

Е.В.Фёдорова, С.А.Костенко

*Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев  
(E-mail: fedorchenok@rambler.ru)*

### **Влияние радиоэкологических условий содержания на цитогенетические показатели крови *Bos taurus***

Проведен цитогенетический анализ трёх возрастных групп коров украинской чёрно-пёстрой молочной породы, которые содержались в разных радиоэкологических условиях. Выявлено повышенное количество лимфоцитов с микроядрами у двух групп животных, которые содержались в условиях влияния хронического низкодозового ионизирующего облучения, в сравнении с контрольной группой. У исследуемого крупного рогатого скота, содержащегося в зоне усиленного радиационного давления, наблюдалось увеличение количества лимфоцитов с микроядрами у животных старшей возрастной категории на 64 % в сравнении с коровами средней возрастной группы.

*Ключевые слова:* *Bos taurus*, микроядра, хроническое низкодозовое облучение, апоптоз, украинская чёрно-пёстрая молочная порода, двухъядерный лимфоцит, крупный рогатый скот.

Развитие мясного скотоводства в Украине рассматривают как проблему государственного значения. Молочное скотоводство — одна из ведущих отраслей животноводства Украины, назначение которой — обеспечить производство молочных продуктов в объемах, соответствующих нормам государственной продовольственной безопасности. Стратегия развития молочного скотоводства направлена на увеличение продуктивности животных и качества продукции, улучшение генофонда крупного рогатого скота (КРС) [1]. Авария на Чернобыльской АЭС негативно повлияла на состояние животноводства. В некоторых регионах Украины уровень радиоактивного загрязнения остается повышенным. Но в зоне усиленного радиационного давления и далее продолжается разведение сельскохозяйственных животных [2]. Накопление опасных радионуклидов приводит к значительному ухудшению состояния поголовья сельскохозяйственных животных. Под влиянием длительного радиационного фактора малой интенсивности в организме животных возникают патологические изменения течения метаболических процессов, снижение иммунитета и производительности [3–5].

Низкие дозы радиации влияют на все системы организма, но особенно большую значимость приобретает его влияние на иммунную систему, поскольку основными функциями иммунной системы являются защита организма от воздействия чужеродных антигенов и контроль за поддержанием генетического постоянства внутренней среды организма [4]. Генетические последствия действия радионуклидов могут сводиться не только к повреждению собственно молекулы ДНК, но и реализуются на надхромосомном уровне, путем воздействия на системы клеточного деления и повреждения механизмов передачи генетической информации дочерним клеткам [6]. Как правило, при определении генотоксических эффектов в клетках периферической крови анализируют частоту цитогенетических аномалий в метафазных пластинках (полиплоидные, анеуплоидные клетки, метафазы с различными типами хромосомных aberrаций). Однако при подобном подходе необходимо культивирование в питательной среде с добавлением стимуляторов клеточного деления и антибиотиков, поскольку клетки периферической крови спонтанно делятся очень редко. Такая предварительная обработка может искажать результаты оценки исходных мутационных спектров, потенциально индуцируя дополнительные мутации, и, кроме того, требует больше времени и ресурсов. Поэтому использование с подобной целью различных вариантов микроядерного теста более перспективно [7]. Важным аспектом является не только диагностика вызванных радиацией генетических нарушений у организма, который непосредственно испытал влияние действия хронического низкодозового ионизирующего облучения, но и вероятность их передачи следующим поколениям. В связи с этим цель наших исследований — цитогенетический мониторинг популяции сельскохозяйственных животных, включающий в себя долгосрочный контроль состояния генофондов во времени (в разрезе поколений) и в пространстве (популяции с разных территорий).

## Материалы и методы исследования

Нами были проанализированы цитогенетические показатели коров украинской черно-пёстрой молочной породы, содержащихся на территориях с разным уровнем радиации. Исследовали КРС Харьковской и Киевской областей Украины: ГПОХ (Государственное предприятие — опытное хозяйство) «Гонтаровка» Волчанского района Харьковской области (с дозой загрязнения 8–16 мкР/ч) и СХГК (Сельскохозяйственный государственный кооператив) «Мрия» в с. Горностайполь Иванковского района Киевской области. СХГК «Мрия» находится в зоне действия хронического низкодозового ионизирующего облучения (24–96 мкР/ч).

