

DOI 10.52368/2078-0109-2021-57-4-32-36
УДК 636.13.082.2

**ЧАСТОТА ВСТРЕЧАЕМОСТИ ГЕНА-МАРКЕРА PPARGC1 α У ЛОШАДЕЙ
ТРАКЕНЕНСКОЙ И ГАННОВЕРСКОЙ ПОРОД**

Вишневец А.В. ORCID iD 0000-0003-2158-7691, Будревич О.Л. ORCID iD 0000-0002-9554-1875
УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

*Представлены результаты исследования полиморфизма гена PPARGC1 α (1- α -коактиватор гамма-рецептора) у лошадей тракененской и ганноверской пород. Наибольшая частота встречаемости аллеля C гена PPARGC1 α (0,985 и 0,976) и генотипа PPARGC1 α^{CC} (97,96 и 95,24%) установлена у лошадей тракененской и ганноверской пород. **Ключевые слова:** лошади, ген PPARGC1 α , аллель, порода, частота встречаемости, генотип.*

**FREQUENCY OF THE PPARGC1 α MARKER GENE IN HORSES OF TRAKEHNER
AND HANOVERIAN BREEDS**

Vishnevets A.V., Budrevich A.L.
Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus

*The article presents the results of research on the PPARGC1 α gene polymorphism (1- α -coactivator of the gamma receptor) in Trakehner and Hanoverian horses. The highest frequency of the C allele of the PPARGC1 α gene (0.985 and 0.976) and the PPARGC1 α^{CC} genotype (97.96 and 95.24%) was found in Trakehner and Hanoverian horses. **Key-words:** horses, PPARGC1 α gene, allele, breed, frequency, genotype.*

Введение. Племенная работа в коневодстве преследует ряд целей. Основной из них следует считать совершенствование пород лошадей в направлении развития у них наиболее важных в настоящее время качеств. Второй задачей нужно считать создание новых, более отвечающих требованиям хозяйственного или спортивного использования пород лошадей [3].

В Республике Беларусь разводят лошадей немецкого происхождения – тракененскую и ганноверскую. В небольшом количестве имеются лошади и других полукровных пород, которые являются успешными в различных видах конного спорта [1].

В нашей республике коневоды уже добились некоторых спортивных результатов. На лошадях тракененской и других пород, выращенных в учреждении «Республиканский центр по конному спорту и коневодству», которое создано на базе Минского конного завода имени Л.М. Доватора и Республиканской специализированной детско-юношеской школы Олимпийского резерва, а в 2005 году переименовано в учреждение «Республиканский центр олимпийской подготовки конного спорта и коневодства», установлен ряд рекордов, что подтверждает практическую значимость и возможности развития конного спорта в нашей республике [6].

Учреждение «Республиканский центр олимпийской подготовки конного спорта и коневодства» располагает современной материально-технической базой, спортивными сооружениями, соответствующей инфраструктурой для подготовки спортсменов национальной и сборных команд Республики Беларусь по всем олимпийским видам конного спорта, проведения спортивных соревнований республиканского и международного уровня [5].

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.

Очевидные успехи в развитии молекулярно-генетических и информационных технологий в течение последних десятилетий дали мощный старт для изучения геномов сельскохозяйственных животных, что позволило применить на практике многие достижения маркер-вспомогательной и приступить к геномной селекции.

Благодаря появлению технологии полногеномного сканирования и чипов высокой плотности (Illumina 50K, 54K, 70K SNP) ученым удалось выявить локализацию генов, определяющих многие селекционируемые признаки, включающие скаковую и спортивную работоспособность лошадей.

Немецким ученым из Ганновера удалось выявить локализацию генов, определяющих спортив-

ную работоспособность лошадей. Оказалось, что конкурные качества лошадей статистически значимо зависят от генов, локализованных в хромосомах 1, 8, 14, 16, 17 и 23, тогда как способность к выезде определяют гены 1, 3, 5, 16 и 17 хромосом.

