

УДК 636.13.082.2

ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ ГЕНА-МАРКЕРА COX4I2 У ЛОШАДЕЙ ВЕРХОВЫХ ПОРОД

Вишневец А.В., Будревич О.Л.

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

У лошадей трактененской и ганноверской пород наибольшая частота встречаемости аллеля С гена COX4I2 и генотипов COX4I2^{CC} и COX4I2^{CT}. Тестирование лошадей по гену COX4I2 позволит проводить их селекцию по генотипу. **Ключевые слова:** спортивные лошади, ген, порода, частота встречаемости, генотип.

FREQUENCY OF THE COX4I2 GENE MARKER IN RIDING BREED HORSES

Vishnevets A.V., Budrevich A.L.

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

Trakehner and Hanoverian horses have the highest frequency of occurrence of the C allele of the COX4I2 gene and the COX4I2^{CC} and COX4I2^{CT} genotypes. Testing horses for the COX4I2 gene will make it possible to select them by genotype. **Keywords:** sport horses, gene, breed, frequency of occurrence, genotype.

Введение. В настоящее время во всем мире активно развивается конный спорт, увеличивается количество различных соревнований международного уровня, в их числе этап Кубка Мира, повышаются их результаты, возрастает уровень мастерства спортсменов. Соответственно, растут требования к работоспособности лошадей, и перед селекционерами стоит задача по совершенствованию качеств лошадей, используемых в конном спорте [8].

Коневодство в Республике Беларусь развивается в четырех направлениях – племенное, спортивное, рабочепользовательное и продуктивное. Спортивное коневодство развивается на базе преимущественного использования лошадей трактененской и ганноверской пород. Разведением по линиям сохраняется генетическое разнообразие в породах. Для поддержания структуры пород предусматривается периодический завоз жеребцов верховых пород зарубежной селекции, который необходим и в связи с небольшим количеством лошадей в указанных породах, разводимых в республике [2, 3, 4].

В отличие от ряда других отраслей животноводства, в которых широко практикуется крупномасштабная селекция, при племенной работе в коневодстве традиционно применяется индивидуальная система отбора и подбора, что является важной предпосылкой для внедрения методов маркерной селекции в повседневную коневодческую практику [1, 2, 3].

Связь между аллельными генами и селекционируемыми признаками животных теоретически возможна через ряд генетических механизмов. Ген, контролирующий образование белка или фермента, в силу своего плейотропного действия может одновременно влиять и на формирование полезного признака. Плейотропное действие гена может проявляться и как результат вторичного влияния выработанного под его контролем белка на отдельные биохимические и физиологические процессы в организме животного. Ввиду постоянства такой связи плейотропный эффект представляет большую ценность для практической селекции. Маркерные гены могут непосредственно детерминировать синтез белка (гормона, фермента), определяющего продуктивные качества, или находиться в одной группе сцепления с генами, определяющими хозяйственно полезные признаки. В настоящее время исследователями ведется поиск генов-кандидатов, сцепленных и количественными признаками (QLT) [5].

В общей системе тренинга верховой лошади важнейшее значение имеет развитие скоростных качеств и выносливости. Во время выполнения скоростных нагрузок всегда наблюдается та или иная степень гипоксии (недостаток кислорода), приводящая к снижению работоспособности лошади, поэтому важной проблемой тренировки является повышение гипоксической устойчивости организма лошади в процессе выполнения работы мышц [6].

На спортивный потенциал млекопитающих влияет сложная взаимосвязь между набором генов и факторами окружающей среды. Вклад генетики в спортивный потенциал хорошо документирован у людей, у которых было описано более 220 генов. Хотя на спортивные результаты лошадей, вероятно, также влияет большое количество генов. Например, ген COX4I2, находящийся в 22 хромосоме (цитохром с-оксидаза (COX), субъединица 4, изоформа 2).

Цитохром с-оксидаза представляет собой мультисубъединичный фермент (комплекс IV), который катализирует перенос электронов из восстановленного цитохрома с к молекулярному кислороду во время митохондриального дыхания. Комплекс IV закодирован в ядерной ДНК, отвечает за регулирование и сборку митохондриально кодируемых субъединиц на митохондриальной мембране и связан с объемом митохондрий. С учетом роли данного гена в физиологии скелетных мышц необходимо определить частоту встречаемости и влияние генотипов гена COX4I2 на спортивные качества

лошадей. Целью исследования было установить частоту встречаемости *COX4I2* (цитохромоксидаза) у лошадей тракененской и ганноверской пород [9].

