

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ ДНК ЛОШАДЕЙ ВЕРХОВЫХ ПОРОД НА ИХ СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТЬ

А. И. GERMAN, А. Н. РУДАК, Ю. И. GERMAN,
М. А. ГОРБУКОВ, В. И. ЧАВЛЫТКО

РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук
Беларуси по животноводству»,
г. Жодино, Республика Беларусь, 222163, e-mail: belhorses@mail.ru

(Поступила в редакцию 12.01.2023)

Лошади, в отличие от других видов сельскохозяйственных животных, имеют легко-возбудимую нервную систему и очень часто подвергаются действию различного рода стрессов. Особую актуальность в верховом коневодстве представляет отбор животных устойчивых к внешним раздражителям. Такие лошади отличаются добронравием, отсутствием дурных привычек, что делает их легко обучаемыми, повышает экспертную оценку. Все это вызывает необходимость наиболее кратких путей поиска и отбора стрессоустойчивых животных для дальнейшей селекции с использованием современных методов ДНК технологий, что обеспечит возможность существенной экономии средств на выращивание неперспективных особей и позволит сконцентрировать усилия на работе с отобранным конеполовьем. В результате проведенных исследований дифференцировано 3 группы лошадей различных этологических реакций: стрессоустойчивые – 101 гол., промежуточный тип поведения – 58 гол., стрессочувствительные – 36 гол. и определены индивидуальные особенности полиморфизма их микросателлитных локусов. Выявлены наиболее предпочтительные аллели в локусах микросателлитов ДНК лошадей верховых пород, характеризующие их стрессоустойчивость. Так, достоверные различия по частотам встречаемости аллелей у лошадей различной стрессоустойчивости выявлены в 11 локусах из 17. Группа стрессоустойчивых лошадей характеризуется достоверно более высокой частотой встречаемости аллелей $ASB23^I$ ($0,109\pm 0,02$), $HTG6^M$ ($0,060\pm 0,02$), $HTG7^N$ ($0,238\pm 0,03$), $HTG10^R$ ($0,114\pm 0,02$), $LEX3^O$ ($0,188\pm 0,03$) по сравнению со стрессочувствительной. Установлены также наиболее желательные генотипические сочетания. Лошади стрессоустойчивой группы имели генотипы $AHT4^{HO}$, $HMS7^{JO}$, $HTG4^{LM}$, $HTG6^{GJ}$, $HTG6^{GG}$ в соответствующих микросателлитных локусах. Выявлен ряд аллелей, снижающих стрессоустойчивость. К ним следует отнести: $AHT4^I$, $ASB17^G$, $ASB23^L$, $CA425^N$, $HTG4^M$, $HTG6^O$, $HTG7^O$, $HTG10^K$, $VHL20^I$.

Ключевые слова: лошади верховых пород, микросателлиты ДНК, аллель, генотип, полиморфизм, поведенческие реакции, стрессоустойчивость, стрессочувствительность.

Horses, unlike other types of farm animals, have an excitable nervous system and are very often exposed to various kinds of stress. Of particular relevance in riding horse breeding is the selection of animals resistant to external stimuli. Such horses are distinguished by good-naturedness, the absence of bad habits, which makes them easy to train, and increases their expert assessment. All this causes the need for the shortest ways to search for and select stress-resistant

animals for further breeding using modern methods of DNA technology, which will provide significant savings on raising unpromising individuals and will allow you to concentrate efforts on working with selected horse stock. As a result of the research, 3 groups of horses with different ethological reactions were differentiated: stress-resistant – 101 heads, intermediate type of behavior – 58 heads, stress-sensitive – 36 heads. and individual features of polymorphism of their microsatellite loci were determined. The most preferred alleles in the DNA microsatellite loci of saddle breed horses were identified, which characterize their stress resistance. Thus, significant differences in the frequencies of alleles in horses of different stress resistance were found in 11 out of 17 loci. The group of stress-resistant horses is characterized by a significantly higher frequency of alleles ASB23^I (0.109±0.02), HTG6^M (0.060±0.02), HTG7^N (0.238±0.03), HTG10^R (0.114±0.02), LEX3^O (0.188±0.03) compared with the stress-sensitive group. The most desirable genotypic combinations were also established. Horses of the stress-resistant group had the AHT4^H^O, HMS7^J^O, HTG4^{LM}, HTG6^{GG} genotypes in the corresponding microsatellite loci. A number of alleles that reduce stress resistance have been identified. These include: AHT4^I, ASB17^G, ASB23^L, CA425^N, HTG4^M, HTG6^O, HTG7^O, HTG10^K, VHL20^I.

