

ПРОДУКТИВНЫЕ КАЧЕСТВА ОВЕЦ ЮЖНОЙ МЯСНОЙ ПОРОДЫ РАЗНЫХ ГЕНОТИПОВ ПО ЛОКУСУ КАЛЬПАСТАТИНА

А.Я. КУЛИКОВА¹✉, В.С. ШЕВЦОВА²✉

¹ ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии»,
г. Краснодар, Российская Федерация; ✉ priemnaya@kubzv.ru;

² ФГАОУ ВО «Южный федеральный университет»,
г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация; ✉ barbaragen4@mail.ru

THE RELATIONSHIP BETWEEN THE POLYMORPHISMS OF THE CAST GENE AND PRODUCTIVE TRAITS IN SOUTHERN MEAT SHEEP

A.YA. KULIKOVA¹✉, V.S. SHEVTSOVA²✉

¹ Krasnodar Research Centre for Animal Husbandry and Veterinary Medicine,
Krasnodar, Russian Federation; ✉ priemnaya@kubzv.ru;

² Southern Federal University, Rostov on Don, Russian Federation;
✉ barbaragen4@mail.ru

Аннотация. С использованием метода полимеразной цепной реакции с последующим анализом полиморфизма длин фрагментов рестрикции (ПЦР-ПДРФ) установлена разная частота встречаемости аллелей и генотипов локуса кальпастатина (CAST). В субпопуляции южной мясной породы выявлены три генотипа по гену CAST. Установлено, что доминирует гомозиготный генотип CAST^{MM/NN} – 83%, частота встречаемости гетерозиготного генотипа составляет CAST^{MN} – 17%. Гомозиготные особи CAST^{MM} достоверно превосходили гетерозиготных CAST^{MN} по величине живой массы от рождения до отъема на – 17,8%, а в 12 мес. – на 10,8%, по настригу шерсти – на 10,8%. Лучшие воспроизводительные качества продемонстрировали овцематки гетерозиготного типа CAST^{MN}, они оказались более многоплодными – 64,7% двоен и 8,9% троен.

Ключевые слова: полиморфизм; ген кальпастатина; генотип; живая масса; плодовитость.

Summary. Using the polymerase chain reaction method with the subsequent analysis of PCR-RFLP restriction fragment length polymorphism, different frequencies of alleles and genotypes of the gene in the calpastatin locus (CAST) were determined. Three genotypes with two alleles with different frequencies were identified in the Southern meat breed subpopulation. In the calpastatin gene locus, the homozygous genotype CAST^{MM/NN} dominates – 83%, heterozygous genotype CAST^{MN} is 17%. Homozygous CAST^{MM} individuals significantly exceeded heterozygous CAST^{MN} in live weight from birth to weaning by 17.8%, and at 12 months – by 10.8%, and in wool production – by 10.8%. The ewes of the heterozygous type CAST^{MN} have demonstrated the best reproductive abilities; they were more multiparous – 64.7% twins and 8.9% triplets.

Keywords: polymorphism; calpastatin gene; genotype; live weight; fecundity.

с учетом возрастающего спроса на продукты животного происхождения. В этом плане отрасль овцеводства не имеет себе равных по многообразию получаемой продукции и способности эффективно ее производить в различных природно-экономических условиях. Для этой цели необходимы породы овец, хорошо адаптированные к условиям их разведения, удовлетворяющие требования рынка и потребности человека. В связи с изменением экономической значимости отдельных видов овцеводческой продукции в селекции пород овец больше внимания уделяют мясной и молочной продуктивности. Направленная селекция на повышение рентабельности производства продукции овцеводства послужила основой создания новых пород и типов, отличающихся плодовитостью, скороспелостью и высокой мясной продуктивностью – южная мясная, западносибирская, ташлинская. Наряду с традиционными методами отбора по фенотипическим признакам, на современном этапе широко используются молекулярные методы маркер-ассоциированной и геномной селекции. Поэтому выявление генетических маркеров, определяющих аллели гена кальпастатина, ассоциированные с основными селекционными признаками овец генофондного стада южной мясной породы, является актуальной научной задачей [1, 2, 3].

Материалы и методы исследований. Изучение полиморфизма гена кальпастатина (CAST) и определение генотипов-носителей селекционно-значимых маркерных аллелей в субпопуляции овец южной мясной породы выполнено в генофондном хозяйстве КНЦЗВ по ДНК, выделенной из 100 биопроб (кровь) овец южной мясной породы. Генотипирование овец мясного направления проводилось методом ПЦР (полимеразной цепной реакцией

Введение. Генетические ресурсы пород овец незаменимы и должны сохраняться, особенно

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 кальпастатина (*CAST*): F: 5' – GAAACCTCCTTCCTCGCCC – 3', R: 5' – CCAGGGTCTAGGAAGCCACA – 3' (амплифицированный фрагмент 622 п.н.). Рестрикцию амплифицированного фрагмента осуществляли с помощью эндонуклеазы рестрикции Hae III и анализировали методом электрофореза в 1,8% – ном агарозном геле, окрашенном бромистым этидием. Наличие двух сайтов рестрикции соответствовало аллелю М и 3 – аллелю N. Определены 2 рестрикционных фрагмента для генотипа MM, 1 – для NN и 3 – для MN (рис. 1).