Материалы и методы исследований. Экспериментальная часть работы выполнена в течение 2018-2020 гг. в учреждении «Республиканский центр олимпийской подготовки конного спорта и коневодства» Минского района Минской области и на кафедре генетики и разведения сельскохозяйственных животных им. О.А. Ивановой учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». ДНК-тестирование лошадей верховых пород по гену *COX4I2* проводили в лаборатории биотехнологии с ПЦР-исследованиями отдела научно-исследовательских экспертиз НИИПВМиБ УО ВГАВМ [2, 3].

Материалом для исследований служили биологические пробы (волосыные луковицы) 87 лошадей тракененской и ганноверской пород, принадлежащие учреждению «Республиканский центр олимпийской подготовки конного спорта и коневодства (У «РЦОПКСиК»).

ДНК экстрагировали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), используя наборы, производимые фирмой «Нуклеосорб» в комплектации «С» (ОДО «АртБиоТех», РБ). Генотипирование лошадей по гену *COX4I2* проводилось методом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ). Для амплификации участка гена *COX4I2* использовали прямые и обратные праймеры следующего состава:

COX4I2 1: 5'– CCC CCA AAT ACT GAA TGC AC – 3';
COX4I2 2: 5' – GCC AGG AGC TAG TGA CAA CG – 3'.

Программа амплификации для гена *COX4I2* следующая: «горячий старт» – 3 минуты при 95°C, 35 циклов: денатурация – 10 сек. при 95°C, отжиг – 20 сек. при 56°C, синтез – 30 сек. при 72°C; элонгация – 5 минут при 72°C.

Для проведения рестрикционного анализа по гену *COX4I2* использовали рестриктазу XceI (RCATG↓E) (Thermo Scientific, USA) [9].

Длина амплифицированного фрагмента – 556 п.о.

На одну реакцию использовали 205 мкл буфера В, 2,12 мкл воды и 0,5 мкл фермента XceI. 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 1,8% агарозе в трисборатном буфере в присутствии интеркалирующего красителя (бромистый этидий) в течение 55 минут. Рестриктаза разрезает продукт амплификации в зависимости от генотипа по гену *COX4I2* на фрагменты (рисунок 3).

При расщеплении продуктов амплификации рестриктазой XceI идентифицируются следующие генотипы:

- *COX4I2^{CC}* – 556 п.о.,
- *COX4I2^{CT}* – 556 п.о., 291 п.о., 265 п.о.,
- *COX4I2^{TT}* – 291 п.о., 265 п.о. [9] (рисунок 1).

