

6. Фертильность сперматозоидов и состояние хроматина: методы контроля (обзор) / В. А. Багиров [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2012. – № 2. – С. 3-13.

7. Can apoptosis and necrosis coexist in ejaculated human spermatozoa during in vitro semen bacterial infection? / M. Franzek [et al.] // 98 Journal of Assisted Reproduction and Genetics. – 2015. – Vol. 32, № 5. – P. 771-779. DOI: 10.1007/s10815-015-0462-x

8. Ball, P. J. H. Reproduction in cattle / P. J. H. Ball, A. R. Peters. – 3th ed. – Oxford : Blackwell Publishing Ltd, 2004. – 250 p.

9. Клещев, М. А. Оценка морфологических аномалий сперматозоидов у быков – производителей / М. А. Клещев, В. Л. Петухов, Л. В. Осадчук // Эффективное животноводство. – 2018. – № 3. – С. 69-71.

10. Биологические показатели спермы быков-производителей in vitro / В. П. Симоненко [и др.] // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства : сб. науч. тр. – Горки : БГСХА, 2021. – Вып. 24, ч. 1. – С. 70-77.

Поступила 11.01.2023 г.

УДК 636.13:575.174.015.3

А.Н. РУДАК, А.И. ГЕРМАН, Ю.И. ГЕРМАН, М.А. ГОРБУКОВ

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМА МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ ДНК ЛОШАДЕЙ ВЕРХОВЫХ ПОРОД С ИХ РАБОТОСПОСОБНОСТЬЮ

*Научно-практический центр Национальной академии наук
Беларуси по животноводству, г. Жодино, Республика Беларусь*

В настоящее время внедрение в практику разведения лошадей верховых пород новых разработок на основе ДНК-тестирования является актуальным. Их использование способствует не только росту показателей воспроизводства, но и решению сложнейшей задачи тиражирования и сохранения уникальных генотипов лошадей, отвечающих возросшим требованиям их многогранного использования в различных дисциплинах конного спорта. Статья посвящена изучению связи полиморфизма микросателлитных локусов ДНК лошадей верховых пород с их работоспособностью. Установлено, что лошади верховых пород с оценкой спортивных качеств выше 7,5 баллов характеризуются достоверно более высокой частотой встречаемости аллелей ASB17^G, ASB23^I, CA425^I, HMS2^M, HMS2^H, HMS3^I и HMS3^Q в соответствующих микросателлитных локусах. Также выявлен также ряд аллелей снижающих спортивные качества лошадей. Полученные данные могут быть использованы в качестве маркеров для отбора перспективных лошадей для конного спорта.

Ключевые слова: лошади верховых пород, работоспособность, локусы микросателлитов ДНК, частота аллеля.

**RELATIONSHIP BETWEEN POLYMORPHISM
OF MICROSATELLITE DNA LOCI AND PERFORMANCE
OF RIDING HORSES**

*Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences
of Belarus for Animal Breeding, Zhodino, Republic of Belarus*

At present, the introduction of new developments based on DNA testing into the practice of riding horse breeding is urgent. Their use contributes not only to increasing reproduction rates, but also to solving the most difficult problem of replication and preservation of unique genotypes of horses that meet the increased requirements for their multi-faceted use in various equestrian disciplines. This paper is devoted to the study of the relationship between polymorphism of microsatellite DNA loci and performance of riding horses. It has been established that the frequency of alleles ASB17G, ASB23J, CA425I, HMS2M, HMS2H, HMS3J and HMS3Q in the corresponding microsatellite loci is significantly higher in riding horses with athletic performance score over 7.5. Also, a number of alleles that reduce the athletic performance of horses have been identified. The data obtained can be used as markers for selecting promising horses for equestrian sports.

Key words: riding horses, performance, microsatellite DNA loci, frequency of alleles.

Введение. На формирование продуктивности сельскохозяйственных животных оказывают влияние как генетические, так и паратипические (внешние) факторы, поэтому селекционная работа основывается на оценке животных фенотипическими и генетическими методами. Однако при традиционной оценке по фенотипу истинный генетический потенциал их может быть занижен или необъективно оценён. В связи с этим, одной из основополагающих задач генетики сельскохозяйственных животных является разработка методов объективной оценки генотипов и прогнозирование их продуктивности на ранних стадиях онтогенеза [1, 2, 3].

