

РАЗВЕДЕНИЕ, СЕЛЕКЦИЯ, ГЕНЕТИКА

УДК 636.4.082.12

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ СОМАТОТРОПИНА (GH), КАЛЬПАСТАТИНА (CAST), ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА (GDF 9) У ОВЕЦ ТАТАРСТАНСКОЙ ПОРОДЫ

В.П. ЛУШНИКОВ¹, Т.О. ФЕТИСОВА¹, М.И. СЕЛИОНОВА², Л.Н. ЧИЖОВА², Е.С. СУРЖИКОВА²

¹ ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова», г. Саратов;

² Всероссийский научно-исследовательский институт овцеводства и козоводства - филиал ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр», г. Ставрополь

В статье приведены результаты генотипирования овец татарстанской мясо-шерстной породы. Впервые изучен и проанализирован полиморфизм генов GH, CAST, GDF9 баранов, маток, ремонтного молодняка этой породы. Установлена специфичность аллельного спектра генов, контролирующей мясную продуктивность, выразившейся в разной частоте встречаемости как аллелей, так и генотипов. Выявлены животные-носители селекционно-значимых аллелей в локусах изучаемых генов. На основании генетико-статистического анализа сделан вывод о том, что удельный вес особо ценных генотипов в исследуемой популяции овец татарстанской породы сравнительно низок. Регулярное проведение скрининговых работ по выявлению желательных генотипов и широкое включение их в селекционный процесс создаст условия для накопления селекционно-значимых генетических маркеров в племенных стадах овец татарстанской породы, разводимых в условиях Республики Татарстан.

Ключевые слова: татарстанская порода овец, ПЦР-ПДРФ анализ, полиморфизм, ген, CAST, GH, GDF 9, генотип, продуктивность.

В современных условиях экономического развития сельскохозяйственного производства уровень конкурентности овцеводства определяется, главным образом, производством баранины. Овцеводство до настоящего времени относится к важной, традиционной отрасли животноводства в Поволжье. С учетом того, что до настоящего времени в нашей стране существует проблема обеспеченности населения белком животного происхождения - мясом, то роль овцеводства в ее решении значительно возрастает. Решение данной проблемы сформировано в «Доктрине продовольственной безопасности РФ».

Увеличение производства и улучшение качества баранины во многом определяется внедрением новых направлений использования на основе сочетания классических методов селекции с молекулярно-генетическими, в частности ДНК-маркерами, с помощью которых были достигнуты значительные результаты в мясном овцеводстве [1]. К сожалению, в настоящее время, проблема установления достоверной связи между генетическими маркерами и фенотипическими признаками мясной продуктивности всё ещё остается до конца нерешенной, потому как полноценное проявление генетического потенциала животного организма

зависит от целого ряда факторов, как физиологических, так и паратипических.

В качестве ДНК-маркеров рассматривают перспективные гены, аллельные варианты которых связаны с фенотипическим проявлением экономически важных признаков животных, а именно ген кальпастатина (CAST), отвечающий за мясную продуктивность и нежность мяса овец [2], ген гормона роста (GH) [3], а также дифференциального фактора роста (GDF9), регулирующие рост и развитие, воспроизводительные качества овец, инициируют и поддерживают мясную продуктивность, качество мяса [4].

Практическая значимость таких исследований заключается в решении целого ряда прикладных задач селекции, одной из которых является выявление генетических маркеров, оказывающих влияние на мясную продуктивность овец. В перспективе данные исследования позволят выявлять оценочные критерии для прогноза генетического потенциала племенных животных [5, 6].

Цель исследований. Изучить полиморфизм генов CAST, GH, GDF9, выявить генотипы-носители селекционно-значимых маркерных аллелей в популяции овец татарстанской породы.

Материал и методы исследования. Исследования проведены на разных половозрастных группах овец (бараны (n = 60), матки (n = 7), ярки (n = 33) татарстанской породы, разводимых в ООО «Агрофирма «Кармалы» Нижнекамского района Республики Татарстан.

