

Научная статья
УДК 591.151 : 636.32/.38.082.13 (470.6)
doi: 10.28983/asj.y2024i12pp105-109

Полиморфизм гена *CAST* у овец разных пород Северного Кавказа

Закир Камилович Гаджиев, Евгения Семёновна Суржилова, Светлана Николаевна Шумаенко
Северо-Кавказский ФНАЦ, Ставропольский край, г. Михайловск, Россия, e-mail: immunogenetika@yandex.ru

Аннотация. Достижения в области генетики животных и селекционных технологий привели к широкому использованию молекулярных маркеров для улучшения и отбора экономически ценных признаков в овцеводстве. В статье представлены данные по ДНК-тестированию методом ПЦР-ПДРФ овец разных пород (ставропольская, манычский меринос, северокавказская мясо-шерстная, дагестанская горная, российский мясной меринос, калмыцкая курдючная, калмыцкая курдючная (помеси с кровностью ½ калмыцкая курдючная + ½ шароле), джалгинский и черноземельский меринос), разводимых в хозяйствах Северного Кавказа. Во всех исследованных породах частота аллеля *CAST^M* значительно превышала частоту аллеля *CAST^N* и находилась в диапазоне от 0,78 до 0,90. Следовательно, частота аллеля *CAST^N* находилась в диапазоне от 0,22 до 0,10. В генетической структуре овец разных пород по гену *CAST* преобладал гомозиготный генотип *CAST^{MM}*. Гетерозиготный генотип *CAST^{MN}* в исследуемых выборках овец встречался от 14,0 до 36,0 %, тогда как частота встречаемости желательного гомозиготного генотипа *CAST^{NN}* была низкой и варьировала от 0,0 до 7,0 %.

Ключевые слова: ПЦР-ПДРФ анализ; полиморфизм; овцы; порода; ген; *CAST*

Для цитирования: Гаджиев З. К., Суржилова Е. С., Шумаенко С. Н. Полиморфизм гена *CAST* у овец разных пород Северного Кавказа // Аграрный научный журнал. 2024. № 12. С. 105–109. <http://dx.doi.org/10.28983/asj.y2024i12pp105-109>.

ZOOTECHNICS AND VETERINARY MEDICINE

Original article

Polymorphism of the *CAST* gene in sheep of different breeds of the North Caucasus

Zakir K. Gadzhiev, Evgenie S. Surzhikova, Svetlana N. Shumaenko

North Caucasus Federal Scientific Agrarian Center, Stavropol region, Mikhailovsk, Russia, e-mail: immunogenetika@yandex.ru

Abstract. Advances in animal genetics and breeding technologies have led to the widespread use of molecular markers to improve and select economically valuable traits in sheep farming. This article presents the material on DNA testing by PCR- RFLP of sheep of different breeds (Stavropol, Manych merino, North Caucasian meat and wool, Dagestan mountain, Russian meat merino, Kalmyk kurdyuchnaya, Kalmyk kurdyuchnaya (crossbreeds with a bloodline of ½ Kalmyk kurdyuchnaya + ½ Charolais), Dzhalginsky and Chernozemelsky merino), bred in conditions of various farms in the North Caucasus. In all the studied breeds, the frequency of the *CAST^M* allele significantly exceeded the frequency of the *CAST^N* allele and was in the range from 0.78 to 0.90, therefore, the frequency of the *CAST^N* allele was in the range from 0.22 to 0.10. The homozygous *CAST^{MM}* genotype prevails in the genetic structure of sheep of different breeds according to the *CAST* gene. The heterozygous *CAST^{MN}* genotype in the studied sheep samples ranged from 14.0 to 36.0 %, whereas the frequency of occurrence of the desired homozygous *CAST^{NN}* genotype in all studied breeds was low and ranged from complete absence (0.0 %) to 7.0 %.

