

Л. В. Калинкова, И. С. Левина

Влияние мутации гена *DMRT3* (chr23:22999655 C>A) на результативность ипподромных выступлений орловских рысаков

Аннотация.

Цель: изучение зависимости выраженности признаков, связанных с результативностью ипподромных выступлений лошадей орловской рысистой породы, от генотипа по SNP-маркеру гена *DMRT3* (chr23:22999655 C>A).

Материалы и методы. По SNP-маркеру гена *DMRT3* (chr23:22999655 C>A) методом ПЦР-ПДРФ были протестированы 69 чистопородных орловских рысаков, рожденных в 2013, 2014 и 2015 годах, была проанализирована информация об их беговой карьере. Все лошади экспериментальной выборки были рождены от одного жеребца-производителя. При анализе результативности ипподромных испытаний лошадей экспериментальной выборки учитывалось количество стартов каждой лошади, наличие побед и призовых мест, лучшая резвость на дистанцию 1600 м, а также наличие/отсутствие сбоев и неправильного хода.

Результаты. Установлено, что орловские рысаки с гетерозиготным генотипом А/С в целом превосходят сверстников с гомозиготными генотипами С/С и А/А как по резвости, так и по количеству стартов и победных финишей. В нашем исследовании сбой, проскачки и неправильный ход были зарегистрированы у 19 рысаков с гетерозиготным генотипом А/С, у 7 рысаков с гомозиготным генотипом А/А и у 3 рысаков с гомозиготным генотипом С/С. Интересно, что в группе с генотипом А/А у 6 рысаков из 9 был зарегистрирован неправильный ход, под которым подразумевается любое нарушение синхронного диагонального движения конечностей, в том числе переход на движение иноходью.

Заключение. Исследование показало, что орловские рысаки с гетерозиготным генотипом А/С превосходят по призовым качествам лошадей с гомозиготными генотипами С/С и А/А.

Ключевые слова: Орловская рысистая порода, рысистые бега, рысистая работоспособность, ген *DMRT3*, полиморфизм.

Авторы:

Калинкова Л. В. — кандидат сельскохозяйственных наук; e-mail: genlab.horses.ru@gmail.com;

Левина И. С. — e-mail: ira_levina@mail.ru.

Всероссийский научно-исследовательский институт коневодства; 391105, Россия, пос. Дивово, Рязанская область.

Введение. Во многих странах мира большой популярностью пользуются бега рысистых лошадей. Среди пород, используемых в рысистых бегах, наиболее известны орловский рысак, французский рысак и стандартbredная лошадь. Орловский рысак — старейшая заводская порода лошадей, созданная в России [1]. История породы тесно связана с Хреновским конным заводом, основанным в 1776 году. В настоящее время племенное поголовье орловских рысистых лошадей сосредоточено на территории Российской Федерации и Украины. Способность к движению резвой рысью является одним из важнейших для орловской рысистой породы селекционируемых признаков. Резвая рысь является искусственным аллюром, вырабатываемым в процессе специализированного тренинга рысистых лошадей [2]. В 2012 году шведскими учеными было установлено, что характеристики локомоции у современных

лошадей находятся в значительной зависимости от мутации в гене *DMRT3* (doublesex and mab-3 related transcription factor 3) [3]. Многочисленные последующие исследования подтвердили высокую частоту встречаемости однонуклеотидной замены C>A (chr23:22999655) в гене *DMRT3* в породах лошадей, характеризующихся альтернативными аллюрами, в том числе способных к движению резвой рысью [4,5,6,7,8]. Изучение зависимости рысистой работоспособности от полиморфизма гена *DMRT3* в ряде зарубежных пород лошадей показало, что мутантный аллель А оказывает благоприятное влияние на призовые качества рысаков во всех исследованных популяциях, при этом эффект от его влияния значительно варьируется в различных породах. Например, рысаки узкоспециализированной стандартbredной породы, имеющие генотип А/А, показывают наилучшие результаты по всем параметрам (ко-

личество побед и призовых мест, сумма выигрыша, лучшая резвость, количество дисквалификаций и т.д.), в то время как скандинавские «хладнокровные» и французские рысаки с гетерозиготным генотипом А/С, как правило, существенно не уступают лошадям с гомозиготным по мутантному аллелю генотипом А/А и с увеличением возраста по ряду параметров даже превосходят их [9, 10]. Под действием интенсивного искусственного отбора мутантный аллель А полностью зафиксирован селекцией в стандартбредной породе лошадей, в то время как во французской рысистой породе, а также среди «хладнокровных» рысаков Скандинавии наблюдается относительно высокая частота встречаемости аллеля С «дикого» типа [9, 10]. В наших предыдущих исследованиях установлено, что подавляющее большинство орловских рысаков выдающегося призового класса имеют гетерозиготный генотип А/С [11].

