 25 минут. Признаков болевого шока не обнаруживали. Посттравматический период проходил без осложнений. Ампутированную грудную конечность погружали в 9%-й раствор нейтрального формалина, далее ее поместили в 5%-й водный раствор азотной кислоты для декальцинации. Декальцинация продолжалась в течение 10 суток с ежедневной сменой раствора. Затем препараты перекладывали в 96%-й спирт на сутки для избежания набухания волокнистых структур, после чего тщательно промывали в течение двух суток в проточной воде [3]. Далее на криотомном микротоме изготавливали срезы толщиной 10 мкм, монтировали на предметных стеклах при помощи смеси состоящей из яичного белка и глицерина в соотношении 1:1. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином, Суданом черным, Суданом-3 и по Маллори [4].