

Особенности полиморфизма генов *GH-HaeIII*, *CAST-MspI* у овец разных пород

Александр Иванович Суров, Закир Камилович Гаджиев, Евгения Семёновна Суржикова,
Светлана Николаевна Шумаенко, Дарья Дмитриевна Евлагина

ВНИИОК – филиал ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр», Ставропольский край, г. Михайловск, Россия

e-mail: immunogenetika@yandex.ru.

Аннотация. В статье приведены результаты ДНК-генотипирования овец разных пород. Впервые изучен и проанализирован полиморфизм генов *GH-HaeIII*, *CAST-MspI* ремонтного молодняка овец разных пород. По результатам тестирования установлена специфичность аллельного спектра изучаемых генов, ассоциирующихся с мясной продуктивностью, выразившейся в разной частоте встречаемости как генотипов, так и аллелей. В изучаемых локусах генов выявлены животные-носители с желательными аллелями для селекции. На основании генетико-статистического анализа установлено, что удельный вес в исследуемых популяциях овец разных пород особо ценных генотипов сравнительно низок. Регулярное проведение скрининговых работ в племенных стадах овец разных пород, разводимых в условиях Ставропольского края и Республики Дагестан, создает условия для накопления селекционно значимых генетических маркеров по выявлению желательных аллелей и генотипов, что в дальнейшем приводит к включению их в селекционный процесс.

Ключевые слова: овцы; ген; *GH-HaeIII*; *CAST-MspI*; полиморфизм; генотип; порода.

Для цитирования: Суров А. И., Гаджиев З. К., Суржикова Е. С., Шумаенко С. Н., Евлагина Д. Д. Особенности полиморфизма генов *GH-HaeIII*, *CAST-MspI* у овец разных пород // Аграрный научный журнал. 2022. № 7. С. 81–84. <http://dx.doi.org/10.28983/asj.y2022i7pp81-84>.

VETERINARY MEDICINE AND ZOOTECHNICS

Original article

Specific features of polymorphism of *GH-HaeIII* and *CAST-MspI* genes in sheep of different breeds

Aleksander I. Surov, Zakir K. Gadzhiev, Evgeniia S. Surzhikova, Svetlana N. Shumachenko, Daria D. Evlagina

Federal State Budgetary Scientific Institution North-Caucasian Federal Scientific Agrarian Center, Stavropol Territory, Mikhailovsk, Russia

e-mail: immunogenetika@yandex.ru.

Abstract. The article presents the results of DNA genotyping of sheep of different breeds. It is the first time polymorphism of genes *GH-HaeIII* and *CAST-MspI* of replacement sheep of different breeds has been studied and analyzed. The testing results identified specific features of the allele spectrum of the studied genes associated with meat production, expressed in different frequencies of occurrence of both genotypes and alleles. Carrier animals with desirable alleles for breeding were identified in the gene loci under study. Genetic and statistical analysis allows to conclude that the specific weight in the studied populations of sheep of different breeds of particularly valuable genotypes is relatively low. In order to accumulate selection-significant genetic markers in the breeding herds of sheep of different breeds, bred under conditions of the Stavropol Krai and the Republic of Dagestan, regular screening will create conditions for identifying desirable alleles and genotypes, as well as their wide inclusion in the breeding process.

Keywords: sheep; gene; *GH-HaeIII*, *CAST-MspI*; polymorphism; genotype; breed.

For citation: Surov A. I., Gadzhiev Z. K., Surzhikova E. S., Shumachenko S. N., Evlagina D. D. Specific features of polymorphism of *GH-HaeIII* and *CAST-MspI* genes in sheep of different breeds. Agrarnyy nauchnyy zhurnal = Agrarian Scientific Journal. 2022;(7): 81–84. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.28983/asj.y2022i7pp81-84>.

Введение. В овцеводстве одним из приоритетных направлений является внедрение современных методов молекулярно-генетических исследований для определения и выявления маркерных генов, ассоциирующихся с хозяйственно-полезными признаками. Повышение показателей мясной продуктивности овец является актуальной задачей. Классические приемы определения племенной ценности либо имеют значительный уровень погрешности, либо носят растянутый во времени характер, поэтому без применения методов MAS (маркер-ассоциированной селекции) в большинстве случаев данную задачу решить невозможно [7, 9, 12]. Внедрение в производство современных методов селекционно-племенной работы с применением надежных высокочувствительных методов, основанных на использовании генетических маркеров, будет способствовать наращиванию темпов роста поголовья, что, следовательно, приведет к конкурентоспособности и интенсификации отрасли [2]. Одно из главных достоинств маркерной селекции заключается в том, что она сокращает время, необходимое для создания новых генотипов, и повышает точность прогнозируемых показателей.

