

Сорокин Сергей Иванович

**СЕЛЕКЦИОННО – ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ
ВЛАДИМИРСКОЙ ПОРОДЫ ЛОШАДЕЙ В УСЛОВИЯХ ОГРАНИЧЕННОГО
ГЕНОФОНДА**

06.02.07 – разведение, селекция и генетика
сельскохозяйственных животных

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата сельскохозяйственных наук

Работа выполнена в Государственном научном учреждении Всероссийском научно-исследовательском институте коневодства Российской академии сельскохозяйственных наук

Научный руководитель: кандидат биологических наук, доцент
Рябова Татьяна Николаевна

Официальные оппоненты:

Некрасов Дмитрий Константинович, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, заслуженный работник высшей школы РФ, заведующий кафедрой животноводства ФГБОУ ВПО «Ивановская государственная сельскохозяйственная академия»

Новиков Дмитрий Викторович, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры зоотехнии и биологии ФГБОУ ВПО «Рязанский государственный агротехнологический университет имени П.А. Костычева»

Ведущая организация: ФГБОУ ВПО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»

Защита состоится « 24 » июня 2014 года, в 10 часов на заседании диссертационного совета Д 006.018.01 при ГНУ Всероссийском научно-исследовательском институте коневодства Российской академии сельскохозяйственных наук по адресу: 391105, Рязанская область, Рыбновский район, пос. Дивово, п/о Институт коневодства

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ГНУ Всероссийского научно-исследовательского института коневодства Российской академии сельскохозяйственных наук, www.ruhorses.ru.

Автореферат разослан « ____ » апреля 2014 года

Ученый секретарь
диссертационного совета

Готлиб М.М.

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Владимирская порода лошадей является одной из уникальных отечественных пород. Она отличается своеобразным типом телосложения, разносторонней работоспособностью, а также особой нарядностью и красотой. Лошади владимирской породы обладают отличными адаптационными качествами, что позволяет заниматься воспроизводством породы в любых климатических поясах России, а также странах ближнего и дальнего зарубежья. Благодаря этому лошадей владимирской породы приобретают в различные регионы России, страны СНГ, Европы и Азии, как для племенного разведения, так и для улучшения рабочих и продуктивных качеств лошадей других пород.

В период с 1994 по 2001 гг. численность племенных кобыл владимирской породы в Гаврилово-Посадском и Юрьев-Польском конных заводах, являющихся пороодообразующими хозяйствами, сократилась со 152 до 107 голов (29,6%). Владимирская порода относится к группе малочисленных пород и нуждается в специальных мероприятиях, направленных на её сохранение.

В соответствии с федеральным законом «О приватизации государственного и муниципального имущества», государственные конные заводы были приватизированы и проданы частным владельцам. С изменением экономических условий и форм собственности племенных хозяйств возникла необходимость в глубоком изучении современного состояния владимирской породы и поиска возможных путей поддержания её генетического разнообразия в тесном сотрудничестве с частными заводчиками.

Для определения возможных путей дальнейшего развития породы в условиях ограниченного генофонда необходим всесторонний анализ состояния современной популяционно-генетической и генеалогической структуры.

Цели и задачи исследований. Целью проведенных исследований являлось изучение современной популяционно-генетической структуры владимирской породы лошадей и поиск возможных путей поддержания внутривидового генетического разнообразия.

Исходя из поставленной цели, нами решались следующие задачи:

1. изучить современное состояние популяционной и генеалогической структуры владимирской породы лошадей, создать электронную базу данных лошадей владимирской породы;
2. провести типирование современного племенного поголовья лошадей владимирской породы по локусам *Extension* и *Agouti*, оценить частоты нуклеотидных замен и генотипов, а также возможности составления подборов для получения приплода желательной масти;
3. проанализировать породный состав производителей, использованных при выведении владимирской породы лошадей, оценить степень влияния отдельных пород;
4. изучить полиморфизм митохондриальной ДНК в популяции владимирских лошадей и установить филогенетические связи владимирской породы по прямой материнской линии.

Научная новизна. Впервые проведено типирование лошадей владимирской породы по локусам *Extension* и *Agouti*, отвечающих за фенотипическое проявление масти лошадей.

Впервые проведено секвенирование участка D-петли митохондриальной ДНК кобыл владимирской породы и сравнение генетической структуры владимирской породы с другими породами лошадей по гаплотипам митохондриальной ДНК.

Практическая значимость.

Использование результатов типирования лошадей по локусам *Extension* и *Agouti*, определяющим базовую масть животного, позволило составлять подборы для целенаправленного получения приплода желательной масти, в том числе от производителей нетипичной для породы рыжей масти.

Информация, полученная в результате анализа нуклеотидной последовательности D-петли митохондриальной ДНК, позволила установить генеалогическую структуру владимирской породы лошадей по прямой женской линии, оценить генетическую дифференциацию маточных семейств, выявить филогенетические связи женских линий владимирской породы с европейскими тяжелоупряжными породами лошадей.

Полученные данные о генетической и генеалогической структуре породы могут являться информационной основой для дальнейшего мониторинга состояния владимирской породы лошадей и разработки стратегии сохранения генетического разнообразия популяции.

Апробация работы. С 2010 года в Гаврилово-Посадском конном заводе в селекционно-племенной работе используются результаты генотипирования производителей по локусам *Extension* и *Agouti* для целенаправленного получения жеребят гнедой и вороной масти.

По теме диссертации опубликовано 7 работ, в том числе 4 в изданиях, рекомендуемых ВАК РФ.

Основные положения, выносимые на защиту:

- генетическая основа и современная генеалогическая структура мужских линий и маточных семейств владимирской породы лошадей;
- популяционно-генетический анализ владимирской породы лошадей;
- генетическая детерминация мастей по локусам *Extension* и *Agouti* в селекционной работе с владимирской породой;
- филогенетические связи популяции лошадей владимирской породы на основе гаплотипов митохондриальной ДНК.

Декларация личного участия автора. Представленные в диссертации результаты исследований получены лично автором. Автор принимал участие в экспедиции по обследованию племенного поголовья владимирских лошадей в конных заводах и частных хозяйствах, осуществлял отбор биологического материала и взятие промеров. Выделение ДНК, генотипирование животных по локусам *Extension* и *Agouti* и секвенирование мтДНК осуществлялись автором под методическим руководством к.б.н. Кузнецовой М.М. Исследования проводились при финансовой поддержке частного заводчика лошадей владимирской породы Ваваева А.Ю. Электронная база данных лошадей владимирской породы создана совместно с к.б.н. Кузнецовой М.М.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, трёх глав – обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований и их обсуждения, выводов, практических предложений и приложения. Общий объем работы составляет 160 страниц печатного текста. Результаты исследо-

ваний приведены в 19 таблицах. Работа иллюстрирована 105 рисунками. Список литературы содержит 176 литературных источников, в том числе 124 на иностранных языках.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Материалом для исследования послужило современное поголовье лошадей владимирской породы (N=243) – Гаврилово-Посадского конного завода Ивановской области (ОАО «ПКЗ «Гаврилово-Посадский») (N=115), Юрьев-Польского конного завода Владимирской области (ООО «ПКЗ «Монастырское Подворье») (N=98), Государственной заводской конюшни «Владимирская» Владимирской области (ГБУ ВО «ГЗК Владимирская») (N=19), частного владельца Ваваева А.Ю. Московской области (N=8) и других владельцев (N=3). На основе Государственных племенных книг (ГПК) лошадей владимирской породы (тома I – IX), а также сведений первичного племенного учёта создана электронная база данных лошадей владимирской породы (N=6173 головы) в среде MS Access.

