

*immediately after training and one hour after training). Established that immediately after training horses both species the number of red blood cells, white blood cells, hemoglobin and hematocrit value were increased compared to the rest ( $p < 0,05-0,01$ ). However, the recovery of the studied hematological parameters passed to normal faster horses Ukrainian horse breed. While red blood indices tended to decrease after exercise in representatives of both species.*

**Blood, horses, red corpuscles, leucocytes, hemoglobin, gematokrit, training, physical loading.**

УДК 636.18.082

## **К ВОПРОСУ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГЕНОМНОЙ СЕЛЕКЦИИ В КОНЕВОДСТВЕ**

**В.С. Коновалов, доктор биологических наук, профессор  
Института разведения и генетики животных НААН**

*Представлены результаты аналитического обзора как собственных исследований автора, так и литературных данных по применению методов структурно-функциональной геномики в селекции лошадей на рекордную резвость. С позиций биохимической генетики обоснован метод интервального тренинга для повышения резвости рысака.*

**Генетические маркеры, резвость, геномика, законы термодинамики, популяция.**



Анализируя современное состояние развития коневодства становится очевидным, что быстрота передвижения и перевозки грузов техническими средствами привело к существенному снижению поголовья лошадей во многих странах мира. В этой связи все острее формируется впечатление, что дальнейшая судьба отдельных пород лошадей переходит в категорию риска (вплоть до исчезновения). В тоже время в последние десятилетия, особенно в странах Западной Европы и США наблюдается поразительный «лошадиный бум» на

использование лошади для экологического туризма, лечения опорно-двигательного аппарата (метод иппотерапии) и т.п. Особое место занимает развитие спортивного коневодства.

### *Кризис и спасение орловской породы лошадей.*

Среди, более чем 30 пород, лошадей ранее разводимых в различных республиках бывшего СССР особо значительны сокращения поголовья выдающейся породы мирового уровня орловской. Если взять за стартовую точку отсчета 1985 год поголовье чистопородных орловских рысаков составляло 54 813 голов. Однако вследствие общего ухудшения экономического состояния в России в 1990-е годы начался резкий спад поголовья орловских рысаков. К 1997 году количество орловских кобыл достигло критической отметки в 800 голов (тогда как для нормального развития породы лошадей нужно не менее 1000 кобыл). Появившиеся после распада СССР частники не желали разводить национальную породу России, предпочитая ей более экономически выгодного американского или русского рысака (впоследствии также уступившие резвости американскому рысаку) [1].

*История, настоящее и возможное при внедрении методов геномной селекции в коневодстве.*

*Краткая история.* На мой взгляд, важными причинами происходящей ситуации являются не только экономические факторы, но и системное отставание селекционеров стран СНГ в скорости внедрения новых достижений науки технологий в селекционный процесс. Общеизвестно, что при односторонней селекции американского рысака на резвость уже в 30-е годы селекционеры понимали, что предрасположенность к двигательной активности явление наследственно обусловленное. В устойчивом намерении вывести скоростную породу для ипподромного применения именно по этой причине начинали внедрять гистологический и цитологический контроль состояния мышечного аппарата рысака по соотношению светлых (спринтерских) и красных (стайерских) мышечных волокон и содержания в них энергетических субклеточных структур – митохондрий. В результате углубленного понимания роли интерьерных факторов на резвость лошади был получен ожидаемый результат. Результат, который условно можно назвать *первым этапом* внедрения прообраза современной геномики.

Именно в эти годы за американским рысаком закрепилось определение *генетически созданная рысистая порода*. При этом надо отдать должное, что в условиях жесткой ипподромной конкуренции, для получения значительной призовой выгоды ряд коннозаводчиков системно следили за успехами биологической науки. Проводимый нами анализ этого своеобразного мониторинга (слежения) показывает, что при получении наукой (40-70 гг. XX столетия) новых сведений о биохимических механизмах энергетики мышечной деятельности эти результаты оперативно внедрялись в селекционный процесс.

В 60-80 годы активно разрабатывались и внедрялись иммуногенетические методы оценки достоверности происхождения племенных животных, их способности передавать хозяйственно-полезные признаки белкового полиморфизма. Однако в процессе, успешного внедрения новых достижений биологической науки, особое место занимает цитогенетика.