Молекулярно-генетические технологии (ДНК-маркеры) являются революционными методами, они позволяют в десятки раз уменьшить затраты и ускорить темпы селекции. Ген-маркер при этом должен обладать различными аллельными вариантами (полиморфизмом), которые связаны с вариативностью уровня продуктивности. Внедрение в селекционный процесс этих генов непременно должно сопровождаться изучением взаимосвязи генотипов с продуктивными качествами, так как их белковый продукт играет значительную роль в формировании или регуляции некоторых физиологических процессов [8, 12]. Оценка генотипов животного в популяциях, в свою очередь, способствует выявлению и накоплению только предпочтительных аллелей, а





уровень информативности маркерных генов и степень их влияния зависит от генотипической конструкции популяций животных [2, 5].

Большой интерес как для научных работников, так и для практиков представляет постоянный поиск мутаций, вызывающих изменение селекционно значимых показателей. Следовательно, перечень исследуемых маркерных генов, ассоциирующихся с мясными и откормочными качествами, постоянно расширяется и дополняется.

Селекция на основе генетических маркеров продуктивности направлена на совершенствование существующих и создание новых пород с высоким генетическим потенциалом. Так, в качестве перспективных генов, ассоциированных с мясной продуктивностью овец, используются такие, как ген гормона роста (*GH-HaeIII*), кальпастанин (*CAST-MspI*) [3, 4, 6]. Получены новые сведения о распределении аллельного профиля генов *GH-HaeIII*, *CAST-MspI* ремонтного молодняка овец разных пород (ставропольской, манычского мериноса, дагестанской горной) для выявления селекционно значимых генотипов как исходного селекционного материала и увеличения доли особо ценных животных в племенных стадах.

Цель исследований заключалась в определении полиморфизма генов *GH-HaeIII* и *CAST-MspI* и выявлении генотипов-носителей селекционно значимых маркерных аллелей в популяциях овец разных пород.

Методика исследований. Молекулярно-генетические исследования были проведены в лицензированной лаборатории иммуногенетики и ДНК-технологий отдела генетики и биотехнологии ВНИИОК – филиал ФГБНУ «Северо-Кавказский ФНАЦ» (свидетельство ПЖ-77 №008326 от 18.04.2018 г.) [10, 11]. Подопытные животные – ремонтный молодняк овец разных пород, разводимых в Ставропольском крае и Республике Дагестан. Биологическим материалом для исследований служила ДНК, выделенная с использованием набора реагентов *DIAtom™DNAPrep* (Изоген, Россия) из образцов цельной крови животных, выход которой составил 3–5 мкг/100 мкл с *OD* 260/280 от 1,6 до 2,0. Для постановки реакции ПЦР амплификации использовались *GenePakPCRCore* (Изоген, Россия). Генотипирование исследуемых популяций овец проводилось методом ПЦР-ПДРФ по генам *GH-HaeIII*, *CAST-MspI* на программируемом четырехканальном термоджеле «Терцик» фирмы «ДНК-технология» (Россия) в общем объеме реакционной смеси 20 мкл с использованием специфических нуклеотидных последовательностей (праймеров), синтезированных в научно-производственной лаборатории «Синтол» (Россия):

GH-HaeIII: F-5'GGAGGCAGGAAGGGATGAA3';

GH-HaeIII: R-5'CCAAGGGAGGGAGAGACAGA3';

CAST-MspI: F-5'TGGGGCCCAATGACGCCATCGATG3';

CAST-MspI: R-5'GGTGGAGCAGCACTTCTGATCACC3' [1].

В агарозном геле разной концентрации с присутствием 10,0%-го бромистого этидия (10,0 мкл) методом горизонтального гель-электрофореза при ультрафиолетовом свете определяли число и длину фрагментов рестрикции [1, 10].