Keywords: PCR-RFLP analysis; polymorphism; sheep; breed; gene; *CAST*

For citation: Gadzhiev Z. K., Surzhikova E. S., Shumaenko S. N. Polymorphism of the *CAST* gene in sheep of different breeds of the North Caucasus. *Agrarnyy nauchnyy zhurnal = Agrarian Scientific Journal*. 2024;(12): 105–109. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.28983/asj.y2024i12pp105-109>.



Введение. В целях увеличения производства баранины очень важно улучшить генетический резерв овец, обладающих скороспелостью и высокой мясной продуктивностью. Изучая эти признаки на уровне ДНК, можно выявить гены/аллели, лежащие в основе этих качеств. Затем, используя эти знания, можно отобрать лучших животных [10, 11]. Следовательно, существует необходимость в расширении знаний о молекулярно-генетической основе признаков и генетических полиморфизмах, связанных с такими признаками, которые важны в овцеводстве для обеспечения эффективных программ разведения [2, 3].

Использование геномной технологии улучшило молекулярную генетику и открыло значительные возможности для идентификации полезных генов. Многочисленные однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) были обнаружены в геномах нескольких домашних животных благодаря программам секвенирования генома. Эти генетические маркеры, или SNP, могут быть использованы для идентификации генетических вариаций, лежащих в основе экономически значимых признаков у домашних животных, и для лучшего их понимания [5, 6].

У мелкого рогатого скота (овец) ген кальпастин (*CAST*) включает в себя 28 интронов, 29 экзонов (длина 89553 п.н.), расположен на 5-й хромосоме. Ген является специфическим ингибитором кальпаина, играет ключевую роль в размягчении мяса после убоя и миогенезе [4, 7–9, 12].

Цель работы заключалась в идентификации аллельного полиморфизма гена кальпастина у овец, разводимых на территории Северного Кавказа.

Материалы и методы. Генетические исследования проводили в отделе генетики и биотехнологии ВНИИОК – филиала ФГБНУ «Северо-Кавказский ФНАЦ», в лаборатории иммуногенетики и ДНК-технологий. Образцы крови доставляли в пробирках типа VACUTAINER объемом 4 мл (консервант ЭДТА). Выделение ДНК выполняли с помощью коммерческого набора D1AtomtmDNA Prep (IsoGeneLab, Москва).

Объект исследования – овцы разных пород: ставропольская ($n = 114$, СПК колхоз «Русь» Изобильненского района, СПК КПЗ «Путь Ленина» Апанасенковского района), манычский меринос ($n = 239$, КПЗ им. Ленина Апанасенковский район Ставропольского края), российский мясной меринос ($n = 156$, СХА (к-з) «Родина» Апанасенковского района, СПК колхоз-племзавод имени Ленина Арзгирского района), северокавказская мясо-шерстная ($n = 58$, СПК ПЗ «Восток» Степновского района Ставропольского края), дагестанская горная ($n = 165$, СК «АФ Согратль» и А/Х «Чох» Гунибского района, Республика Дагестан), калмыцкая курдючная ($n = 32$) и калмыцкая курдючная (помеси с кровностью $\frac{1}{2}$ калмыцкая курдючная + $\frac{1}{2}$ шароле, $n = 34$) из КФХ «Арл» Яшкульского района Республики Калмыкия, джалгинский меринос ($n = 29$, СПК «ПЗ «Вторая Пятилетка» Ставропольского края) и черноземельский меринос ($n = 70$, АО «ПЗ Черноземельский» Черноземельского района Республики Калмыкия).

Реакционную смесь для проведения ПЦР (20 мкл) готовили с помощью коммерческого набора Gen Pak™ PCR Core («Изоген», Россия) с применением следующих праймеров: прямой (F): 5' – TGG-GGC-CCA-ATG-CGC-CAT-CGA-TG – 3 и обратный (R): 5' – GGT-GGA-GCA-CCT-CTG-ATG-ACC – 3.