Схема исследований представлена на рисунке 1.

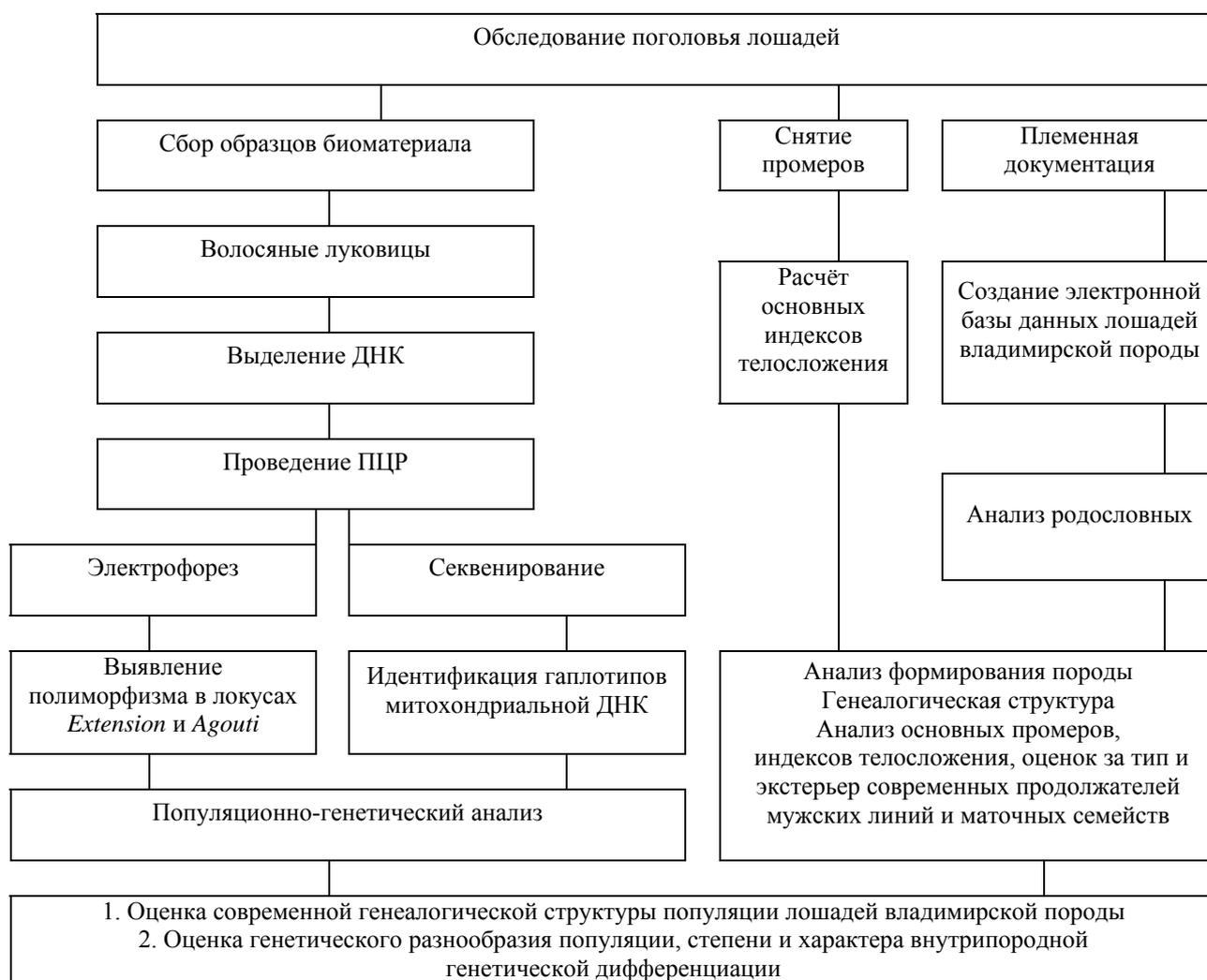


Рисунок 1 – Схема исследований

60-летний период, исчисляемый с момента официального признания владимирской породы в 1946 году, был разделён на шесть равных временных интервалов по годам рождения лошадей:

1. с 1947 по 1956 годы рождения (N=475);
2. с 1957 по 1966 годы рождения (N=651);
3. с 1967 по 1976 годы рождения (N=883);
4. с 1977 по 1986 годы рождения (N=1164);
5. с 1987 по 1996 годы рождения (N=1080);
6. с 1997 по 2006 годы рождения (N=667).

Также в работе были использованы данные по поголовью, рождённому до 1946 года и отмеченному, как «0 период» (N=861), и сведения по лошадям, рождённым с 2007 по 2011 гг., описанные как современное состояние, с соответствующей пометкой (N=392).

ДНК выделяли из волосяных луковиц с помощью набора «ExtraGene DNA Prep 200» (производство «Изоген», г. Москва). Для определения полиморфизмов в локусах *Agouti* (ADex2) и *Extension* (C901T) проводили амплификацию ДНК с использованием специфических праймеров на основе опубликованных нуклеотидных последовательностей (Rendo, 2009; Wagner, 2000). Разделение продуктов амплификации проводили в агарозном геле по общепринятым методикам (Зиновьева, 1998).

Дизайн праймеров для амплификации участка D-петли митохондриальной ДНК был выбран на основе опубликованных нуклеотидных последовательностей (Xu X., Arnason U., 1994). Состав реакционной смеси включал 0,2мМ каждого dNTP, 0,5мМ каждого праймера, 2,5мМ MgCl₂, 1 х ПЦР-буфер, 1 ед. Taq-полимеразы и 1 ед. AmpliTaqGold полимеразы, 50 нг ДНК.

Первичная денатурация проводилась при 95°C в течение 5 минут, далее 30 циклов, состоящих из денатурации в течение 40 секунд при 94°C, отжига праймеров в течение 45 секунд при температуре 55°C и элонгации при температуре 72°C в течение 45 секунд. Финальная элонгация проводилась в течение 10 минут при температуре 72°C. Секвенирование ПЦР-продукта проводили с использованием набора BigDye Terminator 3.1 (Applied Biosystems, США) на приборе ABI 3130xl (Applied Biosystems, США). Секвенированные фрагменты были сокращены для сравнения с сиквенсами представителей других пород лошадей.

В качестве эталона для сравнения использовали данные о нуклеотидной последовательности участка D-петли «шведской лошади» (Xu X., Arnason U., 1994), размещенной в GenBank под номером доступа X79547. Для проведения филогенетического анализа были использованы данные о нуклеотидных последовательностях участка D-петли, размещенные в GenBank под номерами доступа: известные гаплогруппы мтДНК (n=83): JN398377 – JN398457, EF597513 – EF597514; клейдесальская порода (n=18) AJ413898, AY246214 - AY246218, HQ439455, HQ593049 - HQ593058, JN398439; шайрская порода (n=7) AF072976, AF075975, AJ413893, AJ413897, AJ413899, AJ413900, HQ439490; суффолькская порода (n=2) JN398396, AF072986; першеронская порода (n=1) HQ439483; владимирская порода (n=1) HQ439500.

