

Аллельный спектр генов *GDF9/BSTHH1*, *CAST/MSPI*, *GH/HAЕIII*

у овец калмыцкой курдючной породы и помесей с кровностью $\frac{1}{2}$ дорпер + $\frac{1}{2}$ калмыцкая курдючная

Владимир Аникеевич Погодаев¹, Евгения Семёновна Суржикова¹, Дарья Дмитриевна Евлагина¹, Анатолий Нимеевич Арилов²

¹ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр», Ставропольский край, г. Михайловск, Россия

²Калмыцкий НИИСХ – филиал ФГБНУ «ПАФНЦ РАН», Астраханская область, с. Соленое Займище, Россия
e-mail: immunogenetika@yandex.ru

Аннотация. Для увеличения производства мясной продуктивности необходимо улучшение генетических ресурсов овец. Цель настоящей работы – установление аллельного спектра генов мясной продуктивности у овцематок породы калмыцкая курдючная и помесей с кровностью $\frac{1}{2}$ дорпер + $\frac{1}{2}$ калмыцкая курдючная. Объектом исследования являлись овцематки, выращенные КФХ «Арл» Яшкульского района Республики Калмыкии. Образцы крови (по 5 мл) отбирали у случайных овец калмыцкой курдючной породы ($n = 14$) и помесей с кровностью $\frac{1}{2}$ дорпер + $\frac{1}{2}$ калмыцкая курдючная порода ($n = 12$) из яремной вены в пробирку с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА). Методом ПЦР-ПДРФ определен аллельный спектр генов: дифференциального фактора роста (*GDF9*), кальпастина (*CAST*), соматотропина (гормона роста (*GH*)) у овцематок калмыцкой курдючной породы и помесей с кровностью $\frac{1}{2}$ дорпер + $\frac{1}{2}$ калмыцкая курдючная. Методами генетико-статистического анализа в исследуемых выборках овец выявлены комплексные генотипы по изучаемым генам-маркерам. Генетико-статистическими методами анализа установлено, что доля животных, имевших желательный комплексный генотип по изучаемым генам у овцематок калмыцкой курдючной породы, включающих 1 маркерный аллель в трех генах (*GDF9^{AG}/CAST^{MM}/GH^{AA}* и *GDF9^{GG}/CAST^{MN}/GH^{AA}*), составила 28,6 %; у помесей с кровностью $\frac{1}{2}$ дорпер + $\frac{1}{2}$ калмыцкая курдючная появилась комбинация из 2-маркерных аллелей трех генов (*GDF9^{AG}/CAST^{MN}/GH^{AA}*) – 33,3 %, комбинация из 1-маркерного аллеля в трех генах – 50,0 %. Скрещивание овцематок калмыцкой курдючной породы с баранами-производителями породы дорпер, несущим в своем геноме желательные для селекции аллели, может оказать положительное влияние на повышение продуктивности помесного поголовья.

Ключевые слова: овцы; полиморфизм; гены; калмыцкая курдючная порода; помеси.

Для цитирования: Погодаев В. А., Суржикова Е. С., Евлагина Д. Д., Арилов А. Н. Аллельный спектр генов *GDF9/BSTHH1*, *CAST/MSPI*, *GH/HAЕIII* у овец калмыцкой курдючной породы и помесей с кровностью $\frac{1}{2}$ дорпер + $\frac{1}{2}$ калмыцкая курдючная // Аграрный научный журнал. 2023. № 7. С. 81–85.
http: 10.28983/asj.y2023i7pp81-85.

