

- Сообщение 3. Корреляция между уровнем индивидуальной гетерозиготности и относительным количеством нежизнеспособных семян // Генетика. – 1986. – Т. 22, № 12. – С. 2825–2830.
2. *Коришков И.И., Калафат Л.А.* Генетические особенности растений сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) с разной семенной продуктивностью // Цитология и генетика – 2004. – № 2. – С.9–13
 3. *Коришков И.И., Мудрик Е.А.* Сравнительный анализ генетической гетерогенности семенного потомства в изолированной популяции *Pinus sylvestris* var. *cretacea* Kalenicz. ex Kom. в Донбассе // Цитология и генетика – 2006. – Т. 40, № 3 – С. 17–23.
 4. *Коришков И.И., Пирко Я.В.* Генетические особенности деревьев сосны горной (*Pinus mugo* Turra) со значимыми отличиями в показателях семеношения // Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів. – 2004. – № 2. – С. 212–220.
 5. *Коски В.* Пустые семена – часть выраженного генетического груза // Половая репродукция хвойных. Матер. I-го Всесоюз. симпоз.: В 2-х ч. – Новосибирск: Наука. Сибир. отд-ние, 1973. – Ч. II. – С. 23–30.
 6. *Кузнецова Н.Ф., Исаков Ю.Н.* Ультраструктурные аспекты физиологической несовместимости у сосны обыкновенной // Лесоведение. – 1987. – № 3. – С. 11–16.
 7. *Малюченко О.П., Алтухов Ю.П.* Влияние индивидуальной гетерозиготности на характеристики плодоношения у кедрового стланика *Pinus pumila* // Докл. РАН. – 2002. – Т. 384, № 3. – С. 418–421.
 8. *Nei M.* Genetic distance between populations // Amer. Naturalist. – 1972. – Vol. 106. – P. 283–292.

Резюме

Проведен анализ уровня гетерозиготности в выборках растений с максимальной и минимальной продуктивностью полных семян из популяций пяти аборигенных видов семейства *Pinaceae* Lindl. Установлено, что деревья с максимальной продуктивностью полных семян характеризовались среднепопуляционным уровнем гетерозиготности у *Pinus sylvestris* L., *P. pallasiana* D. Don, *P. sylvestris* L. var. *cretacea* Kalenicz. ex Kom., *Abies alba* Mill. и более высоким у *P. mugo* Turra.

Проведено аналіз рівня гетерозиготності у вибірках рослин з максимальною та мінімальною продуктивністю повного насіння з п'яти аборигенних видів родини *Pinaceae* Lindl. Встановлено, що дерева з максимальною продуктивністю повного насіння характеризувались середнепопуляційним рівнем гетерозиготності у *Pinus sylvestris* L., *P. pallasiana* D. Don, *P. sylvestris* L. var. *cretacea* Kalenicz. ex Kom., *Abies alba* Mill. та більш високим у *P. mugo* Turra.

Heterozygosity level was analyzed in the plant samplings with maximum and minimum full-grained seed productivity of five native *Pinaceae* Lindl. species. It was found out that the trees with maximum full-grained seed productivity were characterized by an average populational level of heterozygosity for *Pinus sylvestris* L., *P. pallasiana* D. Don, *P. sylvestris* L. var. *cretacea* Kalenicz. ex Kom., *Abies alba* Mill. and by a higher heterozygosity level for *P. mugo* Turra.

КОСТЕНКО С.О., КОНОВАЛ О.М., СИДОРЕНКО О.В., *СМЕТАНІН В.Т.