Результаты исследований. Сравнительный анализ аллельного спектра генов гормона роста *GH-HaeIII*, кальпастанина *CAST-MspI* у овец разного направления продуктивности (пород манычского мериноса, ставропольской, дагестанской горной), зависящих не только от гена, но и от породы животных, представлен двумя вариантами аллелей *GH^A*, *GH^B*; *CAST^M*, *CAST^N* и тремя генотипами: *GH^{AA}*, *GH^{BB}*, *GH^{AB}*; *CAST^{MM}*, *CAST^{NN}*, *CAST^{MN}* с разной частотой встречаемости (табл. 1).

Таблица 1

Аллельный спектр генов *GH-HaeIII*, *CAST-MspI* в разных популяциях овец

Порода		Частота встречаемости аллеля			
		Ген-маркер			
		<i>GH-HaeIII</i>		<i>CAST-MspI</i>	
		<i>GH^A</i>	<i>GH^B</i>	<i>CAST^M</i>	<i>CAST^N</i>
Ставропольская	♂ (<i>n</i> = 45)	0,87	0,13	0,78	0,22
	♀ (<i>n</i> = 53)	0,97	0,06	0,92	0,08
Манычский меринос	♂ (<i>n</i> = 120)	0,95	0,05	0,87	0,13
	♀ (<i>n</i> = 91)	0,77	0,23	0,92	0,08
Дагестанская горная	♂ (<i>n</i> = 10)	0,95	0,05	0,80	0,20
	♀ (<i>n</i> = 26)	1,0	0,0	0,94	0,06

Таблица 2

Частота распределения генотипов генов *GH-HaeIII*, *CAST-MspI* в разных популяциях овец

Порода		Полиморфизм генов, %					
		<i>GH-HaeIII</i>			<i>CAST-MspI</i>		
		<i>GH^{AA}</i>	<i>GH^{BB}</i>	<i>GH^{AB}</i>	<i>CAST^{MM}</i>	<i>CAST^{NN}</i>	<i>CAST^{MN}</i>
Ставропольская	♂ (<i>n</i> = 45)	78,0	4,0	18,0	62,0	7,0	31,0
	♀ (<i>n</i> = 53)	92,0	4,0	4,0	83,0	0	17,0
Манычский меринос	♂ (<i>n</i> = 120)	90,8	0,8	8,4	75,0	2,5	22,5
	♀ (<i>n</i> = 91)	54,9	1,1	44,0	85,0	0	15,0
Дагестанская горная	♂ (<i>n</i> = 10)	90,0	0	10,0	70,0	10,0	20,0
	♀ (<i>n</i> = 26)	100,0	0	0	88,5	0	11,5



Так, частота встречаемости желательного для селекции аллеля GH^B гена гормона роста $GH-HaeIII$ в выборке ремонтного молодняка овец ставропольской породы и манычский меринос составила от 0,05 до 0,23, а в выборке дагестанской горной 0,0–0,05, вполне закономерным оказалось присутствие гомозиготного GH^{BB} и гетерозиготного GH^{AB} генотипов в выборке этих же пород, составившие 4,0 и 4,0; 0,8 и 1,1; 18,0 и 4,0; 8,4 и 44,0 % соответственно, но отсутствие желательного гомозиготного GH^{BB} генотипа – 0 и лишь 10,0 % гетерозиготного GH^{AB} у овец дагестанской горной породы (табл. 2).

Частота встречаемости селекционно значимого аллеля $CAST^N$, генотипов $CAST^{NN}$, $CAST^{MN}$ гена кальпастати-на – $CAST-MspI$ в выборке ремонтного молодняка ставропольской породы и манычского мериноса у ярок была практически одинаковой – 0,08 и 0,08, у баранчиков этих пород варьировала от 0,13 до 0,22. Это обусловило присутствие 2,5–7,0 % носителей желательного гомозиготного $CAST^{NN}$ генотипа у баранчиков, но отсутствие его у ярок; присутствие гетерозиготного $CAST^{MN}$ генотипа в изучаемых выборках составило 22,5–31,0 и 15,0 – 17,0 %. Вариабельность частоты встречаемости аллеля $CAST^N$ была неоднозначной: максимальная (0,20) – в выборке баранов дагестанской горной породы, минимальная (0,06) – у ярок этой же породы. Частота встречаемости желательного гомозиготного $CAST^{NN}$ генотипа варьировала от полного отсутствия 0 у ярок до 10,0 % среди баранов дагестанской горной породы.