VETERINARY MEDICINE AND ZOOTECHNICS

Original article

**The allelic spectrum of the *GDF9/BSTHH1*, *CAST/MSPI*, *GH/HAЕIII* genes
in Kalmyk short-tailed sheep and crossbreeds with a blood type of $\frac{1}{2}$ dorper + $\frac{1}{2}$ Kalmyk short-tailed breed**

Vladimir A. Pogodaev¹, Evgenia S. Surzhikova¹, Daria D. Evlagina¹, Anatoly N. Arilov²

¹The All-Russian Research Institute of Sheep and Goat Breeding is a branch of the North Caucasus Federal Scientific Agrarian Center, Stavropol Territory, Mikhailovsk, Russia

²Kalmyk Research Institute – branch of the FSBI "PAFSC RAS", Astrakhan region, with. Salty Zaimishche, Russia
e-mail: immunogenetika@yandex.ru

Abstract. To increase the production of meat productivity, it is necessary to improve the genetic resources of sheep. The purpose of this work was to establish the allelic spectrum of meat productivity genes in sheep of the Kalmyk Kalmyk short-tailed breed and crossbreeds with a blood type of $\frac{1}{2}$ dorper + $\frac{1}{2}$ Kalmyk short-tailed breed. The object of the study was sheep raised by the farm "Arl" of the Yashkul district of the Republic of Kalmykia. Blood samples (5 ml each) were taken from random sheep of the Kalmyk short-tailed breed ($n = 14$) and crossbreeds with a blood density of $\frac{1}{2}$ dorper + $\frac{1}{2}$ Kalmyk short-tailed breed ($n = 12$) from the jugular vein





into a test tube with ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA). The PCR-PDRF method determined the allelic spectrum of genes: differential growth factor (*GDF9*), calpastatin (*CAST*), somatotropin (growth hormone (*GH*)), in Kalmyk sheepdogs and crossbreeds with a blood type of $\frac{1}{2}$ dorper + Kalmyk short-tailed breed. The methods of genetic and statistical analysis in the studied samples of sheep revealed complex genotypes for the studied marker genes. By genetic and statistical methods of analysis, it was found that the proportion of animals that had the desired complex genotype according to the studied genes in sheep of the Kalmyk chicken breed, including – 1 marker allele in three genes (*GDF9AG/CTMM/GHAA* and *GDF9GG/CASTMN/GHAA*), was 28.6 %, in turn, in crossbreeds with a blood type of $\frac{1}{2}$ dorper + A combination of 2 marker alleles of three genes (*GDF9AG/CASTMN/GHAA*) appeared in the Kalmyk short-tailed breed – 33.3 %, a combination of the 1st marker allele in three genes - 50.0 %. It is concluded that the crossing of Kalmyk sheep of the Kurdyuk breed with sheep-producers of the Dorper breed, carrying alleles desirable for breeding in their genome, can have a positive effect on increasing the productivity of crossbreed livestock.

Keywords: sheep; polymorphism; genes; Kalmyk short-tailed breed; crossbreeds.

For citation: Pogodaev V. A., Surzhikova E. S., Evlagina D. D., Arilov A. N. The allelic spectrum of the *GDF9/BSTH1*, *CAST/MSPI*, *GH/HAELI* genes in Kalmyk short-tailed sheep and crossbreeds with a blood type of $\frac{1}{2}$ dorper + $\frac{1}{2}$ Kalmyk short-tailed breed. *Agrarnyy nauchnyy zhurnal* = The Agrarian Scientific Journal. 2023;(7):81–85. (In Russ.). <http://10.28983/asj.y2023i7pp81-85>.

Введение. В современных условиях развития овцеводческой отрасли потребительский спрос на баранину ориентирован не только на количественные, но и на качественные характеристики мяса. Производство баранины требует наличия пород, характеризующихся высокой мясной продуктивностью и скороспелостью [1, 2]. Для увеличения производства мясной продуктивности необходимо улучшение генетических ресурсов овец. В основу системы генетического совершенствования пород сельскохозяйственных животных, наряду с селекцией по фенотипу, должны быть положены углубленная оценка генотипа, целенаправленный поиск удачных сочетаний пар и пород при спаривании [3–5].

Овцеводы стараются ускорить темпы генетического улучшения достигнутого в составе туши и качественных характеристиках мяса путем применения генной селекции (MAS), которая основана на включении благоприятных генов-кандидатов в традиционные программы разведения [6]. Аллельная изменчивость в генах-маркерах между породами необходима для их дифференциации на генетической основе. Результат этой изменчивости может помочь в выборе наилучшей стратегии улучшения генетических ресурсов. Особый интерес вызвала группа генов, кодирующих факторы роста, их рецепторы, транспортные и регуляторные белки, то есть те, которые оказывают значительное воздействие на улучшение морфологического состава туши, качество мяса и увеличение производства баранины [7]. Существует множество статей о различных генах, связанных с мясными признаками у различных пород овец, среди которых особый интерес представляют соматотропин (гормон роста (*GH*)), кальпастанин (*CAST*), а также ген, контролирующий воспроизводительные качества (*GDF9*) дифференциального фактора роста [8–11].

