

молочной продуктивностью крупного рогатого скота и могут быть использованы в оценке племенных качеств животных и мониторинге популяций.

Благодарности. Исследования выполнены в рамках Государственного задания Минобрнауки России, тема № 121052600344-8.

Литература 1. Гончаренко, Г. М. Генетическая структура популяций сельскохозяйственных животных Западной Сибири и использование маркеров в селекции: автореф. дис. докт. биол. наук 06.02.01 / Г. М. Гончаренко. – Новосибирск, 2009. – 37 с. 2. Зиновьева, Н. А. Современные методы генетического контроля селекционных процессов и сертификация племенного материала в животноводстве: учебное пособие / Н. А. Зиновьева, П. М. Кленовицкий, С. А. Гладырь, А. А. Никишов – М. РУДН, 2008. – 329 с. 3. Калашиникова, Л. А. ДНК-технологии оценки сельскохозяйственных животных / Л. А. Калашиникова, И. М. Дунин, В. И. Глазко, Н. В. Рыжова, Е. П. Голубина. – Лесные Поляны [ВНИИплем], 1999. – 148 с. 4. Таранов, М. Т. Биохимия и продуктивность животных / М. Т. Таранов. – М. : Колос, 1976. – 240 с. 5. Ахметов, Т. М. Молочная продуктивность коров с разными генотипами бета-лактоглобулина / Т. М. Ахметов, С. В. Тюлькин, Э. Ф. Валиуллина // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. – 2010. – Т. 202. – С. 31-36. 6. Хаертдинов, Р. А. Белки молока / Р. А. Хаертдинов, М. П. Афанасьев, Р. Р. Хаертдинов. – Казань : ИделПресс, 2009. – 256 с. 7. Shin, C. Cell signaling and control of pre-mRNA splicing. / C. Shin, J. L. Manley // Nat. Rev. Mol. Cell. Biol., 2004. P. 727-738. 8. The impact of genetic polymorphisms on the protein composition of ruminant milks / P. Martin, M. Szymanowska, L. Zwierzchowski // Reprod Nutr Dev., 2002. 42(5). 433-459. 9. Blencowe, B. J. Альтернативный сплайсинг: новые идеи глобального анализа / B. J. Blencowe // Cell, 2006. 126, 37-47. 10. Chacko, E. Comprehensive splicing graph analysis of alternative splicing patterns in chicken, compared to human and mouse / E. Chacko, S Ranganathan // BMC Genomics 2009, 10 (Suppl 1). S 5. 11. Hill, R. Molecular markers located on the DGAT1, CAST, and LEPR genes and their associations with milk production and fertility traits in Holstein cattle / R. Hill, K. Bondioli, R. Morell, M. D. Garcia // Genet Mol Res., 2016. 15(1). 12. Brooks, C. L. Molecular mechanisms of prolactin and its receptor / C. L. Brooks // Endocrine Reviews., 2012. 33 (4). 504-525. 13. Triennial Lactation Symposium: Prolactin: The multifaceted potentiator of mammary growth and function / J. F. Trott, [et al.]. – Journal of Animal Science. 2012. 90 (5). 1674-1686. 14. Horseman ND Prolactin. Springer Science & Business Media. – 2012. – pp. 227.

УДК 636.13.082.2

ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ ГЕНА MSTN У ЛОШАДЕЙ ТРАКЕНЕНСКОЙ И ГАННОВЕРСКОЙ ПОРОД

Вишневец А.В., Будревич О.Л.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

*Представлены результаты исследования полиморфизма гена MSTN (миостатин) у лошадей траккененской и ганноверской пород. Наибольшая частота встречаемости аллеля T гена MSTN (0,682 и 0,571) генотипа MSTN^{CT} (57,14 и 48,48 %) установлена у лошадей траккененской и ганноверской пород. **Ключевые слова:** спортивные лошади, ген MSTN, аллель, порода, частота встречаемости, генотип.*

FREQUENCY OF THE MSTN GENE IN HORSES OF TRAKENEN AND HANNOVER BREEDS

Vishnevets A.V., Budrevich A.L.

