

стадий лактации в целом по стаду снизилась на 21,9-32%, а интенсивность молоковыведения повысилась на 30,3-48,2%.

Перевод на 2-разовое доение позволяет на ферме с поголовьем 100 голов сэкономить за год 613,2 м³ воды, 23361,845 кВт·час электроэнергии, 146 кг щелочного и 25,55 кг кислотного моющих средств, а также 4,38 л масла трансмиссионного.

При таком доении существенно снижаются затраты труда операторов машинного доения, упорядочивается их рабочий день и время отдыха, что имеет огромное социальное значение.

Также увеличивается время на прием корма и отдых у коров, что положительно влияет на их продуктивность.

Литература. 1. Борщ, О. В. Вивчення ефективності дворазового доїння корів української чорно-рябої та червоно-рябої молочних порід / О. В. Борщ // Вісник Білоцерківського державного аграрного університету: Зб. наук.праць. – Біла Церква, 1999. – Вип. 8. – Ч. 2. – С. 34-38. 2. Результати експертизи технології виробництва молока з використанням доїльних роботів / В. Кравчук, С. Постельга, Л. Кириченко [та ін.] // Техніка і технології АПК. – 2016. – № 4 (79). – С. 25-28. 3. Борщ, О. О. Показники молоко-виведення у корів різної вгодованості за різних технологій доїння / О. О. Борщ, С. Ю. Рубан // Техніка і технології АПК. – 2015. – № 11 (74). – С. 31-33. 4. Иванов, Ю. А. Организация селекционно-племенной работы и создание информационной системы в молочном скотоводстве России / Ю. А. Иванов // Молочное и мясное скотоводство. – 2005. – № 4. – С. 33-35. 5. Парфенова, Г. Состав молока голштинских коров-первотелок разных линий / Г. Парфенова // Молочное и мясное скотоводство. – 2008. – № 8. – С. 23-24. 6. Stahelum, G. Achieving high performance from dairy cows on grazed pastures / G. Stahelum // Irish Grassland Animal Product. – 1993. – Vol. 27. – P. 9-18. 7. Краснов, И. Н. Влияние кратности доения коров на величину их разовых удоев / И. Н. Краснов, Е. В. Назарова // Вестник аграрной науки Дона. – Выпуск № 3 (19), 2012. – С. 13-18. 8. Донник, И. М. Влияние технологии доения на молочную продуктивность и качество молока коров / И. М. Донник, О. Г. Лоретц // Аграрный вестник Урала № 12 (130). – 2014. – С. 13-16. 9. Cooper, C. Once a day milking: possible and profitable? / C. Cooper // South Island Dairy Event Proceedings. – 2000. – P. 152-163. 10. Велиток, И. Г. Молокоотдача при машинном доении коров / И. Г. Велиток. – Москва: Московский рабочий, 1986. – 140 с. 11. Відомчі норми технологічного проектування. ВНТП-АПК 01.05. Скотарські підприємства. – Мінагрополітики України, К.; 2005. – 96 с. 12. Машини для тваринництва та птахівництва / За ред. Кравчука В. І., Мельника Ю. Ф. – Дослідницьке: УкрНДІПВТ ім. Л. Погорілого. – 2009. – 207 с.

Статья передана в печать 12.09.2017 г.

УДК 636.13.082.2

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА *MSTN* (МИОСТАТИН) И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЕГО В СЕЛЕКЦИИ ЛОШАДЕЙ ВЕРХОВЫХ ПОРОД

Вишневец А.В., Красочко П.П., Будревич О.Л.

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

Молекулярно-генетическое тестирование позволяет выявлять полиморфизм гена *MSTN* (миостатин) у лошадей верховых пород и устанавливать его взаимосвязь с хозяйственно полезными признаками. Это дает возможность дополнить традиционную селекцию и использовать желательные генотипы *MSTN* в селекции лошадей. **Ключевые слова:** миостатин, ген, популяция, порода, праймер, полиморфизм, ДНК, локусы.

POLYMORPHISM OF *MSTN* GENE (MYOSTATIN) AND USING IT IN SELECTION HORSE OF ROADSTER BREEDS

Vishnevets A.V., Krasochko P.P., Budrevich A.L.