Цель настоящей работы – установить аллельный спектр генов мясной продуктивности у овцематок породы калмыцкая курдючная и помесей с кровностью $\frac{1}{2}$ дорпер + $\frac{1}{2}$ калмыцкая курдючная.

Методика исследований. Объектом исследования являлись овцематки, выращенные в КФХ «Арл» Яшкульского района Республики Калмыкии. Образцы крови (по 5 мл) отбирали у случайных овец калмыцкой курдючной породы ($n = 14$) и помесей с кровностью $\frac{1}{2}$ дорпер + $\frac{1}{2}$ калмыцкая курдючная порода ($n = 12$) из яремной вены в пробирку с этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА).

Лабораторные исследования проводили в лицензированных лабораториях ВНИИОК-филиала ФГБНУ «Северо-Кавказский ФНАЦ». Геномную ДНК выделяли из цельной крови. Методом исследования полиморфизма генов путем разрезания ДНК с помощью эндонуклеазы рестрикции и дальнейшего анализа размеров образующихся фрагментов (ПЦР-ПДРФ-анализ) проводили генотипирование исследуемого поголовья овец по генам кальпастанина (*CAST*), гормона роста (*GH*), дифференциального фактора роста (*GDF9*) на программируемом четырехканальном термоциклере «Терцик». Объем реакционной смеси (20 мкл) включал в себя все необходимые для проведения реакции компоненты ПЦР. Для постановки амплификации были использованы специфические синтезированные праймеры [7].



Полученные в ходе ПЦР фрагменты подвергали разделению в агарозном геле разной концентрации (1,5–4,0 %), при проведении электрофоретического анализа, в дальнейшем под ультрафиолетовым светом после добавления красителя и маркера молекулярных масс (M50 Gene Pak DNA Markers) анализировались полученные данные.

Результаты исследований. Анализ результатов ДНК-генотипирования изучаемого поголовья показал, что полиморфизм гена дифференциального фактора роста представлен двумя аллелями *GDF9^G* и *GDF9^A*. У овцематок породы калмыцкая курдючная установлено значительное превосходство (в 8 раз) аллеля *GDF9^G* (0,89) над частотой встречаемости селекционно-значимого аллеля *GDF9^A* (0,11). В то же время отмечено, что у помесных животных частота встречаемости аллеля *GDF9^G* составила 0,62, всего лишь в 1,6 раза выше в сравнении с аллелем *GDF9^A* – 0,38 (табл. 1).

Таблица 1

Аллельный спектр генов *GDF9/BstHII*, *CAST/MspI*, *GH/HaeIII* в выборках овец разных пород

Ген-маркер					
<i>GDF9/BstHII</i>		<i>CAST/MspI</i>		<i>GH/HaeIII</i>	
Частота встречаемости аллеля					
<i>GDF9^A</i>	<i>GDF9^G</i>	<i>CAST^M</i>	<i>CAST^N</i>	<i>GH^A</i>	<i>GH^B</i>
Калмыцкая курдючная (<i>n</i> = 14)					
0,11	0,89	0,96	0,04	1,0	0
Помеси с кровностью ½ дорпер + ½ калмыцкая курдючная (<i>n</i> = 12)					
0,38	0,62	0,75	0,25	1,0	0

Молекулярно-генетический анализ методом ПЦР-ПДРФ показал, что полиморфизм гена кальпастина в исследуемых выборках овец также представлен двумя аллелями *CAST^M* и *CAST^N*. У чистопородных овец отмечена очень низкая (0,04) частота встречаемости селекционно-значимого аллеля *CAST^N*, но высокая (0,96) аллеля *CAST^M*. В выборке помесных животных наблюдается аналогичная ситуация, однако частота встречаемости аллеля *CAST^M* всего лишь в 3 раза выше (0,75) по сравнению с аллелем *CAST^N* – 0,25.

