

ХРОМОСОМНИЙ ПРОФІЛЬ СВИНЕЙ ПОРІД ВЕЛИКА БІЛА І ЛАНДРАС

В. В. ДЗІЦЮК, доктор сільськогосподарських наук,

<https://orcid.org/0000-0001-9697-4165>

Інститут розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця НААН

E-mail: valentynadzitsiuk@gmail.com

О. Є. ГУЗЄВАТИЙ, кандидат біологічних наук

Президія Національної академії аграрних наук

Х. Т. БРАТИЦЯ, доктор філософії

Інститут розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця НААН

<https://doi.org/10.31548/dopovidi2022.06.001>

Анотація. Числові і структурні зміни у каріотипі часто є причиною суттєвого погіршення життєздатності, репродуктивної і продуктивної здатності сільськогосподарських тварин та призводять до появи у них фенотипових потворностей. Однак у свиней частота і спектр хромосомних аберацій досліджені недостатньо.

Стаття присвячена дослідженню хромосомного профілю свиней порід велика біла і ландрас.

Аналіз каріотипу проводили на препаратах метафазних хромосом, отриманих із лімфоцитів периферійної крові за загальноприйнятою методикою. В аналіз метафазних клітин включали такі цитогенетичні показники: частоту анеуплоїдних і поліплоїдних клітин, частоту клітин з структурними абераціями хромосом (хромосомні розриви, фрагменти хромосом, асоціації хромосом).

У результаті досліджень виявили каріотипові зміни геномного типу (анеуплоїдія і поліплоїдія) та структурні аберації хромосом (фрагменти, розриви, асоціації хромосом). Встановили, що загальна частота аберантних клітин у свиней породи ландрас достовірно перевищує таку у тварин великої білої породи. Варіативність частоти поліплоїдних клітин – від $4,50 \pm 1,6$ до $7,84 \pm 2,6$; анеуплоїдних – від $3,0 \pm 1,8$ до $5,6 \pm 2,9$; частоти розривів хромосом – від $2,8 \pm 1,3$ до $2,9 \pm 1,7$. Виявлено у каріотипі окремих тварин центричні злиття хромосом 15 і 17 та 16 і 17. У даних свиней діагностований понижений рівень відтворної здатності.

Встановлено, що за рівнем хромосомної нестабільності переважають свині породи ландрас, причиною чого є особливості селекційної роботи з даною породою. Для попередження накопичення генетичних дефектів у стадах племінних свиней необхідно проводити систематичний цитогенетичний контроль.

Ключові слова: свиня (*Sus scrofa*), велика біла порода, ландрас, каріотип, аберації хромосом

Актуальність. Числові і структурні зміни у каріотипі сільськогосподарських тварин часто є причиною суттєвого погіршення їх життєздатності, репродуктивної і продуктивної здатності та призводять до появи фенотипових потворностей [1, 2]. Порушення каріотипу зустрічаються практично у всіх видів ссавців, однак невелика їх кількість не призводить до негативних наслідків. Домашня свиня (*Sus scrofa domestica*) має більшу частку хромосомних перебудов, порівняно з іншими видами сільськогосподарських тварин [3, 4], які тісно пов'язані із різними фенотиповими аномаліями, такими як гермафродитизм і вроджені потворності, а також із зниженням багатоплідності [5].

Для зменшення цитогенетичного браку у багатьох країнах світу успішно виконуються програми цитогенетичного скринінгу племінного поголів'я свиней, завдяки чому створюються умови для запобігання розмноження носіїв хромосомних аномалій, що має явну економічну вигоду [6].

Однак, частота і спектр каріотипових порушень у свиней різних порід, а також закономірності їх появи до нинішнього часу залишаються малодослідженими.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. У геномі свиней ідентифіковано понад 200 різних структурних перебудов хромосом

[7, 8]. Поширеність структурних хромосомних перебудов варіюється в діапазоні від 0,47 % до 3,3 % і значною мірою залежить від доступу до скринінгових лабораторій, які ідентифікують носіїв та видаляють уражених кнурів-носіїв із селекційного процесу [9, 10, 11]. Відомо, що у свині відбуваються різноманітні хромосомні перебудови, включаючи реципрокні транслокації, частка яких становить 80 % усіх виявлених структурних перебудов, робертсонівські транслокації, тандемні злиття, інверсії та делеції хромосом [7, 12, 13]. Транслокації робертсонівського типу, зокрема $gob(13; 17)$, є характерною ознакою дикого кабана, який, як відомо, має диплоїдне число хромосом $2n = 36$ або $2n = 37$ у випадку гібридизації з домашніми свиньми [14]. У домашніх свиней робертсонівські транслокації, і особливо тандемні злиття, є відносно рідкісними хромосомними явищами. Описано у свині лише сім випадків робертсонівських транслокацій [15, 16].