Цель исследований – изучение зависимости выраженности признаков, связанных с результативностью ипподромных выступлений лошадей орловской рысистой породы от генотипа по SNP-маркеру гена *DMRT3* (chr23:22999655 C>A).

Материалы и методы. В качестве материала для исследований использовались результаты генотипирования 69 лошадей орловской рысистой породы по SNP-маркеру гена *DMRT3* (g.22999655C>A), а также информация об их беговой карьере. Все лошади экспериментальной выборки были рождены от одного жеребца-производителя в Московском конном заводе в 2013, 2014 и 2015 годах. ДНК выделялась из волосных луковиц с помощью коммерческого набора реагентов «ExtraGene™ DNA Prep 200» (ООО «Лаборатория Изоген», Москва) согласно рекомендациям производителя.

Генотипирование образцов ДНК по SNP-мар-

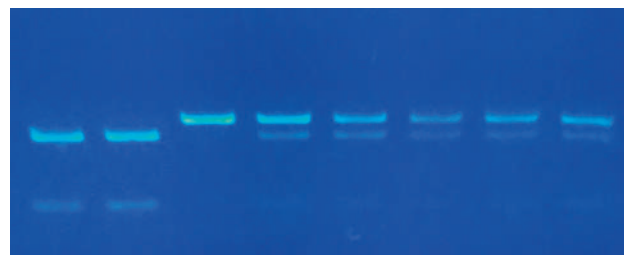


Рис. 1. Результаты генотипирования орловских рысаков по маркеру гена *DMRT3* (g.22999655C>A) методом PCR-RFLP (слева на право: образцы №№ 1, 2 – генотип А/А; образец № 3 – генотип С/С; образцы №№ 4, 5, 6, 7, 8 – генотипы А/С)

керу гена *DMRT3* (g.22999655C>A) проводилось методом PCR-RFLP, с праймерами 5'-AGCTTGAAAGCCAACAGACC-3' и 5'-CAAA-GATGTGCCCGTTGGA-3', дизайн которых выполнялся с помощью программы Primer-BLAST [12] с использованием референтной последовательности ДНК домашней лошади *Equus caballus*, опубликованной в базе данных NCBI под регистрационным номером NC_009166.2. Детекция полиморфизма С>А проводилась с использованием эндонуклеазы рестрикции HpyF3I с разделением полученных фрагментов в 3 % агарозном геле (рис. 1). При анализе результативности ипподромных испытаний лошадей экспериментальной выборки учитывались следующие показатели: количество стартов каждой лошади, наличие побед и призовых мест (в т.ч. в традиционных призах), лучшая пожизненная резвость на дистанцию 1600 м.

Статистическая обработка данных выполнялась с помощью программного обеспечения Microsoft Excel 2010.

Результаты и обсуждение. В ходе исследований было проведено генотипирование 3-х ставок племенного молодняка, полученного от жеребца-производителя, имевшего гетерозиготный генотип

Таблица 1. Численность рысистых лошадей экспериментальной выборки с различными генотипами по маркеру гена *DMRT3* (g.22999655C>A), испытанных на ипподроме

Группа	Общее количество рысаков, голов	Количество испытанных лошадей (голов) в группах по возрастным категориям				
		2-х лет	3-х лет	4-х лет	5 лет	6 лет и старше
Рысаки с генотипом А/С	36	23	19	16	8	5
в т.ч. жеребцы	20	14	13	12	8	5
в т.ч. кобылы	16	9	6	4	-	-
Рысаки с генотипом С/С	13	8	7	5	-	1
в т.ч. жеребцы	7	4	4	3	-	1
в т.ч. кобылы	6	4	3	2	-	-
Рысаки с генотипом А/А	20	9	5	5	-	-
в т.ч. жеребцы	8	2	1	1	-	-
в т.ч. кобылы	12	7	4	4	-	-

А/С по SNP-маркеру гена *DMRT3* (g.22999655C>A). Из 69 протестированных лошадей 36 имели гетерозиготный генотип А/С, 13 и 20 лошадей имели соответственно гомозиготные генотипы С/С и А/А. Частота встречаемости мутантного аллеля А у лошадей экспериментальной выборки составила 0,551. Все лошади экспериментальной выборки прошли заводской тренинг, по окончании которого для ипподромных испытаний было отобрано 40 рысаков. Установлено, что жеребцы с гетерозиготным генотипом А/С, как правило, имели более продолжительную беговую карьеру по сравнению с рысаками гомозиготных генотипов А/А и С/С (табл. 1).