Нормальность распределения признаков проверяли по критериям Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка с помощью пакета Statistica 6.0. Гипотезы о равенстве пропорций проверяли с помощью критерия Хи-квадрат Пирсона. Результаты считали статистически значимыми при достигнутом уровне значимости $p \leq 0,05$.

Кластеризацию популяций по методу UPGMA (Sneath P.H.A., Sokal R.R., 1973) проводили с использованием пакета программ PHYLIP 3.69 (Felsenstein J., 1989), филогенетический анализ выполняли в программе MEGA 4 (Tamura K, et al., 2007). Расчёт коэффициента инбридинга (F) по Райту, эффективной численности популяции (N_e), интервала смены поколений, производили с помощью программы Endog v. 4.6 (Gutierrez, 2005).

3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Анализ генетического вклада исходных пород

Анализ родословных лошадей, записанных в I и II тома Государственной племенной книги владимирской породы, позволил установить соотношение исходных пород, использованных при создании владимирской породы лошадей. Кровность владимирских лошадей составляла: по клейдесдальской породе 70,2%, по шайрской породе 10,4%, по местным лошадям Владимирского ополья, встречающимся с материнской стороны родословной – 16,2% (рисунок 2). К лошадям Владимирского ополья были отнесены лошади, происхождение которых



Рисунок 2 – Диаграмма генетического вклада исходных пород, использованных в скрещиваниях при выведении владимирской породы лошадей

неизвестно. Кровность по другим породам, использованным в скрещиваниях, оказалась значительно ниже и составила – по рысистым лошадям 1,9%, по суффолькской породе 1,3%, по брабансонской, арденской и английской верхово-упряжной породам не более – 0,2%. Влияние этих пород на формирование типа владимирской лошади можно признать второстепенным.

Таким образом, владимирская порода, фактически является производной от клейдесдальской. Данный факт открывает возможность использования лучших современных клейдесдальских жеребцов-производителей на матках владимирской породы, в случае критического снижения уровня внутрипопуляционного генетического разнообразия, а также повышения коэффициента инбридинга племенного состава. Применение клейдесдалей во вводном скрещивании позволит расширить генофонд, избежав уклонения лошадей владимирской породы от устоявшегося типа.

3.2 Популяционная и генеалогическая структура владимирской породы лошадей

Анализ популяционной структуры. В 1994 году в племенном ядре конных заводов находилось 152 матки. К 2001 году число заводских кобыл сократилось до 107 голов (на 29,6%). В настоящее время наблюдается тенденция к увеличению численности племенного поголовья – по данным первичного племенного учёта, на 01.01.2013 года, в конных заводах насчитывалось 133 племенные матки и 37 жеребцов-производителей.

Интервал смены поколений в породе равен в среднем 9,8 года. Интервал «отец – сын» является наиболее длительным и для современной популяции составляет 10,6 года. В разные периоды данный параметр изменялся в пределах от 9,5 до 13 лет. Величина интервала указывает на периодичность смены жеребцов-производителей и скорость эволюции мужских линий. В 2012 году впервые в случку пошли 9 жеребцов, что составляет 24,32% от общего числа использованных производителей, при этом выбыли из племенного состава 5 жеребцов.

Скорость замены маточного состава отражает интервал «мать-дочь», значение которого для современной популяции составляет 8,8 года, при колебаниях во всех исследованных периодах от 8,2 до 9,2 года. В 2012 году впервые в случку пошло 9 кобыл (6,77% от племенного ядра), при этом из заводов выбыло 13 маток. Средняя длительность использования кобыл в племенном составе в настоящее время составляет 6,7 года при среднем количестве плодовых лет на кобылу 5,7 и числе рождённых живых жеребят 3,2. На сегодняшний день 76% маточного поголовья используется в заводах менее 10 лет.

Средний деловой выход жеребят в период с 1997 по 2011 год составлял 52,0% в Юрьев-Польском конном заводе и 67,2% в Гаврилово-Посадском. В 2012 году выход жеребят увеличился до 63,8% и 70,7% соответственно. Фактическое число полученных в заводах жеребят составило 92 головы, при среднем количестве ежегодно получаемого приплода в пределах 80 голов.

Отмечено неравномерное использование производителей. В период с 1997 по 2011 гг. продуцировали 90 жеребцов, но 62,9% приплода было получено от 16 из них.

В современной популяции лошадей владимирской породы средний уровень инбридинга (по Райту) рассчитанный по полной родословной пробанда составляет 5,51%, рассчитанный по пяти рядам родословной – 2,40%.

Таблица 1 – Динамика коэффициента инбридинга во владимирской породе по исследуемым периодам

период	по полной родословной	изменение в периоде	по 5 рядам родословной	изменение в периоде
1947-1956	0,78	-	0,70	-
1957-1966	2,53	+1,76	2,32	+1,61
1967-1976	2,62	+0,09	2,08	-0,23
1977-1986	4,00	+1,38	2,54	+0,46
1987-1996	4,64	+0,64	2,54	0,00
1997-2011	5,51	+0,88	2,40	-0,14

Увеличение коэффициента инбридинга (по всей генерации) происходит, в среднем, со скоростью 0,95% в десятилетие, по пяти рядам – 0,34% (таблица 1). Существенная разница между значениями коэффициента инбридинга, рассчитанного по полной и пяти рядам родословной,

обусловлена выходом общих предков (в том числе инбредных) за пределы пятого ряда родословной.

Анализ генеалогической структуры. В результате анализа соотношений численности мужских линий, владимирской породы в исследуемых периодах, было установлено, за 60-летний период развития структура мужских линий была подвержена колебаниям, притом была ярко выражена динамика не только ведущих, но и опорных линий породы (рисунок 3).

Увеличение численности продолжателей мужских линий в общепородной структуре была обусловлена, преимущественно победами их представителей во Всесоюзных испытаниях лошадей тяжелоупряжных пород.