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

Molecular genetic testing allows to identify a polymorphism of a gene of *MSTN* (myostatin) at horses of roadster breeds and to establish its interrelation with economic useful signs. It gives the chance to add traditional selection and and to use desirable genotypes of *MSTN* in selection of horses. **Keywords:** myostatin, gene, population, horse breed, primer, polymorphism, DNA, loci.

Введение. В настоящее время в Беларуси в развитии конного спорта происходят значительные перемены: открываются центры олимпийской подготовки во всех областях, укрепляется материально-техническая база, появляются молодые перспективные спортсмены, уделяется много внимания выращиванию племенных спортивных лошадей [4].

На данном этапе в республике имеется более 20 конноспортивных организаций, и количество их, скорее всего, будет постепенно увеличиваться, а соответственно, возрастать потребность в лошадях. Учитывая высокую стоимость импортного конепоголовья и дефицит валютных средств, целесообразно выращивать конкурентоспособных лошадей в республике при ограниченном завозе племенного материала выдающегося качества. Поэтому необходимо вести направленную работу как по созданию и совершенствованию собственной племенной базы

спортивного коневодства, так и по выращиванию высококачественного молодняка [3].

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 [7].

Существующая система племенной работы в настоящее время фактически не решает вопросов генетического улучшения комплекса признаков, обуславливающих высокие спортивные качества. В большинстве случаев основным критерием служат их собственные характеристики, а оценка жеребцов по качеству потомства проводится на основе сравнения со сверстниками, без должного учета племенной ценности матерей, генетического улучшения в поколениях и других факторов. Следует добавить, что реализованный генотип потомства и племенная ценность животного – понятия не равнозначные, поскольку в конкретных условиях среды генетический потенциал лошадей реализуется по-разному. Результативность выступлений лошадей в соревнованиях и ряд других признаков характеризуются низкой и умеренной наследуемостью, что не может обеспечить требуемой точности при отборе по фенотипу и затрудняет селекцию на спортивные качества.

Ключевым вопросом качественного улучшения пород является определение генетической ценности репродуктивного и спортивного состава лошадей по основным селекционным признакам, которое должно базироваться на использовании и внедрении в практику коневодства современных, более точных методических подходов к оценке и отбору племенного материала с целью ускорения темпов генетического прогресса пород [1, 5, 6].

Молекулярно-генетическая идентификация генов в коневодстве дает возможность дополнить традиционную селекцию новыми методами и позволяет вести отбор и подбор не только на фенотипическом, но и на генотипическом уровне [7].

В большинстве зарубежных стран с развитым животноводством созданы и выполняются широкомасштабные программы по разработке и использованию методов ДНК-технологий в селекционном процессе. Эффективность селекционно-племенной работы зависит от многих факторов: генетических, средовых, экономических. Если технологические факторы обеспечивают оптимальные режимы кормления и содержания, средовые создают условия для проявления генотипа в фенотипе, то генетические являются одними из важнейших для получения животных с высоким наследственным потенциалом. Поэтому современная концепция селекционно-племенной работы должна включать в себя использование, наряду с традиционными подходами, современных достижений в области селекции, генетики и биотехнологии [2].

Обнаружение нового регуляторного фактора – миостатина (*MSTN*) – вызвало значительный всплеск интереса к проблеме. Уже в первых работах было установлено, что миостатин обладает рядом необычных свойств и ингибирует развитие мышечных тканей у высших позвоночных. При этом особенно важным представляется то, что блокирование пути от гена миостатина к его продукту и далее к мышечным клеткам-мишеням, имеющим соответствующий трансмембранный рецептор, сопровождается выраженными позитивными эффектами на метаболизм этих клеток скелетной мускулатуры. Например, мутации в миостатиновом гене могут приводить к двукратному увеличению массы мышц у особей, относящихся к разным видам.

Ген *MSTN* локализован в 18-й хромосоме. У лошадей было выявлено три замещающие одонуклеотидные мутации этого гена. Гистологический анализ подтвердил, что между соотношением мышечного фибрина и полиморфизмом гена *MSTN* у лошадей имеется существенная связь [7].