На ипподромах России дистанция 1600 метров (т.е. 1,5 версты) традиционно считается основной в заездах для рысистых лошадей. В нашем исследовании по результатам ипподромных испытаний резвость лошадей экспериментальной выборки на дистанции 1600 метров варьировала от 2.03,6 (т.е. 2 мин. 3,6 сек.) до 2.41,3 (рис. 2). При этом 9 жеребцов с гетерозиготным генотипом А/С вошли в класс 2.10 (т.е. были резвее 2 мин. 10 сек. на дистанции 1600 метров), в т.ч. 2 рысака были резвее 2.05 (табл. 2). В группе рысаков с генотипом С/С в класс 2.10 вошли 1 жеребец и 2 кобылы. В группе лошадей с генотипом А/А рысаков резвостного класса 2.10 выявлено не было (табл. 2).

Анализ среднестатистических показателей результативности ипподромных выступлений орловских рысистых лошадей экспериментальной

выборки показал, что орловские рысаки с гетерозиготным генотипом А/С в целом превосходят лошадей с другими генотипами не только по резвости, но и по количеству стартов и победных финишей (рис. 3).

Орловские рысаки с генотипом А/С имели в среднем 31,52 старта и 17,48 занятых призовых мест в расчете на 1 лошадь. Лошади с генотипом С/С имели в среднем 30,13 выступлений в расчете на 1 лошадь, достаточно часто занимая призовые платные места. Лошади с генотипом А/А выступали значительно меньше, т.к. раньше заканчивали беговую карьеру, имея в среднем 15 стартов на лошадь (рис. 3).

Наиболее престижными в рысистом спорте считаются победы и занятые призовые места в традиционных призах. В группе лошадей с гетерозиготным генотипом А/С 16 рысаков занимали призовые места в традиционных призах, в том числе 4 — становились победителями. В группе с гомозиготным генотипом А/А призерами традиционных заездов были 2 рысака, в том числе один стал победителем. В группе с гомозиготным генотипом С/С победителей традиционных призов нет, 4 лошади занимали призовые места.

Важное значение для лошадей, принимающих участие в рысистых заездах, имеет чистота хода, т.е. движение правильным и устойчивым рысистым аллюром. Согласно правилам испытаний лошадей рысистых пород [13] переход рысака с рыси на галоп, если при этом делается три и более темпа галопа, классифицируется как сбой.

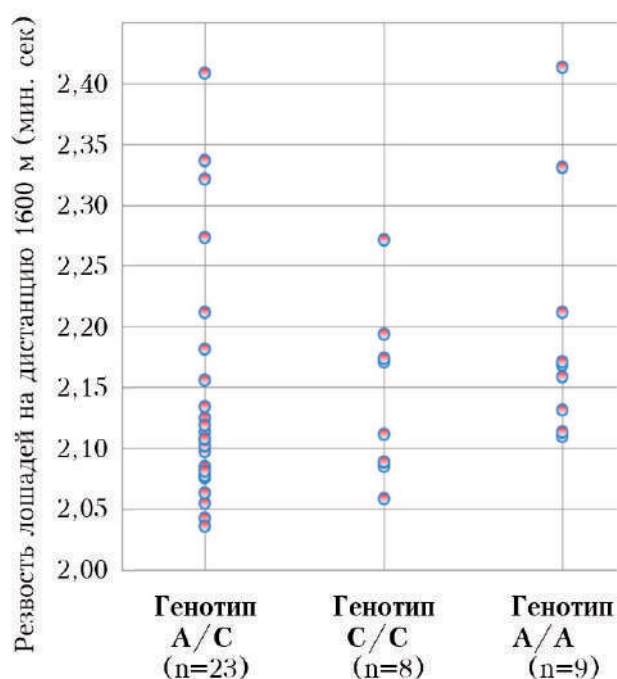


Рис. 2. Распределение рысаков экспериментальной выборки с различными генотипами *DMRT3* (g.22999655C>A) по резвости на дистанцию 1600 м.

