

DOI: 10.48612/sbornik-2023-2-3
УДК 636.32/.38.082.12

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА (GDF9) У ОВЕЦ ЮЖНОЙ МЯСНОЙ ПОРОДЫ

Куликова Анна Яковлевна, д-р с.-х. наук
ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии»,
г. Краснодар, Российская Федерация

В субпопуляции овец южной мясной (ЮМ) породы был проведен ПЦР-ПДРФ анализ распределения полиморфных вариантов гена GDF9 у баранов, маток и ремонтного молодняка. На основании анализа выявлена специфичность аллельного спектра. В локусе гена GDF9 два аллеля А и G с преобладанием гомозиготного (GG) генотипа (75 %). Различия по живой массе у гомозиготных и гетерозиготных особей не превышало 1,4 %. По плодовитости матки гетерозиготного генотипа (AG) на 10 % превосходили гомозиготных (GG) и от них за жизнь получено приплода на 22,4 % больше, чем от маток генотипа GDF9^{GG}.

Ключевые слова: овцы; порода; ген GDF9; полиморфизм; аллель; живая масса; плодовитость

POLYMORPHISM OF THE GROWTH DIFFERENTIAL FACTOR GENE (GDF9) IN SOUTHERN MEAT BREED SHEEP

Kulikova Anna Yakovlevna, Dr. Agr. Sci.
Krasnodar Research Centre for Animal Husbandry and Veterinary Medicine,
Krasnodar, Russian Federation

In a subpopulation of sheep of the southern meat breed, a PCR-RFLP analysis of the distribution of polymorphic variants of the GDF9 gene in rams, ewes and replacement young animals was carried out. Based on the analysis, the specificity of the allelic spectrum was revealed. The GDF9 gene locus has two alleles A and G with a predominance of the homozygous (GG) genotype (75 %). The differences in live weight between homozygous and heterozygous individuals did not exceed 1.4 %. In terms of fertility, ewes of the heterozygous genotype (AG) were 10 % superior to homozygous (GG) ones, and they produced 22.4 % more offspring during their lifetime than from ewes of the GDF9^{GG} genotype.

Key words: sheep; breed; GDF9 gene; polymorphism; allele; live weight; fertility

Генетические вариации количественных и качественных признаков у пород овец разного направления продуктивности в достаточной степени отражены в литературе. Учитывая многообразие признаков (более 32), направленный отбор в племенном овцеводстве имеет эффективность при высоком значении коэффициента наследуемости ($h^2 > 0,3$). Исследованиями установлено, что верхние

границы и средние показатели наследуемости (h^2) выше для морфологических признаков по сравнению с биологически обусловленными (плодовитость, сохранность, адаптационные свойства организма). В этой связи, маркер-ассоциированная селекция (MAS, Marker assisted selection) имеет большие перспективы и внедряется в селекционные программы отечественного животноводства

[2, 4].

Методика исследований. Изучение гена гормона дифференциального фактора роста (GDF9) и определение генотипов-носителей селекционно-значимых маркерных аллелей в субпопуляции овец южной мясной породы выполнено в генфондном хозяйстве КНЦЗВ по ДНК, выделенной из 100 биопроб (кровь) овец южной мясной породы. Генотипирование овец мясного направления по ДНК проводилось методом ПЦР (полемеразной цепной реакции с использованием набора и реагентов «Diatom tm DNA Prep» (IsoGeneLab) г. Москва, согласно прилагаемой инструкции в лаборатории иммуногенетики и ДНК-технологий ВНИИОК – (Филиала ФГБНУ «Северокавказский ФНАЦ»). Реакцию амплификации проводили с помощью набора «Gen Pak CR Core»

на программируемом четырехканальном термоциклере «Терцик». В качестве праймеров использовались следующие нуклеотидные последовательности для амплификации участков гена гормона дифференциального фактора роста (GDF9): F : 5' - GAAGACTGGTATGGGGAAATG - 3', R : 5' - CCAATCTGCTCCTACACACCT - 3' (амплифицированный фрагмент 462 п.н.). Рестриктицию амплифицированного фрагмента осуществляли с помощью реагентов эндонуклеаз рестрикции BstNI I и анализировали методом электрофореза в 2 % - ном агарозном геле, окрашенном бромистым этидием (10 мкл). Наличие 12 сайтов рестрикции соответствовало аллелю G и 5 – аллелю A. Определены 12 рестриционных фрагментов для генотипов GG и 2 – для генотипа AA и 3 – для AG (рисунок 1).