К поиску генов, ассоциированных со спортивными способностями лошадей, подключились и французские генетики S. Brand и A. Ricard, которыми было проведено полногеномное тестирование 1010 спортивных лошадей четырех разных пород. Детальный генетико-математический анализ позволил идентифицировать «конкурный» ген *RYS2*, локализованный в хромосоме 1, и показал, что тестирование лошадей по этому локусу дает определенный селекционный эффект. С использованием ассоциативного анализа было доказано, что гены, расположенные на хромосомах 11 и 16, взаимосвязаны с конкурными качествами лошадей, но при этом прослеживалось и определенное влияние породных особенностей [7].

Мышечная работа спортивных лошадей сопряжена со значительными энергетическими затратами, поэтому большое внимание следует уделить показателям, характеризующим адаптации физиологических систем организма, направленных на обеспечение кислородного запаса [2].

Одним из генов-маркеров является ген *PPARGC1α* (1-альфа коактиватор гамма рецептора), который кодирует белок-1-α-коактиватор гамма-рецептора, активируемого пролифераторами пероксисом (*PGC-1α*), который выступает в качестве коактиватора в процессе активации ряда транскрипционных факторов, регулирует митохондриальный биогенез, окисление жирных кислот, утилизацию глюкозы, процессы клеточного дыхания и обмен веществ.

Ген *PPARGC1α* лошади локализован на хромосоме 3 и состоит из 13 экзонов. Длина транскрипта составляет 2814 п.н., а протеина – 796 а.о. Полиморфизм ассоциирован с проявлением скоростно-силовых качеств, высокой работоспособностью, мышечной и аэробной выносливостью. *PPARGC1α* экспрессируется преимущественно в сердце, скелетных мышцах и почках, а также в меньшей степени в печени, тканях мозга и поджелудочной железы. Снижение экспрессии гена *PPARGC1α* приводит к ухудшению аэробных возможностей, что связано с уменьшением количества транскрипционных факторов, необходимых для митохондриального биогенеза и окислительных ферментов в скелетных мышцах [4, 9].

Исследователи также пришли к выводу, что нарушение функций митохондрий может лежать в основе зависимости между ухудшением физической формы и развитием сердечно-сосудистых и метаболических заболеваний [4].

Целью исследования является изучение полиморфизма гена *PPARGC1α* у современных лошадей тракененской и ганноверской пород, выступающих в классических видах конного спорта (выездка, конкур, троеборье).

Материалы и методы исследований. Материалом для исследований служили биологические пробы (волосыные луковицы) 87 исследуемых лошадей верховых пород (тракененская и ганноверская) 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 *PPARGC1α* проводилось методом анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ).

Для амплификации участка гена *PPARGC1α* использовали прямой и обратный праймеры следующего состава:

PPARGC1α: 5' – AGCTGGAATCCACTTGGAGA – 3';

PPARGC1α: 5' – GGGCTACNNTTCTCGCTCCT – 3'.

Программа амплификации для гена *PPARGC1α* следующая: «горячий старт» – 5 минут при 94°C, 32 цикла: денатурация – 45 сек. при 94°C, отжиг – 45 сек. при 55°C, синтез – 45 сек. при 72°C; элонгация – 5 минут при 72°C.

Длина амплифицированного фрагмента – 529 п.о.

Для проведения рестрикционного анализа по гену *PPARGC1α* использовали рестриктазу *BsaHI* (*GR↓CGYC*) (Sibenzyme, Россия).

Идентификацию генотипа проводили с помощью горизонтального электрофореза при напряжении 5 В/см геля в 1,7% агарозе в трисборатном буфере в присутствии интеркалирующего красителя (бромистый этидий) в течение 35 минут. Рестриктаза разрезает продукт амплификации в зависимости от генотипа по гену *PPARGC1α* на фрагменты.