В коневодстве одним из главных селекционируемых признаков является работоспособность лошадей, которая имеет свою специфику в группах пород разной специализации. Как и другие качественные признаки, работоспособность лошадей определяется аддитивным взаимодействием многих генов и факторами внешней среды. Влияние генотипа на работоспособность лошадей достаточно существенно, при этом действие генов может варьировать по своей силе и значимости, поэтому несомненный интерес представляет выявление вариантов генов, которые могут служить генетическими маркерами высокой работоспособности лошадей [4, 5].

В настоящее время назрела необходимость в изучении влияния полиморфизма микросателлитных локусов ДНК на величину показателей хозяйственно-полезных качеств лошадей верховых пород отечественной селекции. Внедрение в практику разведения лошадей верховых пород новых разработок на основе ДНК-тестирования должно способствовать не только росту показателей воспроизводства, как наиболее значимой экономической категории в коневодстве, но и решению сложнейшей задачи тиражирования и сохранения уникальных генотипов лошадей, отвечающих возросшим требованиям их многогранного использования в различных дисциплинах конного спорта [6, 7, 8, 9, 10]. С учётом вышеуказанного исследования по данной проблеме являются весьма актуальными и необходимыми.

Целью работы являлось изучение связи полиморфизма микросателлитных локусов ДНК лошадей верховых пород с их работоспособностью.

Материал и методика исследований. Исследования выполнялись в Учреждении «Республиканский центр Олимпийской подготовки конного спорта и коневодства» Минского района Минской области.

Работоспособность лошадей верховых пород определялась на основании протокола оценки их двигательных и прыжковых качеств во время заводских испытаний.

ДНК-анализ проводили в лаборатории молекулярной биотехнологии и ДНК-тестирования РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству» согласно методике мультиплексного генотипирования по 17 микросателлитным локусам, рекомендованным ISAG: АНТ4, АНТ5, АSB2, АSB17, АSB23, СА425, HMS1, HMS2, HMS3, HMS6, HMS7, НТG4, НТG6, НТG7, НТG10, VHL20, LEX3. Для проведения ДНК-анализа были отобраны пробы биоматериала (волосы с луковицами) от каждой лошади (n=61).

Анализ полученных в результате электрофоретического разделения фрагментов ДНК данных и определение размеров выявленных аллелей исследуемых локусов и соответствующих генотипов животных проводили с использованием программного обеспечения Gene Mapper 4.1 (Applied Biosystems, США) [11].

Результаты эксперимента и их обсуждение. Для выявления генов-маркеров проанализированы результаты оценки частоты встречаемости аллелей в микросателлитных локусах ДНК лошадей верховых пород с учетом их спортивной работоспособности (рисунки 1-6). Лошади были дифференцированы на 2 группы в зависимости от оценки их спортивных качеств: оценка работоспособности выше 7,5 баллов и ниже 7,5 баллов.

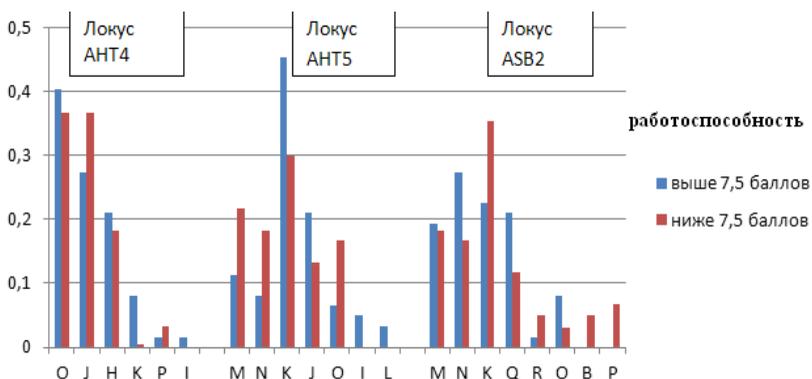


Рисунок 1 – Сравнительный анализ частот встречаемости аллелей в локусах АНТ4, АНТ5, АСВ2 у лошадей верховых пород с дифференцированной оценкой спортивных качеств

Установлено, что лошади верховых пород с оценкой спортивных качеств 7,5 баллов и выше характеризуются более высокой частотой встречаемости аллеля О ($0,403 \pm 0,06$) и Н ($0,210 \pm 0,05$) в локусе АНТ4, а также наличием аллеля I с частотой $0,016 \pm 0,01$. У лошадей с оценкой спортивных качеств ниже 7,5 баллов наблюдалось увеличение концентрации аллеля J ($0,367 \pm 0,06$) и аллеля Р ($0,033 \pm 0,01$) по сравнению с более работоспособными сверстниками (различия недостоверны).