Таблица 2. Количество рысаков высокого резвостного класса в зависимости от генотипа по SNP-маркеру *DMRT3* (g.22999655C>A)

Группа	Количество рысаков класса 2.10 и резвее, голов	Количество рысаков класса 2.05 и резвее, голов
Рысаки с генотипом А/С	9	2
в т.ч. жеребцы	9	2
в т.ч. кобылы	-	-
Рысаки с генотипом С/С	3	-
в т.ч. жеребцы	1	-
в т.ч. кобылы	2	-
Рысаки с генотипом А/А	-	-
в т.ч. жеребцы	-	-
в т.ч. кобылы	-	-

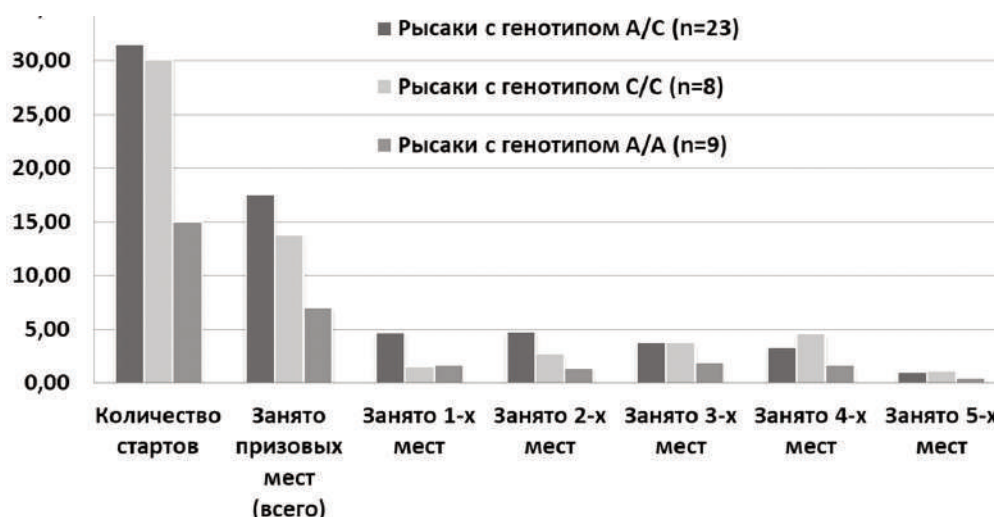


Рис. 3. Среднестатистические показатели результативности ипподромных выступлений орловских рысистых лошадей экспериментальной выборки в зависимости от генотипа по маркеру *DMRT3* (g.22999655C>A)

Проскачка регистрируется в случаях, если рысак на сбою выигрывает пространство, или, не отставая от других участников заезда, движется галопом приблизительно 50 м, или движется галопом, не подчиняясь наезднику, приблизительно 100 метров. Нарушение двухтактного ритма или синхронного диагонального движения конечностей на резвой рыси, например, переход на иноходь, классифицируется как неправильный ход. Рысак, имевший по дистанции лишние сбои, проскачку, неправильный ход, прошедший линию финиша галопом или неправильным ходом, дисквалифицируется. В нашем исследовании сбои, проскачки и неправильный ход были зарегистрированы у 19 рысаков с гетерозиготным генотипом A/C, у 7 рысаков с гомозиготным генотипом A/A и у 3 рысаков с гомозиготным генотипом

C/C (табл. 3). Интересно, что в группе с генотипом A/A у 6 рысаков из 9 был зарегистрирован неправильный ход, под которым подразумевается нарушение синхронного диагонального движения конечностей, в том числе переход на движение иноходью.

Заключение. Способность к движению резвой рысью является одним из важнейших для орловской рысистой породы селекционируемых признаков. Изучение полиморфизма гена *DMRT3* (g.22999655C>A) у лошадей орловской рысистой породы показало, что рысаки с гетерозиготным генотипом A/C превосходят по призовым качествам лошадей с гомозиготными генотипами A/A и C/C, что способствует поддержанию в породе достаточно высокой частоты встречаемости аллеля C «дикого» типа.