Для проведения исследований в каждом из предприятий мы использовали животных женского пола, распределив их по возрасту на три подопытные группы: 1 группа (7–9 лет), 2 группа (4–6 лет) и 3 младшая возрастная группа (12–18 месяцев). В ГПОХ «Гонтаровка» мы отобрали 10 пар (30 животных), в СХГК «Мрия» — 6 пар (18 животных). Цитогенетические препараты готовили по методике, описанной А.Шельовим и В.Дзицюк [8].

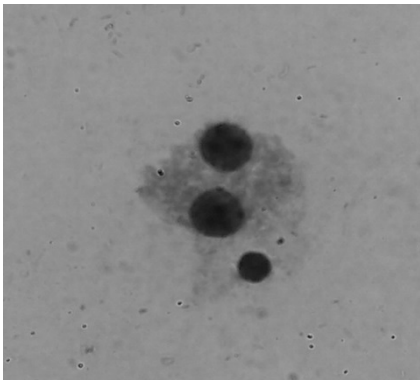


Рисунок 1. Двухъядерный лимфоцит (ДЯ)

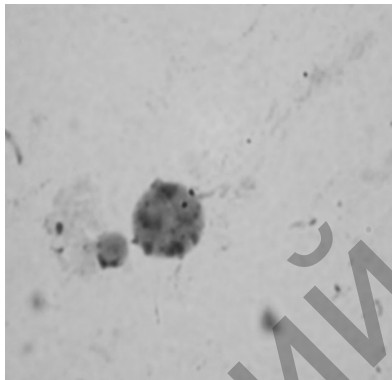


Рисунок 2. Лимфоцит с микроядром (МЯ)



Рисунок 3. Апоптоз клетки

В процессе исследований мы учитывали следующие показатели: частоту делящихся клеток (митотический индекс, МИ), двухъядерных клеток (ДЯ, рис. 1), клеток с микроядрами (МЯ, рис. 2), апоптозом (А, рис. 3) на 1000. Для каждого животного было рассмотрено не менее 3000 клеток. Препараты исследовали под бинокулярным микроскопом (увеличение  $\times 1000$ ). Статистическую обработку данных проводили при использовании *t*-критерия Стьюдента.

## Результаты и обсуждение

Результаты цитогенетического анализа *Bos taurus*, которые содержались при хроническом ионизирующем облучении и в контрольных условиях, представлены ниже в таблице.

Т а б л и ц а

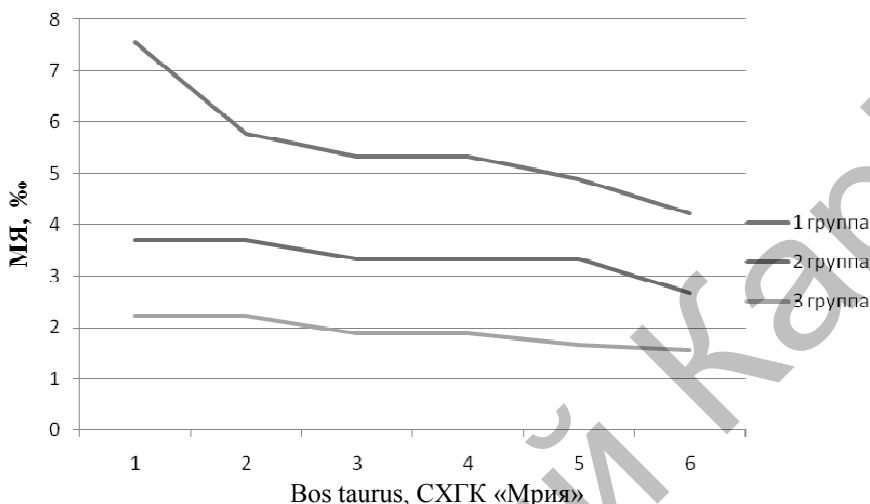
## Цитогенетические показатели коров украинской чёрно-пёстрой молочной породы