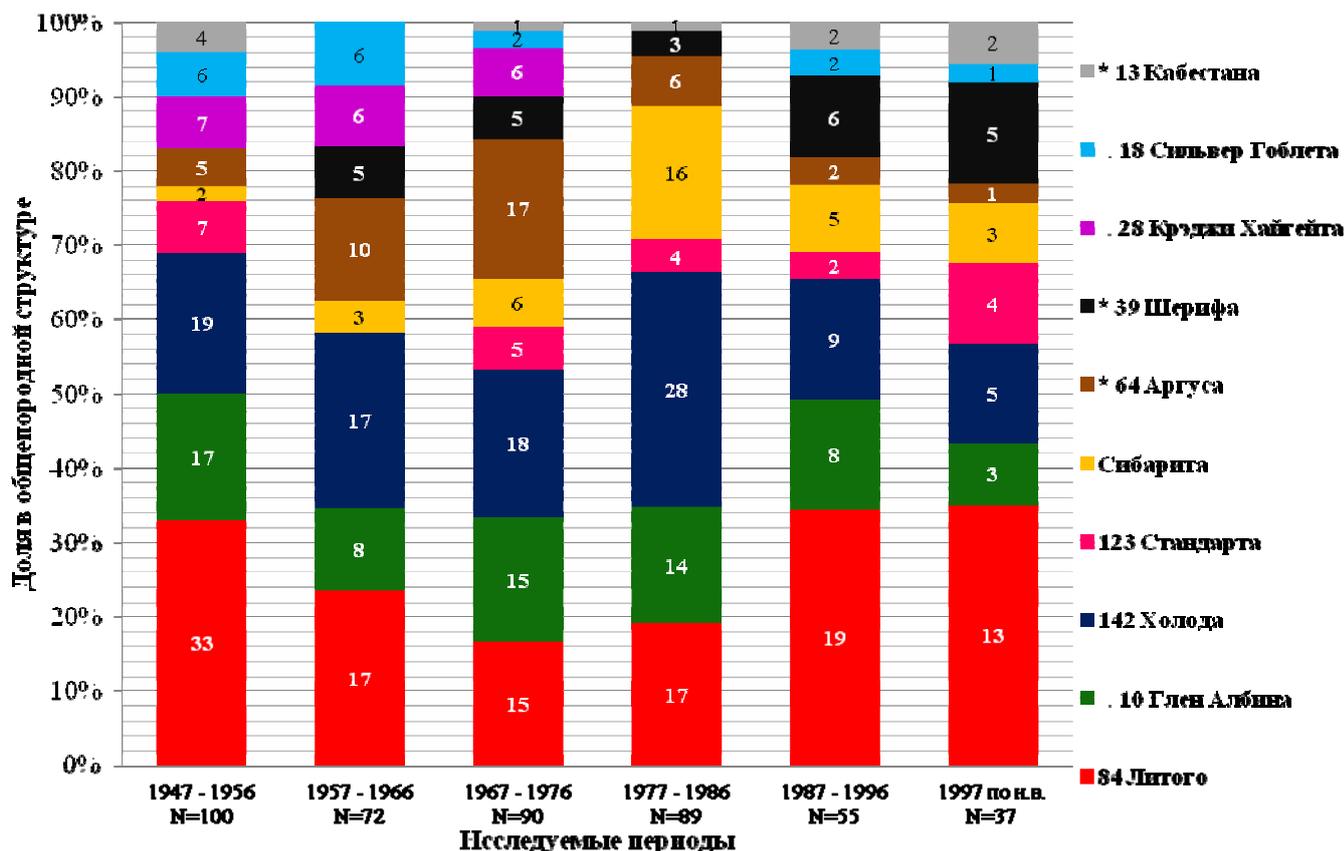


Рисунок 3 – Распределение жеребцов-производителей по линиям в общепородной структуре в исследуемые периоды

Численность жеребцов-производителей линии Аргуса, выросшая в 70-е годы XX века, стала результатом победы 0139 Грозного в дисциплине по срочной доставке груза рысью в 1968 году. В 80-х годах селекционеры резко сокращают их использование в племенной работе и лидирующее положение закрепляется за жеребцами линии Холода, представители которой в 70-х годах четырежды становились абсолютными чемпионами в испытаниях тяжеловозных лошадей.

В современной линейной структуре породы наиболее распространена линия Литого, к которой относятся 35% жеребцов-производителей из 37 голов продуцирующих в породе, полученных через ветви Хлебного, Катера и Ландыша. Между тем, линия Холода, представлена в современной популяции только пятью жеребцами-производителями, что составляет 13% от общей численности. Численность представителей линии Глен Албина сокращена до 8%, а линии Шерифа, впервые увеличена до 14%.

В производящем составе Гаврилово-Посадского завода сведена к минимуму численность продолжателей линии 64 Аргуса, получившая развитие через жеребца 0139 Грозного, широкое использование которого нанесло породе существенной урон, выраженный в закреплении пороков задних конечностей, беднокостности и излишне возбудимого темперамента. В 80-е годы XX века прекратила своё существование линия Крейджи Хайгейта. Остальные линии получили развитие через единичные ветви, основанные жеребцами, рождёнными в 70-х – 80-х годах.

Отдельного внимания в селекционной работе требуют малочисленные опорные линии породы. Так, линию Кабестана продолжают два жеребца-производителя, линию Сильвер Гоблета один.

В настоящее время во владимирской породе насчитывается 21 маточное семейство, 10 в Юрьев-Польском и 11 в Гаврилово-Посадском конных заводах. В маточном составе Гаврилово-Посадского конного завода, по состоянию на 01.01.2013, самым многочисленным являлось семейство 196 Любимки, сер., 1937 г., (84 Литой – Баретка) представленное 25 кобылами (рисунок 4). От Любимки удалось получить только двух дочерей – серую 25 Бархотку, 1944 г., от 28 Булата (линии Аргуса) и гнедую 435 Лимонку, 1946 г., от 95 Перца (линии □10 Глен Албина), через которых и пошло дальнейшее развитие семейства. Из этого семейства вышли выдающиеся жеребцы – 497 Лимонад и 383 Линкор.

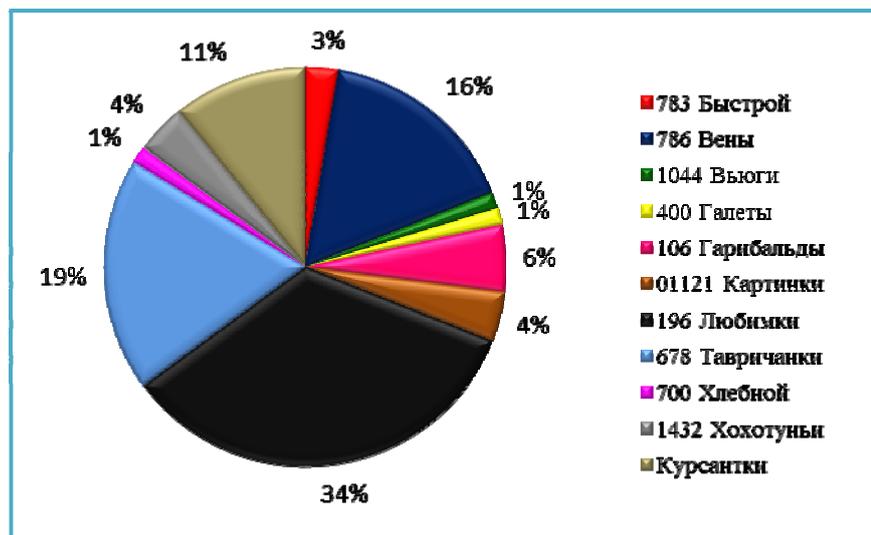


Рисунок 4 – Распределение маточного состава Гаврилово-Посадского конного завода по женским линиям

В настоящее время семейство Тавричанки развивается через трёх дочерей основательницы – 679 Тайгу, 688 Трель и 962 Трибуну, и представлено 14 кобылами, что составляет 19% от общего числа маточного поголовья конного завода.