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus»

*The results of the study of MSTN gene polymorphism (myostatin) in Trakehner and Hanoverian horses are presented. The highest frequency of occurrence of the T allele of the MSTN gene (0.682 and 0.571) of the MSTN^{CT} genotype (57.14 and 48.48%) was found in horses of the Trakenen and Hanoverian breeds. **Keywords:** sport horses, MSTN gene, allele, breed, frequency of occurrence, genotype.*

Введение. Генетический прогресс в селекции животных в значительной мере был обусловлен разработкой технологии полногеномного анализа, позволяющей вызвать локализацию генов, детерминирующих качественные и количественные признаки, а затем изучать их влияние на селекционную оценку животных на примере референтных популяций. Молекулярно-генетические технологии позволяют успешно решать задачу повышения эффективности генотипической оценки животных на основе изучения их наследственных задатков и генетико-биохимических механизмов формирования высокой продуктивности. Сегодня ученые ведут исследования, направленные на выявление генов, детерминирующих выраженность селекционируемых признаков [4].

Спортивные достижения лошадей, как минимум, наполовину обусловлены генотипом и взаимодействием генных комплексов. Среди множества генов, контролирующих продуктивность, можно выделить группу мажорных генов, вносящих наибольший вклад в формирование и функционирование данного количественного признака. У лошадей, овец, крупного рогатого скота к таким генам относится тканеспецифический белок миостатин (MSTN), синтезирующийся в скелетных мышцах [2].

Синтезирующийся в скелетных мышцах тканеспецифический белок миостатин (MSTN) является регулятором роста и дифференциации тканей, начиная с эмбриональной стадии развития. Структурные мутации в этом локусе приводят к эффекту «двойной мускулатуры», наблюдаемому у мясных пород крупного рогатого скота (бельгийская голубая), овец (саффолк, Texel) и борзых собак (уиппет). У лошадей ген MSTN функционирует в большей степени как фактор дифференциации роста тканей и определяет соотношение коротких и длинных волокон в мышцах. Его нуклеотидная последовательность включает несколько экзонов, локализованных в 18-й хромосоме. При секвенировании миостатина у лошадей разных пород было обнаружено 19 различных вариантов его структуры, среди которых с селекционной точки зрения наиболее интересна мутация g.66493737 T>C в первом интроне. Исследования ученых Dierks C. И Petersen J.L. показали, что лошади чистокровной верховой пород с разными типами миостатина имеют разные дистанционные способности вследствие различий в структуре и длине мышечных волокон [3].

Проводя исследования, M.M. Binns et al. [5], E.W. Hill et al. [7], T.A. Tozaki et al. [8], обнаружили у лошадей однонуклеотидную замену (g.66493737C/T) в первом нейтроне гена миостатина, приводящую к чрезмерному развитию мышц.

Целью исследования является изучение частоты встречаемости гена миостатина у лошадей тракененской и ганноверской пород.

Материалы и методы исследований. Материалом для исследований служили биологические пробы (волосяные луковицы) 87 исследуемых лошадей тракененской и ганноверской пород учреждения «Республиканский центр олимпийской подготовки конного спорта и коневодства» Минского района.

ДНК выделяли методом сорбентной экстракции, используя наборы «АртДНК» (ОДО «АртБиоТех», РБ). Для амплификации использовали полимеразную цепную реакцию (ПЦР). Генотипирование лошадей по гену MSTN (миостатин) проводилось методом анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ).

Для амплификации участка гена MSTN использовали прямой и обратный праймеры следующего состава:

MSTN F: 5' – GAG AAG GCA TGA AAC GGA AG– 3';

MSTN R: 5' – TTG ATA GCA GAG TCA TAA AGG AAA AGT A – 3' [6].

Программа амплификации для гена MSTN следующая: «горячий старт» – 3 минут при 95°C, 35 циклов: денатурация – 30 сек. при 95°C, отжиг – 20 сек. при 56°C, синтез – 30 сек. при 72°C; элонгация – 5 минут при 72°C.

Длина амплифицированного фрагмента – 166 п.о.

Для проведения рестрикционного анализа по гену MSTN использовали рестриктазу RsaI (5'GT↓AC3') (Sibenzyme, Россия).

На одну реакцию использовали 205 мкл буфера B, 2,12 мкл воды и 0,5 мкл фермента

RsaI. Рестрикция проводилась в течение 30 минут при температуре 37°C, после чего инактивировали фермент при 66°C в течение 20 минут.