№ группы	МЯ, %	ДЯ, %	Апоптоз, %	МИ, %
Контроль (ГПОХ «Гонтаровка», $n = 10$ )				
1	2,76 $\pm$ 0,47**	2,19 $\pm$ 0,43	1,83 $\pm$ 0,27	4,54 $\pm$ 1,13**
2	2,55 $\pm$ 0,4**	2,28 $\pm$ 0,27	1,6 $\pm$ 0,18	4,68 $\pm$ 0,87*
3	1,94 $\pm$ 0,2	2,61 $\pm$ 0,25	1,36 $\pm$ 0,20	6,03 $\pm$ 0,77
Территория с хроническим низкодозовым ионизирующим облучением (СХГК «Мрия», $n = 6$ )				
1	5,5 $\pm$ 1,1**	1,93 $\pm$ 0,71	1,63 $\pm$ 0,41	3,06 $\pm$ 0,55**
2	3,3 $\pm$ 0,4**	2,24 $\pm$ 0,47	1,66 $\pm$ 0,21	3,52 $\pm$ 0,19*
3	1,9 $\pm$ 0,2	2,56 $\pm$ 0,42	1,38 $\pm$ 0,35	5,31 $\pm$ 0,25

Примечание. \* $P > 0,95$ ; \*\* $P > 0,999$ .

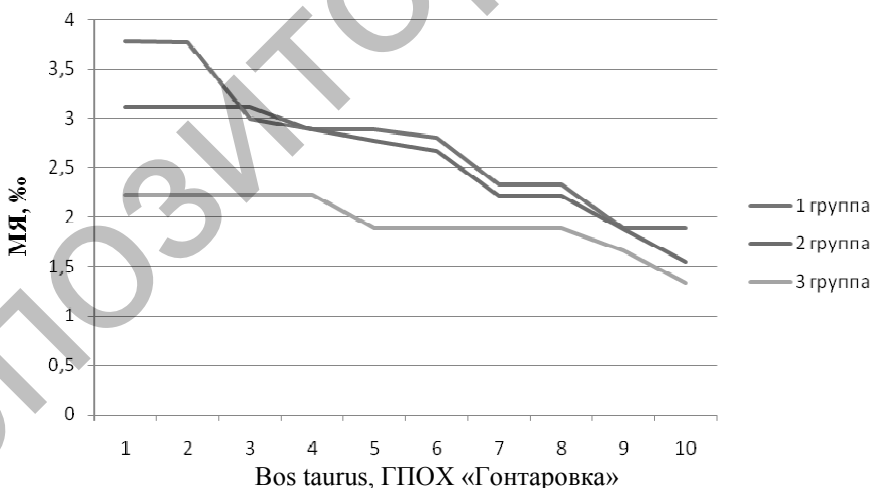
Данные таблицы свидетельствуют о том, что для исследованных коров украинской черно-пёстрой молочной породы, содержащихся в хозяйствах «Мрия» и «Гонтаровка», характерна широкая

изменчивость количества клеток с микроядрами и митотическим индексом. Наименьшее количество клеток с микроядрами было обнаружено у животных второй группы. Следует отметить отсутствие статистически достоверной разницы между проанализированными показателями у животных группы № 3 из разных радиоэкологических зон. Тем не менее, мы зафиксировали различия в цитогенетических показателях животных первой и второй групп хозяйств «Гонтаровка» и «Мрия». У *Bos taurus* группы № 2 с ГПОХ «Гонтаровка» уровень клеток с МЯ составил  $2,55 \pm 0,4 \%$ , МИ —  $4,68 \pm 0,87 \%$ , что достоверно больше показателей у животных той же возрастной категории, полученных из СХГК «Мрия» (МЯ  $3,3 \pm 0,4 \%$ , МИ —  $3,52 \pm 0,19 \%$ ).



Индивидуальные показатели отдельных животных размещены от максимума к минимуму в каждой возрастной группе: 1 группа (животные 7–9 лет); 2 — (4–6 года) и группа 3 (младшая возрастная группа, 12–18 месяцев)

Рисунок 4. Частота клеток крови с микроядрами у животных украинской чёрно-пёстрой молочной породы при хроническом низкодозовом ионизирующем облучении



Индивидуальные показатели отдельных животных размещены от максимума к минимуму в каждой возрастной группе: 1 группа (животные 7–9 лет), 2 — (4–6 года) и группа 3 (младшая возрастная группа, 12–18 месяцев)