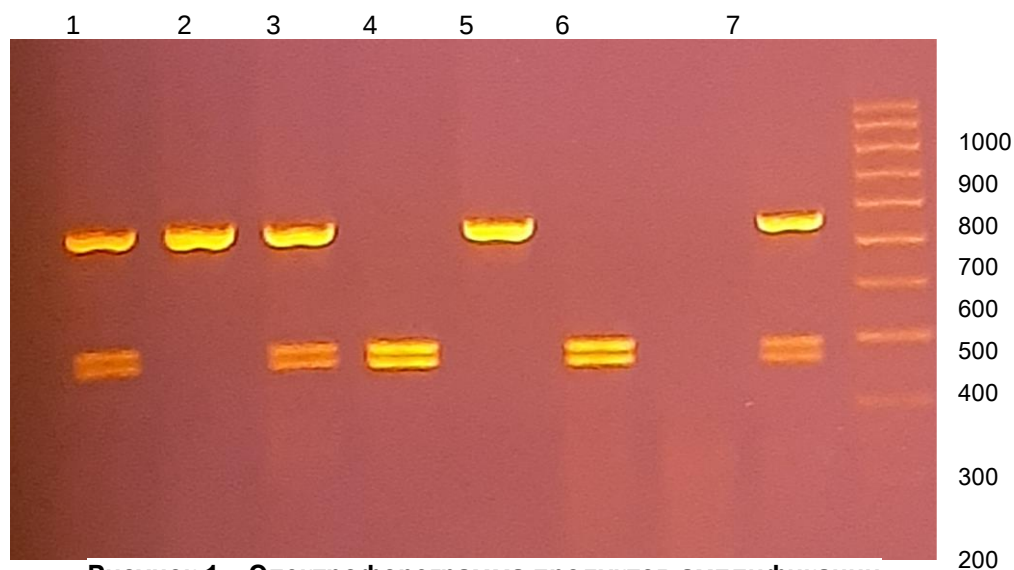


Рисунок 1 – Электрофореграмма продуктов амплификации и рестрикции участка гена *COX4I2*:

дорожки 1, 3 и 7 соответствуют генотипу *COX4I2^{CT}*
 дорожки 2 и 5 – *COX4I2^{CC}*, дорожки 4 и 6 – *COX4I2^{TT}*

Статистическую обработку результатов исследований выполняли на персональном компьютере с использованием программы «Microsoft Excel 2010».

Результаты исследований. Исследуемое поголовье лошадей представлено двумя породами: тракененская – 75,9%, или 66 голов, ганноверская – 24,1%, или 21 голова.

Была определена половая принадлежность исследуемых лошадей верховых пород, которая представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Половая принадлежность поголовья исследуемых лошадей верховых пород в У «РЦОПКСиК»

Порода	Жеребец		Мерин		Кобыла	
	голов	%	голов	%	голов	%
Тракененская	20	23,0	39	44,8	7	8,05
Ганноверская	8	9,2	6	6,9	7	8,05
Всего	28	32,2	45	51,7	14	16,1

По данным таблицы 1 установлено, что в исследуемом поголовье лошадей на долю мерин приходится большая часть – 51,7%, из них 44,8% – тракененской породы и 6,9% – ганноверской. Жеребцов на 19,5% меньше (тракененской породы – 23,0%, ганноверской – 9,2%), чем мерин. Кобыл в два раза меньше, чем жеребцов (по 8,05 % каждой из исследуемых пород).

Возраст лошади является важным показателем, характеризующим спортивное долголетие. В период с 4 до 14-15 лет лошадь обладает наиболее высокой работоспособностью. Работоспособность и спортивные качества лошадей при хороших условиях кормления и содержания сохраняются до 18-20 лет, что выгодно хозяйству, учитывая высокую стоимость конепоголовья. Поэтому целесообразно использовать лошадей как можно дольше [7].

Данные о результатах оценки возрастного состава лошадей верховых пород представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Возрастная структура исследуемых лошадей верховых пород в У «РЦОПКСиК»

Порода	Возраст, лет					
	6-10 лет		11-15		16 и старше	
	n	%	n	%	n	%
Тракененская	34	39,1	21	24,1	11	12,6
Ганноверская	11	12,6	9	10,4	1	1,2
Итого	45	51,7	30	34,5	12	13,8

Из таблицы 2 видно, что исследуемое поголовье представлено в основном средневозрастными лошадьми 6-10-летнего возраста – 51,7%, возраст 11-15 лет имеют 34,5% лошадей. Наименьшее количество лошадей в возрасте 16 лет и старше – 13,8%.

Данная закономерность наблюдается у исследуемых тракененской и ганноверской пород лошадей. Среди лошадей ганноверской породы только одно животное старше 16 лет. Это объясняется тем, что в хозяйстве с недавних пор стала вестись племенная работа не только с тракененской породой, но и со спортивными лошадьми немецкой селекции западногерманского корня (ганноверской) с целью совершенствования спортивной работоспособности и получения лошадей, отвечающих современным требованиям использования в троеборье, выездке и преодолении препятствий [2].

Исследования ассоциации полиморфных генов-кандидатов с признаками работоспособности у лошадей в настоящее время сводятся к определению предпочтительного аллеля и генотипа путем сравнения этих показателей с разными генотипами между собой. Была определена частота встречаемости аллелей гена *COX4I2* у лошадей тракененской и ганноверской пород (рисунок 2).