Key words: riding horses, DNA microsatellites, allele, genotype, polymorphism, behavioral responses, stress resistance, stress sensitivity.

Введение. Как свидетельствует мировой опыт, при выращивании лошадей следует учитывать их наследственные качества, обеспечивающие возможность успешно функционировать организму при воздействии различных неблагоприятных факторов. Также большое значение имеет их способность быть устойчивыми к стрессам. Стрессоустойчивые лошади отличаются добронравием, отсутствием дурных привычек, что делает их легко обучаемыми, повышает их экспертную оценку [1].

Литературные данные свидетельствуют о том, что лошади, в отличие от других видов сельскохозяйственных животных, имеют легковозбудимую нервную систему и очень часто подвергаются действию различного рода стрессов. Факторы окружающей среды, которые проявляются в качестве раздражителей, разнообразны по своей природе и силе воздействия на организм. Установлено, что при стрессовых состояниях существенно снижаются спортивные качества лошади: способность к направленному тренингу, повиновение, управляемость, баланс [2].

Факторы окружающей среды, которые проявляются в качестве раздражителей, разнообразны по своей природе и силе воздействия на организм. Распространенным стрессором является контакт лошади с посторонним человеком. Считается, что основной мотивацией поведения лошадей при контакте с человеком является состояние страха, побуждающего их избегать подобных встреч. Выраженное проявление оборонительных реакций свидетельствует о пониженной стрессоустойчивости лошади [3].

Современный уровень развития спортивного коневодства: география соревнований; интенсификация тренировочного процесса, связанная со все возрастающими требованиями; несбалансированность

рационов, бедность их витаминами и микроэлементами; утрата естественности окружающей среды – несут в себе огромное количество факторов, вызывающих у животных состояние беспокойства. В то же время от спортивной лошади, находящейся в тренинге, ожидают высокого уровня отдачи. Следовательно, всем этим требованиям может отвечать лишь животное, устойчивое к чрезвычайным отрицательным воздействиям окружающей среды [4].

Все это вызывает необходимость поиска путей повышения приспособленности лошадей к внешним раздражителям, отбора наиболее стрессоустойчивых животных для дальнейшей селекции с использованием современных методов ДНК технологий, что обеспечит возможность существенной экономии средств на выращивание неперспективных особей и позволит сконцентрировать усилия на работе с отобранным конепоголовьем.

Цель исследований – изучить влияние полиморфизма микросателлитных локусов ДНК лошадей верховых пород на их стрессоустойчивость.

Основная часть. Исследования проводились в базовых хозяйствах по разведению лошадей верховых пород – в учреждении «РЦОПКС и К» Минского, РСУП «Совхоз «Лидский» Лидского, КСУП «Тепличное» Гомельского и ОАО «Полочаны» Молодечненского районов.

Для выполнения исследований был проведен отбор проб биоматериала (волосы из гривы в области холки) для проведения ДНК тестирования в лаборатории молекулярной биотехнологии и ДНК-тестирования РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству» согласно методике мультиплексного генотипирования образцов ДНК лошадей по 17 микросателлитным локусам, рекомендованным ISAG: АНТ4, АНТ5, АСВ2, АСВ17, АСВ23, СА425, НМС1, НМС2, НМС3, НМС6, НМС7, НТГ4, НТГ7, НТГ6, НТГ10, VHL20, LEX3.

Процедуру генотипирования лошадей проводили в несколько этапов, включающих выделение ДНК из биологического материала, амплификацию необходимых для анализа участков ДНК с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР), электрофорез продуктов амплификации и интерпретацию полученного STR-профиля.

Препараты ДНК экстрагировали перхлоратным методом из образцов волосяных луковиц животных. Концентрацию и степень чистоты препаратов ДНК оценивали с использованием спектрофотометра Gene Quant 1300 (Healthcare).