Цель исследования – изучить полиморфизм гена *MSTN* (миостатин) у лошадей верховых пород в учреждении «РЦОПКСиК» и установить взаимосвязь генотипа со спортивными показателями.

Материалы и методы исследований. ДНК-тестирование лошадей верховых пород по гену *MSTN* (миостатин) проводили в ПЦР-лаборатории УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины». Объектом исследований были образцы ДНК из 78 проб эпителиальных клеток ротовой полости лошадей учреждения «Республиканский центр олимпийской подготовки конного спорта и коневодства» (аг. Ратомка Минского района).

Выделение ДНК осуществляли с применением стандартных наборов для выделения ДНК, производимых фирмой «Нуклеосорб» в комплектации «С» (ОДО «Праймтех», РБ).

Для амплификации гена *MSTN* использовали полимеразную цепную реакцию (ПЦР). Для ДНК-диагностики гена *MSTN* (миостатин) амплификацию проводили с помощью двух синтезированных олигонуклеотидных праймеров следующего состава:

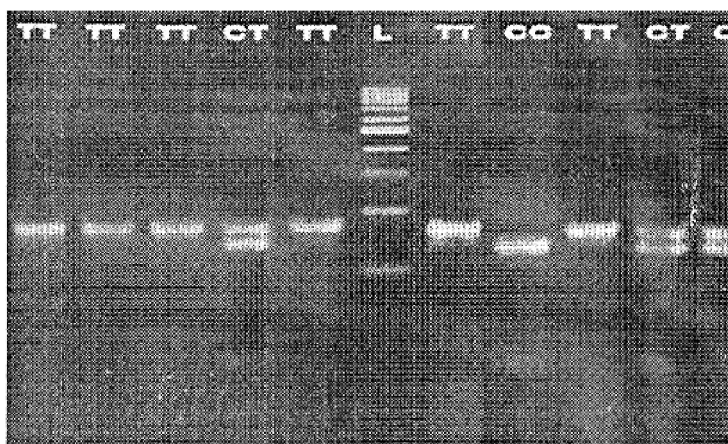
5'– GAGAAGGCATGACACGGAAG – 3';

5' – TTGATAGCAGAGTCATAAAGGAAAAGTA – 3'.

Программа амплификации для гена *MSTN* следующая: «горячий старт» – 3 минуты при 95°C, 35 циклов: денатурация – 10 секунд при 95°C, отжиг – 20 секунд при 56°C, синтез – 30 секунд при 72°C; элонгация – 5 минут при 72°C [8].

Для проведения рестрикционного анализа по гену *MSTN* использовали рестриктазу *RsaI* (Fermentas). 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 трис-

боратном буфере в течение 40 минут. Рестриктаза разрезает продукт амплификации в зависимости от генотипа по гену *MSTN* на фрагменты (рисунок 1).



генотип $MSTN^{TT}$ – 166 п.о., генотип $MSTN^{CT}$ – 166 п.о., 138 п.о., 28 п.о.,
генотип $MSTN^{CC}$ – 138 п.о., 28 п.о.

Рисунок 1 – Электрофореграмма продуктов амплификации и рестрикции с использованием рестриктазы *RsaI*:

Материал обработан биометрически с использованием программы «БИОМ» на компьютере.

Результаты исследований. Спортивное коневодство в республике развивается на базе преимущественного использования лошадей тракененской, ганноверской и других пород. Поголовье лошадей учреждения «Республиканский центр олимпийской подготовки конного спорта и коневодства» («РЦОПКСиК») аг. Ратомка отображено на рисунке 2.