Національний університет біоресурсів і природокористування України,
Україна, 03022, Київ, вул. Героїв Оборони, 15, e-mail: Swetakostenko@mail.ru

*Дніпропетровський державний аграрний університет

ПОКАЗНИКИ ЦИТОГЕНЕТИЧНОЇ МІНЛИВОСТІ *SUS SCROFA*

Здійснення цитогенетичного аналізу свині свійської дозволяє виявляти конститутивні порушення каріотипу племінних тварин і таким чином уникати накопичення генетичного вантажу в популяціях та зниження репродуктивної функції тварин. Іншою важливою стороною інтерпретації отриманих даних є оцінка мутагенного впливу навколишнього середовища. Цей аспект особливо актуальний в зв'язку з тим, що вид *Sus scrofa* – близький до *Homo sapiens*. Оскільки зміна поколінь у свиней суттєво швидша, ніж у людини, то моніторинг популяцій тварин, які відтворюються в зонах хронічного впливу іонізуючого опромінення, хімічних та біологічних чинників дозволяє здійснювати екстраполяцію даних на популяції людини і робити прогностичні висновки.

До цього часу залишаються недостатньо вивченими контрольні показники цитогенетичної мінливості у свиней, і фактори, що на них впливають. Для цього ми здійснили цитогенетичний аналіз свиней великої білої породи, яких утримують в різних господарствах Київської і Дніпропетровської областей.

Матеріали і методи

Забір крові свиней породи велика біла проводився у свинокомплексах Черкаської (СВК «Розсішське» с. Розсішки (n=7), ДСПГ «Христинівське» УААН (n=4)) Київської області ВАТ «Антонов» с. Круглик (n=11), ВАТ «Маки» (n=6), с. Яблунівка (м'ясокомбінат) (n=10)) та свиней вітчизняної селекції ДДАУ м'ясного типу великої білої породи ТОВ «Луговське» Дніпропетровської області Солонянського району, с.Александропіль (n=12).

Цитогенетичні препарати готували за стандартною методикою з власними модифікаціями [1, 2]. Венозну кров *Sus scrofa* стерильною голкою брали з синусу ока та вушної вени у стерильну пробірку з антикоагулянтом (0,5 мл 1%-ного розчину гепарину 15-30 мг на 10 мл крові).

Клітинну культуру лімфоцитів крові готували на середовищі 199 або ІГЛА з додаванням 15-20% сироватки крові великої рогатої худоби RPMI 1640. До культури додавали 0,001 мл гентаміцину на 1 мл середовища, а також фітогемаглютинін (ФГА) або конконовалін. Дозування ФГА проводили в залежності від його типу – ФГА типу Р додавали в дозі 0,02 мл, типу М – 0,2 мл на 10 мл культуральної суміші. Суміш культивували в термостатах при +37 °С протягом 48 годин, періодично струшуючи флакони.

Після інкубації культуру струшували, переливали в центрифужні пробірки і центрифугували при 1000 об/хв протягом 15 хвилин. Надосадову рідину зливали, а залишок ресуспендували в 5-10 мл гіпотонічного розчину. Для гіпотонізації використовували свіжоприготовлений 0,55 % розчин хлористого калію. Гіпотонізацію проводили протягом 20 хвилин в термостаті при +37°С.

Після закінчення гіпотонізації культуру центрифугували, надосадову рідину зливали, а до осаду обережно, по стінці пробірки додавали охолоджену до +4°С фіксуєчу рідину, приготовану безпосередньо перед використанням, змішуючи 1 частину льодяної оцтової кислоти з 3 частинами метилового спирту. Закриті пробками пробірки переносили в холодильник, де витримували при +4°С 1 год. Після цього осад ресуспендували і центрифугували, повторюючи цю операцію 2-3 рази, поки фіксатор не стане абсолютно чистим і прозорим. Після останнього центрифугування до осаду додавали 0,5 мл чистого фіксатора і ресуспендували.

Суспензію клітин пастерівською піпеткою або самплером з висоти 20-30 см наносили на чисті, охолоджені в дистильованій воді предметні скельця, рівномірно розподіляючи її по всій поверхні. Залежно від мети наступних досліджень, препарати підсушували при кімнатній температурі або «випалювали», запалюючи фіксатор на склі від полум'я пальника. Препарати маркірували та забарвлювали за Гімза.

Для аналізу використовували наступні цитогенетичні характеристики: відсоток метафазних пластинок з хромосомними абераціями, анеуплодією, поліплодією, асинхронністю розщеплення центромірних районів хромосом, а також на 1000 клітин - кількість клітин що діляться (МІ), двоядерних клітин(ДЯ) та з мікроядрами (МЯ).