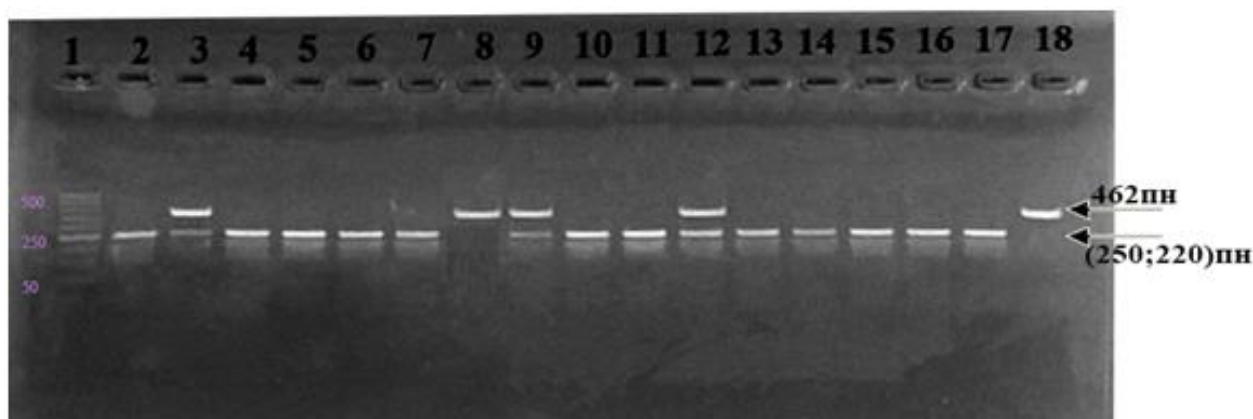


Рисунок 1 - Электрофореграмма результата ПЦР-ПДФ GDF9 2 %, агарозном геле
Обозначения: 1 – ДНК-маркер 50 бр (Изоген); 2, 4, 5, 6, 7, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17 – генотип GG (250; 220 п.н.); 3, 9, 12 – генотип AG (462; 250; 220 п.н.); 8, 18 – генотип AA (462 п.н.)

Обработка материала, полученного в эксперименте, проведена методами вариационной статистики и генетико-селекционного анализа (по формулам изложенным в методике А.В. Ольховской и др. 2007).

Результаты исследований и их обсуждение. Важной характеристикой генетических маркеров является полиморфизм, обусловленный мутацией в нуклеотидной последовательности ДНК, и

проявляется через аллельный спектр. Наличие двух аллелей служит предпосылкой для использования локуса в качестве генетического маркера. Однако, следует учитывать, что большинство генов у овец имеют плеiotропное действие и генетическая изменчивость основных признаков является результатом длительного направленного отбора и подбора в субпопуляции племенного стада овец. В результате молекулярно-генетических исследо-

ваний у овец ЮМ породы определены двух-аллельные (А и G) варианты гена дифференциального фактора роста (GDF9) с разной частотой встречаемости:

GDF9A – 0,155±0,025; GDF9B – 0,845±0,025. Количество гомозиготных особей GDF9GG составляло – 75 %, GDF9AA - 6 %, гетерозиготных GDF9AG – 19 % (таблица 1).

Таблица 1 – Частота встречаемости генотипов и аллелей гена GDF9

Ген/генотип	n	Частота встречаемости		Hobs	Hexp	ТГ	χ^2
		генотипа	аллеля				
GDF9 ^{GG}	75	0,75±0,025	A-0,155±0,25	0,19	0,262	0,07	7,6
GDF9 ^{AG}	19	0,19±0,06					
GDF9 ^{AA}	6	0,06±0,06	G – 0,845±0,025				

Уровень ожидаемой гетерозиготности (Hexp) в 1,4 выше наблюдаемой (Hobs). Тест гетерозиготности (ТГ), характеризующий уровень генетического разнообразия субпопуляции овец ЮМ породы для гена GDF9 отрицательный, что свидетельствует о недостатке гетерозигот. Для оценки значимости селекционного различия между генотипами, обусловленного давлением направленного отбора, рассчитан критерий соответствия фактических и теоретических частот генотипов – хи – квадрат (χ^2) (Пирсона). Полученное значение критерия Пирсона свидетельствует об отклонении фактического распределения частот от теоретического с преобладанием гомозиготных

особей. Генное равновесие в генотипах локуса GDF9, в котором критерий хи – квадрат (χ^2) равен 7,6 нарушено в меньшей степени. Для оценки признаков, ассоциированных с изучаемыми генами в генфондном стаде южной мясной породы, был проведен анализ возрастной динамики живой массы овец разных генотипов GDF9^{AA}, GDF9^{AG}, GDF9^{GG} и воспроизводительных качеств овцематок (таблица 2). При рождении наиболее крупными были гетерозиготные GDF9^{AG} особи, они на 7,5 % превышали живую массу гомозиготных GDF9^{GG}, но в последующие возрастные периоды достоверных различий по этому признаку у овец с разным генотипом не наблюдалось

Таблица 2 – Динамика живой массы (кг) и шерстной продуктивности овец ЮМ с разными генотипами гена GDF9

Показатели	GDF9		
	AA	AG	GG
Количество	6	24	50
При рождении	3,7±0,67	4,0±0,12	3,72±0,06
4	30,9±0,95	31,3±0,81	31,8±0,67
5	35,0±0,73	36,0±0,79	36,5±0,47
6	39,2±1,07	40,4±1,0	41,0±0,50
8	49,9±1,21	52,5±0,17	48,0±0,58
12	58,0±1,90	63,3±1,43	64,2±0,94
Настриг шерсти	4,2±0,20	4,5±0,20	4,6±0,78
Длина шерсти	13,2±0,45	13,8±0,34	14,0±0,16

Существенных различий по живой массе гомозиготных GG и гетерозиготных

AG овец по гену дифференциального фактора роста GDF9 не установлено, вари-

бельность этого признака не превышала 1,4 %. Оптимальную живую массу имели гомозиготные особи GDF9^{GG} в возрасте 12 месяцев (64,2±0,94), но их преимущество по сравнению с гетерозиготными GDF9^{AG} (63,3±1,43) не превышало 1,4 %. По величине шерстной продуктивности, как по настригу, так и длине шерсти, достоверных различий у овец гомозиготных и гетерозиготных генотипов не установлено.