Выявлено, что по локусу АНТ5 лошади, имеющие оценку спортивных качеств 7,5 баллов и выше, характеризуются большей частотой встречаемости аллеля К ($0,452 \pm 0,06$), J ($0,24 \pm 0,05$), наличием аллеля I ($0,05 \pm 0,03$). Указанный локус у лошадей с работоспособностью ниже 7,5 баллов оказался наименее полиморфным и характеризовался наличием 5 аллелей. К аллелям, обуславливающим низкую спортивную работоспособность, следует отнести М ($0,217 \pm 0,05$) и N ($0,183 \pm 0,05$).

По локусу АСВ2 лошади с оценкой спортивных качеств 7,5 и выше характеризуются меньшим аллельным разнообразием по сравнению с лошадьми менее работоспособной группы (не встречались аллели В и Р, низкая концентрация аллеля R). Частота встречаемости аллелей N, Q и О у них была выше и составила $0,274 \pm 0,05$, $0,210 \pm 0,05$ и $0,081 \pm 0,03$ соответственно. У лошадей с низкой оценкой спортивных качеств отмечено увеличение частоты встречаемости аллеля К ($0,353 \pm 0,06$), R ($0,05 \pm 0,03$), наличие аллелей В ($0,05 \pm 0,03$) и Р ($0,067 \pm 0,03$).

Частота встречаемости аллеля N в локусе АСВ17 у лошадей с высокими спортивными качествами оказалась достоверно выше по сравнению с лошадьми менее работоспособной группы (при $p \geq 0,001$) и составила $0,355 \pm 0,06$. Также лошади данной группы отличаются наличием

аллелей O ($0,06\pm 0,03$) и I ($0,016\pm 0,02$), отсутствием в генотипе аллелей H, F, S, наличие которых отмечено у лошадей с оценкой спортивных качеств 7,5 баллов и ниже.

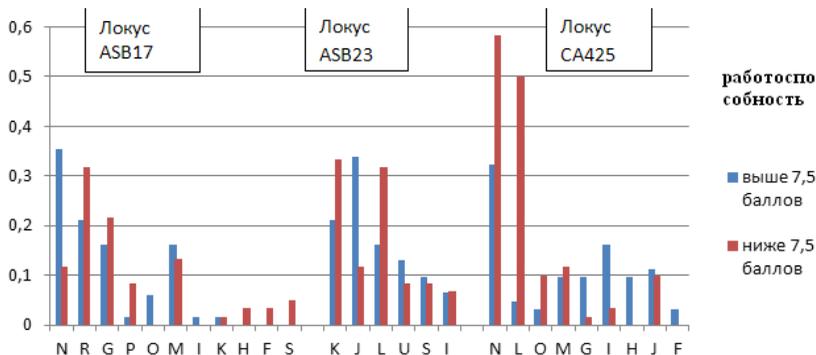


Рисунок 2 – Сравнительный анализ частот встречаемости аллелей в локусах ASB17, ASB23, CA425 у лошадей верховых пород с дифференцированной оценкой спортивных качеств

В локусе ASB23 наблюдаются достоверные различия по частоте встречаемости аллеля J и L между исследуемыми лошадьми обеих групп. У лошадей с высокой оценкой спортивной работоспособности частота встречаемости аллеля J составила $0,339\pm 0,06$, что достоверно выше (при $P\geq 0,01$) по сравнению со второй группой, где частота встречаемости данного аллеля была в 2,9 раза ниже ($0,117\pm 0,04$). Лошади с оценкой спортивных качеств менее 7,5 баллов характеризуются более высокой частотой встречаемости аллеля K ($0,333\pm 0,06$) и L ($0,317\pm 0,06$ при $P\geq 0,05$).