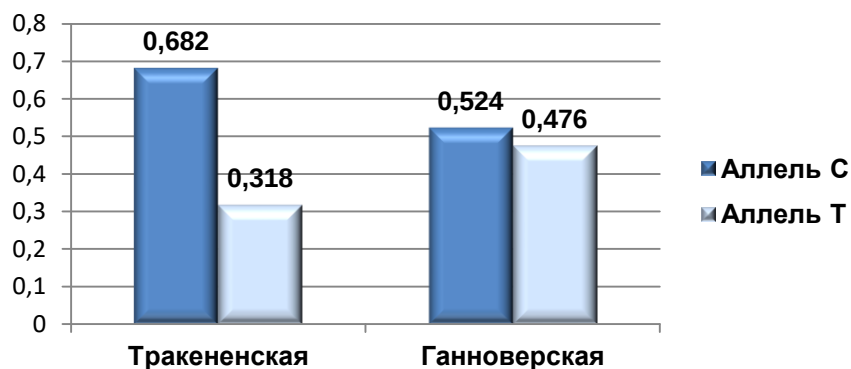


Рисунок 2 – Частота аллелей ген *COX4I2* у лошадей верховых пород

В результате проведенного молекулярно-генетического анализа по гену *COX4I2* установлено, что среди исследуемых лошадей трактененской и ганноверской пород частота встречаемости аллеля *C* гена *COX4I2* преобладает и составила 0,682 и 0,524 соответственно, а частота встречаемости аллеля *T* – 0,318 и 0,476 соответственно. У лошадей трактененской породы частота встречаемости аллеля *C* гена *COX4I2* больше, чем аллеля *T* в два раза. У лошадей ганноверской породы частота встречаемости аллеля *C* больше, чем аллеля *T* на 0,048.

Была определена частота встречаемости гена *COX4I2* по генотипу у лошадей трактененской и ганноверской пород, которая представлена на рисунке 3.

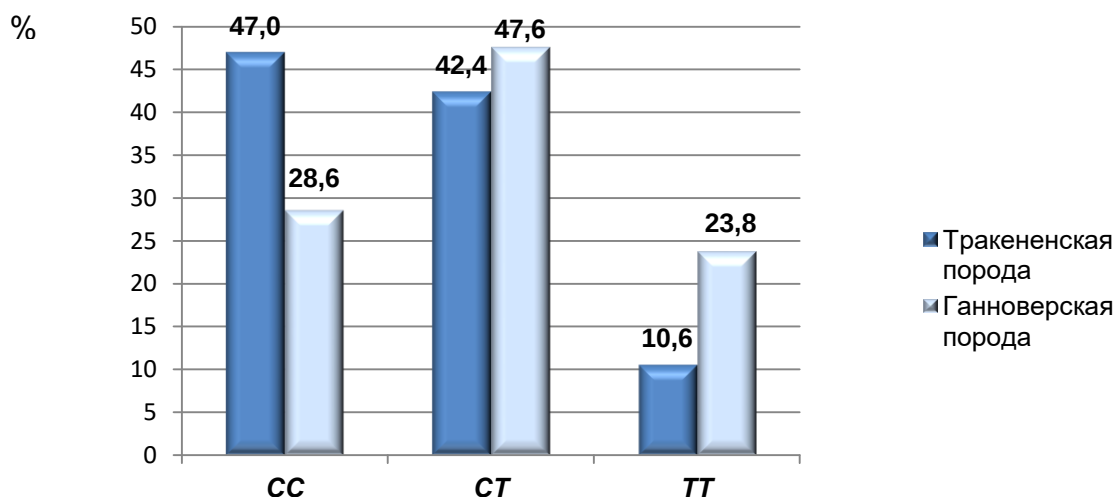


Рисунок 3 – Частота встречаемости генотипов гена *COX4I2* у лошадей трактененской и ганноверской пород, %

В результате ДНК-диагностики было установлено, что у лошадей трактененской породы наибольшая частота встречаемости генотипов *COX4I2*^{CC} и *COX4I2*^{CT} (47,0 и 42,4% соответственно), намного реже встречается генотип *COX4I2*^{TT} (10,6%). У лошадей ганноверской породы чаще встречается генотип *COX4I2*^{CT} (47,6%), реже – *COX4I2*^{CC} и *COX4I2*^{TT} (28,6 и 23,8% соответственно).