Плодовитость овец подвержена влиянию как генетических, так и паратипических факторов. По типу рождения в гомо-

зиготном генотипе GDF9^{GG} - 53,9 % ягнят родилось в числе двоен; 2,6 % - в числе троен и 46 % - одиночками. От овцематок гомозиготного генотипа GDF9^{GG} (n=22) за жизнь получено 5,8 ягненка при плодовитости – 136,7 %, а от гетерозиготного GDF9^{AG} – соответственно 7,1 и 146,6 %. Гетерозиготные генотипы овец ЮМ малочисленны и поэтому полученные данные относятся к предварительным, требующим подтверждения на репрезентативной выборке (таблица 3).

Таблица 3 – Плодовитость овцематок ЮМ разных генотипов гена GDF9

Количество ягнений	GG				AG			
	Объягнилось маток, гол	получено ягнят, гол		плодовитость, %	Объягнилось маток, гол	получено ягнят, гол		плодовитость, %
		всего	на 1 матку за жизнь			всего	на 1 матку за жизнь	
3	10	39	3,9	130	3	14	4,7	155,6
4	4	28	7,0	175	-	-	-	-
5	2	13	6,5	130	4	34	8,5	170,0
6	3	25	8,3	138,9	-	-	-	-
7	3	23	7,7	109,5	1	8	8	114,3
Всего:	22	128	5,8	136,7	8	56	7,0	146,6

Продолжительность хозяйственного использования овцематок исследуемых генотипов составляет от 3-7 ягнений, а в среднем от 4,3 до 4,7 ягнений. Наибольшее количество приплода, в расчёте на одну овцематку, за период её использования получено от гетерозиготных по гену GDF9^{AG} имевших на 9,9 % плодовитость выше, чем гомозиготных GDF9^{GG}. Аналогичные результаты были получены от овцематок сальской породы, у которых плодовитость гетерозиготных овцематок GDF9^{AB} была выше на 7,0 % по отношению к гомозиготным GDF9^{BB} [1]-[6].

Выводы. В результате экспериментальных исследований впервые получены данные о полиморфизме гена дифференциального фактора роста (GDF9) у овец генофондного стада южной мясной породы. В субпопуляции ЮМ выявлены три

генотипа с двумя аллелями с разной частотой встречаемости. Достоверных различий по величине живой массы и шерстной продуктивности у гомозиготных и гетерозиготных особей носителей гена GDF9 не установлено. Лучшими по воспроизводительным качествам обладали овцематки ЮМ породы гетерозиготного генотипа GDF9^{AG}, они превосходили по этому признаку гомозиготных GDF9^{GG} на 9,9 %.

Список литературы

- Куликова А.Я. Генетическая ассоциация полиморфизма гена гормона роста (GH) с продуктивностью овец южной мясной породы // Овцы, козы, шерстяное дело. – 2023. – № 2. – С 30-32.
- Куликова А.Я. Мясная продуктивность овец южной мясной породы на Юге

России // Труды Кубанского ГАУ. – 2023. – № 103. – С. 219-225.

3. Лушников В.П. Полиморфизм генов соматотропина (GH), кальпастина (CAST), дифференциального фактора роста (GDF9) у овец татарстанской породы / В.П. Лушников, Т.О. Фетисова, М.И. Селионова, Л.Н. Чижова, Е.С. Суржикова // Овцы, козы, шерстяное дело. – 2020. – № 1. – С 2-4.

4. Трухачев В.И. Генетические маркеры мясной продуктивности овец (*Ovis aries* L.) Сообщение I. Миостатин, кальпаин, кальпастин / В.И. Трухачев, М.И. Селио-

нова, А.Ю. Криворучко, А.М. Айбазов // Сельскохозяйственная биология. – 2018. – Т. 53. – № 6. С. 1107-1119

5. Шевцова В.С. Сопряжённость плодовитости овцематок южной мясной породы с их возрастом и другими факторами / В.С. Шевцова, А.Я. Куликова, Ю.А. Колосов, А.В. Усатов // Овцы, козы, шерстяное дело. – 2022. – № 3. – С 15-17.

6. Шевцова В.С. Поиск генов кандидатов живой массы у овец южной мясной породы / В.С. Шевцова, А.Я. Куликова, Л.В. Гетманцева, А.В. Усатов // Генетика. – 2023. – Т. 59. – № 11. – С. 1341-13