Сравнительный анализ частот встречаемости аллелей в локусе CA425 у лошадей верховых пород с дифференцированной оценкой спортивных качеств показал, что имеются достоверные различия по частоте встречаемости аллелей N и I между лошадьми обеих исследуемых групп. Так, частота встречаемости аллеля N у лошадей с оценкой спортивных качеств 7,5 баллов и ниже была достоверно выше (при $p\geq 0,01$) и составила $0,583\pm 0,06$. В то же время лошади данной группы достоверно уступали по концентрации аллеля I ($0,033\pm 0,02$) животным с оценкой 7,5 баллов и выше, где указанный показатель находится на уровне $0,161\pm 0,05$ (при $p\geq 0,05$).

Анализ данных рисунка 3 свидетельствует о том, что в одном из наименее полиморфных локусов – HMS1 у лошадей с высокой работоспособностью присутствует аллель L с частотой $0,081\pm 0,03$ и аллель I ($0,065\pm 0,03$). Наличие указанных аллелей в генотипе лошадей с низкой

работоспособностью не обнаружено.

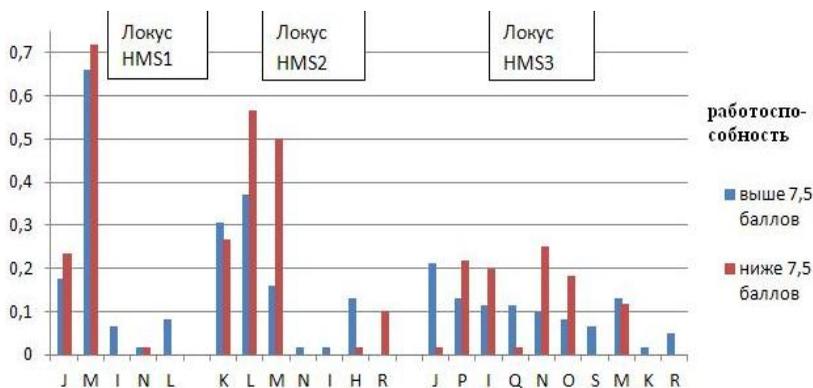


Рисунок 3 – Сравнительный анализ частот встречаемости аллелей в локусах HMS1, HMS2, HMS3 у лошадей верховых пород с дифференцированной оценкой спортивных качеств

Показатели спортивной работоспособности лошадей верховых пород зависят от наличия и частоты встречаемости определённых аллелей в локусе HMS2. Частота встречаемости аллеля М и Н у лошадей с оценкой спортивных качеств более 7,5 баллов была достоверно выше по сравнению с лошадьми второй группы и составила $0,161 \pm 0,05$ и $0,129 \pm 0,04$ (при $p \geq 0,05$) соответственно. Также в указанной группе отмечено отсутствие аллеля R, частота которого у лошадей с оценкой менее 7,5 баллов достаточно высокая и составляет $0,100 \pm 0,04$. Частота встречаемости аллеля L у них также достоверно выше по сравнению с лошадьми первой группы и составила $0,567 \pm 0,06$ (при $p \geq 0,05$).

Локус HMS3 у лошадей обеих исследуемых групп оказался достаточно информативным. В микросателлитном профиле лошадей с высокой работоспособностью выявлена достоверно более высокая концентрация аллеля J – $0,210 \pm 0,05$ (при $P \geq 0,001$) и аллеля Q – $0,113 \pm 0,04$ (при $p \geq 0,05$), здесь также установлен ряд аллелей (S, R, K), которые отсутствуют у животных менее работоспособной группы. Выявлены достоверные различия по частоте встречаемости аллеля N. У лошадей с оценкой ниже 7,5 баллов его частота была достоверно выше и составила $0,250 \pm 0,06$ (при $P \geq 0,05$). Концентрация аллелей P ($0,217 \pm 0,05$), I ($0,200 \pm 0,05$), O ($0,183 \pm 0,05$) также была довольно высокой (различия недостоверны).