Своеобразие полиморфизма соматотропина (гормона роста) у исследованного поголовья овцематок выразилось в его отсутствии, что обусловило 100,0 % присутствие гомозиготного генотипа *GH^{AA}* в обеих выборках животных (табл. 2). Следовательно, установлен мономорфизм гена *GH*, обусловленный присутствием одного аллеля *GH^A*. Можно предположить, что элиминация аллеля *GH^B* создала неблагоприятную ситуацию, выразившуюся в отсутствии эффективно действующих аллелей, низкой, до полного отсутствия уровня генетической изменчивости и очень высокой (100,0 %) степени гомозиготности, что, в свою очередь, привело к нарушению генетического равновесия этого гена в исследуемых выборках овец.

Таблица 2

Частота распределения генотипов в выборках овец разных пород по генам *GDF9/BstHII*, *CAST/MspI*, *GH/HaeIII*

Полиморфизм генов, %								
<i>GDF9/BstHII</i>			<i>CAST/MspI</i>			<i>GH/HaeIII</i>		
<i>GDF9^{AA}</i>	<i>GDF9^{AG}</i>	<i>GDF9^{GG}</i>	<i>CAST^{MM}</i>	<i>CAST^{MN}</i>	<i>CAST^{NN}</i>	<i>GH^{AA}</i>	<i>GH^{AB}</i>	<i>GH^{BB}</i>
Калмыцкая курдючная (<i>n</i> = 14)								
0	21,4	78,6	92,9	7,1	0	100,0	0	0
Помеси с кровностью ½ дорпер + ½ калмыцкая курдючная (<i>n</i> = 12)								
0	75,0	25,0	50,0	50,0	0	100,0	0	0

Анализируя данные по распределению частоты встречаемости генотипов в выборках овец разных пород, было отмечено отсутствие животных-носителей с желательным гомозиготным генотипом *GDF9^{AA}* по гену дифференциальный фактор роста. У овцематок калмыцкой курдючной породы преобладал гомозиготный генотип *GDF9^{GG}* (78,6), тогда как частота встречаемости животных-носителей селекционно-значимого аллеля *GDF9^A*, имеющих гетерозиготный генотип *GDF9^{AG}*, составила 21,4 %.



Обратная ситуация сложилась в выборке помесей с кровностью $\frac{1}{2}$ дорпер + $\frac{1}{2}$ калмыцкая курдючная, большая часть их была носителями гетерозиготного генотипа $GDF9^{AG}$ (75,0 %).

В гене кальпастанин у овцематок калмыцкой курдючной породы преобладал гомозиготный генотип $CAST^{MM}$ (92,9 %), тогда так частота встречаемости животных-носителей с одной желательной аллелью, имеющих гетерозиготный генотип $CAST^{MN}$ по данному гену, составила всего лишь 7,1 %. В выборке животных-помесей с кровностью $\frac{1}{2}$ дорпер + $\frac{1}{2}$ калмыцкая курдючная, как и у чистопородных животных, наблюдалось отсутствие желательного гомозиготного генотипа $CAST^{MN}$. Однако распределение частоты встречаемости между гомозиготным генотипом $CAST^{MM}$ и гетерозиготным генотипом $CAST^{MN}$ составила по 50,0 %.

Методами генетико-статистического анализа в исследуемых выборках овец выявлены комплексные генотипы по изучаемым генам (рис. 1, 2).

Генетико-статистическими методами анализа установлено, что доля животных, имевших желательный комплексный генотип по изучаемым генам у овцематок калмыцкой курдючной породы, включающих 1 маркерный аллель в трех генах ($GDF9^{AG}/CAST^{MM}/GH^{AA}$ и $GDF9^{GG}/CAST^{MN}/GH^{AA}$), составила 28,6 %. В свою очередь у помесей с кровностью $\frac{1}{2}$ дорпер + $\frac{1}{2}$ калмыцкая курдючная появилась комбинация из 2-маркерных аллелей трех генов ($GDF9^{AG}/CAST^{MN}/GH^{AA}$) – 33,3 %, комбинация из 1-маркерного аллеля в трех генах – 50,0 %.