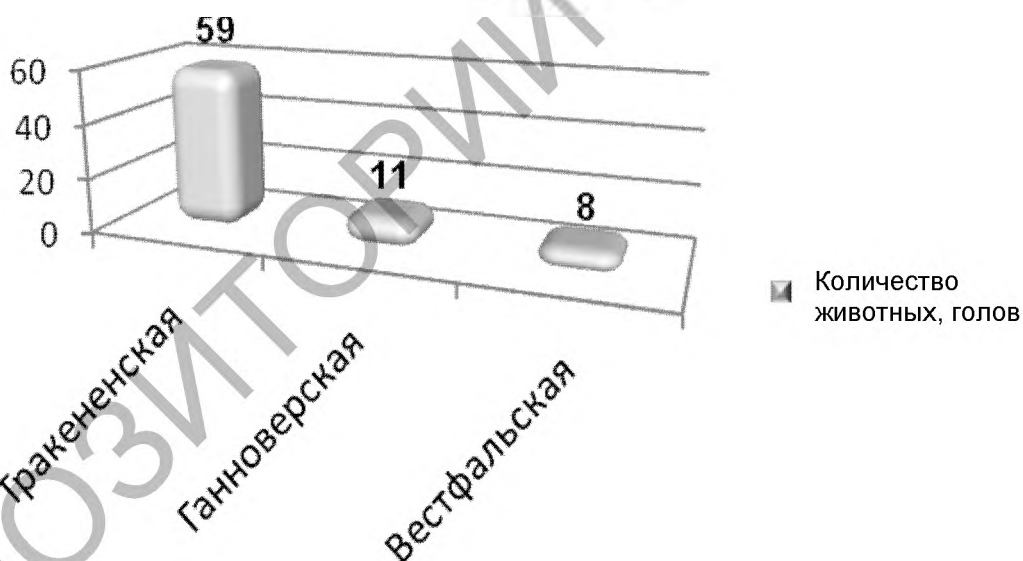


Рисунок 2 - Породная принадлежность исследуемых лошадей в учреждении «РЦОПКСиК»

Исследуемое поголовье лошадей в учреждении «РЦОПКСиК» представлено тремя породами: тракененская (75,6%), ганноверская (14,1%) и вестфальская (10,3%).

Исследования ассоциации полиморфных генов-кандидатов с признаками работоспособности у лошадей в настоящее время сводится к определению предпочтительного аллеля и генотипа путем сравнения этих показателей с разными генотипами между собой.

Была определена частота встречаемости аллелей гена *MSTN* у лошадей тракененской, ганноверской и вестфальской пород (рисунок 3).

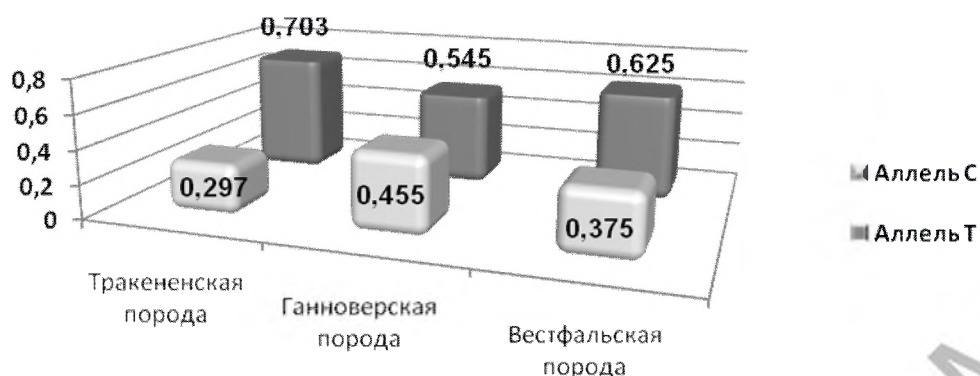


Рисунок 3 – Частота встречаемости аллелей гена *MSTN* (миостатин) у лошадей верховых пород

В результате проведенного молекулярно-генетического анализа по гену *MSTN* установлено, что среди исследуемых лошадей тракененской, ганноверской и вестфальской пород частота встречаемости аллеля *T* гена *MSTN* преобладает и составила 0,703, 0,545, 0,625 соответственно, а частота встречаемости аллеля *C* – 0,297, 0,455, 0,375 соответственно.

Частота встречаемости гена *MSTN* по генотипу у лошадей тракененской, ганноверской и вестфальской пород представлена на рисунке 4.