Рисунок 5. Микроядерный показатель контрольной группы коров украинской чёрно-пёстрой молочной породы

Анализируя показатели количества клеток с микроядрами у исследованных животных, можно сделать вывод, что они не превышают показателей, характерных для животных этой породы (МЯ  $6,0 \pm 0,6 \%$  и ДЯ —  $6,0 \pm 0,5 \%$ ) [9]. Самый высокий уровень клеток с МЯ был обнаружен у *Bos taurus* группы 1 из СХГК «Мрия» —  $5,5 \pm 1,1 \%$ . У животных старшей возрастной группы (группа 1) также

зафиксировано достоверное увеличение показателей количества МЯ и ДЯ у КРС, поддающегося облучению ( $5,5 \pm 1,1$  %), в сравнении с контролем ( $2,76 \pm 0,47$  %).

Полученные нами данные цитогенетического мониторинга о повышении количества клеток с МЯ у животных, которые содержались на территориях радиационного давления, совпадают с данными других авторов [4, 9, 10]. Так, по результатам Л.Ф.Стародуб (2009 г.), у КРС с различных радиоэкологических территорий Украины установлено статистически достоверное увеличение частоты лимфоцитов с микроядрами в сравнении с животными контрольной группы [10].

У животных, содержащихся в условиях хронического низкодозового ионизирующего облучения, нами была зафиксирована тенденция значительного увеличения микроядерного показателя с возрастом, между животными 1 и 2 групп (рис. 4) на 64 %. У животных с ГПОХ «Гонтаровка» подобная тенденция не так сильно выражена (рис. 5). Разница между микроядерными показателями 2 и 3 групп составила 24 %.

На количество клеток с микроядрами существенно влияют возраст животного и условия окружающей среды. Увеличение различий микроядерного показателя с возрастом может быть обусловлено тем, что животные, выросшие на загрязненных радионуклидами территориях, подвергаются постоянному внешнему и внутреннему облучению, и с возрастом резистентность организма к мутагенным факторам снижается.

#### Заключение

Проведенный цитогенетический мониторинг животных свидетельствует об увеличении количества клеток с микроядрами у животных, содержащихся в условиях хронического воздействия низких доз радиации. Изучение цитогенетических показателей разных возрастных групп КРС в различных радиоэкологических условиях позволяет прогнозировать цитогенетические показатели соматического мутагенеза у животных, выращенных в условиях действия хронического низкодозового облучения.

#### Список литературы

- 1 Кабінет міністрів України. Постанова. [Про затвердження Державної цільової програми розвитку українського села на період до 2015 року. Із змінами, внесеними згідно з Постановою КМ N 1390, 1390–2011-п, від 28.12.2011.] від 19 вересня 2007 р. N 1158. — Київ, 2011.
- 2 Юшкевич Е.А. Влияние чернобыльской катастрофы на развитие сельскохозяйственного производства // Окружающая среда и менеджмент природных ресурсов: Тез. докл. II Междунар. конф. — Тюмень, 2011. — С. 60–62.
- 3 Барыкин В.Г. Генетический груз и его мониторинг в популяциях сельскохозяйственных животных // Ветеринарная медицина. — 2011. — № 3–4. — С. 29–30.
- 4 Михеева Е.А. Интенсивность роста молодняка симментальского голштинизированного скота в зависимости от уровня радиации // Вестн. ОрелГАУ. — 2011. — № 6 (11). — С. 51–53.
- 5 Яблоков А.В. Миф о безопасности малых доз радиации // Центр экологической политики России. Программа по ядерной и радиационной безопасности СоЭС. — М., 2002. — 178 с.
- 6 Кузьменко Е.В. Современные подходы к определению групповой и индивидуальной радиочувствительности организма // Ученые записки Таврического нац. ун-та им. В.И.Вернадского. Сер. Биология, химия. — Симферополь, 2011. — Т. 24 (63). — № 1. — С. 109–122.
- 7 Глазко Т.Т., Столтовский Ю.А., Глазко В.И. Генотипические и паратипические факторы, влияющие на результаты микроядерного теста // Сельскохозяйственная биология. — 2010. — № 6. — С. 30–34.
- 8 Шельов А.В., Дзіцюк В.В. Методика приготування метафазних хромосом лімфоцитів периферійної крові тварин: метод рекомендації наукових досліджень із селекції, генетики та біотехнології. — Київ: Аграрна наука, 2005. — 240 с.
- 9 Сафонова Н.А., Глазко Т.Т. Меж- и внутрипородная цитогенетическая нестабильность у крупного рогатого скота // Збірник наукових праць Інституту агроєкології та біотехнології УААН, 2000. — № 4. — С. 198–209.
- 10 Стародуб Л.Ф. Нестабильность генома — один из путей эволюции кариотипа у крупного рогатого скота // Современные проблемы эволюционной биологии: Междунар. науч.-метод. конф., посвящ. 200-летию со дня рожд. Ч.Дарвина и 150-летию выхода в свет «Происхождения видов». — Брянск, 2009. — Т. 11. — С. 278–282.

