АНАЛИЗ КАРИОТИПОВ ДОМАШНЕЙ СОБАКИ (CANIS FAMILIARIS L.)

П.М. Кленовицкий¹, В.Н. Гришин², Е.С. Романов², Л.Л. Алексеева², А.А. Никишов²

¹ГНУ ВИЖ Россельхозакадемии пос. Дубровицы, Московская обл., Подольский район, 142132

²Кафедра стандартизации, метрологии и технологии производства продукции животноводства Российский университет дружбы народов ул. Миклухо-Маклая, 8/2, Москва, Россия, 117198

Описаны кариотипы собак пород шелти и пудель из популяции города Москвы. Приведены данные о хромосомных аномалиях, встречающихся у собак. Описаны случаи химеризма и мозаицизма по половым хромосомам. Показано, что в случае химеризма по половым хромосомам воспроизводительная функция у кобеля была в норме.

Ключевые слова: аберрации, кариотип, мозаицизм, половые хромосомы, собака, химеризм, хромосомы, хромосомные аномалии.

В последние годы резко возрос интерес к собакам как к животным-компаньонам и проблемам их генетики. К сожалению, некоторые аспекты генетики этого вида изучены в меньшей степени по сравнению с другими домашними животными. В отечественной литературе практически отсутствуют работы по цитогенетике собаки [1—3; 5; 6]. Число зарубежных работ, в сравнении с исследованиями хромосом других видов, также относительно невелико.

В кинологии система селекции, с одной стороны, предъявляет жесткие требования к морфологическим характеристикам собаки, но, с другой, отдавая предпочтение выдающимся предкам, влечет за собой риск обеднения генофонда и увеличения генетического груза, включая появление и накопление в породах хромосомных аномалий, в связи с чем в последние годы у домашних животных большое значение придается изучению природы различных наследственных дефектов. У домашних животных детально описаны различные конституциональные аномалии хромосом [1—10]. У собак к настоящему времени известно несколько случаев робертсоновских транслокаций или центрических слияний.

Подробный анализ появления хромосомных аномалий у собак приведен в работе Е.А. Беловой, П.М. Кленовицкого [1]. Первый случай центрического слияния был обнаружен у помесного терьера с множественными аномалиями развития.

В клетках этого животного наблюдали дополнительную двухплечую хромосому, образованную в результате слияния большого и малого акроцентриков (2n=77).

Еще в двух случаях подобная аномалия была обнаружена у собак породы малый пудель с анатомическими дефектами (хондродисплазия и аномалии мочеточников). В последнем случае хромосомная аномалия обнаружена и у матери пробанда. Из 28 родственных между собой собак, имевших Rt 13/23, у двух гомозигот по транслокации отмечена паховая грыжа. Центрические слияния описаны и у фенотипически нормальных собак. У суки (помесь сеттера с ретривером)

обнаружено слияние средних по размерам аутосом. У семи пуделей выявлена робертсоновская транслокация, затрагивающая первую хромосому и один из мелких акроцентриков: пять собак несли эту аномалию в гетерозиготном состоянии (2n=77); у одной в гомозиготном: 2n=76 [1].

Анеуплоидия по аутосомам, встречающаяся у некоторых видов животных [8], у собак неизвестна. Выявлено несколько случаев нарушений в числе половых хромосом, аналогичных изменениям в хромосомном наборе человека при синдроме Клайнфельтера. В двух случаях у таких собак наблюдался гермафродитизм, в двух — псевдогермафродитизм, а в одном — тестикулярная гипоплазия.

У собак отмечена не встречающаяся у других млекопитающих в позднем внутриутробном периоде или на неонатальной стадии аномалия, связанная с частичной или полной полиплоидизацией ряда тканей. У щенка большого мюнстерлендера с гидроцефалией в клетках кожи и почки выявлен мозаицизм 78, XY/156, XXYY. Щенок большого бигля с множественными пороками имел в клетках почки хромосомный набор 117, XXY [1]. Подобные животные рождаются мертвыми или погибают сразу после рождения.

В задачу данного исследования входило проведение цитогенетического анализа у собак из популяции Москвы.

Материал и методы. В настоящее время основным источником препаратов хромосом являются лимфоциты периферической крови. Для стимуляции митотических деление лимфоцитов в цитогенетике используют три лектина: фитогемагглютинин ($\Phi\Gamma A$) — митоген из Phaseolus vulgaris; конканавалин / (CoA) — митоген из Canavalia ensiformii и Pokeweed митоген (PWM) — лектин из Phytolacca amerlcana. Причем отмечена видовая специфичность их действия [7]. У собак для стимуляции митозов используют конканавалин A [5].

Препараты хромосом получали из культуры периферических лимфоцитов, стимулированных к делению конканавалином А. Для культивирования лимфоцитов использовали среду RPMI 1640 (НПП «ПанЭко», Россия, Москва, НМП РАМН). Во все культуры добавляли антибиотик-антимикотик в соотношении 1:100.