Заключение. Установлено, что среди исследуемых лошадей трактененской и ганноверской пород частота встречаемости аллеля *C* гена *COX4I2* преобладает и составила 0,682 и 0,524 соответственно, а частота встречаемости аллеля *T* – 0,318 и 0,476 соответственно. У лошадей трактененской породы частота встречаемости аллеля *C* гена *COX4I2* больше, чем аллеля *T* в два раза. У лошадей ганноверской породы частота встречаемости аллеля *C* незначительно больше, чем аллеля *T*.

Установлено, что у лошадей трактененской породы наибольшая частота встречаемости генотипов *COX4I2*^{CC} и *COX4I2*^{CT} (47,0 и 42,4% соответственно), намного реже встречается генотип *COX4I2*^{TT} (10,6%). У лошадей ганноверской породы чаще встречается генотип *COX4I2*^{CT} (47,6%), реже – *COX4I2*^{CC} и *COX4I2*^{TT} (28,6 и 23,8% соответственно).

В исследуемом поголовье лошадей на долю меринов приходится большая часть – 51,7%, из них 44,8% – трактененской породы и 6,9% – ганноверской. Кобыл в два раза меньше, чем жеребцов (по 8,05% каждой из исследуемых пород). Поголовье представлено в основном средневозрастными лошадьми 6-10-летнего возраста – 51,7%.

Систематическое тестирование всего поголовья лошадей основных заводских пород создает реальную основу для внедрения генетического мониторинга и других методов маркер-вспомогательной селекции в практику коневодства [5]. Выявление предпочтительных лошадей, обладающих определенными спортивными качествами, в раннем возрасте, наряду с традиционными методами селекции, позволит проводить селекцию по генотипу с помощью генов-маркеров.

Литература. 1. Будревич, О. Л. Частота полиморфных аллелей гена *MSTN* (миостатин) у лошадей верховых пород / О. Л. Будревич, А. В. Вишневец // Молодежь – науке и практике АПК : материалы 102-ой Международной научно-практической конференции студентов и магистрантов, г. Витебск, 29-30 мая 2017 г. – Витебск, 2017. – С. 86. 2. Вишневец, А. В. Взаимосвязь гена-маркера *MSTN* (миостатин) с основными промерами и спортивными качествами лошадей трактененской, ганноверской и вестфальской пород / А. В. Вишневец, П. П. Красочко, О. Л. Будревич // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» : научно-практический журнал. – Витебск, 2018. – Т. 54, вып. 1 (2/2). – С. 97-100. 3. Вишневец, А. В. Полиморфизм гена *MSTN* (миостатин) и использование его в селекции лошадей верховых пород / А. В. Вишневец, П. П. Красочко, О. Л. Будревич // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины» : научно-практический журнал. – Витебск, 2017. – Т. 53, вып. 4 (2/2). – С. 90-94. 4. Горбуков, М. А. Современные тенден-

ции развития коневодства Республики Беларусь / М. А. Горбуков, Э. А. Байгина // Стратегии развития животноводства России – XXI век (секция коневодства) : материалы науч. сем. Россельхозакадемии и координационного совещ. по науч.-исслед. работе в коневодстве, Дивово, 24 июля 2001 г. / Всерос. науч.-исслед. ин-т коневодства ; ред.: М. М. Готлиб, В. Ф. Пустовой, Е. Е. Филипова, С. С. Сергиенко. – Дивово, 2001. – С. 27-28. 5. Прогресс ДНК-технологий в коневодстве / Храброва Л. А., Алексеева Е. И. // Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета. – 2015. – № 39. – С. 149-155. 6. Справочник по коневодству / А. А. Ласков [и др.]. – Колос, 1983. – 158 с. 7. Факторы, влияющие на работоспособность лошади, 18.04.2015. – Режим доступа : <http://worldgonesour.ru/konevodstvo/1648-factory-vliyayushchie-na-rabotosposobnost-loshadi.html>. – Дата доступа : 07.10.2020. 8. Яковлева, С. Е. Особенности развития спортивного коневодства на базе ООО «Троицкое» Орловской области / С. Е. Яковлева, С. И. Шепелев, А. А. Анисимова // Таврический научный обозреватель. – 2016. – № 5-2 (10). – С. 251-254. 9. Comparison of Sequence Variants in the PDK4 and COX4I2 Genes Between Racing and Cutting Lines of Quarter Horses and Associations With the Speed Index / Guilherme L. Pereira [et al.] // Journal of Equine Veterinary Science. – 2016. – V. 39. – С. 1-6.