При расщеплении продуктов амплификации рестриктазой *BsaHI* идентифицируются следующие генотипы:

- *PPARGC1α*^{GG} – 529 п.о.;
- *PPARGC1α*^{GC} – 529 п.о., 327 п.о., 202+183 п.о.;
- *PPARGC1α*^{CC} – 327 п.о., 202+183 п.о. [9].

Электрофореграмма продуктов амплификации и рестрикции участка гена *PPARGC1α* представлена на рисунке 1.

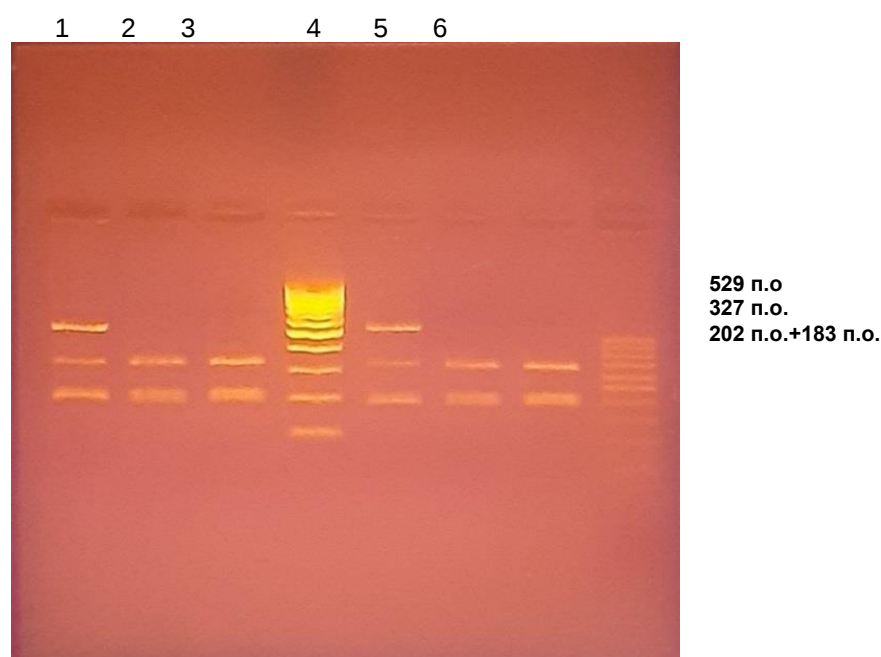


Рисунок 1 – Электрофореграмма продуктов амплификации и рестрикции участка гена *PPARGC1α*: дорожки 1 и 4 соответствуют генотипу *PPARGC1α^{GC}*, дорожки 2, 3, 5 и 6 – *PPARGC1α^{CC}*

Частоту встречаемости аллелей и генотипов гена *PPARGC1α* у лошадей определяли по формулам 1, 2 и 3:

$$pA = \frac{2AA+AB}{2n}, \quad (1)$$

$$qB = \frac{2BB+AB}{2n}, \quad (2)$$

где pA , qB – частоты аллелей;
 AA , BB – число особей с гомозиготным генотипом;
 AB – число особей с гетерозиготным генотипом;
 n – общее число особей.

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1, \quad (3)$$

где p и q – частоты соответствующих аллелей.

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

Результаты исследований. Исследуемое поголовье лошадей представлено двумя породами: трактененская – 75,9%, или 66 голов и ганноверская – 24,1%, или 21 голова. На долю меринцов приходится большая часть – 51,7%, из них 44,8% – трактененской породы и 6,9% – ганноверской, жеребцов на 19,5% меньше (трактененской породы – 23,0%, ганноверской – 9,2%), а кобыл в два раза меньше, чем жеребцов (по 8,05% каждой из исследуемых пород).

В результате проведенного молекулярно-генетического анализа 87 лошадей учреждения «Республиканский центр олимпийской подготовки конного спорта и коневодства» по гену *PPARGC1α* установлено, что среди исследуемых лошадей выявлено 84 головы, гомозиготных по аллелю *C*, гетерозиготных – 3 головы, и по аллелю *G* не выявлено ни одной. Из них трактененской породы 64 головы гомозиготных по аллелю *C* и гетерозиготных – 2 головы. Среди лошадей ганноверской породы 20 – гомозиготны по аллелю *C* и 1 – гетерозиготна.