Матеріали і методи дослідження. Дослідження проведені у відділі генетики і біотехнології тварин Інституту розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця НААН. Матеріалом для досліджень слугувала периферійна кров самок свиней. Для приготування препаратів хромосом цільну венозну кров культивували впродовж 48 годин за температури $+37^{\circ}\text{C}$ в середовищі

Дзіцюк В. В., Гузеватий О. Є., Братиця Х. Т.

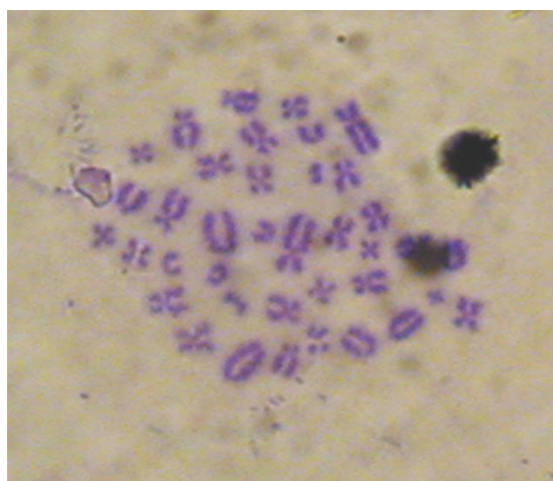
RPMI 1640 («Sigma», США) з додаванням 0,1 мл/мл ФГА (фітогемаглютинин, «Sigma», США) і 15 % ембріональної телячої сироватки. За дві години до закінчення терміну культивування для припинення ділення клітин вносили колхіцин («Serva», Німеччина). Центрифугуванням отримували осад клітин, який обробляли гіпотонічним розчином KCl (0,075 M) упродовж 20 хв. Фіксацію клітин здійснювали у трьох змінах суміші метанол-оцтової кислоти у співвідношенні 3:1. Отриману у останній порції фіксатора клітинну суспензію бажаної густини краплями наносили на охолоджене зволожене предметне скло. Для рутинного фарбування хромосом використовували 2 %-ний розчин Гімза («Merk», Німеччина).

Аналізували не менше 50 метафаз від кожної тварини.

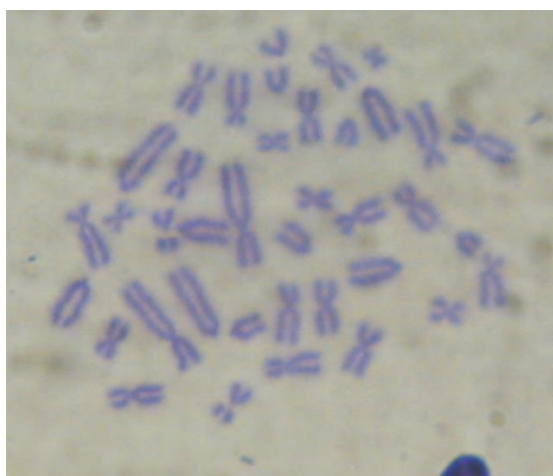
Статистичну обробку експериментальних даних здійснювали за допомогою Office Excel 2003.

Результати досліджень та їх обговорення. Аналіз препаратів хромосом двох груп свиней порід великої білої і ландрас показує, як і свідчать результати досліджень інших вчених, що у більшості клітин міститься по 38 хромосом (рис.1) і, таким чином, у нашому дослідженні 71 із 75 досліджених тварин мають нормальний каріотип.

Для аналізу каріотипу свиней ми використовували препарати відмінної якості, звертаючи особливу увагу на ступінь спіралізації хромосом, розкид їх на предметному склі та кількість цитоплазми навколо них.