Заключение. Метод ДНК-генотипирования позволяет изучить наследственность на уровне ДНК, что важно в условиях крупномасштабной селекции, когда от одного производителя получают многочисленное потомство. По результатам проведенных исследований был установлен аллельный спектр генов $GDF9$, $CAST$, GH у овцематок калмыцкой курдючной породы и помесей с кровностью $\frac{1}{2}$ дорпер + $\frac{1}{2}$ калмыцкая курдючная.

Скращивание овцематок калмыцкой курдючной породы с баранами-производителями породы дорпер, несущими в своем геноме желательные для селекции аллели, может оказывать положительное влияние на повышение продуктивности потомства. Таким образом, при подборе родительских пар следует исключать особей из селекционного процесса, у которых отсутствуют желательные аллели и генотипы.

Для повышения рентабельности овцеводства предлагаем хозяйствам отдавать предпочтение овцам-носителям желательных генотипов в зависимости от поставленных задач в селекционно-племенной работе. Необходимо проведение дальнейших исследований по ДНК-генотипированию на большей выборке животных с целью выявления желательных аллелей и генотипов изучаемых генов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Хлесткина Е. К. Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и в селекции // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013. Т. 17. № 4/2. С. 1044–1054.
2. Племенному животноводству – инновационные, молекулярно-генетические, биотехнические технологии и современные кадры / И. Д. Арнаутский [и др.] // Дальневосточный аграрный вестник: научно-практический журнал. 2017. № 3(43). С. 84–91.

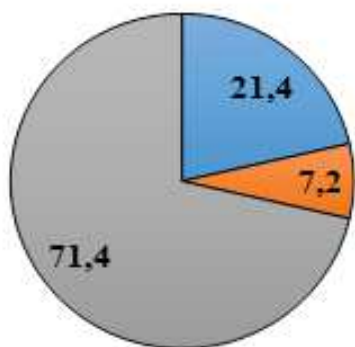


Рис. 1. Частота встречаемости комплексных генотипов $GDF9/CAST/GH$ в выборке овцематок калмыцкой курдючной породы, %

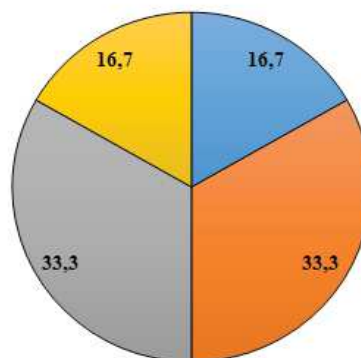


Рис. 2. Частота встречаемости комплексных генотипов $GDF9/CAST/GH$ в выборке помесных овцематок с кровностью $\frac{1}{2}$ дорпер + $\frac{1}{2}$ калмыцкая курдючная, %



3. ДНК-маркеры в селекции овец / И. Ф. Горлов [и др.] // Инновации в производстве продуктов питания: от селекции животных до технологии пищевых производств: материалы Междунар. науч.-практ. конф. Пос. Персиановский, 2019. С. 164–167.
4. Погодаев В. А., Сергеева Н. В. Использование породы дорпер для повышения мясной продуктивности овец. Ставрополь: Ставрополь-сервис-школа, 2022. 193 с. ISBN 978-5-6047922-1-6.
5. Погодаев В. А., Сергеева Н. В. Результативность скрещивания овцематок ставропольской породы с помесными баранами (½ калмыцкая курдючная + ½ дорпер) // Овцы, козы, шерстяное дело. 2022. № 2. С. 28–32. DOI: 10.26897/2074-0840-2022-2-28-32.
6. Система комплексной оценки селекционной перспективности племенных стад и их генетического благополучия на основе ДНК-диагностики: методические рекомендации / Л. Н. Чижова [и др.]. Ставрополь: Ставрополь-сервис-школа, 2020. 97 с.
7. Изучение и проведение ДНК-тестирования сельскохозяйственных животных по генам, определяющим продуктивные качества: методические рекомендации / З. К. Гаджиев [и др.]. Ставрополь: Ставрополь-сервис-школа, 2022. 78 с. ISBN 978-5-6048650-3-3.
8. Полиморфизм генов CAST, GH, GDF9 овец дагестанской горной породы / А. А. Оздемиров [и др.] // Юг России: экология, развитие. 2021. Т.16. № 2/59. С. 39–44. DOI: 10.18470/1992-1098-2021-2-39-44.
9. Особенности полиморфизма генов GH-HaeIII, CAST-MspI у овец разных пород / А. И. Суров [и др.] // Аграрный научный журнал. 2022. № 7. С. 81–84. DOI: 10.28983/asj.y2022i7pp81-84.
10. 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.
11. Погодаев В. А., Кононова Л. В., Адучиев Б. К. Полиморфизм генов кальпастатина и соматотропина у овец калмыцкой курдючной породы и помесей (1/2 калмыцкая курдючная + 1/2 дорпер) // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2019. № 3/47. С. 141–145. DOI: 10.18286/1816-4501-2019-3-141-145.