Оценка генетической структуры изучаемых пород овец была дана по результатам генетико-статистического анализа, то есть путем определения цифровых значений степени гомозиготности (Ca), уровня полиморфности (Na), степени генетической изменчивости (V). Исследование генетической сбалансированности овец в популяциях разных пород позволило установить своеобразие их генетической структуры, зависящей не только от породной принадлежности животных, но и от изучаемых генов (табл. 3).

Вариабельность показателя Ca (степень гомозиготности) гена $GH-HaeIII$ среди ремонтного молодняка пород ставропольской, манычского мериноса, дагестанской горной составила от 65,4 до 89,3 %, что свидетельствует о степени консолидации этого гена у изучаемых овец. Уровень полиморфности (Na) гена гормона роста варьировал от минимальных (1,00–1,10) значений у дагестанской горной породы и баранчиков манычского мериноса до максимальных (1,55) у ярок манычского мериноса. В исследуемых популяциях овец разных пород тест гетерозиготности (TG) гена $GH-HaeIII$ оказался отрицательным с незначительной от –0,01 до –0,084 вариабельностью, что свидетельствует о недостатке гетерозигот в выборке ремонтного молодняка ставропольской породы и баранчиков манычского мериноса, но положительным (+0,233) оказался у ярок манычского мериноса. Степень гомозиготности локуса гена $CAST-MspI$ варьировала от минимальных (65,4 %) у баранчиков ставропольской породы до максимальных (89,1 %) значений у ярок дагестанской горной породы. Уровень полиморфности в локусе гена $CAST-MspI$ оказался сравнительно одинаковым (1,47 и 1,53) у баранчиков дагестанской горной и ставропольской пород, но меньшим (1,16) у ярок манычского мериноса.

Заключение. Полученные данные по изучению полиморфизма генов $GH-HaeIII$ и $CAST-MspI$ могут создать условия для накопления желательных аллелей генетических маркеров, используемых в селекции на племенных стадах овец разных пород, разводимых в условиях Ставропольского края и Республики Дагестан. Следовательно, широкое включение в селекционный процесс и проведение регулярных скрининговых работ по выявлению генов, влияющих на полезные хозяйственные признаки, имеют большое значение. Также результаты можно рассматривать в качестве генетической характеристики исследуемых популяций и делать предварительный вывод о их генетическом своеобразии.

Таблица 3

Результаты генетической структуры исследуемых популяций овец разных пород

Порода		Показатель					
		H_{obs}	H_{ex}	TG	$Ca, \%$	$V, \%$	Na
<i>GH-HaeIII</i>							
Ставропольская	♂($n = 45$)	0,216	0,300	–0,084	76,9	20,9	1,30
	♀($n = 53$)	0,039	0,119	–0,080	89,3	8,79	1,12
Манычский меринос	♂($n = 120$)	0,090	0,100	–0,010	90,5	8,67	1,10
	♀($n = 91$)	0,784	0,550	+0,233	64,5	34,4	1,55
Дагестанская горная	♂($n = 10$)	0,111	0,105	+0,006	90,5	–0,50	1,10
	♀($n = 26$)	0	0	0	100,0	–3,85	1,00
<i>CAST-MspI</i>							
Ставропольская	♂($n = 45$)	0,451	0,528	–0,077	65,4	32,3	1,53
	♀($n = 53$)	0,204	0,184	+ 0,020	84,5	13,7	1,18
Манычский меринос	♂($n = 120$)	0,290	0,269	+0,020	78,7	20,4	1,27
	♀($n = 91$)	0,182	0,165	+0,010	85,8	13,1	1,16
Дагестанская горная	♂($n = 10$)	0,250	0,470	–0,220	68,0	22,0	1,47
	♀($n = 26$)	0,130	0,122	+0,008	89,1	7,03	1,12