Следующим важным фактором внедрения новых технологий явились результаты исследований [2] показавшие, что различные отклонения хромосомного материала клетки приводят не только к снижению репродуктивной способности крупного рогатого скота, но могут обуславливать и развитие бесплодия коров. Именно эти факты стимулировали активное внедрение в селекционную практику новых методик культивирования клеток и приготовления препаратов хромосом.

Мониторинг цитогенетического контроля нестабильности генома у лошадей начался в 60-70-е годы XX века. В дальнейшем на основе изучения линейной дифференцированности хромосом был стандартизирован кариотип лошади. Нормальный кариотип лошади насчитывает 64 хромосомы.

*Хромосомные aberrации у лошадей.* Преимущественно цитогенетические исследования обусловлены такими причинами, как необходимостью выявления причин бесплодия кобыл и жеребцов, среди которых главным образом встречаются геномные нарушения, связанные с дисбалансом половых хромосом [3, 4]. В таблице 1 приводятся результаты цитогенетического мониторинга в конезаводах Англии и Австралии [5]. По нашему мнению сведения в данной таблице отражают информационно-демонстрационную картину, описанную для 10 кобыл различного возраста. Вполне логично, что это не статистическая картина, отражающая реальную частоту встречаемости бесплодия кобыл на

перечисленных конезаводах Англии и Австралии. И, тем не менее, приведенные результаты позволяют видеть специфику первичного учета дисбаланса кариотипа и его влияние на развитие бесплодия у кобыл.

### 1. Кариотипы чистокровных лошадей в конезаводах Англии и Австралии (цитировано по Л.К. Эрнст, А.И. Жигачев, 2006)

Возраст кобылы, лет	Кариотип	Анамнез
11	64XX/63XO	1-й сезон – нормальная жеребность; 4 последующих сезона: бесплодие
5	64,XX/63,ХО	бесплодие к концу 1-го сезона
16	64XX/63XO	1-й сезон: нормальная жеребность; 3 последующих сезона: бесплодие
11	64,XX/63,ХО	Нерегулярный цикл, беременности никогда не было
5	64,XX/63,ХО	1-й сезон – жеребность; два последующих сезона – бесплодие
7	64XX/63,ХО	1-й сезон – жеребность; два последующих сезона – бесплодие
11	64,XX/63,ХО	1-й сезон – абортированные близнецы; последующие сезоны – аборт, и один сезон – жеребность (жеребенок родился после терапии прогестероном)
7	64,XX/63,ХО	Отсутствие охоты
14	64,XX/63,ХО	1-й сезон – жеребность; в дальнейшем – бесплодие (диагноз - эндометрит)
13	64XXУ/63,ХО	Гипоплазия, эндометрит, бесплодие

Аналогичного же типа исследования проведены группой ученых [6, 7] под названием «Исследования кариотипов лошадей с нарушением воспроизводительной способности в России». Характерной особенностью организации этих фенотипогенетических исследований являются новые возможности изучения причин нарушения воспроизводительной функции, у более чем, 40 лошадей принадлежащих частным владельцам Ленинградской области. Детальное исследование лошадей с физиологическими и фенотипическими отклонениями позволило установить как геномные мутации, так и спектр хромосомных aberrаций. Однако очевидно, что столь ограниченная выборка как результаты исследований на 40 голов лошадей не отражает реальное состояние вопроса с нарушением воспроизводительной способности кобыл России. Авторская новизна состоит в постановке вопроса так, в то же время число публикаций на тему бесплодия лошади в странах СНГ крайне ограничено, название же

публикаций свидетельствует, что подобного рода наблюдения в России проводятся.

Проводимый нами системный анализ исследований кариотипа лошади показывает, что для кариотипа лошади характерны все те же многочисленные отклонения в структуре кариотипа, как и у других видов сельскохозяйственных животных. Различия составляют только частоты межвидовых и внутривидовых особенностей проявления нестабильности генома.