Была определена частота встречаемости аллелей гена *PPARGC1α* у лошадей трактененской и ганноверской пород, которая представлена на рисунке 2.

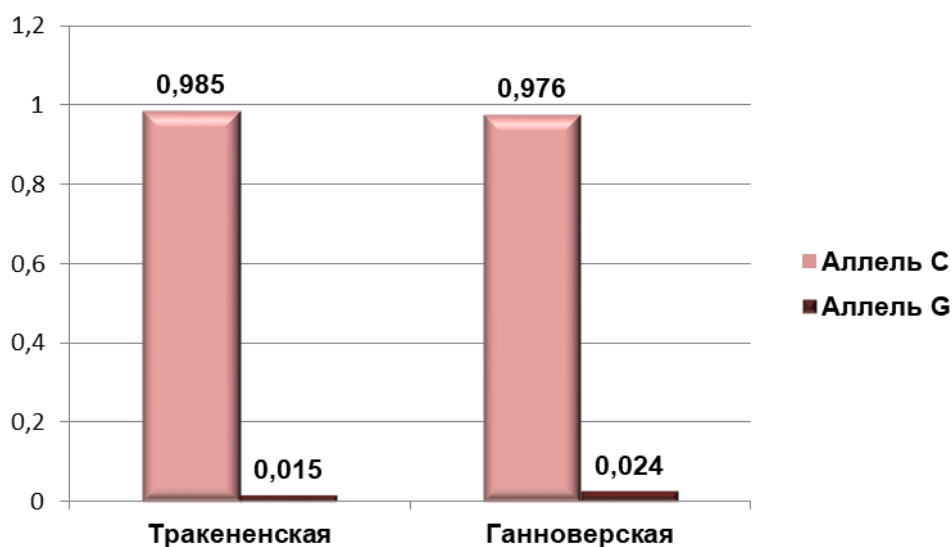


Рисунок 2 – Частота встречаемости аллелей гена *PPARGC1α* у лошадей верховых пород, ед.

В результате проведенного молекулярно-генетического анализа установлено, что частота встречаемости аллеля *C* гена *PPARGC1α* среди исследуемых лошадей значительно преобладает, что согласуется с данными, полученными зарубежными коллегами [8]. У лошадей тракененской и ганноверской пород частота встречаемости аллеля *C* гена *PPARGC1α* составила 0,985 и 0,976 соответственно, а частота встречаемости аллеля *G* – всего 0,015 и 0,024. В среднем по всему поголовью частота встречаемости аллелей *C* и *T* составила 0,983 и 0,017 соответственно.

Была определена частота встречаемости генотипов гена *PPARGC1α* у лошадей тракененской и ганноверской пород, которая представлена на рисунке 3.