З метою оптимізації методики приготування і аналізу цитогенетичних препаратів свиней, ми здійснили різні її модифікації. Частина клітин відмивалася живильним середовищем RPMI, інша частина – не відмивалася. Клітини розділяли на окремі пули, кожен з яких підлягав різним термінам гіпотонії (0,55% KCl) та фіксації (1:3 льданої оцтової кислоти та метанолу). Оцінка частоти клітин з мікроядрами на різних цитогенетичних препаратах свідчить про те, що гіпотонізація не впливає на кількість лімфоцитів з мікроядром та двоядерних лімфоцитів, а також на кількісні показники апоптозних клітин. Таким чином, результати аналізу цитогенетичних препаратів, які готувалися з різними термінами гіпотонізації і без гіпотонії дозволяють використовувати цитогенетичні препарати після гіпотонізації і порівнювати їх показники з даними інших досліджень на основі негіпотонізованих клітин.

У тварин забір крові здійснювали як з синуса ока, так із вушної і хвостових вен. Аналіз цитогенетичних препаратів виявив, що більш успішним для культивування лімфоцитів є взяття у свиней крові з синуса ока. Це можна пояснити більшою стерильністю процедури взяття крові з синусу, яка виключає контакт з шкірою тварин. До недоліків цього методу можна віднести необхідність високого рівня професіоналізму ветеринара, який відбирає зразки крові.

Результати і обговорення

Каріотипування досліджених тварин не виявило свиней – носіїв конститутивних цитогенетичних порушень.

Результати цитогенетичного аналізу тварин, які утримуються в різних господарствах Київської та Дніпропетровської областей, представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

Цитогенетичні показники *S. scrofa* великої білої породи

Господарство	Кількість клітин на 1000		
	МЯ	ДЯ	МІ
СВК «Розсішське» с. Розсішки (n=7)	1,3±0,3	4,2±0,3	5,1±0,2
ДСПГ «Христинівське» УААН (n=4)	3,2±0,3	4,3±0,4	10,4±0,4
с.Яблунівка (м'ясокомбінат) (n=10)	3,3±0,2	4,1±0,1	8,3±0,5
ВАТ "Антонов", с. Круглик (n=11)	4,2±0,1	3,1±0,5	9,3±0,6
ВАТ «Маки» (n=6)	4,1±0,4	5,2±0,3	8,2±0,1
Всього (n=38)	***3,08±0,18	3,87±0,11	***7,95±0,25
Селекція ДДАУ (м'ясний тип великої білої породи (n=12)	***0,58±0,23	3,33±0,93	***2,08±0,71

*** $p > 0,999$

Слід відмітити те, що мікроядрений аналіз до цього часу мало був використаний при цитогенетичних дослідженнях свиней. Тому невідомі параметри умовного контролю за кількістю клітин з мікроядрами для *Sus scrofa*. Для інших ссавців, зокрема мишоподібних гризунів, цей показник досить широко варіює (2,7-5,6 %) [3].

Головна проблема використання мікроядерного тесту у полягає у відсутності його уніфікації. Наприклад, дослідження популяцій залежності частоти МЯ від віку людини, до цих пір не дозволили отримати однозначні дані [4]. Це зумовило відсутність загальноприйнятого уявлення про межі мінливості спонтанно виникаючих мікроядер в групах людей одного і того ж віку. Так, виявлено, що середня частота епітеліоцитів з МЯ в екологічно умовно чистих районах складала у дошкільнят 3,8%, а у школярів – 6,6%. Спостерігали статистично достовірне збільшення числа клітин з МЯ тільки у дошкільнят в

районах з вищою забрудненістю середовища (повітря, ґрунт). Дівчатка виявилися чутливішими до дії чинників антропогенного забруднення. Частота клітин з МЯ склала у дівчат- 9,2%, а у хлопчиків - 6,8% [5].