Поступила в редакцию 16.10.2020.

УДК 574:631.147

ПРОИЗВОДСТВО ПРОДУКТОВ МЯСНОГО ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ В ЭКОЛОГИЧЕСКИ ЧИСТЫХ ЗОНАХ

Голубенко Т.Л.

Винницкий национальный аграрный университет, г. Винница, Украина

Поскольку для производства мясных продуктов детского и диетического питания, особенно для раннего возраста, требуется экологически безопасное сырье, первоочередной задачей было выбрать сельскохозяйственные предприятия, в которых уровень производства животноводческой продукции соответствовал требованиям ветеринарно-санитарного надзора и охраны окружающей среды. Исследованиям были подвергнуты образцы сена, сенажа, силоса, зеленой массы, концентратов и воды. Основными радионуклидами, определяющими радиационную обстановку на сельскохозяйственных угодьях, являются цезий-137 и стронций-90. Система «почва-растение» является главным звеном в пищевой цепочке, обеспечивающим основное поступление радионуклидов в организм человека. Проведя анализ полученных данных, можно сделать заключение, что количество тяжелых металлов (свинец, кадмий, цинк), а также пестицидов в исследованных кормах и воде не превышало допустимый уровень. **Ключевые слова:** экологическая безопасность кормов, радионуклиды, экологически чистое мясо, диетическое питание, нитраты, нитриты, мясное сырье, сено, сенаж, силос.

PRODUCTION OF MEAT BABY FOOD PRODUCTS IN ECOLOGICALLY CLEAN AREAS

Holubenko T.L.

Vinnytsia National Agrarian University, Vinnytsia, Ukraine

Since the production of meat products for children and dietetic food, especially for an early age, requires environmentally friendly raw materials, the first priority was to choose agricultural enterprises in which the level of production of livestock products met the requirements of veterinary and sanitary supervision and environmental protection. Samples of hay, haylage, silage, green mass, concentrates and water were tested. The main radionuclides that determine the radiation situation on agricultural lands are cesium-137 and strontium-90. The «soil-plant» system is the main link in the food chain, providing the main intake of radionuclides in the human body. After analyzing the data obtained, it can be concluded that the amount of heavy metals (lead, cadmium, zinc), as well as pesticides in the studied feed and water did not exceed the permissible level. **Keywords:** ecological safety of feed, radionuclides, ecologically clean meat, diet food, nitrates, nitrites, raw meat, hay, haylage, silage.

Введение. Согласно статистике, в Беларуси процент матерей, которые осуществляют грудное вскармливание детей, составляет 46% (30% кормят грудью младенцев до 6 месяцев и 16% - до года). Это свидетельствует о том, что для полноценного роста и развития детей необходимо дополнительное детское питание, богатое белком и жирами и сбалансированное по основным питательным веществам. Для производства экологически чистого мяса и продуктов из него важны следующие аспекты: общие эколого-экономические и ветеринарно-санитарные проблемы, санитарно-гигиенические условия кормления и содержания животных, условия транспортировки скота, санитарно-гигиенические и технологические условия переработки скота и мяса, методы контроля доброкачественности, пищевой и биологической ценности мяса и мясных продуктов [1].

Обеспечение сбалансированной по составу продукции для питания детей различных возрастных групп должно базироваться на новых технологических решениях. Это, в первую очередь, производство экологически чистых кормов для сельскохозяйственных животных мясного направления продуктивности, их выращивание и откорм, гарантирующие качество и безопасность получаемого мяса, прижизненное обогащение мяса и субпродуктов полезными биологически активными веществами [2].

Становится очевидным, что удовлетворение потребностей в безопасных и высококачественных продуктах питания – одна из острых социально-экономических проблем сегодняшнего дня. Состо-