Исследования проводились в лицензируемой лаборатории иммуногенетики и ДНК-технологий ВНИИОК - филиал ФГБНУ «Северо-Кавказский ФНАЦ» (№ аккредитации РОСС RL /001/21ПД29). Биологическим материалом для исследований служила ДНК, выделенная из образцов крови овец татарстанской породы с использованием набора реагентов «DIAtomt-mDNAprep» (IsoGeneLab, Москва). Для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) применялись наборы «GenePakPCRCore», (IsoGeneLab, Москва). Методом ПЦР-ПДРФ (полиморфизм длин рестриционных фрагментов) осуществлялось генотипирование овец по генам CAST, GH, GDF9. На программируемом четырехканальном термоциклере «Терцик» фирмы «ДНК-технология» (Россия) проводилась амплификация в объеме 20-25 мкл с использованием

праймеров: CAST - (F:5'-tgg-ggc-cca-atg-acg-cca-tcg-atg-3' и R: 5'-ggt-gga-gca-ctt-ctg-atc-acc-3'); GH - (F:5'-gga-ggc-agg-aag-gga-tga-a-3' и R: 5'-cca-agg-gag-gga-gag-aca-ga-3'); GDF9 (F:5'-gaa-gac-tgg-tat-ggg-gaa-atg-3' и R: 5'-cca-atc-tgc-tcc-tac-aca-cct-3'). Электрофоретическим методом в 1,8-4,0% агарозном геле при УФ-свете после окрашивания бромистым этидием, определяли число и длина фрагментов рестрикции. В качестве маркера молекулярных масс использовали стандартный набор M 50 «GenePakDNAMarkers» (IsoGeneLab). По закону Харди-Вайнберга рассчитывались ожидаемые частоты генотипов. Статистическая обработка полученных результатов исследований осуществлялась с помощью комплекса «Microsoft Office» с применением программы «Microsoft Excel», с обработкой данных в «Statistica 6.0» («Stat Soft Inc.», США).

Результаты исследований и их обсуждение. Сравнительный анализ результатов ДНК-диагностики свидетельствует о значительной вариабельности частоты встречаемости как аллелей изучаемых генов CAST, GH и GDF9, так и генотипов, составившая: аллеля CAST^M - 0,94 и генотипа CAST^{MM} - 89,0%; аллеля GH^A - 0,94 и генотипа GH^{AA} - 89,0%; аллеля GDF9^G - 0,84 и генотипа GDF9^{GG} - 79,0% (табл. 1).

Таблица 1

Частота встречаемости аллелей, генотипов генов CAST, GH и GDF9 овец татарстанской породы

Ген	№	Генотип	n	%	Ген	№	Генотип	n	%
CAST	1	MM	89	89	CAST / GH / GDF9	1	MM/AA/GG	60	60
	2	MN	9	9		2	MM/AB/GG	11	11
	3	NN	2	2			3	MM/AA/AG	9
	Аллель	M	0,94	4		MM/AA/AA		9	9
N		0,06	5			MN/AA/GG	6	6	
GH	1	AA		89		89	6	NN/AA/GG	2
	2	AB	11	11		7		MN/AA/AG	2
	3	BB	0	0			8	MN/AA/AA	1
	Аллель	A	0,94	3	AA	10		10	
B		0,06	4		AG	11	11		
GDF9	1	AA		10	10	3	GG	79	79
	2	AG	11	11	Аллель		A	0,16	
	3	GG	79	79		Г	G	0,84	
	Аллель	A	0,16						
	G	0,84							

Характерной особенностью исследуемой популяции овец стало то, что частота встречаемости селекционно-значимых аллелей и генотипов была сравнительно редкой: аллеля CAST^N - 0,06, генотипов CAST^{NN} - 2,0 и CAST^{MN} - 9,0%; аллеля GH^B - 0,06, генотипа GH^{AB} - 11,0%; аллеля GDF9^A - 0,16, генотипов GDF9^{AA} - 10,0 и GDF9^{AG} - 11,0%.

Методами генетико-статистического анализа в исследуемой популяции овец выявлено 8 комплексных генотипов CAST/GH/GDF9. При этом наиболее часто (60,0%) встречался гомозиготный генотип CAST^{MM}/GH^{AA}/

GDF9^{GG}, реже гетерозиготный генотип включающий одну гетерозиготу CAST^{MM}/GH^{AB}/GDF9^{GG} - 11,0%, CAST^{MM}/GH^{AA}/GDF9^{AG} - 9,0%, CAST^{MN}/GH^{AA}/GDF9^{GG} - 6,0%, либо CAST^{MM}/GH^{AA}/GDF9^{AA} - 9,0%, CAST^{NN}/GH^{AA}/GDF9^{GG} - 2,0%, либо CAST^{MN}/GH^{AA}/GDF9^{AG} - 2,0% включающий две гетерозиготы и очень редко (1,0%) - генотип CAST^{MN}/GH^{AA}/GDF9^{AA}.

Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что полиморфизм генов, контролирующих мясную продуктивность представлен, как правило двумя аллелями и тремя генотипами с разной частотой встречаемости. Как правило, частота встречаемости селекционно-значимых аллелей была значительно ниже, что нашло отражение на сравнительно малом количестве желательных генотипов в исследуемой популяции овец татарстанской породы овец.

Выводы. Полученные данные, в какой-то мере, можно рассматривать в качестве генетической характеристики исследуемой популяции и на их основе делать предварительный вывод о генетическом своеобразии овец татарстанской породы. Регулярное проведение скрининговых работ по выявлению желательных генотипов и широкое включение их в селекционный процесс создаст условия для накопления селекционно-значимых генетических маркеров в племенных стадах овец татарстанской породы, разводимых в условиях Республики Татарстан.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дейкин А.В. Генетические маркеры в мясном овцеводстве / А.В. Дейкин, М.И. Селионова, А.Ю. Криворучко, Д.В. Коваленко, В.И. Трухачев // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016; 20 (5): 576-583. DOI 10.18699/VJ16/139.
2. Sorimachi H. Molecular cloning of a novel mammalian calcium - dependent protease distinct from both m- and mu-types. Specific expression of the mRNA in skeletal muscle / H. Sorimachi, S. Imajoh-Ohmi, Y. Emori, H. Kawasaki, S. Ohno, Y. Minami, K. Suzuki // J. Biol. Chem. 1989;264(33):20106-20111.
3. Valinsky A. Restriction fragment length polymorphism in sheep at the growth hormone locus is the result of variation in gene number / A. Valinsky, M. Shani, E. Gootwine // Anim. Biotechnol. 1990;1(2):135-144.
4. Колосов Ю.А. Влияние полиморфизма гена гормона роста (GH) на селекционно-значимые показатели овец / Ю.А. Колосов, Н.Ф. Бакоев, Т.С. Романец, Н.В. Широкова // Материалы XXVI международной молодежной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов». - 10-14 апреля 2017 г., Москва.
5. Сердюк Г.Н. ДНК-маркеры в селекции овец / Г.Н. Сердюк, А.О. Притужалова // Овцы, козы, шерстяное дело. - 2019. - № 2. - С. 10-12.
6. Широкова Н.В. Генетическое детерминирование плодовитости овец. Молодой ученый. - 2013. - № 6. - С. 785-787.

The article presents the results of genotyping of sheep of the Tatarstan meat-wool breed. For the first time, the polymorphism of the GH, CAST, GDF9 genes of sheep, queens,

and repair young animals of this breed was studied and analyzed. The specificity of the allelic spectrum of genes that control meat productivity, expressed in different frequencies of occurrence of both alleles and genotypes, is established. Animal carriers of selection-significant alleles were identified at the loci of the studied genes. Based on the genetic and statistical analysis, it was concluded that the proportion of especially valuable genotypes in the studied population of sheep of the Tatarstan breed is relatively low. Regular screening to identify the desired genotypes and their widespread inclusion in the breeding process will create conditions for the accumulation of selection-significant genetic markers in the breeding herds of sheep of the Tatarstan breed bred in the Republic of Tatarstan.

Key words: Tatarstan sheep breed, PCR-RFLP analysis, polymorphism, gene, CAST, GH, GDF 9, genotype, productivity.

Фетисова Татьяна Олеговна, аспирантка кафедры «Технология производства и переработки продукции животноводства» ФГБОУ ВО «Саратовского ГАУ

им. Н.И. Вавилова», г. Саратов, тел.: +7 (987) 352-42-11, e-mail: tat0775@yandex.ru;

Лушников Владимир Петрович, доктор с.-х. наук, профессор, ФГБОУ ВО «Саратовского ГАУ им. Н.И. Вавилова», г. Саратов, тел.: +7(929) 771-84-48, e-mail: lushnikovwp@mail.ru;

Селионова Марина Ивановна, профессор РАН, доктор биологических наук, директор ВНИИОК - филиал ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр», г. Ставрополь, тел.: +7(8652)37-10-39, e-mail: m_selin@mail.ru;

Чиждова Людмила Николаевна, доктор с.-х. наук, профессор, гл. науч. сотрудник лаборатории иммуногенетики и ДНК-технологий ВНИИОК - филиал ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр», г. Ставрополь, тел.: + 7(8652) 71-72-18, e-mail: immunogenetika@yandex.ru;

Суржикова Евгения Семеновна, канд. с.-х. наук, ст. науч. сотрудник лаборатории иммуногенетики и ДНК-технологий, ВНИИОК - филиал ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр», г. Ставрополь, тел.: +7(8652) 71-72-18, e-mail: immunogenetika@yandex.ru.