Таблица 3. Распределение рысаков, имевших зарегистрированные сбои, проскачки и неправильный ход, по генотипам *DMRT3* (g.22999655C>A)

Группа	Количество рысаков, без сбоев, проскачек и неправильного хода		Количество рысаков, имевших сбои и проскачки		Количество рысаков, имевших неправильный ход	
	голов	%	голов	%	голов	%
Рысаки с генотипом A/C (n=23)	4	17,39	19	82,61	3	13,04
Рысаки с генотипом C/C (n=8)	5	62,5	2	25	1	12,5
Рысаки с генотипом A/A (n=9)	2	22,22	6	66,67	6	66,67

Литература

- Витт В.О. Из истории русского коннозаводства / Витт В. О. // М.: Сельхозиздат, 1952. — 358 с.
- Карлсен Г. Г. Тренинг и испытания рысаков / Карлсен Г. Г., Брейтшер И. Л., Евстафьев Е. С. и др. // М.: Колос, 1978. — 256 с.
- Andersson L. S. Mutations in *DMRT3* affect locomotion in horses and spinal circuit function in mice / L. S. Andersson, M. Larhammar et al. // Nature. — 2012. — Vol. 488(7413). — P. 642-646. doi: 10.1038/nature11399.

4. Jaderkvist K. Gaitedness is associated with the *DMRT3* 'Gait keeper' mutation in Morgan and American curly horses / K. Jaderkvist, N. Kangas, L. S. Andersson, G. Lindgren // *Anim. Genet.* — 2014. — Vol. 45. — P. 908–909. doi: 10.1111/age.12228.
5. Jaderkvist Fegraeus K. Different *DMRT3* genotypes are best adapted for harness racing and riding in Finnhorses / K. Jaderkvist, L. Johansson L. et al. // *J. Hered.* — 2015. — Vol. 106. — P. 734–740. doi: 10.1093/jhered/esv062.
6. Kristjansson T. The effect of the 'Gait keeper' mutation in the *DMRT3* gene on gaiting ability in Icelandic horses / T. Kristjansson, S. Bjornsdottir et al. // *J. Anim. Breed. Genet.* — 2014. — Vol. 131(6). — P. 415–425. doi: 10.1111/jbgs.12112.
7. Manso Filho H. C. *DMRT3* mutant allele in batida and picada gaited horses from Campolina and Mangalarga Marchador breeds / Manso Filho H.C., Cothran E.G., Juras R., et al. // *Ciencia Veterinaria nos Trypicos.* — 2015. — Vol. 18(1). — P. 58–64.
8. Promerova M. B. Worldwide frequency distribution of the 'Gait keeper' mutation in the *DMRT3* gene / M. B. Promerova, L. S. Andersson et al. // *Anim. Genet.* — 2014. — Vol. 45(2). — P. 274–282. doi: 10.1111/age.12120.
9. Jaderkvist K. The *DMRT3* 'Gait keeper' mutation affects performance of Nordic and Standardbred trotters / K. Jaderkvist, L. S. Andersson et al. // *J. Anim. Sci.* — 2014. — Vol. 92(10). — P. 4279–4286. doi: 10.2527/jas.2014-7803.
10. Ricard A. Does heterozygosity at the *DMRT3* gene make French trotters better racers? / A. Ricard // *Genet. Sel. Evol.* — 2015. — Vol. 47(1). — P. 10. doi: 10.1186/s12711-015-0095-7.
11. Калинкова Л. В. Полиморфизм гена *DMRT3* в орловской рысистой породе лошадей / Л. В. Калинкова, А. М. Зайцев, В. В. Калашников // *Ветеринария, зоотехния и биотехнология.* — 2019. — № 7. — С. 60–65. doi: 10.26155/VET.ZOO.BIO.201907009.
12. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>
13. <http://agroportal2.garant.ru:81/SESSION/PILOT/main.htm> (дата обращения 23.12.2022 г.).

Kalinkova L., Levina I.

The effect of the mutation in the *DMRT3* gene (chr23:22999655 C>A) on the racing performance in Orlov Trotters

Abstract.

The aim of the study: Investigation of the polymorphism of the *DMRT3* gene (chr23:22999655 C>A) associated with the racing performance in Orlov Trotters.

Materials and methods. A group of 69 purebred Orlov Trotters born in 2013, 2014 and 2015 was tested for SNP C>A (chr23:22999655) using PCR-RFLP method and their racing career was analyzed. All the tested animals were sired by one the same stallion. The analysis of the racing performance of trotters in the experimental group included the number of starts for each horse, the number of wins, the best racing time at a distance of 1600 m, correctness of the trotting gait and occurrence/absence of breaks.