Анализ данных, представленных на рисунке 4, показал, что лошади исследуемых групп различаются наличием аллеля J и различной частотой встречаемости аллелей O ($0,226 \pm 0,05$ – $0,117 \pm 0,04$) и M ($0,194 \pm 0,05$ –

0,333±0,06). Незначительные отличия наблюдаются по частоте встречаемости аллеля Р (0,452±0,06-0,417±0,06) и К (0,097±0,04-0,100±0,04) в указанном микросателлитном локусе.

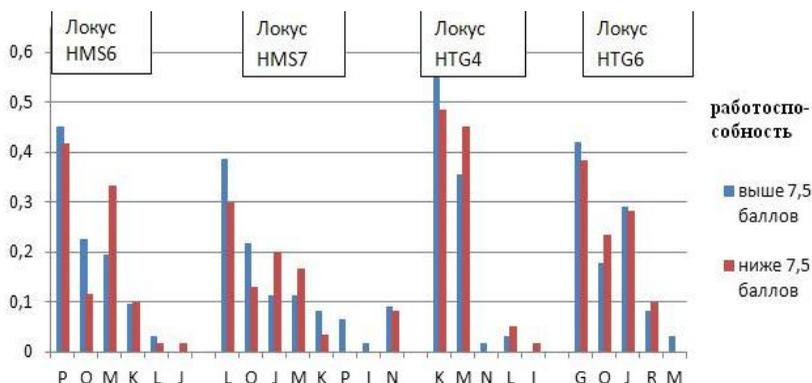


Рисунок 4 – Сравнительный анализ частот встречаемости аллелей в локусах HMS6, HMS7, HTG4, HTG6 у лошадей верховых пород с дифференцированной оценкой спортивных качеств

Установлено, что у лошадей верховых пород, оценённых по спортивной работоспособности 7,5 баллами и выше, частота аллелей L и O была несколько выше (0,387±0,06 и 0,217±0,05 соответственно) по сравнению с лошадьми менее работоспособной группы, где частота аналогичных аллелей составила 0,300±0,06 и 0,129±0,04 (различия недостоверны). У животных второй группы наблюдается более высокая концентрация аллелей J и M – 0,200±0,05 и 0,167±0,05 соответственно. Следует отметить также отсутствие у лошадей данной группы аллелей P и I.

Локус HTG4 у лошадей оказался не таким информативным, так как он является одним из наименее полиморфных наряду с локусом HTG6. Установлено, что лошади с оценкой спортивной работоспособности 7,5 баллов и выше характеризовались большей частотой встречаемости аллеля K (0,597±0,06) и наличием редкого аллеля N (0,016±0,02). Животные противоположной группы имели большую частоту встречаемости аллеля M (0,450±0,06) и L (0,032±0,02), а также наличие в генотипе аллеля I (0,017±0,02).

Лошади обеих исследуемых групп по микросателлитному локусу HTG6 различаются наличием аллеля M (0,032±0,02). По частоте встречаемости других аллелей значительных отличий не наблюдается, за исключением большей частоты аллеля O у животных, оценённых по работоспособности ниже 7,5 баллов.

Как показывают данные рисунка 5, по локусу HTG7 группы

исследуемых лошадей достоверно различаются частотой встречаемости аллеля O и N. У лошадей с оценкой спортивной работоспособности ниже 7,5 баллов отмечено наличие аллеля I ($0,017 \pm 0,02$), а также большая концентрация аллеля O ($0,550 \pm 0,06$) по сравнению с животными другой исследуемой группы ($0,484 \pm 0,06$). Частота встречаемости аллеля N у лошадей группы высокой работоспособности была в 1,7 раза выше по сравнению с аналогичным показателем у лошадей с низкой оценкой спортивных качеств и составила $0,226 \pm 0,05$.