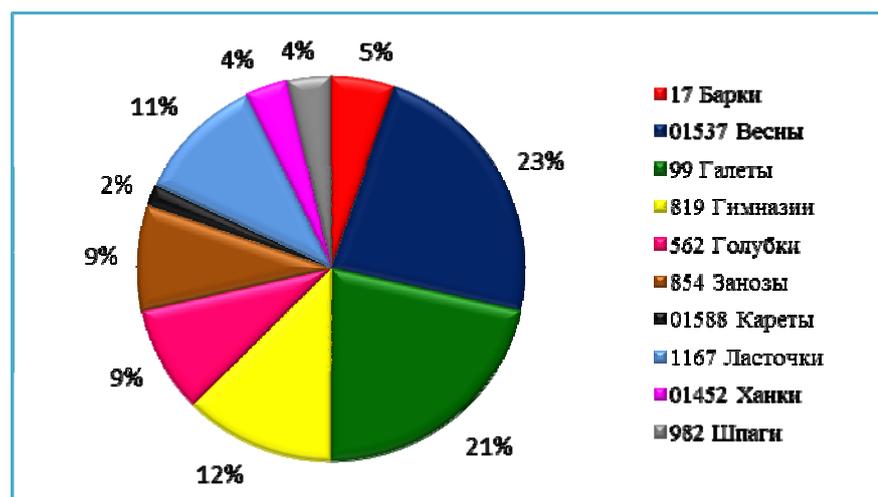


Рисунок 5 - Распределение маточного состава Юрьев-Польского конного завода по женским линиям

Второе по численности семейство Тавричанки. Основательница семейства – гнедая 678 Тавричанка, 1950 г., (дочь 81 Ландыша, линии 84 Литого) обладала отличным экстерьером, гармоничным сложением, но несколько облегчённым костяком. Из семейства Тавричанки вышли несколько выдающихся жеребцов, среди которых 307 Транзит, 405 Терек и 523 Тонус. В настоящее время семейство Тавричанки развивается через трёх дочерей основательницы – 679 Тайгу, 688 Трель и 962 Трибуну, и представлено 14 кобылами, что составляет 19% от общего числа маточного поголовья конного завода.

В современном племенном составе Юрьев-Польского конного завода лидирующее положение занимает семейство светло-гнедой Весны, 1961 г., представлено 13 кобылами (23%) (рисунок 5). 01537 Весна – дочь 022 Графчика, продолжателя линии *39 Шерифа. Из семейства Весны вышли жеребцы-производители – 557 Верный, 558 Весёлый, Варнер.

Второе по численности представительниц в современном составе Юрьев-Польского конного завода, семейство 99 Галеты. Темно-гнедая 99 Галета, 1942 г., (внучка клейдесдальского жеребца □10 Глен Албина), отличалась гармоничным сложением, крупным ростом – 168 см.,

хорошо развитыми, сухими суставами конечностей. Широкое распространение, семейство кобылы 99 Галеты, получило через её дочь – 409 Графиню и внучку – 834 Гордость, абсолютную чемпионку Всесоюзных соревнований среди лошадей тяжелоупряжных пород. В настоящее время кобылы этого семейства составляют 21% от общей численности маточного состава конного завода – 12 голов. Из семейства Галеты вышли выдающиеся жеребцы 270 Гранит, 459 Гетман, 540 Гибрид и другие.

Особое внимание необходимо обратить на работу с малочисленными маточными семействами. В условиях ограниченного генофонда их потеря может стать невосполнимой утратой для всей породы.

3.3 Генетическая структура владимирской породы по локусам *Extension* и *Agouti*

В последнее десятилетие в Гаврилово-Посадском конном заводе, доля полученного приплода гнедой масти составляла 80 %, вороной – 3,8%, рыжей – 16,2%; в Юрьев-Польском заводе – 85,1%, 6,6% и 8,3%, соответственно. За всю историю развития породы доля лошадей гнедой масти не опускалась ниже 82%, в то время как соотношение долей рыжей и вороной масти было подвержено колебаниям.

Таблица 2 – Частоты генотипов современных представителей владимирской породы лошадей по локусам *Extension* и *Agouti* (N=220)

Генотип	Фенотип	N, голов	Частота, %
E^{EE}/A^{AA}	Гнедая	57	25,91
E^{EE}/A^{Aa}	Гнедая	30	13,64
E^{EE}/A^{aa}	Вороная	6	2,73
E^{Ee}/A^{AA}	Гнедая	60	27,27
E^{Ee}/A^{Aa}	Гнедая	43	19,55
E^{Ee}/A^{aa}	Вороная	11	5,00
E^{ee}/A^{AA}	Рыжая	10	4,55
E^{ee}/A^{Aa}	Рыжая	3	1,36
E^{ee}/A^{aa}	Рыжая	0	0,00

Для установления генетической структуры популяции по локусам *Extension* и *Agouti*, было генотипировано 220 голов лошадей (59 жеребцов и 161 кобыла) производящего состава и ремонтного молодняка ведущих конных заводов и частных заводчиков. Выборка состояла из 190 гнедых, 8 рыжих, 5 бурых и 17 вороных лошадей. Распределение исследованных животных по генотипам приведено в таблице 2.

Все типированные лошади бурой масти оказались гомозиготными по рецессивному аллелю E^e локуса *Extension* и при составлении подборов должны рассматриваться как рыжие. В целом, количество рыжих лошадей в производящем составе относительно невелико – 5,91%, причем их генотипы позволяют при правильном подборе получить гнедых и вороных жеребят.

Поскольку во владимирской породе рыжая масть является нежелательной, для исключения её проявления производящий состав желательно комплектовать животными, свободными от рецессивного аллеля гена *Extension* (E^e). В свою очередь, низкая частота встречаемости рецессивного аллеля (A^a) гена *Agouti* в популяции, создает определенные трудности при составлении подборов, направленных на получение вороных жеребят (таблица 3).

Таблица 3 – Частоты аллелей и уровень гетерозиготности в современной популяции лошадей владимирской породы по локусам *Extension* и *Agouti* (N=220)

Группа	N	<i>Extension</i>		<i>Agouti</i>		Гетерозиготность, %	
		E^E	E^e	A^A	A^a	<i>Extension</i>	<i>Agouti</i>
Кобылы	161	0,6957	0,3043	0,7795	0,2205	49,69	35,40
Жеребцы	59	0,6441	0,3559	0,6695	0,3305	57,63	32,20
Средневзвешенная	220	0,6818	0,3182	0,7477	0,2523	51,82	34,55

В племенном ядре владимирской породы 25,91% производителей гомозиготны по доминантным аллелям обоих генов, и способны дать только гнедое потомство. Уровень гетерозиготности по локусам *Extension* и *Agouti* в популяции составляет 51,82% и 34,55% соответственно.

В 2011-2012 гг. на базе Гаврилово-Посадского конного завода были апробированы схемы подборов для целенаправленного получения приплода желательной масти. Целью работы ставилось получение жеребят гнедой масти при условии, что один из производителей в подборе был рыжим.

В ставке 2012 года от жеребца-производителя 611 Кохмача, рыжей масти (генотип $E^{ee}A^{AA}$), в подборах к 7 гнедым кобылам было получено 5 гнедых жеребят, один мертворожденный и одна кобыла прохолостела. От группы кобыл рыжей масти – Браслетки, 2006 г., ($E^{ee}A^{AA}$), 01752 Тайны, 2003 г., ($E^{ee}A^{AA}$), и 1503 Талантливой, 2003 г., ($E^{ee}A^{AA}$), в подборах к гнедым жеребцам был получен приплод гнедой масти. Таким образом, эффективность подборов составила 100%.