В результате ПЦР был амплифицирован фрагмент гена кальпастина длиной 622 п.н. (рисунок 1).

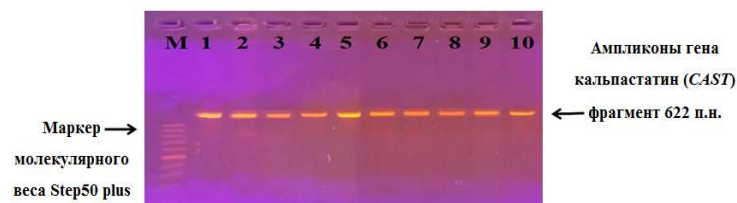


Рисунок 1 – Результат ПЦР по гену кальпастатину

Figure 1 – The result of PCR on the calpastatin gene

ПДРФ-анализ продуктов амплификации исследуемых полиморфных участков проводили с использованием эндонуклеазы рестрикции *MspI* (5'...C↓CGG...3') фирмы «СибЭнзим» (Россия), согласно стандартным протоколам. После инкубации при температуре 37 °С в течение 5 ч продукты рестрикции гена *CAST* разделялись в 1,8%-м агарозном геле электрофоретическим методом (при напряжении 130 В) в 1×TBE буфере продолжительностью 45 мин [1].



Визуализацию проводили при УФ-свете после окрашивания бромистым этидием агарозного геля и анализировали с помощью компьютерной системы гель-документирования (рисунок 2). Были идентифицированы три полиморфных варианта гена, обусловленных наличием или отсутствием точечной мутации (SNP) и заменой нуклеотида гуанина на аденин.

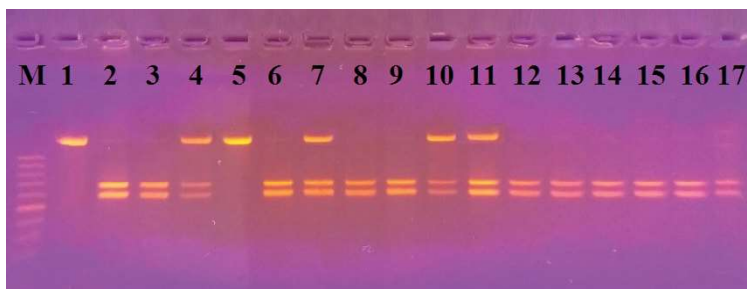


Рисунок 2 – Электрофореграмма результата ПЦР-ПДРФ гена кальпастина (*CAST*) в 1,8%-м агарозном геле: M – маркер молекулярного веса Step50 plus; 4, 7, 10, 11 – генотип *CAST*^{MM} фрагменты 622, 336 и 286 п.н.; 2, 3, 6, 8, 9, 12–17 – генотип *CAST*^{NN} фрагменты 336 и 286 п.н.; 1, 5 – генотип *CAST*^{NN} фрагмент 622 п.н.

Figure 2 – Electrophoregram of the PCR-RFLP result of the calpastatin (*CAST*) gene in 1.8% agarose gel: M-marker of molecular weight Step50 plus; 4, 7, 10, 11 – genotype *CAST*^{MM} fragments 622, 336 and 286 p.n.; 2, 3, 6, 8, 9, 12–17 – genotype *CAST*^{NN} fragments 336 and 286 p.n.; 1, 5 – genotype *CAST*^{NN} fragment 622 p.n.

Полученные данные обрабатывали методами статистического анализа с использованием программы Microsoft Excel.

Результаты исследований. По результатам ДНК-генотипирования установили, что полиморфизм гена кальпастина (*CAST*), контролирующей мясную продуктивность, во всех изучаемых породах представлен двумя аллелями *CAST*^M; *CAST*^N. При этом частота аллеля *CAST*^M значительно превышала частоту аллеля *CAST*^N и находилась в диапазоне от 0,78 до 0,90 (рисунок 3).

