

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 м<sup>3</sup> 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 однонуклеотидные 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:

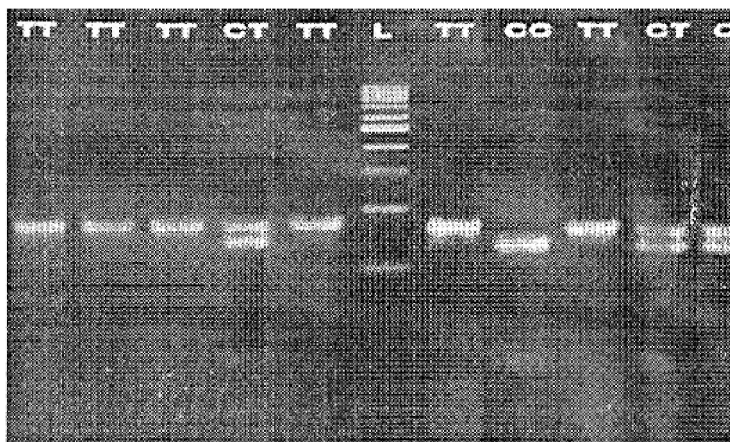
5'– GAGAAGGCATGACACGGAAG - 3';

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).

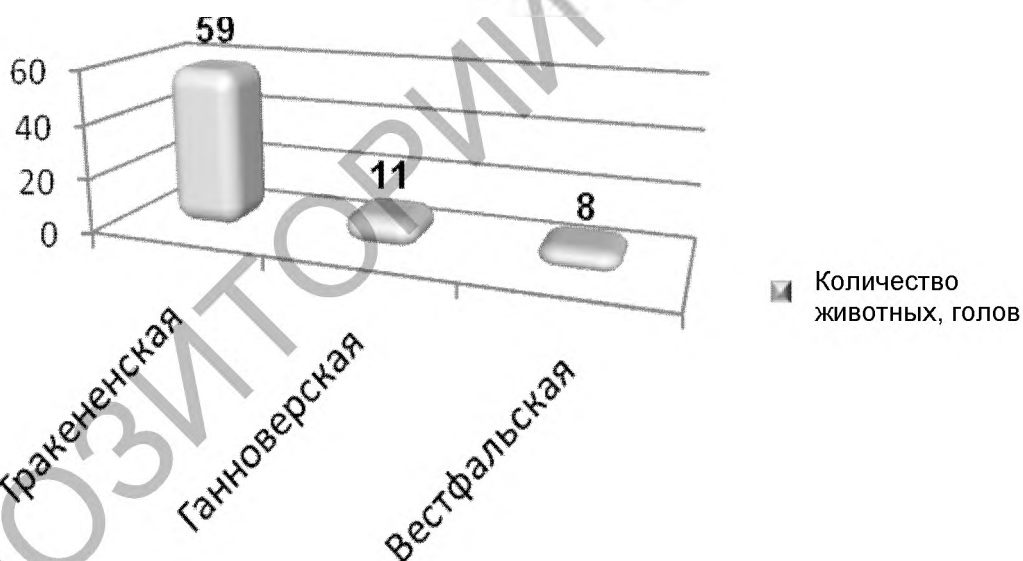


генотип  $MSTN^{TT}$  – 166 п.о., генотип  $MSTN^{CT}$  – 166 п.о., 138 п.о., 28 п.о.,  
генотип  $MSTN^{CC}$  – 138 п.о., 28 п.о.

**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.

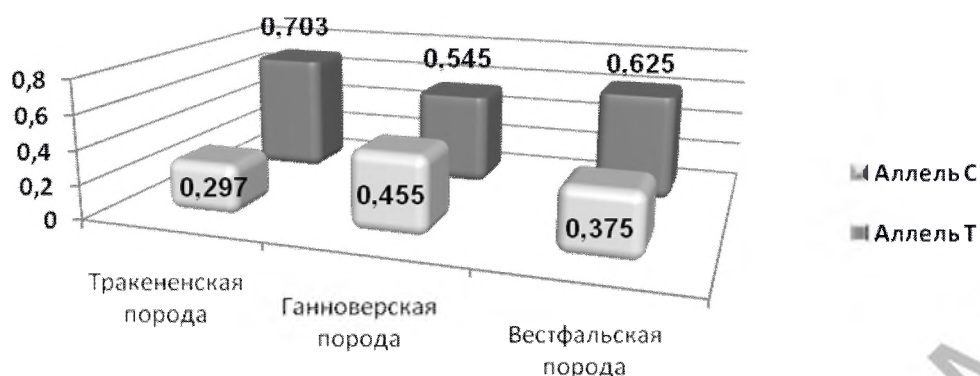


**Рисунок 2 - Породная принадлежность исследуемых лошадей в учреждении «РЦОПКСиК»**

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.

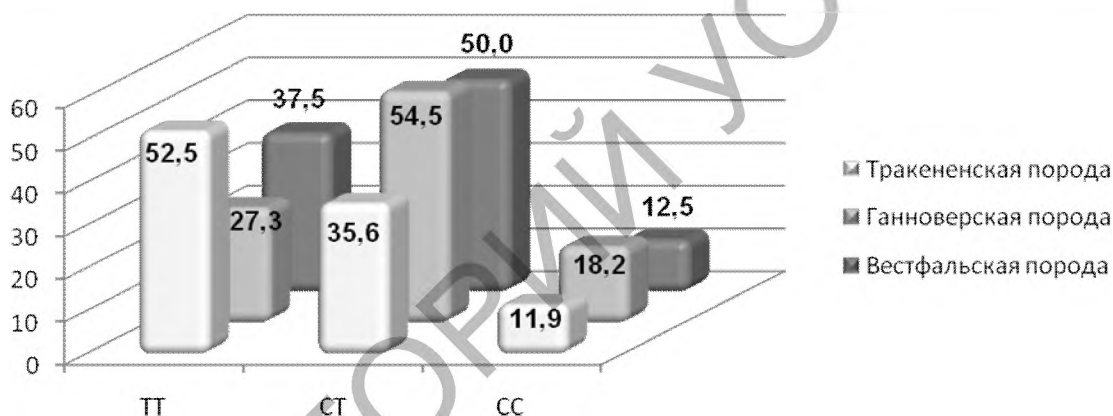
Была определена частота встречаемости аллелей гена *MSTN* у лошадей тракененской, ганноверской и вестфальской пород (рисунок 3).



**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 «РЦОПКСиК» 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<sup>TT</sup>* (52,5%), реже – *MSTN<sup>CT</sup>* (35,6%) и *MSTN<sup>CC</sup>* (11,9%). У лошадей ганноверской породы чаще встречается генотип *MSTN<sup>CT</sup>* (54,5%), реже – *MSTN<sup>TT</sup>* (27,3%) и *MSTN<sup>CC</sup>* (18,2%). У лошадей вестфальской породы наиболее часто встречается генотип *MSTN<sup>CT</sup>* (50,0%), реже – *MSTN<sup>TT</sup>* (37,5%) и *MSTN<sup>CC</sup>* (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 конкура 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.