Идентификацию генотипа проводили с помощью горизонтального электрофореза при напряжении 5 В/см геля в 2,5 % агарозе в трисборатном буфере в присутствии интеркалирующего красителя (бромистый этидий) в течение 50 минут.

Расчет частот нуклеотидных замен и генотипов по гену *MSTN* выполнялась с помощью программного обеспечения Microsoft Excel 2010.

Результаты исследований. Спортивное коневодство в республике развивается на базе преимущественного использования лошадей тракененской и ганноверской пород. Поголовье исследуемых лошадей учреждения «Республиканский центр олимпийской подготовки конного спорта и коневодства» (У «РЦОПКСиК») аг. Ратомка отображено на рисунке 1.

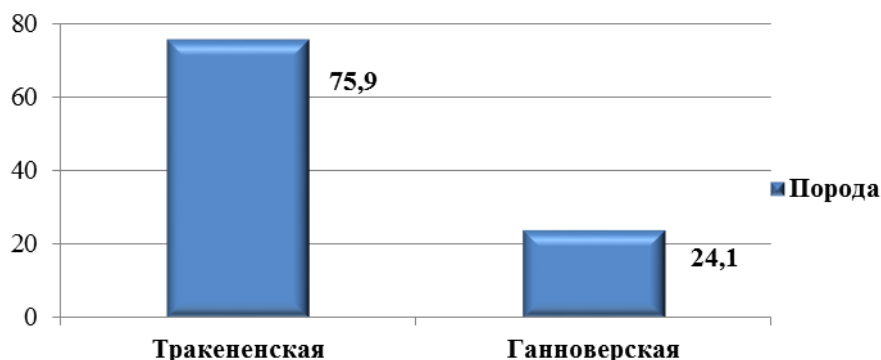


Рисунок 1 – Породная принадлежность исследуемого поголовья лошадей в У «РЦОПКСиК», %

Исследуемое поголовье лошадей в У «РЦОПКСиК» представлено двумя породами: тракененская 75,9 %, или 66 голов, ганноверская 24,1 %, или 21 голова.

В результате проведенного молекулярно-генетического анализа по гену *MSTN* установлено, что среди исследуемых лошадей выявлено 35 голов гомозиготных по аллелю Т, 44 головы гетерозиготных и 8 голов гомозиготных по аллелю С. Из них тракененской породы – 29 голов гомозиготны по аллелю Т, 5 голов – гомозиготны по аллелю С и гетерозиготных – 32 головы. Анализируя результаты ДНК-тестирования лошадей ганноверской породы определили, что 6 лошадей гомозиготны по аллелю Т, 3 головы гомозиготных по аллелю С и 12 лошадей гетерозиготны.

Частота встречаемости аллелей гена *MSTN* у лошадей тракененской и ганноверской пород представлена на рисунке 2.

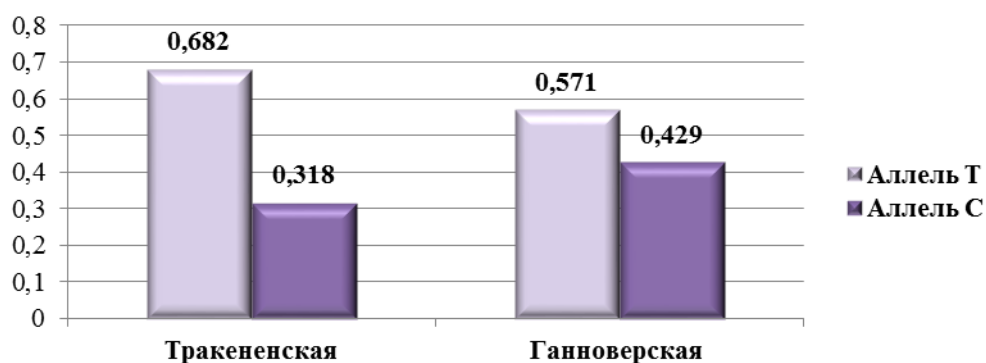


Рисунок 2 – Частота аллелей гена *MSTN* у лошадей верховых пород, ед.