Для амплификации ДНК использовали термоциклер Sure Cyclor 8800 (Agilent Technologies), ПЦР проводили в реакционной смеси объемом 20 мкл, включающей: 100 нг ДНК, праймеры в количестве 1-12 пМ, по 200 мкМ каждого из дНТФ, 1х буфер (10 мМ трис рН 8,6, 50 мМ КСl, 0,1 % tween-20), 2,0 мМ MgCl₂ и 1,3 ед. акт. ArtStart ДНК-полимеразы (ООО «АртБиоТех»). В ПЦР использовали олигонуклеотидные праймеры, модифицированные по 5'-терминальным нуклеотидам четырьмя различными флуоресцентными красителями: FAM, TMR, R6G, ROX. ПЦР амплификации ДНК микросателлитных локусов проводили в следующем режиме: начальная денатурация – 2 мин. при 95 °С; 30 циклов: денатурация – 30 с при 95 °С, отжиг праймеров – 30 с при 59 °С, элонгация – 60 с при 72 °С; финальная элонгация – 1 ч при 72 °С. Электрофоретическое фракционирование продуктов ПЦР осуществляли в генетическом анализаторе Genetic Analyzer 3500 (Applied Biosystems), в капиллярах длиной 50 см, заполненных полимером POP-7, в режиме фрагментного анализа. Перед загрузкой амплифицированных образцов в генетический анализатор их смешивали с 9 мкл формамида и 0,3 мкл внутреннего стандарта размера GeneScan 600 LIZ Size Standard (Applied Biosystems) в расчете на 1 мкл образца. Проводили денатурацию полученной смеси в течение 5 мин. при 95 °С, смесь охлаждали на льду в течение 3 мин.

Анализ полученных в результате электрофоретического фракционирования фрагментов ДНК данных и определение размеров выявленных аллелей исследуемых локусов и соответствующих генотипов животных проводили с использованием программного обеспечения Gene Mapper 4.1 (Applied Biosystems) [5].

Тестирование лошадей на стрессоустойчивость в каждом из хозяйств проводили с использованием разработанного нами этологического теста. Сущность данного приема заключается в том, что в индивидуальном деннике экспериментатор насыпает в кормушку концентраты и наблюдает в течение 5 минут за поведением лошади. Испытываемая острая потребность в еде и, вместе с тем, сохраняя чувство страха в необычной ситуации, животные ведут себя по-разному, в зависимости от своих индивидуальных особенностей.

Наиболее приемлемо использовать в качестве пищевого раздражителя традиционный овес. Отличаясь высокими вкусовыми качествами, питательностью, он оказывает сильное эмоциональное воздействие на исследуемых животных.

В качестве внешнего агента (стрессора), вызывающего нарушение обычного стереотипа поведения лошади и не нарушающего повседневного технологического процесса на конеферме, был задействован незнакомый человек (экспериментатор) с заметным раздражителем в руках (шуршащая бумага, яркий пакет). Он заходил поочередно в денник к каждой лошади и высыпал овес из ведра в кормушку. Затем предпринимались попытки подойти близко к лошади и огладить ее.

По особенностям поведения лошадей во время тестирования их дифференцировали на четыре этологических типа (феногруппы) со следующей оценкой, баллов:

0 – совершенно не подходят к корму из-за страха перед незнакомым человеком;

1 – периодически подходят к кормушке и отходят от нее; продолжительность нахождения возле кормушки и поедания корма – менее 50 % общей продолжительности тестирования (2 мин.);

2 – периодически подходят к кормушке и отходят от нее; продолжительность нахождения возле кормушки и поедания корма – более 50 % общей продолжительности тестирования (3 мин.);

3 – не отходят от кормушки и спокойно поедают корм.

Техника тестирования лошадей, фиксирования результатов, определения параметров градации поведенческих реакций и их оценка детально обрабатывались в процессе исследований [6].

В результате проведенных исследований дифференцировано 3 группы лошадей различных этологических реакций: стрессоустойчивые – 101 гол., промежуточный тип поведенческих реакций – 58 гол., стрессочувствительные – 36 гол. и определены индивидуальные особенности полиморфизма их микросателлитных локусов. Влияние полиморфизма микросателлитных локусов ДНК на стрессоустойчивость лошадей верховых пород определено методом сравнительного анализа результатов этологического тестирования с генетическими особенностями каждой конкретной лошади.