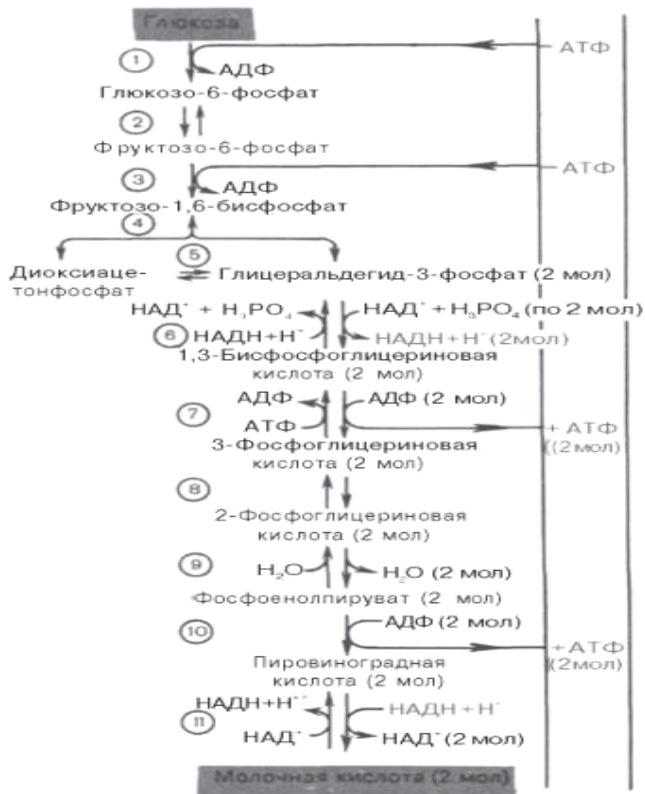
Известно, что уровень хромосомных aberrаций у различных пород лошадей колеблется в границах от 1 до 24% метафаз. К великому сожалению, дифференцировать к какой группе работоспособности лошади это относится весьма сложно. Причина, как правило, – большинство авторов исследований не указывают уровни работоспособности, возраст, географические и другие показатели, позволяющие разносторонне оценивать влияние состояния кариотипа на работоспособность лошади (в частности ее резвости). В случае необходимости предварительной оценки потенциальной резвости лошади целесообразно провести скрининговый анализ состояния ее кариотипа. Предположительно считаю, что уровень конститутивных мутаций в кариотипе рысака класса резвости 2.10 на дистанции 1600 м не должен превышать 2%. К сожалению, часто приходится слышать среди селекционеров высказывания о том, что цитогенетическая информация о состоянии кариотипа резвой лошади недостойна внимания и усилий затрачиваемых на скрининг. Конечно, это их право на персональную точку зрения. Важно учитывать, что даже казалось бы допустимый генетический груз хромосомных аномалий до 5%, при сверхнагрузках рекордного бега лошади, не позволит получить планируемый результат. Причина – резкое возрастание энтропийности мышечной системы как результат быстрого накопления генотоксикантов в условиях анаэробного дыхания. В этой связи кратко рассмотрим процесс энергетического обеспечения бега лошади.

*Биохимия спринта.* В спринте, проходившем в анаэробных условиях, гликолиз – единственный процесс в животном организме поставляющий энергию. Именно благодаря гликолизу организм человека и животных определенный период может осуществлять ряд физиологических функций в условиях недостаточности кислорода.

Последовательность реакций анаэробного гликолиза, так же как и их промежуточные продукты, хорошо изучена [7]. При условии системного генетико-биохимического скрининга динамического биосинтеза АТФ в условиях пульсирующего ипподромного тренинга имеется возможность выявления критических состояний переадаптации бегущего рысака. Конечно, это сложный технологический процесс, но в условиях дистанционного управления тренингом это вполне достижимые вещи. Важно учитывать, процесс гликолиза катализируется одиннадцатью ферментами, последовательность участия представлена на рисунке [7].

С целью более удобной ориентации в структурно-функциональных связях протекающего гликолиза, в начале, приводим краткую информацию биохимической стороны метаболизма с последующим приложением описанного в научной литературе геномного контроля.

На рисунке представлен одиннадцатистадийный процесс (гликолиза) преобразования глюкозы как основной путь образования богатых энергией фосфорных соединений необходимых для развития высокой скорости спринтерского бега (резвости). Важно учитывать, что в этом многостадийном процессе функционирует 11 ферментативных систем, кластерно организованных генно-регуляторных систем состоящих более чем из 100 аллелей. В этой связи для большинства генотипов популяций орловского рысака присущ «метаболический хаос» в различной степени снижающий показатели среднего уровня резвости. Считаю, что рысаки класса 2.05 имеют высокий уровень сопряженности ферментативной активности до минимума, сводящий метаболический хаос в напряженно функционирующей системе.



**Рис. Гипотетически оптимизированная биохимическая схема анаэробного дыхания для рысаков – класса 2.0—2.05**  
(предположительно без метаболических рисков В.Коновалов 2014 г.)