Получение и приготовление препаратов хромосом собак проводили по общепринятым методам с рядом модификаций, предложенных нами [5]. Анализ препаратов хромосом проводили с использованием стандартных программ обработки видеоизображений [7]. Для получения и записи изображений хромосом использовали систему Image Scope 1 (CMA; Москва, институт кристаллографии РАН). Для кариотипирования — Adobe Photoshop.

Результаты исследования. В работе исследованы 2 кобеля породы малый пудель и 11 сук пород малый пудель и шелти.

В результате проведенных исследований нами установлено, что у обоих кобелей отсутствовали конституционные нарушения хромосомного набора. Модальное число хромосом было равно 78, аутосомы представленный 38 парами акроцентрических хромосом, образующих плавно убывающий ряд. У одного из кобелей набор половых хромосом во всех клетках соответствовал фенотипическому полу (рис. 1).



Рис. 1. Кариотип домашней собаки. Кобель породы малый пудель

У второго кобеля был обнаружен химеризм по половым хромосомам (XX/XY). В значительной части исследованных лимфоцитов (36,5%) присутствовали две женские хромосомы (рис. 2). Однако в большинстве клеток (63,5%) у этого животного генетический пол, определяемый по набору половых хромосом, соответствовал фенотипическому.

Известно, что у некоторых видов животных, в том числе у крупного рогатого скота [8], химеризм по половым хромосомам сопровождается бесплодием женских особей и снижением репродуктивной функции у самцов. Причина формирования химеризма связана с возникновением сосудистых анастомозов и обменом через них клетками крови между разнополыми партнерами. В качестве одной из причин бесплодия телок рассматривают нарушение формирования женских половых органов под воздействием мужских половых гормонов, поступающих в организм самки через сосудистые анастомозы.

Вместе с тем химерный кобель не имел проблем со здоровьем, от него было получено многочисленное здоровое потомство. Возможно, это обусловлено тем, что химеризм по половым хромосомам возник на поздних стадиях эмбриогенеза либо обмен через анастомозы клеточным материалом и гуморальными факторами не оказывает негативного влияния на репродуктивные качества кобеля. В литературе подобная аномалия у собак не описана. Однако даже о влиянии химеризма на плодовитость быков — несмотря на то, что в данном случае эта хромосомная аномалия изучена достаточно полно — нет единого мнения.



Рис. 2. Метафазная клетка из культуры лимфоцитов кобеля породы малый пудель с женским набором половых хромосом На рисунке X-хромосомы показаны стрелками

У этого же кобеля отмечен повышенный уровень полиплоидии — около 4%. Но мы не склонны рассматривать этот фактор как показатель, характеризующий нежелательную нестабильность кариотипа, хотя такие предположения существуют [8]. Этот показатель [4], скорее всего, в большей мере связан с энергией роста животных, чем с уровнем нарушений в хромосомном наборе при созревании их гамет.

При цитогенетическом обследовании 11 самок установлено, что у всех животных отсутствовали конституционные нарушения хромосомного набора. Кариотип соответствовал видовой норме. Модальное число хромосом было равно 78, аутосомы представлены 38 парами акроцентрических хромосом, образующих плавно убывающий ряд. Однако наблюдался гетероморфизм по длине женских половых хромосом. На рис. 3 приведен нормальный кариотип суки породы шелти, четко видны различия в длине X-хромосом.

У двух сук породы шелти в части клеток выявлены структурные аберрации, включая разрывы и маркерные хромосомы неясной природы. Как показал генеалогический анализ, при выведении этих животных был использован инбридинг в степени 2—2 и 1—2 по Шапоружу. У этих собак и их потомков были отмечены проблемы со здоровьем и гибель их однопометников.

У одной из этих сук в 15,6% клеток была обнаружена дополнительная метацентрическая хромосома по размерам и морфологии сходная с X-хромосомой (рис. 4).

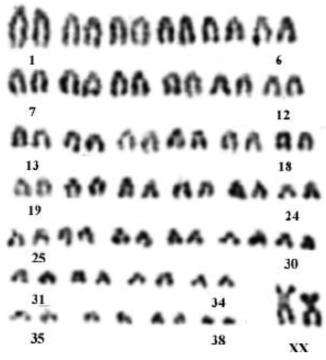


Рис. 3. Кариотип домашней собаки (Сука породы шелти). Четко выражен гетероморфизм половых хромосом



Рис. 4. Метафазная клетка из культуры лимфоцитов суки породы шелти с дополнительной женской половой хромосомой

На рисунке Х-хромосомы показаны стрелками

Число хромосом в этих клетках было равно 79, что позволяет исключить возникновение добавочной хромосомы в результате Робертсоновской трансло-кации. Очевидно, в данном случае имеет место клон клеток с дополнительной X-хромосомой.