В табл. 1 представлены локусы, в которых имеются наиболее дифференцированные различия по частоте встречаемости аллелей между группами лошадей различной стрессоустойчивости. Наиболее предпочтительными из них оказались аллели в локусах AHT5, ASB17, ASB23, HMS6, HMS7, HTG4, HTG6, HTG7 и LEX3.

Таблица 1. Частота встречаемости аллелей в локусах микросателлитов ДНК у лошадей верховых пород различной стрессоустойчивости

Локус	Ал- лель	Тип поведения лошадей		
		стрессоустойчи- вые (n=101)	промежуточный тип поведенческих реак- ций (n=58)	стрессочувстви- тельные (n=36)
1	2	3	4	5
АНТ4	H	0,178±0,03	0,138±0,03	0,139±0,04
	O	0,371±0,03	0,431±0,05	0,403±0,06
АНТ5	J	0,128±0,02	0,190±0,04	0,278±0,05**
	O	0,248±0,03	0,189±0,04	0,167±0,04
ASB2	P	0,020±0,01	0,035±0,02	0,083±0,03
	R	0,050±0,02	0,035±0,02	0,014±0,01
ASB17	G	0,139±0,02	0,164±0,03	0,250±0,05*
ASB23	I	0,109±0,02*	0,103±0,03	0,042±0,02
CA425	L	0,035±0,01	0,035±0,02	0,083±0,03
HMS2	H	0,094±0,02	0,086±0,03	0,056±0,03
HMS3	S	0,025±0,01	0,052±0,02	0,056±0,03
HMS6	K	0,158±0,03	0,150±0,03	0,125±0,04
	O	0,08±0,02	0,121±0,03	0,194±0,05*
	M	0,277±0,03	0,267±0,04	0,222±0,05
HMS7	M	0,178±0,03	0,129±0,03	0,097±0,03
	L	0,267±0,03	0,310±0,04	0,403±0,06*
	O	0,173±0,03	0,138±0,03	0,138±0,04
	J	0,228±0,03	0,198±0,04	0,153±0,04
	N	0,124±0,02	0,138±0,03	0,153±0,04
HTG4	K	0,455±0,04	0,448±0,05	0,375±0,06
	M	0,441±0,03	0,483±0,05	0,597±0,06*
	L	0,080±0,02	0,026±0,02	–
HTG6	G	0,426±0,03	0,422±0,05	0,347±0,07
	J	0,277±0,03	0,285±0,04	0,347±0,06
	M	0,060±0,02*	0,020±0,01	0,010±0,01
HTG7	O	0,426±0,03	0,560±0,05	0,639±0,06**
	N	0,238±0,03***	0,207±0,04	0,083±0,03
HTG10	I	0,079±0,02	0,086±0,03	0,125±0,04
	R	0,114±0,02*	0,086±0,03	0,042±0,02
	M	0,045±0,02	0,052±0,02	0,097±0,03
VHL20	N	0,168±0,03	0,145±0,03	0,125±0,04
	Q	0,090±0,02	0,080±0,02	0,040±0,02
	L	0,124±0,02	0,155±0,03	0,181±0,05
LEX3	O	0,188±0,03*	0,138±0,03	0,097±0,03
	M	0,149±0,03	0,112±0,03	0,111±0,04

Примечание: здесь и далее – разница значима при * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001.

Анализ данных табл. 1 показал, что в локусе АНТ5 у лошадей стрессочувствительной группы частота встречаемости аллеля J составила $0,278 \pm 0,05$, что достоверно выше ($p \geq 0,01$) по сравнению с группой стрессоустойчивых лошадей ($0,128 \pm 0,02$). Это подтверждается данными встречаемости генотипов с наличием указанного аллеля у лошадей обеих групп. Так, количество лошадей с генотипом АНТ5^{JJ} составило 13,89 % – в группе стрессочувствительных и 1,98 % – в группе стрессоустойчивых.

Частота встречаемости аллеля G в локусе ASB17 у лошадей стрессочувствительной группы составила $0,250 \pm 0,05$, что достоверно выше ($p \geq 0,05$) по сравнению с группой устойчивых к стрессу лошадей ($0,139 \pm 0,02$).

У лошадей стрессоустойчивой группы частота встречаемости аллеля ASB23^I в соответствующем локусе была достоверно выше ($0,109 \pm 0,02$ при $p \geq 0,05$) по сравнению с группой стрессочувствительных животных.