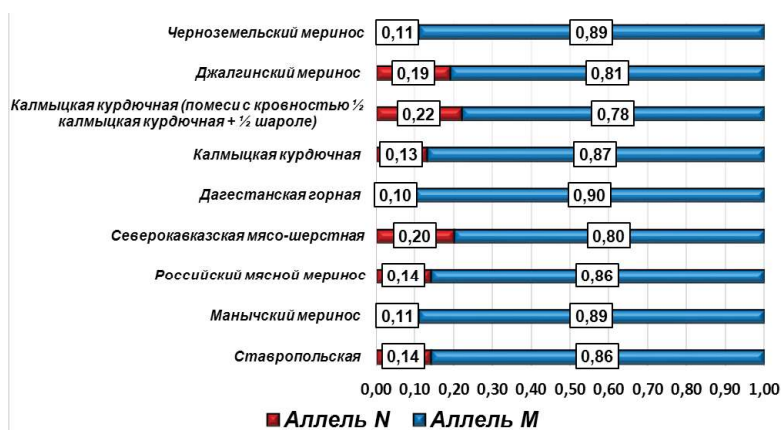


Рисунок 3 – Частота встречаемости аллелей гена *CAST* в популяции овец разных пород

Figure 3 – Frequency of occurrence of alleles of the *CAST* gene in a population of sheep of different breeds

У овец породы маньчжский и черноземельский меринос частота встречаемости аллеля *CAST*^M составила 0,89, что почти в 8 раз больше по сравнению с частотой встречаемости селекционно-значимого аллеля *CAST*^N (0,11). Аналогичную ситуацию наблюдали у овец пород российский мясной меринос и ставропольской, где частота встречаемости аллеля *CAST*^M составила 0,86, что в 6 раз больше в сравнении с аллелем *CAST*^N (0,14).

Частота встречаемости селекционно-значимого аллеля *CAST*^N гена кальпастина в выборке овец северокавказской мясо-шерстной породы и калмыцкой курдючной (помеси с кровностью ½ калмыцкая курдючная + ½ шароле) была наивысшей (0,20 и 0,22 соответственно) по сравнению с другими изучаемыми породами.





У овец дагестанской горной породы отмечали преобладание частоты встречаемости аллеля $CAST^M$ над селекционно-значимым аллелем $CAST^N$ в 9 раз.

Также проводили исследование на чистопородных овцах породы калмыцкая курдючная, по результатам которого установили, что полиморфизм гена представлен высокой (0,87) частотой встречаемости аллеля $CAST^M$ и низкой (0,13) $CAST^N$. Соотношение аллелей $CAST^M$ и $CAST^N$ в выборке овец породы джалгинский меринос составило 0,81 и 0,19 соответственно.

В таблице показаны расчеты частоты встречаемости трех генотипов по гену кальпастанину у овец разных пород. Исследования показали преобладание гомозиготного генотипа $CAST^{MM}$ в генетической структуре во всех выборках (см. таблицу).

Частота встречаемости генотипов по гену $CAST$ в популяции овец разных пород

The frequency of occurrence of $CAST$ genotypes in a population of sheep of different breeds

Порода	n	Частота встречаемости генотипов		
		$CAST^{MM}$	$CAST^{NN}$	$CAST^{MN}$
Ставропольская	114	0,75	0,03	0,22
Манычский меринос	239	0,78	0,01	0,21
Российский мясной меринос	156	0,76	0,03	0,21
Северокавказская мясо-шерстная	58	0,62	0,02	0,36
Дагестанская горная	165	0,83	0,03	0,14
Калмыцкая курдючная	32	0,75	0,0	0,25
Калмыцкая курдючная (помеси с кровностью ½ калмыцкая курдючная + ½ шароле)	34	0,62	0,0	0,34
Джалгинский меринос	29	0,69	0,07	0,24
Черноземельский меринос	70	0,80	0,03	0,17

У овец ставропольской и калмыцкой курдючной пород частота встречаемости гомозиготного генотипа $CAST^{MM}$ составила по 75,0 %, а у российского мясного мериноса – 76,0 %. Низкое значение (по 62,0 %) наблюдали у овец калмыцкой курдючной (помеси с кровностью ½ калмыцкая курдючная + ½ шароле) и северокавказской мясошерстной пород.