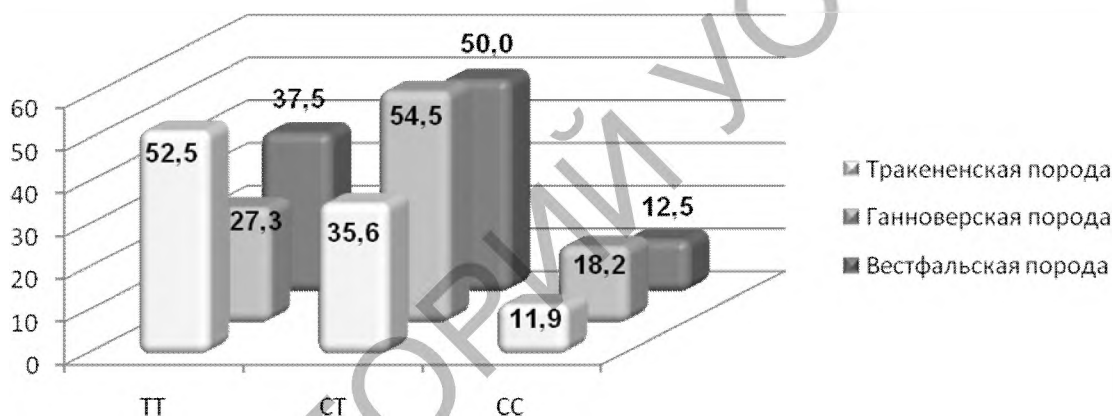


Рисунок 4 – Частота встречаемости гена *MSTN* (миостатин) по генотипу у лошадей верховых пород

В результате ДНК-диагностики было установлено, что у лошадей тракененской породы наиболее часто встречается генотип $MSTN^{TT}$ (52,5%), реже – $MSTN^{CT}$ (35,6%) и $MSTN^{CC}$ (11,9%). У лошадей ганноверской породы чаще встречается генотип $MSTN^{CT}$ (54,5%), реже – $MSTN^{TT}$ (27,3%) и $MSTN^{CC}$ (18,2%). У лошадей вестфальской породы наиболее часто встречается генотип $MSTN^{CT}$ (50,0%), реже – $MSTN^{TT}$ (37,5%) и $MSTN^{CC}$ (12,5%).

Существует связь между аллельными генами и селекционируемыми признаками животных. Ген, контролирующий образование белка или фермента, в силу своего действия может одновременно влиять и на формирование полезного признака. Связь маркерных генов со спортивными качествами может быть использована в племенной работе с конкретными популяциями животных. Показатели, полученные при выездке, троеборье и конкуре лошадей верховых пород различных генотипов гена *MSTN*, представлены в таблице 1.

Из анализа данных таблицы 1 следует, что наибольшие показатели оценки двигательных и прыжковых качеств при выездке у лошадей верховых пород с генотипом *CC* гена *MSTN*, что на 12,2 ($P < 0,01$) и 9,9% ($P < 0,05$) соответственно больше по сравнению с генотипом *TT*. По результатам троеборья лучшие показатели оценки двигательных и прыжковых качеств были также у верховых пород лошадей с генотипом *CC* гена *MSTN*, что на 8,2 и 17,2% соответственно больше в сравнении с генотипом *TT*. Двигательные и прыжковые качества лошадей по результатам конкура были незначительно больше у лошадей с генотипом *CT* гена *MSTN*, достоверных различий по данным показателям не установлено.

Таблица 1 – Показатели, полученные при различных видах конного спорта лошадей различных генотипов гена *MSTN*

Вид конного спорта	Показатели	Генотип <i>MSTN</i>		
		<i>TT</i>	<i>CT</i>	<i>CC</i>
Выездка	оценка двигательных качеств	8,18±0,21	8,90±0,30	9,18±0,29**
	оценка прыжковых качеств	7,90±0,29	8,50±0,26	8,68±0,14*
	оценка за испытания	8,05±0,19	8,71±0,21	9,03±0,21*
Троеборье	оценка двигательных качеств	8,64±0,43	9,03±0,97	9,35±0,59
	оценка прыжковых качеств	7,61±0,89	7,47±0,14	8,92±0,75
	оценка за испытания	8,13±0,38	8,25±0,56	9,14±0,67
Конкур	оценка двигательных качеств	8,62±0,46	8,76±0,25	8,66±0,36
	оценка прыжковых качеств	8,36±0,37	8,87±0,18	8,81±0,28
	оценка за испытания	8,49±0,30	8,82±0,20	8,74±0,05

Заключение. В результате проведенного исследования установлено, что в учреждении «РЦОПСиК» среди исследованного поголовья больше всего лошадей тракененской породы – 75,6%, ганноверской – 14,1% и вестфальской – 10,3%.