а)



б)

Рис. 1. Каріотипи свиней у нормі: а) кнур 9862 породи ландрас; б) свині 7655 породи велика біла. Збільшення: об. $\times 100$; ок. $\times 10$

Порівняльний аналіз каріотипів свідчить статистичну значимість різниці ($p < 0,001$) між групами свиней

порід велика біла і ландрас за частотою аберантних клітин з перевагою останніх ($7,63 \pm 0,17$), у

Дзіцюк В. В., Гузеватий О. Є., Братиця Х. Т.

яких цей показник складає $7,63 \pm 0,17$
(таблиця).

Цитогенетичні показники свиней різних порід

Порода			велика біла	ландрас
Число тварин			42	33
Число досліджених метафаз			1650	1200
Всього аберантних клітин			5,63±0,17	7,11±0,05
Частота геномних аберацій, %	Анеуплоїдія за рахунок втрати:	аутосом	3,0±1,8	5,6±2,9
		статевих хромосом	1,0±0,03	—
	поліплоїдія		4,50±1,6	7,84±2,6
Частота хромосомних аберацій, %	розриви		2,8±1,7	2,9±1,3
	фрагменти		2,4±1,8	2,7±0,7
Асоціації хромосом			1,6	—
ПРЦХ			3,30±1,9	5,21±1,8

Спектр числових порушень каріотипу в усіх групах представлений полі- та анеуплоїдними клітинами. Водночас поліплоїдні клітини мають в основному три- і тетраплоїдний набір. Більша частота поліплоїдних клітин спостерігається у свиней породи ландрас, порівняно із особинами великої білої породи ($p < 0,001$).

Така ж тенденція виявляється і за рівнем анеуплоїдії. Анеуплоїдних клітин у ландрасів зафіксовано майже у вдвічі більше, ніж у свиней великої білої ($p < 0,001$). В пулі анеуплоїдних клітин виявили приблизно однакову кількість гіпоплоїдних і гіперплоїдних клітин, причому суттєво переважають клітини з нестачею однієї хромосоми ($2n=37$). Це свідчить, що в даному дослідженні анеуплоїдія є істинною, а не утвореною внаслідок порушень методики приготування препаратів хромосом.

Аналіз каріотипів досліджених груп свиней виявив різні хромосомні аберації – асоціації і транслокації хромосом, хромосомні розриви і фрагменти (рис. 2).

Розриви хромосом у обох груп досліджених свиней зустрічаються з однаковою частотою – майже 3 %. Відомо, що розриви характеризуються порушеннями цілісності ДНК, які проявляються у метафазі. Співпадіння двох розривів у часі і просторі інтерфазного ядра призводить до об'єднання розірваних ділянок між собою з виникненням обмінних конфігурацій.

У каріотипах окремих свиноматок ми виявили два різні центричні злиття хромосом: у свиноматки № 7659 породи ландрас – робертсонівську транслокацію $rob\ 15/17$, а у свиноматки № 2817 породи велика біла – асоціацію хромосом 16 і 17. У даних свиней діагностований понижений рівень відтворної

Дзіцюк В. В., Гузеватий О. Є., Братиця Х. Т.

здатності, причиною якої, очевидно, є порушення розходження хромосом у мейозі.

Серед досліджених тварин нами не виявлено особин із видимими за рутинного фарбування реципрокними транслокаціями, які змінюють морфологію хромосом. Для виявлення реципрокних транслокацій, які не змінюють видиму морфологію хромосом, необхідно проводити диференційне фарбування. Отримані нами результати G-banding не були достатньо якісними для точної ідентифікації даних транслокацій.

Літературні дані і власні дослідження певною мірою встановили специфічність і маркерність ознаки «передчасне розходження центромерних районів хромосом» у мітозі (ПРЦХ). У породному значенні ознаку ПРЦХ, очевидно, можна розглядати як виразник селекційних процесів. У

нашому дослідженні у ландрасів частота ПРЦХ на 35,5 % зустрічається частіше, ніж у особин великої білої породи, що свідчить про розбалансованість генотипу тварин цієї дослідженої групи і вказує на особливості селекційної роботи з ними. Правомірність такого припущення підтверджує і показник співвідношення хромосомних і хроматидних аберацій, який у ландрасів складає 1:1,5. У великої білої це співвідношення виявлено як 1:1. Аналіз родоводів свиноматок породи ландрас, яких було відібрано у групу для даного дослідження, підтвердив дане припущення: тварини були отримані шляхом міжпородного схрещування. А висока частота поліплоїдних клітин у ландрасів (майже вдвічі вища, ніж у свиней великої білої породи) підтверджує їх належність до тварин м'ясного типу продуктивності.