REFERENCE

1. Khlestkina E. K. Molecular markers in genetic research and in breeding. *Vavilovsky Journal of Genetics and Breeding*. 2013;17(4/2):1044–1054. (In Russ.).
2. Livestock breeding – innovative, molecular genetic, biotechnical technologies and modern personnel / I. D. Arnautovsky et al. *Far Eastern Agrarian Bulletin: scientific and practical journal*. 2017; 3(43):84–91. (In Russ.).
3. DNA markers in sheep breeding / I. F. Gorlov et al. *Innovations in food production: from animal breeding to food production technology: materials of international scientific and practical conferences. Pos. Persianovsky*; 2019. P. 164–167. (In Russ.).
4. Pogodaev V. A., Sergeeva N. V. The use of the Dorper breed to increase the meat productivity of sheep: monograph. Stavropol: Stavropol-service-school. 2022. 193 p. ISBN 978-5-6047922-1-6. (In Russ.).
5. Pogodaev V. A., Sergeeva N. V. The effectiveness of crossing sheep of the Stavropol breed with cross-bred sheep (½ Kalmyk kurdyuchnaya + ½ dorper). *Sheep, goats, wool business*. 2022;(2):28–32. DOI: 10.26897/2074-0840-2022-2-28-32. (In Russ.).
6. System of comprehensive assessment of breeding prospects of breeding herds and their genetic well-being based on DNA diagnostics: methodological recommendations / L. N. Chizhova et al. Stavropol: Stavropol-service-school; 2020. 97 p. (In Russ.).
7. Study and conduct of DNA testing of farm animals by genes that determine productive qualities: methodological recommendations / Z. K. Gadzhiev et al. Stavropol: Stavropol-service-school; 2022. 78 p. ISBN 978-5-6048650-3-3. (In Russ.).
8. Polymorphism of CAST, GH, GDF9 genes of sheep of Dagestan mountain breed / A. A. Ozdemirov et al. *South of Russia: ecology, development*. 2021;16(2/59):39–44. DOI: 10.18470/1992-1098-2021-2-39-44. (In Russ.).
9. Features of polymorphism of genes GH-HaeIII, CAST-MspI in sheep of different breeds / A. I. Surov et al. *Agrarian Scientific Journal*. 2022;(7):81–84. DOI: 10.28983/asj.y2022i7pp81-84. (In Russ.).
10. 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.).
11. Pogodaev V. A., Kononova L. V., Aduchiev B. K. Polymorphism of calpastatin and somatotropin genes in sheep of the Kalmyk kurdyuchnaya breed and crossbreeds (1/2 Kalmyk kurdyuchnaya + 1/2 dorper). *Bulletin of the Ulyanovsk State Agricultural Academy*. 2019;(3/47):141–145. DOI:10.18286/1816-4501-2019-3-141-145. (In Russ.).

Статья поступила в редакцию 02.05.2023; одобрена после рецензирования 31.05.2023; принята к публикации 05.06.2023.

The article was 02.05.2023; approved after reviewing 31.05.2023; accepted for publication 05.06.2023.