Для получения жеребят вороной масти были сделаны подборы 8 гнедых кобыл – 1352 Виола, 1996 г., ($E^{Ee}A^{Aa}$), Лага, 2006 г., ($E^{Ee}A^{Aa}$), 1494 Лихая, 2003 г., ($E^{Ee}A^{Aa}$), Отвага, 2007 г., ($E^{EE}A^{Aa}$), Тактика, 2007 г., ($E^{Ee}A^{Aa}$), 1505 Тальянка, 2002 г., ($E^{EE}A^{Aa}$), 1512 Тэффи, 2001 г., ($E^{Ee}A^{Aa}$) и 1516 Хохлома, 2004 г., ($E^{EE}A^{Aa}$), к вороным жеребцам – Хохотун, 2005 г., ($E^{EE}A^{aa}$), Виконт, 2005 г., ($E^{EE}A^{aa}$) и 621 Туляк, 1993 г., ($E^{Ee}A^{aa}$). В данных подборах было рождено шесть вороных и два гнедых жеребёнка (от Лаги и Отваги), рыжих жеребят получено не было.

3.4 Генетическая структура популяции владимирской породы лошадей по гаплотипам митохондриальной ДНК

Таблица 4 – Гаплотипы идентифицированные на основании нуклеотидных замен в секвенированных последовательностях D-петли митохондриальной ДНК кобыл владимирской породы

Семейство	Гаплогруппа	Частота, %
Курсантки	G	5,26
562 Голубки	B	36,84
783 Быстрой	B	
700 Хлебной	B	
106 Гарибальды	B	
01588 Кареты	B	
1432 Хохотуньи	B	
196 Любимки	B	
17 Барки	E	5,26
1044 Вьюги	H	5,26
400 Галеты	J	5,26
01537 Весны	I	5,26
819 Гимназии	M	5,26
982 Шпаги	L	15,80
1167 Ласточки	L	
678 Тавричанки	L	
786 Вены	P	5,26
854 Занозы	Q	10,54
99 Галеты	Q	

В ходе исследования секвенированы фрагменты некодирующего региона D-петли митохондриальной ДНК размером 530 п.н. Замены представлены в основном транзциями A→G и T→C и одной делецией. Трансверсий в настоящем исследовании не выявлено. Среднее число замен на 1 сайт составило $0,021 \pm 0,004$. Доли азотистых оснований распределены относительно равномерно, с некоторым преобладанием пиримидинов – 57,3%. Исходные последовательности депонированы в международной базе данных GeneBank под номерами доступа KC847166, KF849272 – KF849290.

В популяции лошадей владимирской породы выявлено 19 гаплотипов, которые относятся к группам B, E, G, H, I, J, L, M, P и Q (таблица 4). Преобладает в выборке гаплогруппа B (36,84%), к которой относятся семейства 562 Голубки, 783 Быстрой, 196 Любимки, 1432 Хохотуньи, 01588 Кареты, 106 Гарибальды, 700 Хлебной. Все перечисленные семейства, кроме 562 Голубки, происходят из Гаврилово-Посадского конного завода.

Семейство 982 Шпаги, 1176 Ласточки и 678 Тавричанки объединены гаплотипом L (15,80%), который является самым распространённым в Европе (38,06%). Семейства Шпаги и Ласточки сформировались в Юрьев-Польском конном заводе, семейство Тавричанки в Гаврилово-Посадском.

Гаплотип Q (10,54%), объединяет семейства 854 Занозы и 99 Галеты, которые происходят из Юрьев-Польского конного завода. Таким образом, маточное поголовье двух конных заводов является носителем 10 гаплогрупп. При этом, каждому конному заводу присущи уникальные для популяции гаплогруппы. Так, G, H, J, P

характерны для женских линий Гаврилово-Посадского завода, а E, I, M, Q для Юрьев-Польского завода.

Эволюционные связи между исследованными животными представлены на рисунке 6. В качестве аутгруппы использована нуклеотидная последовательность аналогичного региона D-петли «шведской лошади». Семейства 106 Гарибальды, 01588 Кареты, 700 Хлебной, 783 Быстрой, 196 Любимки, 1432 Хохотуны и 562 Голубки формируют общую группу (гаплогруппа B), к которой на некотором удалении присоединя-

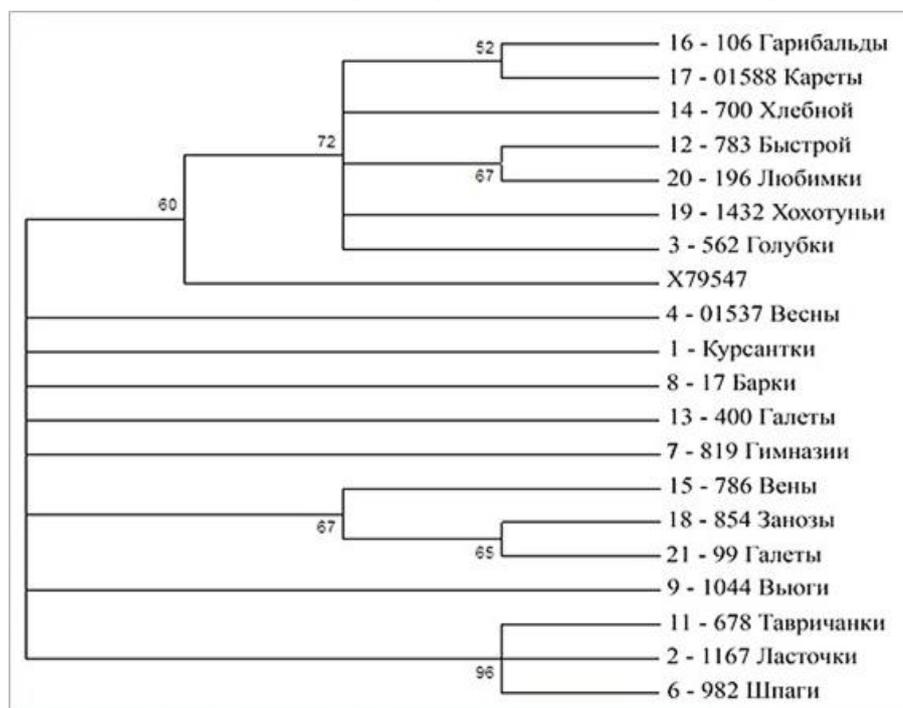


Рисунок 6 – Эволюционные связи владимирских лошадей относительно референтного сиквенса X79547. Схема составлена по методу UPGMA. Значения бутстрепа указаны в соответствующих узлах ветвления. Ветви с уровнем бутстрепа поддержки менее 50% были сокращены. Эволюционные расстояния вычислены методом максимального сходства. Финальные сиквенсы включали 529 п.н. Филогенетический анализ выполнен в программе MEGA 4.

ся референсная последовательность X79547 (уровень бутстрепа поддержки более 60). Семейства 854 Занозы и 99 Галеты также объединились в одну группу (гаплогруппа Q) со значимым уровнем бутстрепа поддержки. Семейства 678 Тавричанки, 1167 Ласточки и 982 Шпаги объединились практически на одном уровне – все семейства относятся к группе L. Семейства, являющиеся носителями уникальных гаплотипов, на значимом уровне поддержки с другими семействами не объединяются.

Согласно литературным данным, владимирская порода выведена на основе маточного поголовья лошадей Владимирского Ополя. При анализе Государственной племенной книги лошадей владимирской и клейдесдальской пород, было установлено, что некоторые кобылы, записанные в основной раздел, по прямой женской линии восходили к выводным кобылам европейских тяжелоупряжных пород. В их числе *6 Бахча, гн., 1923 г., *10 Кокетка 1-я, св.-гн., 1915 г., *16 Роль, гн., 1907 г., *25 Хризантема, гн., 1911 г., и другие, но по данным ГПК, эти женские линии разви-

тия в породе не получили или были утрачены во время Великой Отечественной Войны. Таким образом, возникла гипотеза, что некоторые местные кобылы тяжелоупряжного типа с неустановленным или утраченным происхождением, записанные в II том ГПК лошадей владимирской породы, могли быть потомками клейдесдальских и шайрских кобыл, выведенных в Россию в конце XIX – начале XX веков.