Хотя некоторые вопросы цитогенетики собак требуют определенных уточнений, анализ их хромосом представляет практическую ценность, так как позволяет достаточно быстро и точно оценить племенную ценность животного в раннем возрасте. Это позволяет принимать более объективные решения о приобретении собак а также племенном использовании животных и их потомства.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Белова Е. А., Кленовицкий П. М. Методические вопросы цитогенетики собаки (Canis familiaris). Дубровицы, 2003.
- [2] *Блохин Г.И., Гладких М.Ю., Иванов А.А. и др.* Кинология: учебное пособие для вузов. М.: Скрипторий, 2001.
- [3] Графодатский А.С., Раджабли С.И. Хромосомы сельскохозяйственных и лабораторных млекопитающих. Атлас. Новосибирск: Наука, 1988.
- [4] Завада А. Н. Изучение спонтанной изменчивости кариотипа свиней в связи с ранней оценкой их собственной продуктивности: Дисс. ... канд. биол. наук. Дубровицы, 1987.
- [5] *Кленовицкий П.М., Гришин В.Н.* Получение и анализ хромосомных препаратов домашней собаки (Canis familiaris L.) // Теоретические и прикладные проблемы агропромышленного комплекса. 2010. N 1. C. 4—7.
- [6] *Кленовицкий П.М., Гришин В.Н.* Хромосомные аномалии у собак // Теоретические и прикладные проблемы агропромышленного комплекса. 2010. N 2. C. 34—36.
- [7] Кленовицкий П.М., Багиров В.А., Зиновьева Н.А. и др. Цитогенетика животных. М.: Россельхозакадемия, 2008.
- [8] Эрнст Л.К., Жигачев А.И. Мониторинг генетических болезней у животных в системе крупномасштабной селекции. М., 2006.
- [9] Яковлев А.Ф. Цитогенетическая оценка племенных животных. М.: Агропромиздат, 1985.
- [10] *Popescu P.C.* Cytogenetique des mamrniferes d'elevage. Paris, 1989.

KARYOTYPE ANALYSIS OF DOMESTIC DOGS (CANIS FAMILIARIS L.)

P.M. Klenovitsky¹, V.N. Grishin², E.S. Romanov², L.L. Alekseeva², A.A. Nikishov²

¹GNU All-Russian institute of Animal Husbandry of Russian Academy of Agrarian Sciences *Dubrovicy, Moscow reg., Podolsky District, 142132*

²Department of Standardization, Metrology and Technologies in livestock production Peoples' Friendship University of Russia Miklukho-Maclaya str., 8/2, Moscow, Russia, 117198

Karyotypes of sheltie and poodle breeds population of the city of Moscow are given. Describes the data on chromosomal abnormalities that occur in dogs. There are cases of chimerism and mosaicism for sex chromosomes. It is shown that in the case of chimerism on the sex chromosomes of male, reproductive function was normal.

Key words: aberrations, karyotype, mozaitsizm, sexual chromosomes, dog, himerizm, chromosomes, chromosomal anomalies.

REFERENCES

- [1] *Belova E.A., Klenovickij P.M.* Metodicheskie voprosy citogenetiki sobaki (Canis familiaris). Dubrovicy, 2003.
- [2] Blohin G.I., Gladkih M.Ju., Ivanov A.A. i dr. Kinologija: uchebnoe posobie dlja vuzov. M.: Skriptorij, 2001.
- [3] *Grafodatskij A.S. Radzhabli S.I.* Hromosomy sel'skohozjajstvennyh i laboratornyh mlekopitajushhih. Atlas. Novosibirsk: Nauka, 1988.
- [4] Zavada A.N. Izuchenie spontannoj izmenchivosti kariotipa svinej v svjazi s rannej ocenkoj ih sobstvennoj produktivnosti: Diss. ... kand. biol. nauk. Dubrovicy, 1987.
- [5] *Klenovickij P.M., Grishin V.N.* Poluchenie i analiz hromosomnyh preparatov domashnej sobaki (Canis familiaris L.) // Teoreticheskie i prikladnye problemy agropromyshlennogo kompleksa. 2010. N 1. S. 4—7.
- [6] *Klenovickij P.M., Grishin V.N.* Hromosomnye anomalii u sobak // Teoreticheskie i prikladnye problemy agropromyshlennogo kompleksa. 2010. N 2. S. 34—36.
- [7] Klenovickij P.M., Bagirov V.A., Zinov'eva N.A. i dr. Citogenetika zhivotnyh. M.: Rossel'hozakademija, 2008.
- [8] *Jernst L.K.*, *Zhigachev A.I.* Monitoring geneticheskih boleznej u zhivotnyh v sisteme krupnomasshtabnoj selekcii. M., 2006.
- [9] Jakovlev A.F. Citogeneticheskaja ocenka plemennyh zhivotnyh. M.: Agropromizdat, 1985.
- [10] Popescu P.C. Cytogenetique des mammiferes d'elevage. Paris, 1989.