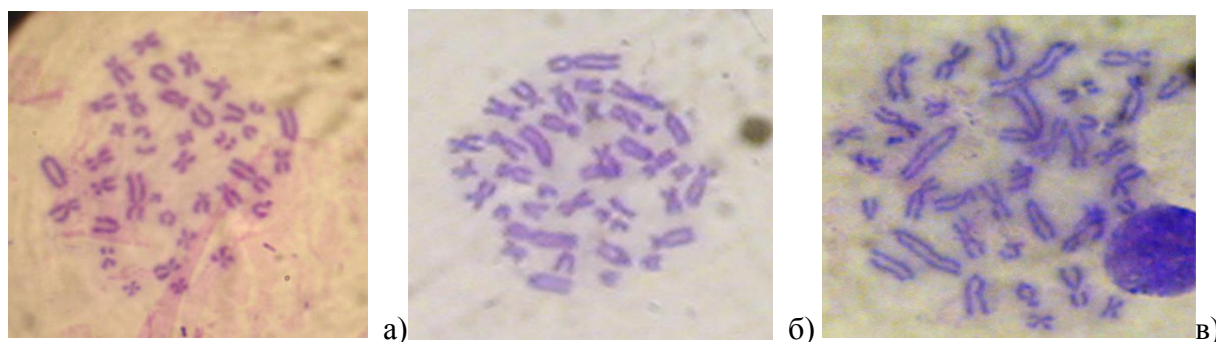


Рис. 2. Каріотиби досліджених свиней: а) кнура 4085 породи ландрас, що має хромосому з розривом; б) свиноматки 7258 породи ландрас з фрагментом хромосоми; в) свиноматки 8741 породи ландрас з асинхронністю розходження центромерних районів хромосом. Збільшення: об. $\times 100$; ок. $\times 10$.

Дзіцюк В. В., Гузеватий О. Є., Братиця Х. Т.

Спектр ознак цитогенетичної мінливості свиней досліджених порід, показаний у вигляді пелюсткової діаграми, ілюструє їх породну індивідуальність. Так, на рисунку для

великої білої характерна витягнутість картини у бік хромосомних і хроматидних розривів і фрагментів, для ландрасів – у бік поліплоїдії (рис.3).