*Кратко рассмотрим последовательность реакций гликолиза.*

*Первой (начальной) ферментативной реакцией гликолиза является фосфорилирование, т.е. перенос остатка ортофосфата на глюкозу за счет АТФ. Реакция катализируется ферментом гексокиназой. Образование глюкозо-6-фосфата в гексокиназной реакции сопровождается освобождением значительного количества свободной энергии системы и может считаться практически необратимым процессом.*

*Второй реакцией* гликолиза является превращение глюкозо-6-фосфата под действием фермента глюкозо-6-фосфатизомеразы во фруктозо-6-фосфат.

*Третья реакция* катализируется ферментом фосфофруктокиназой и образовавшийся фруктозо-6-фосфат вновь фосфорилируется за счет второй молекулы АТФ.

*Четвертую реакцию* гликолиза катализирует ферментальдолаза. Под влиянием этого фермента фруктозо-1,6-бисфосфат расщепляется на две фосфотриозы.

*Пятая реакция* – это реакция изомеризации триозофосфатов. Катализируется ферментом триозофосфатизомеразой.

Важно учитывать после пяти реакций первой стадии синтеза начинается *вторая стадия* – наиболее сложная и важная. Она включает окислительно-восстановительную реакцию (реакция гликолитической оксидоредукции), сопряженную с субстратным фосфорилированием, в процессе которого образуется АТФ.

*В результате шестой реакции* глицеральдегид-3-фосфат в присутствии фермента глицеральдегидфосфатдегидрогеназы, кофермента НАД и неорганического фосфата подвергается своеобразному окислению с образованием 1,3-бисфосфоглицериновой кислоты и восстановленной формы НАД (НАДН).

*Седьмая реакция* катализируется фосфоглицераткиназой, при этом происходит передача богатой энергией фосфатного остатка (фосфатной группы в положении 1) на АДФ с образованием АТФ и 3-фосфоглицериновой кислоты (3-фосфоглицерат).

*Восьмая реакция* – сопровождается внутримолекулярным переносом оставшейся фосфатной группы, и 3-фосфоглицериновая кислота превращается в 2-фосфоглицериновую кислоту (2-фосфоглицерат).

*Девятая реакция* катализируется ферментоменолазой, при этом 2-фосфоглицериновая кислота в результате отщепления молекулы воды переходит в фосфоенолпировиноградную кислоту (фосфоенолпируват), а фосфатная связь в положении 2 становится высокоэнергетической.

*Десятая реакция* характеризуется разрывом высокоэнергетической связи и переносом фосфатного остатка от фосфоенолпирувата на АДФ (субстратное фосфорилирование). Катализируется ферментом пируваткиназой.

*В результате одиннадцатой реакции* происходит восстановление пировиноградной кислоты и образуется молочная



кислота. Реакция протекает при участии фермента лактатдегидрогеназы и кофермента НАДН, образовавшегося в шестой реакции.

У читателя естественно может возникнуть вопрос: какова необходимость знания столь сложного процесса энергообеспечения резвости бега селекционеру. Ответ: в период 80-90 годов российские селекционеры потратили 10 селекционных лет, чтобы снизить средний показатель резвости орловского рысака *на одну секунду!* [1]. Не знаю как кого, но подобные селекционные достижения заставляют серьезно задуматься – что ожидает национальную гордость России? Западные и американские селекционеры уже давно не дышат селекционерам стран СНГ в «затылок». Оперативно используя достижения биологической науки, новейшие технологические усовершенствования тренинга рысака, они ушли вперед по показателю средней резвости рысака на 10 секунд. А это значит – если идти только традиционными методами тренинга, отбора и подбора не используя современные методы геномной селекции, отставание может увеличиться на 100 лет. Именно реальная опасность забвения орловского рысака и стимулирует к поиску имеющихся пока еще скрытых резервов великой лошади (орловского рысака)

Итак, пути регуляции скорости ферментативных реакций в клетке различны. Одним из главных факторов, определяющих скорость обмена веществ, является количество фермента. Второй важный фактор связан с качеством ферментов как катализаторов. Это качество зависит от двух основных обстоятельств. С одной стороны, каталитическая активность ферментов детерминирована генетически и есть свойством их специфической белковой структуры. С другой стороны, ферменты обладают высокой лабильностью, которая объясняется гибкостью их третичной и четвертичной структуры, а также локальным состоянием активного центра. Учитывая, что одним из узловых механизмов внутриклеточных механизмов регуляции является ретроингибирование (т.е. ингибирование по типу обратной связи, когда конечный продукт системы может угнетать ее первый фермент) скорость катаболизма избыточного субстрата в клетке регулируется потребностью в энергии именно в данный момент. Клетка, используя энергию в форме АТФ, перерабатывает такое количество органических веществ, которое может удовлетворить потребность в энергии, связанную с выполняемой функцией.