Загальне середнє значення частоти мікроядер в клітинах букального епітелію учасників трансатлантичного переходу (Севастопіль – Українська антарктична станція «Академік Вернадській» – Севастопіль) VII Української антарктичної експедиції (VII УАЕ). у досліджуваної групи людей склало 2,20 ‰. Індивідуальні середні значення змінювалися в межах від 1,70 до 2,78 ‰ [6].

За даними досліджень Глазко Т.Т. і Сафонової Н.А. у тварин чорно-рябої породи великої рогатої худоби, які відтворювалися в 10-км зоні Чорнобильської АЕС і хронічно підлягали дії підвищеного рівня іонізуючого опромінення, частота лімфоцитів з мікроядрами зменшувалася від $4,5 \pm 0,4$ в 0 поколінні до $1,5 \pm 0,4$ ‰ в III поколінні [7].

Отримані нами дані свідчать про те, що розмах середніх значень числа лімфоцитів з мікроядрами у свиней, які утримуються в різних господарствах, відповідає показникам умовного контролю.

Порівняння цитогенетичних показників свиней різних господарств (0,58-4,2‰) свідчить про те, що тварини, які відтворюються в с.Александропіль Солонянського району Дніпропетровської області мають вірогідно нижчу (***) $P > 0,999$) кількість клітин з мікроядрами в порівнянні з тваринами, яких утримують в Київській і Черкаській областях. Ці дані можуть свідчити про те, що тварини Дніпропетровської області зазнають нижчого рівня впливу мутагенних факторів, до яких можна віднести як фізичні чинники (хронічне низькодозове іонізуюче опромінення внаслідок аварії на ЧАЕС), так і хімічні (у складі води, кормів, повітря свинокомплексів). Їх вплив на свиней до цього часу залишається недослідженим. Ще одним фактором, який міг вплинути на результати мікроядерного тесту, є особливості генотипів тварин в Дніпропетровській області. М'ясний тип великої білої породи свиней вітчизняної селекції ДДАУ ТОВ «Луговське» Дніпропетровської області Солонянського району, с.Александропіль отриманий шляхом тривалої селекції з використанням тісного інбридингу. Завдяки інбридингу ця популяція є практично вільною від генетичного вантажу. Про це свідчать високі показники плідності тварин, відсутність мертвонароджених поросят та нащадків з вродженими патологіями розвитку. Менша кількість хромосомних аберацій і анеуплоїдій, наслідком яких є мікроядра, може бути особливістю генотипів тварин дослідженої популяції, обумовленою високими антиоксидантними властивостями організмів. Подібні відмінності відомі для інших видів тварин, зокрема лінійно специфічний рівень хромосомних аберацій та мікроядер у *Mus musculus domesticus* [8].

Тварини, які відтворювалися в Дніпропетровській області, характеризуються також зменшеною кількістю клітин, що діляться. Оскільки цитогенетичний аналіз цих тварин здійснювали восени, то можливий вплив сезону відбору крові, адже відомо, що темпи клітинного поділу зменшуються в осінньо-зимовий період. Іншим чинником, який міг вплинути на частоту клітин, що діляться, є також якість мітогену (фетагемоглобін, конконовалін). Не можна виключати впливу в Київській області іонізуючого опромінення, яке збільшує темпи клітинного поділу.

Висновки

Оптимізовано методику приготування цитогенетичних препаратів *Sus scrofa*. Серед досліджених тварин великої білої породи не були виявлені носії конститутивних цитогенетичних аномалій. Знайдено статистично вірогідну різницю між кількістю клітин з мікроядрами та темпами клітинного поділу у тварин, яких утримують в Дніпропетровській і Київських областях.

Література

1. Яковлев А.Ф., Бавин В.Г., Стефанова В.Н., Курчанов Н.А., Терлецкий В.П. Кариологический анализ свиней. Методические рекомендации.- Ленинград. – 1984.– 44с.