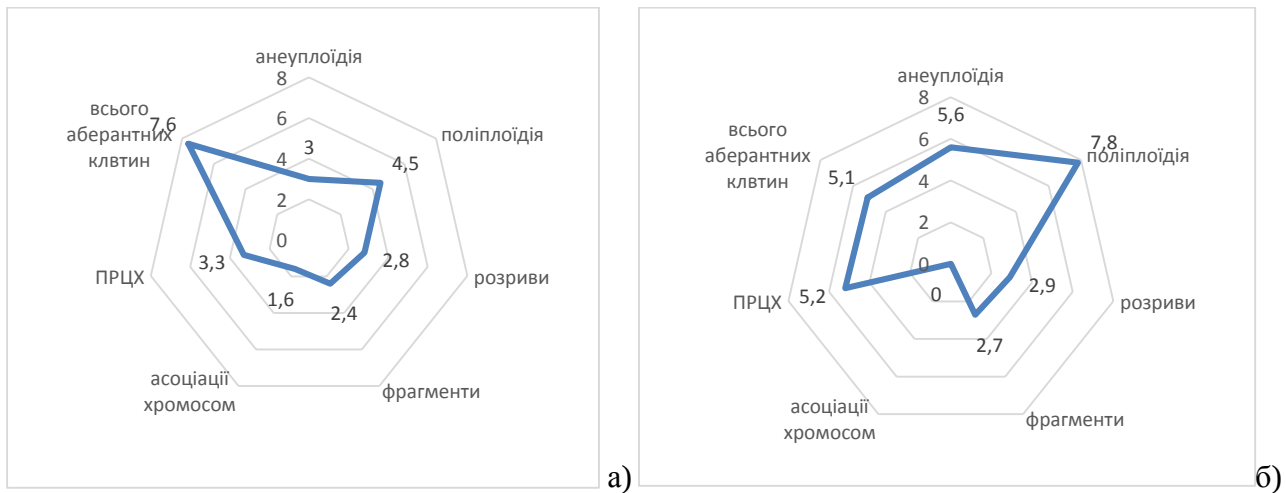


Рис. 3. Розподіл цитогенетичних показників у різних за напрямом продуктивності популяціях свиней: а) велика біла порода свиней; б) свині м'ясні (ландрас)

Про схожі результати щодо рівня хромосомної мінливості у свиней повідомляють Rubes et al [17]. Вони відмітили суттєві відмінності між кнурами різних порід за рівнем спонтанної аберантності соматичних хромосом.

Висновки. Аналіз поліморфізму каріотипових ознак свиней двох досліджених груп свиней порід велика біла і ландрас свідчить, що цитогенетичні параметри досліджених свиней варіюють у

такому діапазоні: частота аберантних клітин – від $5,11 \pm 0,05$ до $7,63 \pm 0,17$; частота поліплоїдних клітин – від $4,50 \pm 1,6$ до $7,84 \pm 2,6$; анеуплоїдних – від $3,0 \pm 1,8$ до $5,6 \pm 2,9$; частота розривів хромосом – від $2,8 \pm 1,3$ до $2,9 \pm 1,7$. Очевидно, що за рівнем хромосомної нестабільності переважають свині породи ландрас, причиною чого, на нашу думку, є особливості селекційної роботи з даною породою

Список використаних джерел

1. Quach A.T., Revay T, Villagomez D.A, Macedo M.P, Sullivan A, Maignel L, Wyss S, Sullivan B, King W.A. Prevalence and consequences of chromosomal abnormalities in Canadian commercial swine herds. Genet Sel

Evol. 2016. Vol. 48. No. 1. P. 66. doi: 10.1186/s12711-016-0246-5.

2. Bertrand R., Sarang M., Jenkin J., Kerrigan D., Pommier Y. Differences induction of secondary DNA fragmentation by topoisomerase II inhibitors in human tumor cell

Дзіцюк В. В., Гузеватий О. Є., Братиця Х. Т.

lines with amplified comic expression. *Cancer Res.* 1991. Vol. 51. P.6280- 6285.

3. Donaldson B, Villagomez D.A.F, King W.A. Classical, Molecular, and Genomic Cytogenetics of the Pig, a Clinical Perspective. *Animals (Basel)*. 2021. Vol. 27. No. 11. P. 1257. doi: 10.3390/ani11051257.

4. Ducos A.; Berland H.M.; Pinton A., Guillemot E.; Seguela A., Blanc M.F.; Darre A., Darre R. Nine new cases of reciprocal translocation in the domestic pig (*Sus scrofa domestica* L.). *J. Hered.* 1998. Vol. 89. P.136–142.

5. Gustavsson I. Banding techniques in chromosome analysis of domestic animals. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.* 1980. Vol. 24. P. 245–289.

6. Pinton A., Ducos A., Berland H., Seguela A., Brun-Baronnat C., Darré A., Darré R., Schmitz A., Yerle, M. Chromosomal Abnormalities in Hypoprolific Boars. *Hereditas.* 2004. Vol. 132. P. 55- 62.

7. Raudsepp T., Chowdhary B.P. Cytogenetics and chromosome maps. In the *Genetics of the Pig*, 2nd ed.; CABI: Wallingford, UK. 2011. 134–17.

8. Donaldson B., Villagomez D.A., Revay T., Rezaei S., King W.A. Non-Random distribution of reciprocal translocation breakpoints in the pig genome. *Genes.* 2019. No.10. P. 769.

9. Ducos A., Berland H.M., Bonnet N., Calgaro A., Billoux S., Mary N., Garnier-Bonnet A., Darré R., Pinton A. Chromosomal control of pig populations in France: 2002–2006 survey. *Genet. Sel. Evol.* 2007. No. 39. P. 583.