Results. It was found that Orlov Trotters that had the heterozygous A/C genotype were generally superior to horses with the C/C and A/A genotypes, both in the best racing time and in the number of starts and wins. In the study, breaks and cases of incorrect trotting gait were recorded in 19 trotters with the heterozygous A/C genotype, 7 trotters with the homozygous A/A genotype and 3 trotters with the homozygous C/C genotype. Interestingly, in the group of horses with the A/A genotype 6 trotters out of 9 had the registered incorrect trotting gait, which meant pacing or any other disorders in the synchronous diagonal movement of the limbs.

Conclusion. The study demonstrated that Orlov Trotters with the A/C genotype are better racers than horses with the C/C and A/A genotypes.

Key words: Orlov Trotter, harness racing, racing performance, *DMRT3* gene, polymorphism.

Authors:

Kalinkova L. — PhD (Agr. Sci.); e-mail: genlab.horses.ru@gmail.com;

Levina I. — e-mail: ira_levina@mail.ru

The All-Russian Research Institute for Horse Breeding, 391105, Russia, Divovo, Ryazan region.

References

1. Witt V. O. From the history of Russian horse breeding / Witt V. O. // M.: Selkhozizdat, 1952. — 358 p.
2. Karlsen G. G. Training and testing of trotters / Karlsen G. G., Breitscher I. L., Evstafiev E. S. et al. // M.: Kolos, 1978. — 256 p.
3. Andersson L. S. Mutations in *DMRT3* affect locomotion in horses and spinal circuit function in mice / L. S. Andersson, M. Larhammar et al. // Nature. — 2012. — Vol. 488(7413). — P. 642–646. doi: 10.1038/nature11399.
4. Jaderkvist K. Gaitedness is associated with the *DMRT3* 'Gait keeper' mutation in Morgan and American curly horses / K. Jaderkvist, N. Kangas, L. S. Andersson, G. Lindgren // Anim. Genet. — 2014. — Vol. 45. — P. 908–909. doi: 10.1111/age.12228.
5. Jaderkvist Fegraeus K. Different *DMRT3* genotypes are best adapted for harness racing and riding in Finnhorses / K. Jaderkvist, L. Johansson L. et al. // J. Hered. — 2015. — Vol. 106. — P. 734–740. doi: 10.1093/jhered/esv062.
6. Kristjansson T. The effect of the 'Gait keeper' mutation in the *DMRT3* gene on gaiting ability in Icelandic horses / T. Kristjansson, S. Bjornsdottir et al. // J. Anim. Breed. Genet. — 2014. — Vol. 131(6). — P. 415–425. doi: 10.1111/jbg.12112.
7. Manso Filho H. C. *DMRT3* mutant allele in batida and picada gaited horses from Campolina and Mangalarga Marchador breeds / Manso Filho H.C., Cothran E.G., Juras R., et al. // Ciencia Veterinaria nos Tropicós. — 2015. — Vol. 18(1). — P. 58–64.
8. Promerova M. B. Worldwide frequency distribution of the 'Gait keeper' mutation in the *DMRT3* gene / M. B. Promerova, L. S. Andersson et al. // Anim. Genet. — 2014. — Vol. 45(2). — P. 274–282. doi: 10.1111/age.12120.
9. Jaderkvist K. The *DMRT3* 'Gait keeper' mutation affects performance of Nordic and Standardbred trotters / K. Jaderkvist, L. S. Andersson et al. // J. Anim. Sci. — 2014. — Vol. 92(10). — P. 4279–4286. doi: 10.2527/jas.2014-7803.
10. Ricard A. Does heterozygosity at the *DMRT3* gene make French trotters better racers? / A. Ricard // Genet. Sel. Evol. — 2015. — Vol. 47(1). — P. 10. doi: 10.1186/s12711-015-0095-7.
11. Kalinkova L. V. Polymorphism of the *DMRT3* gene in the Orlov trotter horse breed / L. V. Kalinkova, A. M. Zaitsev, V. V. Kalashnikov // Veterinary science, animal science and biotechnology. — 2019. — № 7. — P. 60–65. doi: 10.26155/VET.ZOO.BIO.201907009.
12. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>.
13. <http://agroportal2.garant.ru:81/SESSION/PILOT/main.htm> (access date 23.12.2022).