В результате ДНК-тестирования было установлено, что среди исследуемых лошадей тракененской, ганноверской и вестфальской пород частота встречаемости аллеля *T* гена *MSTN* преобладает и составила 0,703, 0,545, 0,625 соответственно. Установлено, что у лошадей тракененской породы наиболее часто встречается генотип *MSTN^{TT}* (52,5%), реже – *MSTN^{CT}* (35,6%) и *MSTN^{CC}* (11,9%). У лошадей ганноверской породы чаще встречается генотип *MSTN^{CT}* (54,5%), реже – *MSTN^{TT}* (27,3%) и *MSTN^{CC}* (18,2%). У лошадей вестфальской породы наиболее часто встречается генотип *MSTN^{CT}* (50,0%), реже – *MSTN^{TT}* (37,5%) и *MSTN^{CC}* (12,5%).

Наибольшие показатели оценки двигательных и прыжковых качеств при выезде и троеборье отмечены у лошадей верховых пород с генотипом *CC* гена *MSTN*, что на 8,2-12,2 и 9,9-17,2% соответственно больше по сравнению с генотипом *TT*. Двигательные и прыжковые качества лошадей по результатам конкур были незначительно больше у лошадей с генотипом *CT* гена *MSTN*, достоверных различий по данным показателям не установлено.

Дополнительная генетическая информация значительно увеличивает точность селекционной ценности молодых неиспытанных лошадей, а также взрослых лошадей, не имеющих оцененного потомства. Поэтому маркерная селекция дает возможность проводить отбор в раннем возрасте, сократить интервал смены поколений и ускорить генетический прогресс при совершенствовании верховых пород лошадей в Республике Беларусь.

Литература. 1. Волков, Д. А. Современные подходы к генетической оценке спортивных лошадей / Д. А. Волков, О. В. Бондаренко, В. А. Даншин // Зоотехния. – 2006. – № 5. – С. 9–11. 2. Гетманцева, Л. В. Молекулярно-генетические аспекты селекции животных / Л. В. Гетманцева // Молодой ученый. – Казань, 2010. – № 12, ч. 2. – С. 199–201. 3. Селекционно-генетические параметры признаков отбора лошадей верховых пород Беларуси / Горбуков М. А. [и др.] // Зоотехническая наука Беларуси : сб. науч. тр., посвященный 60-летию зоотехнической науки Беларуси. – Жодино, 2009. – Т. 44, ч. 1. – С. 50–59. 4. Горчаков, В. Ю. Эффективность использования жеребцов вестфальской породы в условиях КСК «Табольская Будка» Гродненского района / В. Ю. Горчаков, В. В. Семашко // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы : сборник научных трудов / Гродненский государственный аграрный университет. – Гродно, 2013. – Т. 21 : Зоотехния. – С. 42–46. 5. Козлов, С. А. Коневодство : учебник для студентов высших учебных заведений, обучающихся по направлению «Зоотехния» / С. А. Козлов, В. А. Парфенов. – Москва : КолосС, 2012. – 352 с. 6. Рудак, А. Н. Эффективность применения племенного подбора на основе генеалогических сочетаний, иммуно-этологических тестов для улучшения воспроизводительных и экстерьерно-конституционных качеств лошадей тракененской и ганноверской пород : дис. ... канд. сельскохозяйственных наук : 06.02.07 / А. Н. Рудак. – Жодино, 2016. – 115 с. 7. Шишкин, С. С. Миостатин и некоторые другие биохимические факторы, регулирующие рост мышечных тканей у человека и ряда высших позвоночных // Успехи биологической химии / Институт биохимии им. А. Н. Баха РАН. – 2004. – Т. 44. – С. 209–262. 8. Development of ACRS-PCR Method for Detection of Single Nucleotide Polymorphism g. 6649373C/T of the Equine Myostatin Gene (*MSTN*) / M. Gábor, M. Miluchová, A. Trakovická // Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies. – 2014. – Т. 47, № 2. – С. 52–55.

Статья передана в печать 16.11.2017 г.