10. Ducos A.; Revay T.; Kovacs A.; Hidas A.; Pinton A.; Bonnet-Garnier A.; Molteni L.; Slota E.; Switonski M.; Arruga M.V.; et al. Cytogenetic screening of livestock populations in Europe: An overview. *Cytogenet. Genome Res.* 2008. No. 120. P. 26–41.

11. Sánchez-Sánchez R.; Gómez-Fidalgo E.; Pérez-Garnelo S.; Martín-Lluch M.; De La Cruz-Vigo P. Prevalence of chromosomal aberrations in breeding pigs in Spain. *Reprod. Domest. Anim.* 2019. Vol. 54. P. 98–101.

12. Basrur P.; Stranzinger G. Veterinary cytogenetics: Past and perspective. *Cytogenet. Genome Res.* 2008. Vol. 120. P. 11–25.

13. Ducos A.; Berland H.-M.; Bonnet N.; Calgaro A.; Billoux S.; Mary N.; Garnier-Bonnet A.; Darré R.; Pinton A. Chromosomal control of pig populations in France: 2002–2006 survey. *Genet. Sel. Evol.* 2007. Vol. 39. P. 583.

14. Rejduch B.; Slota E.; Rozycki M.; Koscielny M. Chromosome number polymorphism in a litter of European wild boar (*Sus scrofa scrofa* L.). *Anim. Sci. Pap. Rep.* 2003. No. 1. P. 57–62.

15. Quach A.T.; Revay T.; Villagomez D.A.F.; Macedo M.P.; Sullivan A.; Maignel L.; Wyss S.; Sullivan B.; King W.A. Prevalence and consequences of chromosomal abnormalities in Canadian commercial swine herds. *Genet. Sel. Evol.* 2016. Vol. 48. P. 1–7.

16. Schwerin M.; Golisch D.; Ritter E. A. Robertsonian translocation in swine. *Genet. Sel. Evol.* 1986. Vol. 18 P.1–7.

17. Rubes J, Horinova Z, Gustavsson I, Borcovec L, Urbanova J. Somatic chromosome mutations and morphological abnormalities in sperms of boars. *Hereditas.* 1991. Vol. 115. No. 32. P.139 –143.

References

1. Quach A.T., Revay T, Villagomez D.A, Macedo M.P, Sullivan A, Maignel L, Wyss S, Sullivan B, King W.A. (2016). Prevalence and consequences of chromosomal abnormalities in Canadian commercial swine herds. *Genet Sel Evol.* Vol. 48. 1, 66. doi: 10.1186/s12711-016-0246-5.

2. Bertrand R., Sarang M., Jenkin J., Kerrigan D., Pommier Y. (1991). Differences induction of secondary DNA fragmentation by topoisomerase II inhibitors in human tumor cell lines with amplified comic expression. *Cancer Res.* 51. 6280- 6285.

3. Donaldson B, Villagomez D.A.F, King W.A. (2021) Classical, Molecular, and Genomic Cytogenetics of the Pig, a Clinical Perspective. *Animals (Basel)*. 27, 11, 1257. doi: 10.3390/ani11051257.

4. Ducos A.; Berland H.M.; Pinton A., Guillemot E.; Seguela A., Blanc M.F.; Darre A., Darre R. (1998). Nine new cases of reciprocal translocation in the domestic pig

Дзіцюк В. В., Гузеватий О. Є., Братиця Х. Т.

(*Sus scrofa domestica* L.). *J. Hered.* 89, 136–142.

5. Gustavsson I. (1980). Banding techniques in chromosome analysis of domestic animals. *Adv. Vet. Sci. Comp. Med.* 24, 245–289.

6. Pinton A., Ducos A., Berland H., Seguela A., Brun-Baronnat C., Darré A., Darré R., Schmitz A., Yerle, M. (2004). Chromosomal Abnormalities in Hypoprolific Boars. *Hereditas.* 132, 55–62.

7. Raudsepp T., Chowdhary B.P. (2011). Cytogenetics and chromosome maps. In the Genetics of the Pig, 2nd ed.; CABI: Wallingford, UK. 134–17.

8. Donaldson B., Villagomez D.A., Revay T., Rezaei S., King W.A. (2019). Non-Random distribution of reciprocal translocation breakpoints in the pig genome. *Genes*, 10, 769.