Е.В.Фёдорова, С.А.Костенко

### ***Bos taurus* қанының цитогенетикалық көрсеткіштеріне радиоэкологиялық жағдайларда болуының әсері**

Әр түрлі радиоэкологиялық жағдайда ұсталған жасы үлкен-кішілігіне қарай 3 топқа бөлінген украиндік кара-шұбар тұқымды сиырларға цитогенетикалық сараптама жүрізілді. Бақылау топпен салыстырғанда аз мөлшерде иондармен ұзаққа созылған сәулелендіру жағдайында ұсталған малдың екі тобында микроядролы лимфоциттердің жоғары мөлшері анықталған. Күшейтілген радиациялық қысым аймағында ұсталған жасы үлкен малда жасы орта сиырлармен салыстырғанда микроядролы лимфоциттердің мөлшері 64 % көбейгені дәлелденді.

E.V.Fedorova, S.A.Kostenko

### **Influence of radio-ecological conditions on the cytogenetic indexes of blood of *Bos taurus***

Cytogenetic analysis of three generations of cows Ukrainian black-speckled dairy cattle that were in different radio-ecological conditions. The increase of the number of lymphocytes with micronuclei, two generations of animals, which were kept under the influence of chronic low-dose ionizing radiation as compared with the control group. In cattle, the area contained in the amplified radiation pressure increase in the number of lymphocytes found with micronuclei in the animals of the first generation (P) by 64 % compared with cows of the first generation (F1).

#### References

- 1 *Resolution of Cabinet of ministers of Ukraine No. 1158*, Kiev, 2011.
- 2 Yushkevich E.A. *Environment and natural resources management*: Conf. proc., Tyumen, 2011, p. 60–62.
- 3 Barykin V.G. *Veterinary medicine*, Moscow, 2011, 3–4, p. 29–30.
- 4 Micheeva E.A. *Vestnik OrelGaU*, 2011, 6 (11), p. 51–53.
- 5 Yablokov A.V. *Center for Russian Environmental Policy. Program on nuclear and radiation safety SEU*, Moscow, 2002, 178 p.
- 6 Kuzmenko E.V. *Proceedings of the Vernadsky Tauride National University, Series Biology, Chemistry*, Simferopol, 2011, 24(63), 1, p. 109–122.
- 7 Glazko T.T., Stolpovski Yu.A., Glazko V.I. *Agricultural biology*, 2010, 6, p. 30–34.
- 8 Sheliov A.V., Dzitsyuk V.V. *Method of preparation of metaphase chromosomes of peripheral animal blood lymphocytes*, Kiev: Agrarna Nauka, 2005, 240 p.
- 9 Safonova N.A., Glazko T.T. *Collection of Scientific Papers of the Institute of Agroecology and Biotechnology UAAS*, 2000, 4, p. 198–209.
- 10 Starodub L.F. *Contemporary Problems of evolutionary biology*: Conf. proc., Bryansk, 2009, 11, p. 278–282.

#### Сведения об авторах

**Фёдорова Е.В.** — аспирант кафедры разведения и генетики животных им. М.А.Кравченка, Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев.

**Костенко С.А.** — кандидат биологических наук, доцент, Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев.

#### Information about authors

**Fedorova E.V.** — Graduate student of the Chair of animal breeding and genetics named after M.A.Kravchenok, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kiev.

**Kostenko S.A.** — Candidate of biological sciences, Docent, National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kiev.