В выборках овец дагестанской горной породы и черноземельского мериноса преобладал гомозиготный генотип $CAST^{MM}$ – 83,0 и 80,0 %, при этом частота встречаемости желательного гомозиготного генотипа $CAST^{NN}$ была равна 3,0 %.

Частота встречаемости генотипов по гену $CAST$ у овец манычского и джалгинского мериноса распределилась следующим образом: гомозиготный генотип $CAST^{MM}$ – 78,0 и 69,0 %, гетерозиготный $CAST^{MN}$ – 21,0 и 24,0 %. Гетерозиготный генотип $CAST^{MN}$ в исследуемых выборках овец разных пород варьировался от 14,0 до 36,0 %, только у овец черноземельского мериноса и дагестанской горной породы значение было низкое – 17,0 и 14,0 %.

Установлено, что частота встречаемости желательного гомозиготного генотипа $CAST^{NN}$ у всех изучаемых пород овец была низкой и варьировала от полного отсутствия (0,0 %) до 7,0 %. Как показали исследования, в выборке овец помесей с кровностью ½ калмыцкая курдючная + ½ шароле гомозиготный генотип $CAST^{NN}$ не встречался, а у овец породы джалгинский меринос распределение частоты встречаемости данного генотипа составило 7,0 %.

Заключение. Изучение генетической структуры популяции сельскохозяйственных животных – важнейшее условие для поддержания ее равновесия и хозяйственной ценности.

По результатам ДНК-генотипирования исследуемых овец девяти разных пород, разводимых на территории Северного Кавказа, установлено, что полиморфизм гена кальпастанина ($CAST$), контролирующей мясную продуктивность, представлен двумя аллелями $CAST^M$ и $CAST^N$. У всех исследованных пород овец частота аллеля $CAST^M$ значительно превышала частоту аллеля $CAST^N$ и находилась в диапазоне от 0,78 до 0,90. Следовательно, частота аллеля $CAST^N$ от 0,22 до 0,10.

В генетической структуре овец разных пород по гену $CAST$ преобладал гомозиготный генотип $CAST^{MM}$. Частота встречаемости гетерозиготного генотипа $CAST^{MN}$ в исследуемых выборках овец разных пород варьировалась от 14,0 до 36,0 %, тогда как частота встречаемости желательного гомозиготного генотипа $CAST^{NN}$ во всех изучаемых породах была низкой – от 0,0 до 7,0 %.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Генофонд овец Северного Кавказа / З. К. Гаджиев [и др.]. Ставрополь, 2024. 198 с. ISBN 978-5-605-18561-1.
2. Использование метода генотипирования для отбора животных желательного типа / А. И. Суворов [и др.] // *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*. 2023. Т. 15. № 4. С. 136–157. DOI 10.12731/2658-6649-2023-15-4-136-157.
3. Лушников В. П., Фетисова Т. О., Стрильчук А. А. Полиморфизм гена CAST у овец татарстанской и эдильбаевской пород // *Овцы, козы, шерстяное дело*. 2020. № 2. С. 9–11.
4. Погодаев В. А., Кононова Л. В., Адучиев Б. К. Полиморфизм генов кальпастатина и соматотропина у овец калмыцкой курдючной породы и помесей (½ калмыцкая курдючная + ½ дорпер) // *Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии*. 2019. № 3(47). С. 141–145.
5. Полиморфизм генов GH, CAST у овец в связи с показателями резистентности / Л. Н. Чижова [и др.] // *Аграрный научный журнал*. 2020. № 12. С. 75–77.
6. 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.
7. 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.
8. Полиморфизм генов CAST и GH у баранов-производителей породы российский мясной меринос / О. Н. Онищенко [и др.] // *Зоотехния*. 2022. № 5. С. 16–18.
9. Распределение частоты встречаемости аллелей гена кальпастатина у овец разных пород (обзор) / З. К. Гаджиев [и др.] // *Аграрный научный журнал*. 2023. № 5. С. 72–78. DOI 10.28983/asj.y2023i5pp72-78.
10. Фоминова И. О., Скорых Л. Н., Коваленко Д. В. Биотехнологические методы исследования полиморфизма генов соматотропина и кальпастатина // *Сельскохозяйственный журнал*. 2020. № 5(13). С. 83–88.
11. Association of CAST gene polymorphism with carcass value and meat quality in two synthetic lines of sheep / M. Greguła–Kania et al. // *Meat Science*. 2019. Vol. 154. P. 69–74.
12. Features of polymorphism of calpastatin and somatotropin genes in young sheep, obtained from crossing ewes of Kalmyk fat-rumped sheep and dorper rams / V. A. Pogodaev et al. // *E3S Web of Conferences*. Available at: <https://doi.org/1051e3sconf/202017503020>.