1. Анализ полиморфизма генов CAST, GH и GDF9 у овец дагестанской горной породы / А. М. Абдулмуслимов [и др.] // Зоотехния. 2020. № 11. С. 5–8.
2. Диагностика полиморфизма ДНК-маркеров селекционных признаков с.-х. животных методом ПЦР-ПДРФ / Л. В. Гетманцева [и др.]; Донской ГАУ. Пос. Персиановский, 2016. 30 с.
3. Effect of the GDF9 gene on the weight of lambs at birth / L. Getmantseva et al. // Bulgarian Journal of Agricultural Science. 2019. Vol. 25. № 1. P. 153–155.
4. CAST/MspI gene polymorphism and its impact on growth traits of Soviet Merino and Salsk sheep breeds in the South European part of Russia / I. F. Gorlov et al. // Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences. 2016. Т. 40. № 4. P. 399–405.
5. Перспективные гены-маркеры продуктивности сельскохозяйственных животных / М. А. Леонова [и др.] // Молодой ученый. 2013. № 12. С. 612–614.
6. Полиморфизм генов соматотропина (GH), кальпастатина (CAST), дифференциального фактора роста (GDF 9) у овец татарстанской породы / В. П. Лушников [и др.] // Овцы, козы, шерстяное дело. 2020. № 1. С. 2–3.
7. Морозов Н. М., Хусаинов И. И., Алексеев И. П. Развитие животноводства в России // Вестник университета. 2015. № 1(17). С. 102–106.
8. Методические рекомендации по проведению ДНК-тестирования племенных животных субъектов племенного животноводства по генам, определяющим продуктивные качества / сост. В. К. Пестис [и др.]. Гродно, 2016. 30 с.
9. Рукин И. В., Пантюх Е. С., Груздев Д. С. Геномная селекция – будущее в разведении животных // Зоотехния. 2013. № 7. С. 8–9.
10. Полиморфизм генов CAST, GH, GDF9 овец горно-алтайской породы / М. И. Селионова [и др.] // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2020. Т. 50. № 1. С. 92–100.
11. Полиморфизм генов GH, CAST у овец в связи с показателями резистентности / Л. Н. Чижова [и др.] // Аграрный научный журнал. 2020. № 12. С. 75–77.
12. Широкова Н. В. Хозяйственно-биологические особенности и рациональное использование овец разного генетического потенциала при производстве и переработке баранины в условиях юга России: дис. ... д-ра биол. наук. Волгоград, 2020. 294 с.

REFERENCE

1. Analysis of polymorphism of CAST, GH and GDF9 genes in sheep of Dagestan mountain breed / A. M. Abdulmuslimov et al. *Animal science*. 2020;(11):5–8. (In Russ.).
2. Diagnostics of polymorphism of DNA markers of breeding traits of agricultural animals by PCR-PDRF method / L. V. Getmantseva et al.; Donskoy GAU. Persianovsky; 2016. 30 p. (In Russ.).
3. Effect of the GDF9 gene on the weight of lambs at birth / L. Getmantseva et al. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 2019;25(1):153–155.
4. CAST/MspI gene polymorphism and its impact on growth traits of Soviet Merino and Salsk sheep breeds in the South European part of Russia / I. F. Gorlov et al. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 2016;40(4):399–405.
5. Promising genes-markers of productivity of farm animals / M. A. Leonova et al. *Young scientist*. 2013;(12):612–614. (In Russ.).
6. Polymorphism of somatotropin (GH), calpastatin (CAST), differential growth factor (GDF 9) genes in sheep of the Tatarstan breed / V. P. Lushnikov et al. *Sheep, goats, wool business*. 2020;(1):2–3. (In Russ.).
7. Morozov N. M., Khusainov I. I., Alekseev I. P. Development of animal husbandry in Russia. *Bulletin of the University*. 2015;1(17):102–106. (In Russ.).
8. Methodological recommendations for conducting DNA testing of breeding animals of livestock breeding subjects by genes that determine productive qualities / comp. V. K. Pestis et al. Grodno; 2016. 30 p. (In Russ.).
9. Rukin I. V., Pantyukh E. S., Gruzdev D. S. Genomic selection - the future in animal breeding. *Zootechnics*. 2013;(7):8–9. (In Russ.).
10. Polymorphism of CAST, GH, GDF9 genes of sheep of the Gorno-Altai breed / M. I. Selionova et al. *Siberian Bulletin of Agricultural Science*. 2020;50(1):92–100. (In Russ.).
11. Polymorphism of GH, CST genes in sheep in connection with resistance indicators / L. N. Chizhova et al. *Agrarian Scientific Journal*. 2020;(12):75–77. (In Russ.).
12. Shirokova N. V. Economic and biological features and rational use of sheep of different genetic potential in the production and processing of mutton in the conditions of the south of Russia. Dis. D.B.N. Volgograd; 2020. 294 p. (In Russ.).

Статья поступила в редакцию 06.04.2022; одобрена после рецензирования 14.04.2022; принята к публикации 21.04.2022.

The article was submitted 06.04.2022; approved after reviewing 14.04.2022; accepted for publication 21.04.2022.