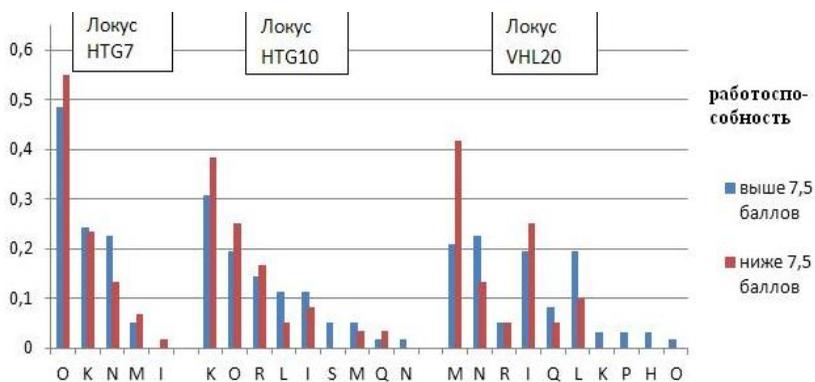


Рисунок 5 – Сравнительный анализ частот встречаемости аллелей в локусах HTG7, HTG10, VHL20 у лошадей верховых пород с дифференцированной оценкой спортивных качеств

Локус HTG10 у лошадей с высокой оценкой спортивной работоспособности отличается наличием 9 аллелей, в то время как у лошадей противоположной исследуемой группы выявлено только 7 (не встречались аллели S и N). У животных менее работоспособной группы преобладали аллели K ($0,383 \pm 0,06$), O ($0,250 \pm 0,06$), R ($0,167 \pm 0,05$) и Q ($0,05 \pm 0,03$). Установлено, что лошади с оценкой спортивной работоспособности 7,5 баллов и выше характеризуются большей частотой встречаемости аллелей L ($0,113 \pm 0,04$), I ($0,113 \pm 0,04$) и M ($0,05 \pm 0,03$).

Следует отметить, что локус VHL20 у лошадей верховых пород является одним из наиболее полиморфных. Так, у лошадей с высокой оценкой спортивной работоспособности здесь выявлено 10 аллелей. Частота встречаемости аллеля M у лошадей с оценкой спортивных качеств ниже 7,5 баллов была достоверно выше по сравнению с лошадьми первой группы и составила $0,417 \pm 0,06$ (при $p \geq 0,001$). Лошади данной исследуемой группы также отличаются большей частотой встречаемости аллеля I ($0,250 \pm 0,05$), отсутствием аллелей K, P, H и O.

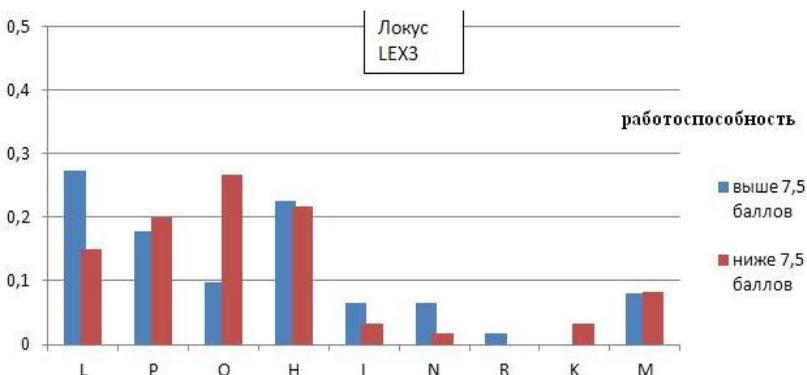


Рисунок 6 – Сравнительный анализ частот встречаемости аллелей в локусе LEX3у лошадей верховых пород с дифференцированной оценкой спортивных качеств

Установлено, что у лошадей, обладающих невысокими спортивными качествами, частота встречаемости аллеля O достоверно выше по сравнению с животными первой группы и составляет $0,267 \pm 0,06$ (при $p \geq 0,05$), они также отличались низкой концентрацией аллелей N ($0,017 \pm 0,02$) и I ($0,033 \pm 0,02$), отсутствием в генотипе аллеля R. Невысокой частотой встречаемости отмечен аллель K, отсутствующий у лошадей с оценкой спортивных качеств более 7,5 баллов.

Заключение. Таким образом, в ходе проведённых исследований установлено, что лошади верховых пород с оценкой спортивных качеств выше 7,5 баллов характеризуются достоверно более высокой частотой встречаемости аллелей ASB17^G ($0,355 \pm 0,06$), ASB23^J ($0,339 \pm 0,06$), CA425^I ($0,161 \pm 0,05$), HMS2^M ($0,161 \pm 0,05$), HMS2^H ($0,129 \pm 0,04$), HMS3^I ($0,210 \pm 0,05$) и HMS3^Q ($0,113 \pm 0,04$) в соответствующих микросателлитных локусах. Выявлен также ряд аллелей снижающих спортивные качества лошадей. Это аллели АНТ4^J, ASB17^G, ASB23^L, CA425^N, HMS2^L, HMS3^N, НТГ4^M, НТГ6^O, НТГ7^O и VHL20^M.