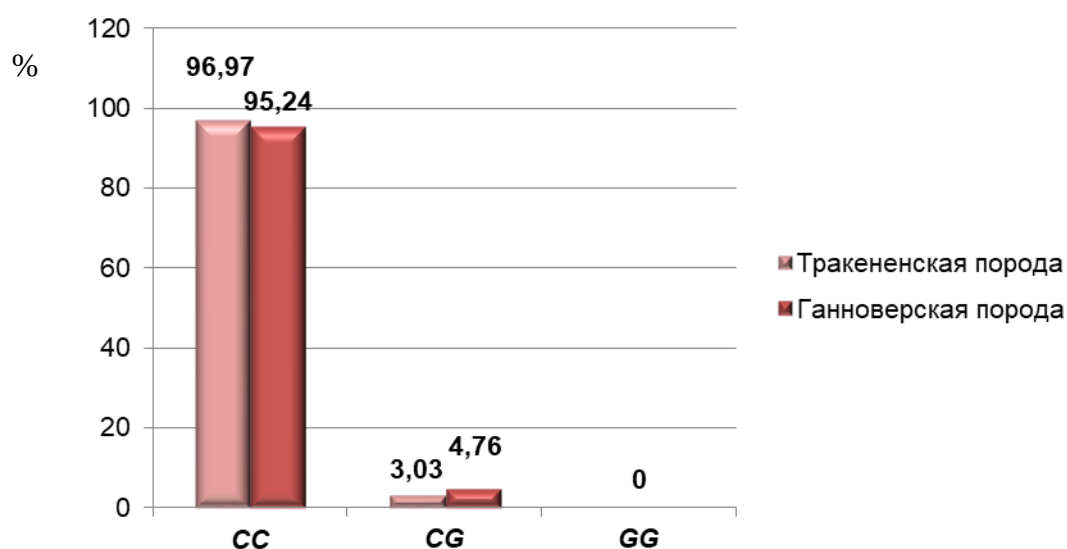


Рисунок 3 – Частота встречаемости генотипов гена *PPARGC1α* у лошадей тракененской и ганноверской пород, %

В результате ДНК-диагностики у лошадей исследуемых пород установлена наибольшая частота встречаемости генотипа *PPARGC1α^{CC}*. У лошадей тракененской породы частота встречаемости генотипа *PPARGC1α^{CC}* немного больше, чем у лошадей ганноверской породы, что составляет 96,97 и 95,24% соответственно. А частота встречаемости генотипа *PPARGC1α^{CG}* очень низкая и составила 4,76% у лошадей ганноверской породы и 3,03% у лошадей тракененской породы. Генотип *PPARGC1α^{GG}* у лошадей исследуемых пород не установлен.

Заключение. Установлено, что частота встречаемости аллеля *C* гена *PPARGC1α* у лошадей тракененской и ганноверской пород преобладает и составляет 0,985 и 0,976, а частота встречаемости аллеля *G* – 0,015 и 0,025 соответственно.

Установлено, что у лошадей тракененской и ганноверской пород частота встречаемости генотипа *PPARGC1α^{CC}* соответственно 96,97 и 95,24%, очень редко встречается генотип *PPARGC1α^{CG}* – 3,03 и 4,76% соответственно. Генотип *PPARGC1α^{GG}* у лошадей исследуемых пород не установлен.

Conclusion. It was found that the frequency of the *C* allele of the *PPARGC1α* gene in Trakehner and Hanoverian horses predominates and amounts to 0.985 and 0.976, and the frequency of the *G* allele is 0.015 and 0.025, respectively. It was found that in horses of Trakehner and Hanoverian breeds, the frequency of the *PPARGC1α^{CC}* genotype is 96.97 and 95.24%, respectively, the *PPARGC1α^{CG}* genotype is very rare – 3.03 and 4.76%, respectively. The *PPARGC1α^{GG}* genotype in horses of the studied breeds has not been established.