Скорость биосинтеза компонентов клетки определяется нуждами данного момента и несбалансированностью субстратов клетки, что в конечном счете сдерживает демонстрацию бегущим рысаком ожидаемой от него резвости.

*Современное состояние развития структурно-функциональной геномики (период 2000-2014 гг.).* Современная расшифровка генома лошади позволила обеспечить выполнение новых целей и задач. Совместно с геномами человека и ряда геномов различных животных использовался геном лошади как фенотипическая модель, совершенствование цитогенетических карт, определение размеров хромосом, и в конечном счете, перехода от общей информативности к конкретному установлению в геноме лошади порядка 5000 локусов. Установлено, что часть из них (порядка 300) ассоциирована со стресс-устойчивостью; репродуктивной способностью (порядка 200). Установление тонкой структуры хромосом, их размеров и насыщенностью генами и QTL-маркерами количественных признаков открывает широкие возможности для повышения резвости орловского рысака.

Естественно возникает вопрос: как связать имеющуюся ДНК-структурную информацию с конкретной резвостью рысака? Необходима (пока еще пусть предположительная) интерпретация о функционировании тех главных генов, которые обеспечивают синтез и контроль синтеза внутриклеточной энергетики.

Современный период (2000-2014 гг.) развития молекулярной генетики позволил идентифицировать у выдающихся спортсменов не только 25 «спортивных» генетических маркеров выносливости, но и 12 генетических маркеров «тренируемой выносливости» [8]. Этот факт подтверждает ранее высказанное нами мнение о наличии «молчащих» генов, выполняющих контроль в организме за процессами детоксикации (разложения) и выведения из активно функционирующих мышц накапливающихся внутриклеточных ядов, которые повышают энтропию системы (хаотичность) способствуя развитию усталости рысака.

Важным достижением молекулярной генетики является установление у интенсивно тренирующихся спортсменов дополнительного генно-регуляторного ресурса, состоящего из 18 функциональных групп скелетных мышц, обеспечивающих повышение ранее неизученных резервов мобилизации силы и выносливости спортсмена. В свете обсуждаемой проблемы важно учитывать факты установления в геноме человека и животных

новых генетических маркеров аэробной направленности, ассоциирующихся с приростом показателей скорости и силы [8].

На основании анализа особенностей реализации энергетических процессов бега рысака на спринтерскую дистанцию 1600 м. очевидно, что процессы анаэробного и аэробного дыхания тесно взаимосвязаны, функционально сопряжены и сменяют друг друга в зависимости от генетической детерминированной предрасположенности рысака к спринтерской резвости.

Может возникнуть вопрос о причинах одностороннего рассмотрения автором резвости орловского рысака только на короткие дистанции. Выбранная нами тактика изложения обусловлена тем, что рысаки орловской породы являются бесспорными лидерами стайерских дистанций уже более 200 лет. В этой связи нет оснований высказывать какую-либо тревогу по этому вопросу. Совершенно иное дело – спринтерские дистанции, на которых крупные, экстерьерно сбалансированные, с ярко выраженной декоративной мастью орловские рысаки зачастую не могут противостоять натиску, генетически более резвых рысаков, которые продолжительное время отбирались преимущественно по одному признаку резвости.

Вполне логично, что после проведения тщательного анализа причин отставания орловского рысака от мировых брендов рысистого коневодства (американский и французский рысак) и принятия практических решений о мобилизации скрытых в породе резервов необходимо на первом этапе модернизировать систему тренинга орловского рысака. По мнению многих конников, орловский рысак уже достиг своего селекционного плато резвости. В этой связи считаю, что сформированный генетический потенциал рысаков класса 2.10 и лучше позволяет путем интервального тренинга «дожимать» уровни мировых рекордов.

При активном внедрении зарубежных технологий интервального тренинга, когда применяются технические средства дистанционного контроля не только скорости бега, но и уровня сердечных ритмов бегущего рысака, специфики дыхания на дистанции вполне возможно повысить результативность тренинга.