В результате проведенного молекулярно-генетического анализа по гену MSTN установлено, что среди исследуемых лошадей тракененской породы частота встречаемости аллеля Т преобладает и составляет 0,682, а частота встречаемости аллеля С – 0,318. Среди исследуемых лошадей ганноверской породы частота встречаемости аллеля Т также преобладает и составляет 0,571, а частота встречаемости аллеля С – 0,429. В среднем по двум породам частота встречаемости аллеля Т составила 0,655, а аллеля С – 0,345.

Была определена частота встречаемости генотипов гена MSTN у лошадей тракененской и ганноверской пород, которая представлена на рисунках 3 и 4.

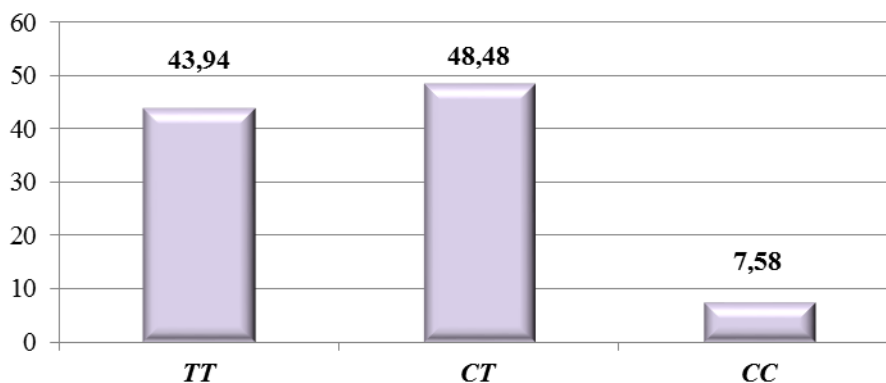


Рисунок 3 – Частота встречаемости генотипов гена MSTN у лошадей тракененской породы, %

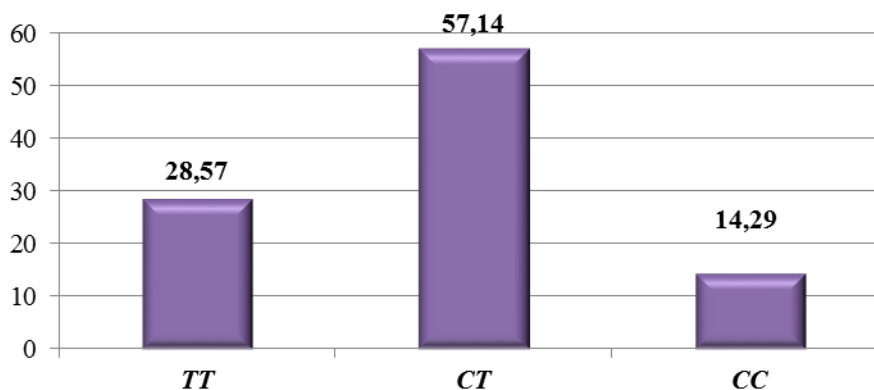


Рисунок 4 – Частота встречаемости генотипов гена MSTN у лошадей ганноверской породы, %

Анализируя данные рисунков 3 и 4, можно сделать вывод, что у лошадей тракененской породы наибольшая частота встречаемости генотипа $MSTN^{CT}$, что составляет 48,48 %, реже встречается генотип $MSTN^{CC}$ – 7,58 %. У лошадей ганноверской породы чаще встречается генотип $MSTN^{CT}$ (57,14 %), реже – $MSTN^{TT}$ (28,57 %) и $MSTN^{CC}$ – 14,29 %.

Закключение. Установлено, что среди исследуемых лошадей тракененской и ганноверской пород преобладает частота встречаемости аллеля Т, что составляет 0,682 и 0,571 соответственно.

Установлено, что у лошадей тракененской и ганноверской пород наиболее часто встречается генотип $MSTN^{CT}$, что составляет 48,48 и 57,14 % соответственно, намного реже встречается генотип $MSTN^{CC}$ – 7,58 и 14,29 % соответственно. Генотип $MSTN^{TT}$ у лошадей тракененской породы встречается чаще (43,94 %). Таким образом, для эффективного ведения селекции в спортивном коневодстве необходим поиск и изучение полиморфизма в генах, играющих роль в формировании спортивных качеств у лошадей, создание и внедрение панели молекулярно-генетических маркеров, позволяющих ускорить процесс совершенствования спортивных лошадей.