Список литературы. 1. Герман, Ю. И. Система разведения лошадей верховых пород в Республике Беларусь / И. Ю. Герман // *Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Сэрыя аграрных навук.* – 2018. – Т. 56, № 1. – С. 65–74. 2. Дайлиденко, В. Н. Спортивная работоспособность и адаптационные качества лошадей тракененской породы / В. Н. Дайлиденко // *Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства : сб. науч. тр. / Белорусская государственная сельскохозяйственная академия.* – Горки, 2013. – Вып. 16, ч. 2. – С. 126–133. 3. Козлов, С. А. Коневодство : учебник для студентов высш. учебных заведений, обучающихся по направлению «Зоотехния» / С. А. Козлов, В. А. Парфенов. – М. : КолосС, 2012. – 352 с. 4. Козлова, А. С. Полиморфизм генов *ACTN3* и *PPARGC1A* у элитных спортсменов / А. С. Козлова, Т. Л. Лебедь, А. С. Баранов // *Научные труды НИИ физической культуры и спорта Республики Беларусь : сб. науч. тр. / Научно-исследовательский институт физической культуры и спорта Республики Беларусь.* – Минск, 2012. – Вып. 11. – С. 253–259. 5. Программа развития конного спорта и подготовки национальной команды Республики Беларусь на 2017–2020 годы. – Минск, 2017. – 23 с. 6. Финогенов, А. Ю. Спортивное коневодство в Республике Беларусь / А. Ю. Финогенов, Н. Н. Андросик // *Экология и животный мир.* – 2007. – № 2. – С. 14–18. 7. Храброва, Л. А. Прогресс ДНК-технологий в коневодстве / Л. А. Храброва, Е. И. Алексеева // *Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета.* – 2015. – № 39. – С. 149–154. 8. Detection and analysis of polymorphism in the promoter region of equine *PPARGC1A* gene / D. Polasik [et al] // *The Journal of Animal & Plant Sciences.* – 2017. – Vol. 27(2). – P. 691–695. 9. Polasik, D. Detection and analysis of polymorphism in the promoter region of equine *PPARGC1α* gene / D. Polasik [et al] // *The Journal of Animal & Plant Sciences.* – 2017. – Vol. 27(2) / – P. 691–695.

References. 1. German, Yu. I. Sistema razvedeniya loshadej verhovyh porod v Respublike Belarus' / I. YU. German // *Vesci Nacyyanal'naj akademii navuk Belarusi. Seryya agrarnykh navuk.* – 2018. – T. 56, № 1. – S. 65–74. 2. Dajlidenok, V. N. Sportivnaya rabotosposobnost' i adaptacionnye kachestva loshadej trakenenskoj porody / V. N. Dajlidenok // *Aktual'nye problemy intensivnogo razvitiya zhivotnovodstva : sb. nauch. tr. / Belorusskaya gosudarstvennaya sel'skohozyajstvennaya akademiya.* – Gorki, 2013. – Vyp. 16, ch. 2. – S. 126–133. 3. Kozlov, S. A. Konevodstvo : uchebnik dlya studentov vyssh. uchebnykh zavedenij, obuchayushchihsya po napravleniyu «Zootekhnika» / S. A. Kozlov, V. A. Parfenov. – M. : KolosS, 2012. – 352 s. 4. Kozlova, A. S. Polimorfizm genov *ACTN3* i *PPARGC1A* u elitnykh sportsmenov / A. S. Kozlova, T. L. Lebed', A. S. Baranov // *Nauchnye trudy NII fizicheskoy kul'tury i sporta Respubliki Belarus' : sb. nauch. tr. / Nauchno-issledovatel'skij institut fizicheskoy kul'tury i sporta Respubliki Belarus'.* – Minsk, 2012. – Vyp. 11. – S. 253–259. 5. Programma razvitiya konnogo sporta i podgotovki nacional'noj komandy Respubliki Belarus' na 2017–2020 gody. – Minsk, 2017. – 23 s. 6. Finogenov, A. YU. Sportivnoe konevodstvo v Respublike Belarus' / A. YU. Finogenov, N. N. Androsik // *Ekologiya i zhivotnyj mir.* – 2007. – № 2. – S. 14–18. 7. Hrabrova, L. A. Progress DNK-tekhnologij v konevodstve / L. A. Hrabrova, E. I. Alekseeva // *Izvestiya Sankt-Peterburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta.* – 2015. – № 39. – S. 149–154. 8. Detection and analysis of polymorphism in the promoter region of equine *PPARGC1A* gene / D. Polasik [et al] // *The Journal of Animal & Plant Sciences.* – 2017. – Vol. 27(2). – P. 691–695. 9. Polasik, D. Detection and analysis of polymorphism in the promoter region of equine *PPARGC1α* gene / D. Polasik [et al] // *The Journal of Animal & Plant Sciences.* – 2017. – Vol. 27(2) / – P. 691–695.

Поступила в редакцию 04.10.2021.