Учитывая, что на протяжении более чем 200 лет основная селекционная база орловской породы сконцентрирована на конных заводах России считаю целесообразным рассмотреть состояние и тенденции развития орловской рысистой породы в начале XXI столетия.

Именно так, сами россияне определяют новый старт в сохранении и совершенствовании национальной рысистой породы. Столь многообещающее название естественно интересует и любителей орловской породы в Украине.

Общеизвестно, что многие организационные вопросы разведения породы схожи. Например, чтобы сохранить и совершенствовать породу проводятся внутривидовые закрытые призы. Основные из них: «Приз Барса», «Приз Пиона», «Приз Морского Прибоя», «Приз Отклика», «Приз Парижа», «Приз в честь Французской рысистой ассоциации», «Приз Франции» и др.

Учитывая, что проводимый нами анализ перспектив дальнейшего совершенствования восьми основных линий орловской породы весьма объемные результаты этой работы планируются представить в следующих публикациях.

### **Список литературы**

1. Рождественская Г.А. Сегодня и завтра орловского рысака / Г.А. Рождественская // Коневодство и конный спорт. – 1990. – №7. – С. 5-7
2. Gustavsson I. Cytogenetic distribution and phenotypic effects of a translocation in Swedish cattle. – *Hereditas*, 1969. – Vol. 63. – P. 163-169.
3. Пименова Т.И. К вопросу цитогенетической диагностики бесплодия у лошадей / Т.И. Пименова // Цитогенетика и биотехнология. – JL., 1989. – С. 88-89.
4. Демин Ю.С. Цитогенетический анализ спонтанного мутационного процесса у лошадей / Ю.С. Демин, Т.И. Пименова // Генетика. – 1985. – Т. 21. – №6. – С. 1066-1067.
5. Эрнст Л.К. Мониторинг генетических болезней животных в системе крупномасштабной селекции / Л.К. Эрнст, А.И. Жигачев. – М., 2006. – 383 с.
6. Жигачев А.И. Моносомия в системе половых хромосом (2пЧЗЗ, ХО) у бесплодных кобыл / А.И. Жигачев, Т.В. Богачева // Морфология, физиология и патология у животных. – СПб., 1993. – С. 60-62.
7. Кольман Я., Рем К.Г. Наглядная биохимия. – М.: Мир, 2004. – 120 с.
8. Ахметов И.И. Молекулярная генетика спорта. Монография / И.И. Ахметов. – М.: Советский спорт, 2009. – 268 с.

*Представлені результати аналітичного огляду як власних досліджень автора, так і літературних даних із застосування методів структурно-функціональної геноміки в селекції коней на рекордну жвавість. З позицій біохімічної генетики обґрунтований метод інтервального тренінгу для підвищення жвавості рисака.*

**Генетичні маркери, жвавість, генетика, закони термодинаміки, популяція.**

*The results of state-of-the-art review of both own researches of author and literary information are presented on application of methods of functional genetics in the selection of horse on record playfulness. From positions of biochemical genetics the method of the interval training is grounded for the increase of playfulness of trotter.*

**Genetic markers, playfulness, genetics, laws of thermodynamic, population.**

УДК 575.1

## **СПАДКОВО ЗУМОВЛЕНІ ПОРУШЕННЯ РЕПРОДУКТИВНОЇ СИСТЕМИ У КОНЕЙ *Equus caballus***

**С.О. Костенко, кандидат біологічних наук**

*Спадково обумовлені порушення репродуктивної системи у коней *Equus caballus* пов'язані як з геномними змінами каріотипу (трисемії, моносемії, мозаїцизм, химеризм), так і мутаціями та делеціями генів (SRY, SOX9, SF1, DAX1).*

***Equus caballus*, моносемія, мозаїцизм, химеризм, реверсія статі, SRY, SOX9, SF1, DAX1**

Аномалії статевого розвитку, що викликають неплідність у коней досліджувались з початку 1970-х років. Цитогенетичний аналіз є основним інструментом для виявлення порушень каріотипу. Фенотиповий прояв хромосомних порушень варіює від фентопова нормальної кобили з дисгенезією гонад до коня з гермафродитизмом. Цитогенетичний аналіз може визначити генетичну причину порушень, але не може визначити мутації або делеції генів, що беруть участь у визначенні статі. Стаття присвячена узагальненню даних, накопичених протягом останніх