Проведенный анализ нуклеотидной последовательности D-петли митохондриальной ДНК показал, что современные представители маточных семейств 678 Тавричанки, 1167 Ласточки, 982 Шпаги, 819 Гимназии и 01537 Весны, на дендрограмме располагаются близко к современным представителям клейдесдальской и шайрской пород, что может указывать на их общие корни (рисунок 7). А кобылы семейства 1044 Вьюги, с 100% значением бутстреп поддержки имеют общее происхождение с представителем шайрской породы.

Проанализировав родословные вышеперечисленных кобыл, мы получили следующие результаты: 678 Тавричанка, восходит к кобыле *0013 Тамарке, т.-гн., 1929 г., от □1 Арди и кобылы без клички, происхождение которой не установлено; 1167 Ласточка, восходит к кобыле 0236 Лапке, гн., 1933 г., неустановленного происхождения, но по данным II тома ГПК, являющейся помесью 2 поколения владимирской породы; 982 Шпага, восходит к кобыле 0430 Шутке являющейся помесью 2 поколения, от *72 Шалуна и кобылы Баретки неустановленного происхождения; 819 Гимназия по прямой женской линии восходит к кобыле 195 Лунке, гн., 1932 г., от *39 Шерифа. Её мать – кобыла Лапка, гн., 1922 г., неустановленного происхождения, по данным II тома ГПК лошадей владимирской породы, была отнесена ко второму поколению клейдесдальской помеси; 01537 Весна, восходит к кобыле Вьюшке, вор., 1937 г., сведения о которой впервые опубликованы в IV томе ГПК лошадей владимирской породы, изданном в 1969 году. Происхождение Вьюшки не установлено.

Основательница маточного семейства 1044 Вьюга, по прямой женской линии восходит к светло-серой кобыле Вьюге, 1940 г., от *0029 Сибарита и Копки неустановленного происхождения. При этом, данные о Вьюге, св.-сер., 1940 г., впервые опубликованы в V томе ГПК лошадей владимирской породы, изданном в 1980 году.

Лошади семейства 17 Барки на дендрограмме располагаются близко к семейству русской рысистой Курсантки, что также может свидетельствовать об их отдалённом родстве по рысистым корням. 17 Барка, св.-гн., 1939 г., от *24 Лихача и Бабочки, гн., 1928 г. неустановленного происхождения, имела промеры 155-178-21,5.

Также были выделены две группы, не имеющие связей, как с европейскими тяжелоупряжными породами, так и между собой.

Первую группу образовали маточные семейства 99 Галеты, 786 Вены и 854 Занозы. Вторая группа состоит из представительниц семи маточных семейств – 106 Гарибальды, 196 Любимки, 562 Голубки, 700 Хлебной, 783 Быстрой, 1432 Хохотуньи и 01588 Кареты. Отдельной ветвью располагается семейство 400 Галеты. Вероятно, эти лошади и являются потомками местных лошадей Владимирского Ополя.

Таким образом, 6 из 19 проанализированных маточных семейств имеют гаплотипы, сходные с последовательностями современных клейдесдальских и шайрских лошадей. Вероятного родства маточного поголовья владимирской породы с представителями суффолькской и першеронской пород в проведённом исследовании не выявлено.

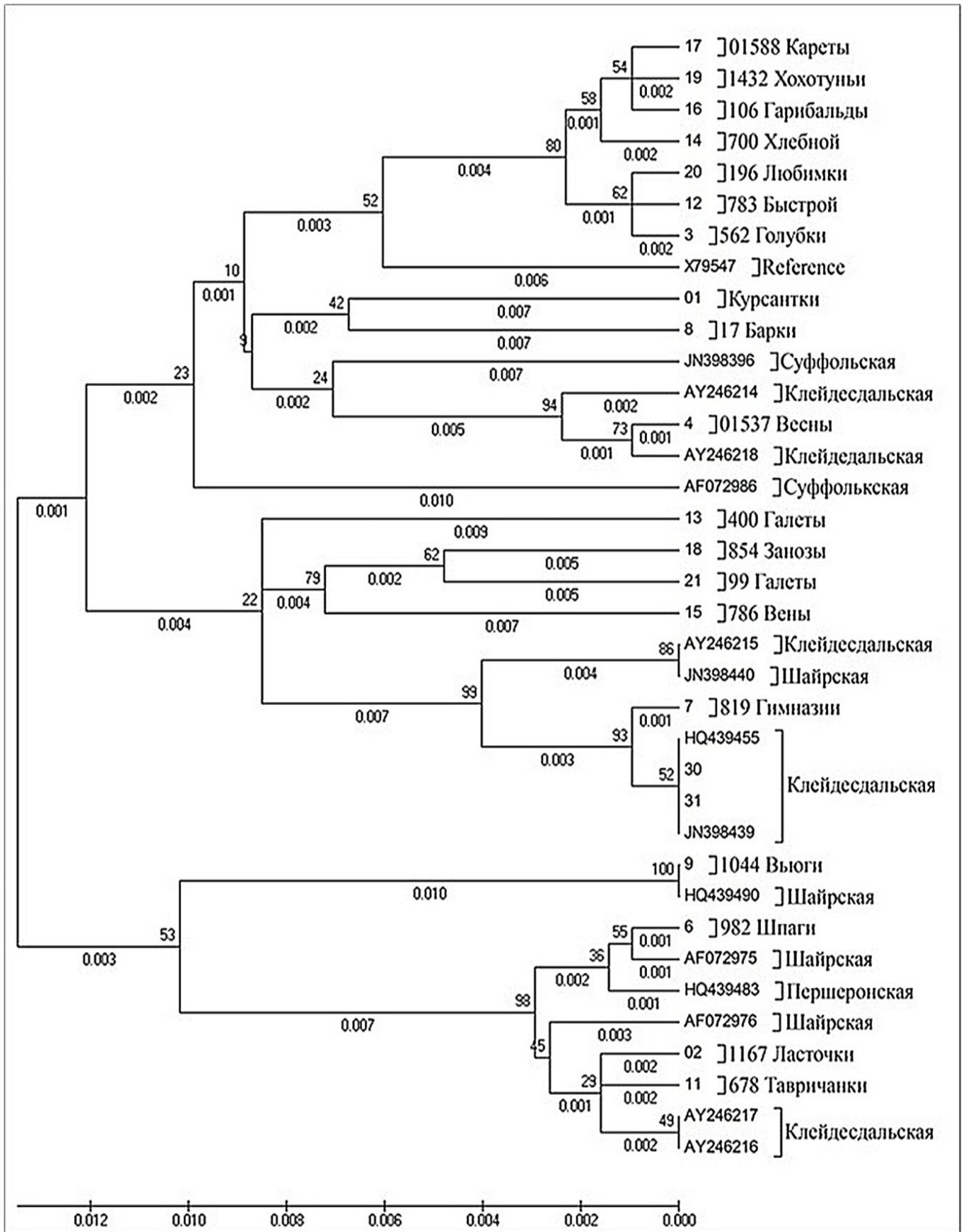


Рисунок 7 – Филогенетические связи владимирской породы с представителями клейдесдальской, шайрской, суффольской и першеронской пород относительно референсного сиквенса X79547. Анализ выполнен в программе MEGA4