Установлено, что в группе стрессочувствительных лошадей частота встречаемости аллелей HMS6^O, HMS7^L и НТG4^M в соответствующих локусах микросателлитов была достоверно выше ($p \geq 0,05$) по сравнению с частотой их встречаемости в группе устойчивых к стрессам животных и составила $0,194 \pm 0,05$, $0,403 \pm 0,06$ и $0,597 \pm 0,06$ соответственно.

В локусе НТG6 с увеличением стрессочувствительности частота встречаемости аллеля G снижалась ($0,426 \pm 0,03$ - $0,422 \pm 0,05$ - $0,347 \pm 0,07$), а частота аллеля J наоборот увеличивалась ($0,277 \pm 0,03$ - $0,285 \pm 0,04$ - $0,347 \pm 0,06$).

В менее полиморфном локусе НТG7 частота встречаемости аллеля O была достоверно выше ($p \geq 0,01$) в группе стрессочувствительных лошадей и составила $0,639 \pm 0,06$, а частота аллеля N была достоверно ниже ($p \geq 0,001$, $0,083 \pm 0,03$) по сравнению его с частотой в группе стрессоустойчивых лошадей.

У лошадей, устойчивых к стрессу, частота встречаемости аллелей НТG10^R и LEX3^O в соответствующих локусах также была достоверно выше ($p \geq 0,05$) $0,114 \pm 0,02$ и $0,188 \pm 0,03$, соответственно, по сравнению с частотой встречаемости их в группе стрессочувствительных животных.

По микросателлитному локусу VHL20 достоверных различий по частотам встречаемости определенных аллелей не установлено, так как он является высокополиморфным, однако отмечено увеличение частот встречаемости аллелей N ($0,168 \pm 0,03$) и Q ($0,090 \pm 0,02$) у стрессоустойчивых лошадей и аллеля L ($0,181 \pm 0,05$) – у стрессочувствительных.

В табл. 2 отражены локусы, в которых наиболее дифференцированы различия по количеству лошадей в группах различной стрессочувствительности в зависимости от генотипических сочетаний по локусам микросателлитов ДНК.

Таблица 2. Генотипические различия по локусам микросателлитов ДНК у лошадей различной стрессочувствительности, %

Локус	Генотип	Тип поведения лошадей		
		стрессоустойчивые (n=101)	промежуточный тип поведенческих реакций (n=58)	стрессочувствительные (n=36)
1	2	3	4	5
АНТ4	ОО	11,88	17,24	19,44
	НО	14,85	13,79	5,56
АНТ5	JJ	1,98	3,5	13,89
	KK	8,91	8,62	2,78
ASB17	GN	7,92	8,62	13,89
ASB23	IK	8,91	8,62	5,56
HMS2	HK	5,94	5,17	2,78
HMS3	MN	3,96	6,90	16,67
HMS6	PP	18,81	18,97	22,22
	KP	17,82	13,79	11,11
HMS7	JO	13,86	3,45	-
	LM	9,90	5,17	2,78
HTG4	LM	4,95	1,72	-
HTG6	GJ	29,70	25,86	16,67
	GG	18,81	15,52	11,11
	JJ	6,93	8,62	16,67
HTG7	OO	13,86	25,86	36,11
HTG10	KR	9,90	3,45	2,78
VHL20	LM	9,90	6,90	2,78
LEX3	OP	6,93	5,17	2,78
	HP	5,94	6,90	8,33

Выявлено, что в микросателлитном локусе АНТ4 количество лошадей с генотипом ОО возрастало по мере увеличения их стрессочувствительности от 11,88 % в группе стрессоустойчивых и до 19,44 % в группе стрессочувствительных. Лошади, имеющие по данному локусу генотип НО, оказались более устойчивым к воздействию внешних раздражителей. Животные с указанным генотипом (14,85 %) чаще встречаются в группе стрессоустойчивых лошадей. В стрессочувствительной группе таких оказалось 2 головы, или 5,56 %.

В локусе АНТ5 наиболее желательными, с точки зрения стрессоустойчивости, были лошади с гомозиготным генотипом КК (8,91 %).

Животные с гомозиготным генотипом JJ отличались повышенной стрессочувствительностью.

По локусу ASB17 у лошадей верховых пород с генотипом GN также отмечена тенденция к увеличению стрессочувствительности – 13,89 %.