Литература: 1. Дайлиденко, В. Н. Спортивная работоспособность и адаптационные качества лошадей траккенской породы / В. Н. Дайлиденко // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства: сборник научных трудов / Министерство сельского хозяйства и продовольствия Республики Беларусь, Главное управление образования, науки и кадров, Учреждение образования "Белорусская государственная сельскохозяйственная академия". – Горки, 2013. – Вып. 16, ч. 2. – С. 126-133. 2. Зенольцева, С. А. Характеристика спортивных качеств лошадей с разными типами миостатина / Зиновьева С.А., Пономарева Д.А. // Современные достижения и актуальные проблемы в коневодстве : Сборник докладов международной научно-практической конференции, Дивово, 14 июня 2019 года. – Дивово: Всероссийский научно-исследовательский институт коневодства, 2019. – С. 105-112. 3. Храброва, Л. А. Вариативность генотипов миостатина (MSTN) у лошадей аборигенных пород / Л. А. Храброва, Н. В. Блохина, С. И. Сорокин // Коневодство и конный спорт. – 2020. – № 1. – С. 26-27. 4. Прогресс ДНК-технологий в коневодстве / Л. А. Храброва, Е. И. Алексеева // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. – 2015. – № 39. – С. 149-155. 5. Binns, M. M. Identification of the myostatin locus (MSTN) as having a major effect on optimum racing distance in the Thoroughbred horse in the USA / M. M. Binns, D. A. Boehler and D. H. Lambert // Animal genetics. – 2010. – Vol. 41, Suppl. 2 – P 28-35. 6. Gábor, M. Development of ACRS-PCR Method for Detection of Single Nucleotide Polymorphism g. 66493737C/T of the Equine Myostatin Gene (MSTN) / M. Gábor, M. Miluchová, A. Trakovická // Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies. – 2014. – T. 47. – № 2. – P. 52-55. 7. Hill, E. W. A genom-wide SNP-association study confirms a sequens variant (g.66493737C>T) in the equine myostatin (MSTN) gene as the most powerful predictor of optimum racing distance for Thoroughbred racehorses // October, 2010. – BMC Genomics 11(1):552. – P 1-10. 8. Tozaki, T. A. A genome-wide association study for racing performances in Thoroughbreds clarifies a candidate region near the MSTN gene / T. A. Tozaki et al. // Animal genetics. – 2010. – Vol. 41, Suppl. 2 – P 154-158.

УДК 636.018:577.336

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЗНАЧИМЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ КЛЕТОК КРОВИ В СИСТЕМЕ МОНИТОРИНГА СОСТОЯНИЯ МОЛОЧНОГО СКОТА

Еремина И.Ю.

ФГБОУ ВО «Красноярский государственный аграрный университет», Красноярск, Россия

*Для разработки системы диагностических и профилактических мер, направленных на снижение экономических потерь, связанных с антропогенным воздействием, определены значимые показатели хемилюминесценции клеток крови. Выявлены факторы и их влияние на генерацию активных форм кислорода клетками крови. **Ключевые слова:** мониторинг, хемилюминесценция, крупный рогатый молочный скот, селекция.*

DETERMINATION OF SIGNIFICANT INDICATORS OF BLOOD CELL CHEMILUMINESCENCE IN THE DAIRY CATTLE MONITORING SYSTEM

Eremina I.Yu.

Krasnoyarsk State Agrarian University, Krasnoyarsk, Russia

*To develop a system of diagnostic and preventive measures aimed at reducing the economic losses associated with anthropogenic exposure, significant indicators of blood cell chemiluminescence have been determined. Factors and their effect on ROS generation by blood cells have been identified. **Keywords:** monitoring, chemiluminescence, cattle, breeding.*

Введение. В Красноярском крае формирование племенных репродукторов молочного крупного рогатого скота ведется за счет импортного генофонда скота путем поглощительного скрещивания маточного поголовья, имеющегося в этих хозяйствах, с чистопородными производителями в основном голштинской породы. В результате продолжительной селекции по основным хозяйственно полезным качествам был создан новый внутрипородный тип красно-пестрой породы, названный енисейским типом.