ВЫВОДЫ

1. В ходе эволюции произошли значительные позитивные изменения выраженности селекционируемых признаков у лошадей владимирской породы. Высота в холке достигла 165,3 см, что на 4,9 см превышает исходный уровень, косая длина туловища – 173,7 см против 168,9 см, обхват груди – 207,0 см против 197,5 см, возрасти оценки за тип телосложения (8,2 и 7,5 балла) и экстерьер (7,8 и 7,1 балла). Вместе с тем, заметно ухудшилось соотношение промеров обхвата пясти и высоты в холке, что классифицируется как тенденция к формированию в породе нежелательной беднокостности.
2. Во владимирской породе сложилась разветвлённая генеалогическая структура из 9 мужских линий и 21 маточного семейства, отличающихся достаточным уровнем гетерозиготности. Вместе с тем, в ходе эволюции породы на фоне сокращения численности производящего состава происходит диверсификация линейной структуры в направлении доминирования представителей ограниченного числа линий. Значительно сократилась численность ведущих линий Холода и Глен Албина, на грани исчезновения находятся линии Сильвер Гоблета и Кабестана, полностью утрачена линия Крэджи Хайгейта. В породе устойчиво доминирует линия Литого, к которому восходят 35% современного состава производителей. Данное обстоятельство приведёт к сокращению внутривидового разнообразия, что негативно скажется на жизнеспособности породы в будущих поколениях.
3. В породе обозначились тенденции к сокращению численности маточного состава (на 29,6% к максимальной) и жеребцов производителей (на 37,5% к максимальной), что сопровождается нарастанием инбридинга на 0,95% за поколение. Современный средний уровень инбридинга в породе составляет 5,51% ,что значительно выше, чем в других отечественных заводских породах лошадей, но пока не превышает данный показатель в некоторых замкнутых популяциях, исторически культивируемых в мире (кладрубская, липицианская, фризская).
4. Популяционно-генетический анализ владимирской породы подтвердил заключение о сокращении генетического разнообразия и возможных негативных последствиях для её благополучия в связи с этим. Установлено, что эффективная численность популяции достигла в настоящее время критического порога – 75 голов, что требует специальных организационных и селекционных мер для предупреждения регресса породы.
5. Установлено, что в структуре генофонда владимирской породы лошадей исходная клейдесдальская порода занимает – 70,2% кровности, что открывает возможность применения возвратного скрещивания с ней без риска разрушения оригинального типа владимирского тяжеловоза.
6. Анализом митохондриальной ДНК выявлено наличие в 6 маточных семействах носителей гаплотипов, сходных с характеристиками современных представителей исходных пород лошадей – клейдесдальской и шайрской, что подтверждает вывод о целесообразности возвратного скрещивания для увеличения генетического разнообразия во владимирской породе.
7. Использование метода изучения полиморфизма митохондриальной ДНК у представительниц маточного состава владимирской породы лошадей подтвердил

высокую информативность метода и возможность его использования для мониторинга генетических трендов при селекции породы в условиях ограниченного генофонда.

8. Во владимирской породе лошадей наблюдается тенденция к снижению доли лошадей типичной (гнедой и вороной) масти на фоне роста числа особей рыжей масти. С середины 70-х годов XX века доля лошадей рыжей масти возросла с 7,7 до 12,2%, что повлияло на снижение покупательского спроса и конкурентные преимущества породы на конском рынке страны.

9. Изучена генетическая структура владимирской породы лошадей по локусам *Extension* и *Agouti*, отвечающим за наследование гнедой, вороной и рыжей мастей, установлены средневзвешенные частоты аллелей: E^E - 0,6818; E^e - 0,3182; A^A - 0,7477; A^a - 0,2523, при уровне гетерозиготности 51,82% и 34,55% соответственно.

10. Результаты проведённых экспериментальных подборов пар по локусам *Extension* и *Agouti* показали полное совпадение прогнозных и фактических мастей у полученного потомства, что даёт эффективный инструмент для культивирования в породе желательных мастей и элиминации нежелательной (рыжей) масти.

Предложения производству

1. Для сохранения типа телосложения лошадей владимирской породы при селекции особое внимание обращать на повышение костистости лошадей.

2. Для получения приплода желательной масти применять подборы родительских пар по локусам *Extension* и *Agouti*.

3. С целью повышения уровня гетерозиготности в породе и снижения рисков инбредной депрессии, обеспечить сохранность достигнутой численности мужских линий и маточных семейств, осуществить вовлечение в селекционный процесс представителей оригинальных и редких генеалогических комплексов, включая использование мировых генетических ресурсов клейдесдальской породы лошадей.

4. Мониторинг генетического разнообразия в породе осуществлять с помощью популяционно-генетического анализа и исследований генетического полиморфизма стандартными методами.

**Опубликованные работы по теме диссертации
В журналах, рекомендованных ВАК РФ:**

1. Сорокин С.И. О владимирской породе лошадей / И.И. Сорокина, О.С. Милько, С.И. Сорокин // Коневодство и конный спорт. – 2010. – № 1. – С. 15-18.
2. Сорокин С.И. Коннозаводство владимирского ополья / С.И. Сорокин // Коневодство и конный спорт. – 2010. – № 4. – С. 7-10.
3. Сорокин С.И. Родословная владимирских лошадей / С.И. Сорокин // Коневодство и конный спорт. – 2010. – № 5. – С. 14-15.
4. Сорокин С.И. Генетическая детерминация мастей во владимирской породе лошадей / М.М. Кузнецова, С.И. Сорокин, В.А. Мавропуло, Е.А. Гладырь // Зоотехния. – 2012. – № 12 – С. 9-12.

В других изданиях:

5. Сорокин С.И. Современное состояние линейной структуры владимирской породы лошадей / С.И. Сорокин // Материалы международной конференции с элементами научной школы для молодежи «ЕС – Россия: 7-я Рамочная программа в области биотехнологии, сельского, лесного, рыбного хозяйства и пищи» в рамках Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (29 сентября - 5 октября 2010 г.). – Уфа: Изд-во БГАУ, 2010. – С. 283-285
6. Сорокин С.И. Родоначальники линий владимирской породы – их характеристика и влияние на её эволюцию / С.И. Сорокин, О.С. Милько // Научно-технический прогресс в коневодстве / сб. науч. тр. № 52. – Рязань, 2010. – С. 92-104.
7. Сорокин С.И. Современная структура маточных семейств владимирской породы лошадей / С.И. Сорокин // Материалы III-й Международной научно-практической конференции молодых учёных «МОЛОДЕЖЬ И НАУКА XXI ВЕКА» (23-26 ноября 2010 г.), Ульяновск: ГСХА, 2010. – Т. I. – С. 388-390.

Издательская лицензия ИД №050806 от 10.09.2001
Подписано в печать 09.04.2014. Формат 60x84 1/16
Печатных листов 1,25. Тираж 80 экз. Заказ № 155.

Участок печати ГНУ ВНИИ коневодства
Рыбновский район, Рязанская область
Тел./факс 8 (4912) 24-02-65; 24-05-39
E-mail: vniik08@mail.ru