Установлено, что лошади верховых пород стрессоустойчивой группы по другим локусам микросателлитов имели следующие предпочтительные генотипические сочетания: ASB23^{IK} (8,91 %), HMS2^{HK} (5,94 %), HMS6^{KP} (17,82 %), HMS7^{JO} (13,86 %) и HMS7^{LM} (9,90 %), HTG4^{LM} (4,95), HTG10^{KR} (9,90 %), VHL20^{LM} (9,90 %), LEX3^{OP} (6,93 %).

Таким образом, можно сделать вывод, что с увеличением стрессочувствительности лошадей количество животных с указанными генотипами в группах снижалось либо отсутствовало (в локусах HMS7 – JO и HTG4 – LM).

Отдельно следует выделить микросателлитный локус HTG6. В группе стрессоустойчивых лошадей преобладали животные с генотипами GJ (29,70 %) и GG (18,81 %). В стрессочувствительной группе 16,67 % составляли лошади с гомозиготным генотипом JJ и по мере снижения чувствительности к стрессу количество животных с наличием данного генотипа снижалось до 6,93 %.

Нежелательными с точки зрения восприимчивости к стрессу являются лошади с генотипами по локусам микросателлитов HMS3^{MN} (16,67 %), HMS6^{PP} (22,22 %), HTG7^{OO} (36,11 %), LEX3^{KP} (8,33 %). По генотипу HTG7^{OO} в соответствующем локусе по количеству лошадей в стрессочувствительной и стрессоустойчивой группах наблюдается существенная разница в 22,25 п.п., то есть процент чувствительных больше процента устойчивых в 2,61 раза.

Заключение. Таким образом, выявлены наиболее предпочтительные аллели в локусах микросателлитов ДНК лошадей верховых пород, характеризующие их стрессоустойчивость. Так, достоверные различия по частотам встречаемости аллелей у лошадей различной стрессоустойчивости выявлены в 11 локусах из 17. Группа стрессоустойчивых лошадей характеризовались достоверно более высокой частотой встречаемости аллелей ASB23^I (0,109±0,02), HTG6^M (0,060±0,02), HTG7^N (0,238±0,03), HTG10^R (0,114±0,02), LEX3^O (0,188±0,03) по сравнению со стрессочувствительной.

Установлены также наиболее желательные генотипические сочетания. Лошади стрессоустойчивой группы имели генотипы АНТ4^{HO}, HMS7^{JO}, HTG4^{LM}, HTG6^{GJ}, HTG6^{GG} в соответствующих микросателлитных локусах.

Установлен ряд аллелей, снижающих стрессоустойчивость. К ним следует отнести аллели АНТ4^J, ASB17^G, ASB23^L, СА425^N, НТГ4^M, НТГ6^O, НТГ7^O, НТГ10^K, VHL20^L.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сельве, Г. Очерки об адаптационном синдроме / Г. Сельве. – М.: Медгиз, 1960. – 255 с.
2. Основы этологии животных : учеб. пособие / В. А. Дойлидов [и др.] ; под ред. А. Ф. Трофимова, Н. А. Садовой. – Минск : Экоперспектива, 2008. – 164 с.
3. Данилкина, О. П. Физиология стресса животных: метод. указания [Электронный ресурс] / О. П. Данилкина; Краснояр. гос. аграр. ун-т. – Красноярск, 2016. – 32 с.
4. Надоленко, С. В. Поведенческие реакции, обменные процессы, работоспособность и качество потомства рысистых лошадей в связи со стрессовой чувствительностью: автореф. дис.... канд. биол. наук : 03.00.13 / С. В. Надоленко; ФГОУ ВПО УГАВМ. – Троицк, 2007. – 24 с.
5. Технология генотипирования лошадей по микросателлитным локусам ДНК / РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству» ; разраб. И. П. Шейко [и др.]. – Жодино, 2016. – 18 с.
6. Горбуков, М. А. Особенности постнатального развития и гематологические показатели молодняка тракененской породы различной стрессчувствительности / М. А. Горбуков, Ю. И. Герман, А. Н. Рудак, В. И. Чавлытко, Э. А. Сумар // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства : сб. науч. тр. – Горки, 2015. – Вып. 18, ч. 1. – С. 27–33.