2. Методики наукових досліджень із селекції, генетики та біотехнології у тваринництві. – К.: Аграрна наука, 2005 – 248 с.
3. *Cea Guidle F.A., Etcheberey K.F.C., Dulton F.N.* // *Mutat.Res.-1983.-V.119.-N 3.- P. 339-345.*
4. *Paul P.W. van Buul, Tuinenburg-Bolraap A., Searle A.G., Natarajan A.T.* A search for radiosensitive mouse mutants by vise of the micronucleus technique // *Mutat.Res.-1987.-Vol.191.- P.163-169.*
5. *Маймулов В.Г., Китаева Л.В., Верещагина Т.Г., Михеева Е.А., Шеломова Л.Ф.* Цитогенетические нарушения в соматических клетках у детей, проживающих в районах с различной интенсивностью загрязнения // *Цитология.-1998.-Т.4.-№ 7.- С.687-89.*
6. *Афанасьева Е.С., Безруков В.Ф., Шенета Ю.Б., Моисеенко Е.В.* Мінливість і динаміка частоти мікроядер учасників трансатлантичного переходу VII Української антарктичної експедиції.- *Цитология і генетика 2004, том 38, N 4, 37-43.*
7. *Глазко Т.Т., Сафонова Н.А.* Меж- и внутривидовая цитогенетическая нестабильность у крупного рогатого скота "Агроэкология і біотехнологія" Збірник наукових праць Інституту агроєкології та біотехнології УААН, Київ, 2000, Випуск 4, с.198-209.
8. *Ковалева О.А. Вагина И.Н. Морозова Л.М. Глазко Т.Т. Глазко В.И* Генетическая нестабильность и предрасположенность к развитию опухолей у лабораторных линий мышей.-Доповіді НАНУ.-2007.-№2.-С.158-162

Резюме

Знайдено статистично вірогідну різницю між свиньями великої білої породи за кількістю клітин з мікроядрами та клітин, що діляться. Тварини Київської і ччеркаської областей мали $3,08 \pm 0,18\%$ клітин з мікроядрами, $3,87 \pm 0,11\%$ двуждерних клітин, $7,95 \pm 0,25\%$ клітин, що діляться. Свині, які відтворюються в Дніпропетровській області несли $0,58 \pm 0,23\%$ клітин з мікроядрами, $3,33 \pm 0,93\%$ двуждерних клітин, $2,08 \pm 0,71\%$ клітин, що діляться.

Найдены статистически достоверные отличия между свиньями большой белой породы по количеству клеток с микроядрами и делящихся клеток. Животные Киевской и Черкасской областей несли $3,08 \pm 0,18\%$ клеток с микроядрами, $3,87 \pm 0,11\%$ двуждерных клеток, $7,95 \pm 0,25\%$ клеток, которые делятся. Свиньи, которые воспроизводятся в Днепропетровской области несли $0,58 \pm 0,23\%$ клеток с микроядрами, $3,33 \pm 0,93\%$ двуждерных клеток, $2,08 \pm 0,71\%$ делящихся клеток.

A reliable difference is found statistically between pigs of large white breed by the amount of cells with micronucleus and divided cells. The animals of the Kiev area had $3,08 \pm 0,18\%$ of cells with micronucleus, $3,87 \pm 0,11\%$ of binuclear cells, $7,95 \pm 0,25\%$ of divided cells. Pigs which are reproduced in the Dnepropetrovsk area carried $0,58 \pm 0,23\%$ of cells with micronucleus, $3,33 \pm 0,93\%$ of binuclear cells, $2,08 \pm 0,71\%$ divided cells.

КУЗЬМИН С.Р., КУЗЬМИНА Н.А.

Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН,

Россия, 660036 Красноярск, Академгородок, 50/28; e-mail: sergio7@akadem.ru

ДИНАМИКА РОСТА СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ РАЗНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В ГЕОГРАФИЧЕСКИХ КУЛЬТУРАХ В СИБИРИ

Исследование динамики роста у сосны разного происхождения в географических культурах в Красноярском Приангарье, представляет интерес, так как позволяет расширить информацию о внутривидовой дифференциации, механизмах адаптации инорайонных