Результаты исследований доказывают, что полученные данные могут быть использованы в качестве маркеров для отбора перспективных лошадей для конного спорта.

Литература

1. Васильева, О. К. Влияние генетических и паратипических факторов на качественные признаки молочной продуктивности высокопродуктивных коров черно-пестрой породы : автореф. дис. ... канд. с.-х. наук : 06.02.01 / О. К. Васильева; ГНУ ВНИИГРЖ. – Санкт-Петербург, 2006. – 24 с.
2. Калашникова, П. А. Проблемы использования методов анализа ДНК в генетической экспертизе племенных животных / П. А. Калашникова // Материалы Международной конференции. – Дубровицы : ВИЖ, 2002. – С. 46-51.

3. Шейко, И. П. Задачи селекционно-племенной работы по повышению генетического потенциала сельскохозяйственных животных / И. П. Шейко, Н. А. Попков // Белорусское сельское хозяйство. – 2008. – № 1. – С. 38–44.

4. Анализ интенсивности генетической дифференциации новых селекционных форм в коневодстве с использованием маркеров, ассоциированных с признаками мясной продуктивности / А. М. Зайцев [и др.] // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2011. – № 1. – С. 27-29.

5. Демин, В. А. Наследуемость показателей спортивной работоспособности у лошадей русской верховой породы / В. А. Демин, Е. В. Рябова // Научное сопровождение инновационного развития агропромышленного комплекса: теория, практика, перспективы : материалы 65-й междунар. науч.-практ. конф., 20-21 мая 2017 г. – Рязань, 2014 – С. 84-86.

6. Методы маркер-зависимой селекции / Н. Зиновьева [и др.] // Животноводство России. – 2006. – № 3. – С. 29-31.

7. Молекулярно-генетические исследования сельскохозяйственных животных методом ПЦР-ПДРФ : учебное пособие / Л. В. Гетманцева [и др.] ; Донской ГАУ. – Персиановский : Донской ГАУ, 2018. – 119 с.

8. Роль ДНК-маркеров признаков продуктивности сельскохозяйственных животных / Н.А. Зиновьева [и др.] // Зоотехния. – 2010. – № 1. – С. 8-10.

9. Перспективные гены-маркеры продуктивности сельскохозяйственных животных / М.А. Леонова [и др.] // Молодой учёный. – 2013. – № 12(59). – С. 612-614.

10. Храброва, Л. А. Использование ДНК-технологий в коневодстве / Л. А. Храброва // Эффективное животноводство. – 2015. – № 6 (115). – С. 13-17.

11. Технология генотипирования лошадей по микросателлитным локусам ДНК: мет. рекомендации / И. П. Шейко [и др.]. – Жодино, 2016. – 18 с.

Поступила 24.02.2023 г.

УДК 636.4.082.22:004.424.23

Н.М. ХРАМЧЕНКО, А.В. РОМАНЕНКО, К.В. НЕВАР

ВЛИЯНИЕ СЕЛЕКЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ НА ТОЧНОСТЬ ИНДЕКСНОЙ ОЦЕНКИ (НА ПРИМЕРЕ СВИНОВОДСТВА)

*Научно-практический центр национальной академии наук Беларуси
по животноводству, г. Жодино, Республика Беларусь*

В свиноводстве, в отличие от молочного скотоводства, система производства товарной продукции состоит из разных уровней племенной работы: ядро, множители и промышленные производители. Для оптимизации расчёта экономического веса необходимо использовать методику, позволяющую разделить вклад конкретного уровня племенного предприятия, породы и пола свиней в прибыль, получаемую от производства товарного животного. В связи с этим проведён анализ изменения точности селекционного индекса в зависимости от исходных селекционно-генетических параметров и агрегатного генотипа. В исследованиях использовался комплексный индекс, предложенный для хряков-производителей, включающий два признака: среднесуточный прирост (ССП) и