9. Ducos A., Berland H.M., Bonnet N., Calgaro A., Billoux S., Mary N., Garnier-Bonnet A., Darré R., Pinton A. (2007). Chromosomal control of pig populations in France: 2002–2006 survey. *Genet. Sel. Evol.* 39, 583.

10. Ducos A.; Revay T.; Kovacs A.; Hidas A.; Pinton A.; Bonnet-Garnier A.; Molteni L.; Slota E.; Switonski M.; Arruga M.V. (2008). Cytogenetic screening of livestock populations in Europe: An overview. *Cytogenet. Genome Res.* 120, 26–41.

11. Sánchez-Sánchez R.; Gómez-Fidalgo E.; Pérez-Garnelo S.; Martín-Lluch M.

De La Cruz-Vigo P. (2019). Prevalence of chromosomal aberrations in breeding pigs in Spain. *Reprod. Domest. Anim.* 54, 98–101.

12. Basur P.; Stranzinger G. (2008). Veterinary cytogenetics: Past and perspective. *Cytogenet. Genome Res.* 120, 11–25.

13. Ducos A.; Berland H.-M.; Bonnet N.; Calgaro A.; Billoux S.; Mary N.; Garnier-Bonnet A.; Darré R.; Pinton A. (2007). Chromosomal control of pig populations in France: 2002–2006 survey. *Genet. Sel. Evol.* 39, 583.

14. Rejduch B.; Slota E.; Rozycki M.; Koscielny M. (2003) Chromosome number polymorphism in a litter of European wild boar (*Sus scrofa scrofa* L.). *Anim. Sci. Pap. Rep.* 1, 57–62.

15. Quach A.T.; Revay T.; Villagomez D.A.F.; Macedo M.P.; Sullivan A.; Maignel L.; Wyss S.; Sullivan B.; King W.A. (2016). Prevalence and consequences of chromosomal abnormalities in Canadian commercial swine herds. *Genet. Sel. Evol.* 48, 1–7.

16. Schwerin M. Golisch D. Ritter E. A. (1986) Robertsonian translocation in swine. *Genet. Sel. Evol.* 18, 1–7.

17. Rubes J, Horinova Z, Gustavsson I, Borcovec L, Urbanova J. (1991). Somatic chromosome mutations and morphological abnormalities in sperms of boars. *Hereditas.* 115, 32, 139–143.

CHROMOSOMAL PROFILE OF LARGE WHITE AND LAND BREED PIGS V. Dzitsiuk, O. Guzevatyi, C Bratytsia

Abstract. A cytogenetic study of 75 pigs of the Great White and Landrace breeds was carried out for the analysis of the chromosomal profile.

The research was carried out in the Department of Animal Genetics and Biotechnology of the Institute of Animal Breeding and Genetics named after M.V. Zubtsia of the National Academy of Sciences.

Karyotype analysis was performed on preparations of metaphase chromosomes obtained from peripheral blood lymphocytes according to the generally accepted method. The analysis of metaphase cells included the following cytogenetic parameters: the frequency of aneuploid and polyploid cells, the frequency of cells with structural aberrations of chromosomes (chromosomal breaks, chromosome fragments, chromosome associations).

As a result of research, karyotype changes of the genomic type (aneuploidy and polyploidy) and structural aberrations of chromosomes (fragments, breaks, associations of chromosomes) were found. It was established that the total frequency of aberrant cells in pigs of the landrace breed significantly exceeds that of animals of the large white breed. The variability of the frequency of polyploid cells is from 4.50 ± 1.6 to 7.84 ± 2.6 ; aneuploid - from 3.0 ± 1.8 to 5.6 ± 2.9 ; frequencies of chromosome breaks - from 2.8 ± 1.3 to 2.9 ± 1.7 .

It is obvious that the level of chromosomal instability is dominated by landrace pigs, the reason for which, in our opinion, is the peculiarities of breeding work with this breed. In order to prevent the accumulation of genetic defects in herds of breeding pigs, it is necessary to carry out systematic cytogenetic control during targeted reproduction work.

Key words: pig (*Sus scrofa*), large white breed, landrace, karyotype, chromosome aberrations