REFERENCES

1. North Caucasus sheep gene pool / Z. K. Gadzhiev et al. Stavropol; 2024. 198 p. (In Russ.). ISBN 978-5-605-1856-1.
2. The use of the genotyping method for the selection of animals of the desired type / A. I. Surov et al. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*. 2023;15(4):136–157. (In Russ.). DOI 10.12731/2658-6649-2023-15-4-136-157.
3. Lushnikov V. P., Fetisova T. O., Strilchuk A. A. Polymorphism of the CAST gene in sheep of Tatarstan and Edilbaev breeds. *Sheep, Goats, Woolen Business*. 2020;(2):9–11. (In Russ.).
4. Pogodaev V. A., Kononova L. V., Aduchiev B. K. Polymorphism of calpastatin and somatotropin genes in sheep of the Kalmyk kurdychnaya breed and crossbreeds (½ Kalmyk kurdychnaya + ½ dorper). *Bulletin of the Ulyanovsk State Agricultural Academy*. 2019;3(47):141–145. (In Russ.).
5. 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.).
6. 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.).
7. 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. (In Russ.).
8. Polymorphism of CAST and GH genes in sheep producers of the Russian meat merino breed / O. N. Onishchenko et al. *Zootechnia*. 2022;(5):16–18. (In Russ.).
9. Distribution of the frequency of occurrence of alleles of the calpastatin gene in sheep of different breeds (review) / Z. K. Gadzhiev et al. *Agrarian Scientific Journal*. 2023;(5):72–78. (In Russ.). DOI 10.28983/asj.y2023i5pp72-78.
10. Fominova I. O., Skorykh L. N., Kovalenko D. V. Biotechnological methods of studying gene polymorphism of somatotropin and calpastatin. *Agricultural Magazine*. 2020;5(13):83–88. (In Russ.).
11. Association of CAST gene polymorphism with carcass value and meat quality in two synthetic lines of sheep / M. Greguła–Kania et al. *Meat Science*. 2019;154:69–74.
12. Features of polymorphism of calpastatin and somatotropin genes in young sheep, obtained from crossing ewes of Kalmyk fat-rumped sheep and dorper rams / V. A. Pogodaev et al. *E3S Web of Conferences*. Available at: <https://doi.org/1051e3sconf/202017503020>.

Статья поступила в редакцию 06.05.2024; одобрена после рецензирования 17.06.2024; принята к публикации 21.06.2024.
The article was submitted 06.05.2024; approved after reviewing 17.06.2024; accepted for publication 21.06.2024.