Обработка результатов эксперимента проведена методами вариационной статистики, и генетико-статистического анализа (по формулам, изложенным в методике Л.В. Ольховской и др. 2007).

Результаты исследований и их обсуждение. Определение генетического разнообразия и выявления генов-маркеров, ассоциированных с комплексом желательных для селекции признаков у овец породы ЮМ по результатам ДНК-исследований показало, что полиморфизм гена *CAST* представлен двумя аллелями М и N и тремя генотипами MM, MN и NN. В генетической структуре овец ЮМ по гену кальпастатина преобладает гомозиготный генотип MM (78%), гетерозиготный MN составляет 17% и NN – 5%. Вариабельность частот аллелей составляла: М ($0,865 \pm 0,020$) и N – ($0,135 \pm 0,021$). Величина наблюдаемой гетерозиготности (H_{obs}) по локусу гена (*CAST*) составляла 0,17, а ожидаемой (H_{ex}) – 0,234, что в 1,4 раза выше наблюдаемой. Дефицит гетерозиготности связан с применением в стаде замкнутой субпопуляции методов селекционного давления по признакам отбора. Высокий уровень гомозиготности (83%) влияет на величину полиморфности (N_a), уровень которой равен 1,36, что свидетельствует о снижении разнообразия исследуемой субпопуляции овец ЮМ породы по гену кальпастатина. Степень генетической изменчивости по локусу гена кальпастатина составляла 23,9. Тест гетерозиготности (ТГ) отрицательный и равен «-0,06» также отражает дефицит гетерозигот по локусу гена *CAST*. Генное равновесие генотипов кальпастатина согласно закону Харди-Вайнберга и значению критерия Пирсона (χ^2) также нарушено за счет преобладания гомозиготных особей и составляет 11,5. Для оценки признаков, ассоциированных с геном

кальпастатина, в генофондном стаде южной мясной породы был проведен анализ возрастной динамики живой массы и воспроизводительных качеств овец разных генотипов. В исследуемых группах отмечены особенности интенсивности роста и шерстной продуктивности овец ЮМ породы с различными генотипами в локусе гена кальпастатина (табл. 1).

Анализ динамики живой массы овец ЮМ с различными генотипами гена кальпастатина свидетельствует, что гомозиготные особи с генотипом MM во все возрастные периоды отличались более высокими показателями по сравнению с гетерозиготными сверстниками генотипа MN: при рождении – на 17,6%, в 4 мес. – на 13,7%, в 5 – на 9,5%, в 6 – на 7,0%, в 12 – на 10,5%, по настригу шерсти – на 10,8%. Наиболее интенсивный прирост живой массы наблюдался в период от рождения до отъема у животных всех

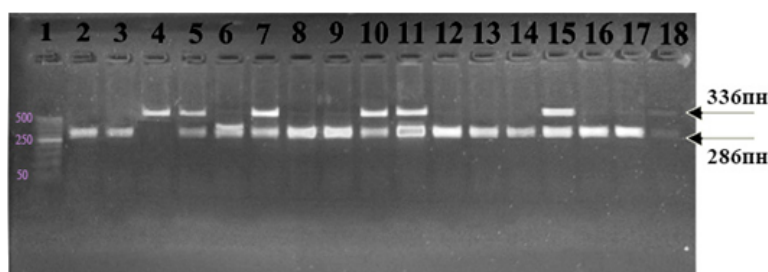


Рис. 1. Электрофореграмма результата ПЦР-ПДРФ гена кальпастатин (*CAST*) в 1,8% агарозном геле
Обозначения: 1 – ДНК-маркер 50 бп (Изоген);
2, 3, 6, 8, 9, 12, 13, 14, 16, 17 – генотип MM (336; 286 п.н.);
5, 7, 10, 11, 15 – генотип MN (622; 336; 286 п.н.);
4 – генотип NN (622 п.н.)

Fig. 1. – Amplification results of *CAST* gene in 1,8% agarose gel:
1 – DNA-marker of 50 bp (Isogene),
2, 3, 6, 8, 9, 12, 13, 14, 16, 17 – MM genotype (336; 286 bp);
5, 7, 10, 11, 15 – MN genotype (622; 336; 286 bp);
4 – NN genotype (622 bp)

Таблица 1. Динамика живой массы и шерстная продуктивность овец ЮМ с разными генотипами гена *CAST*, кг

Table 1. Live weight in different ages and wool production in southern meat sheep of different genotypes on *CAST* gene, kg

Показатели, возраст, мес.	CAST		
	MM	MN	NN
n	78	29	5
При рождении	***4,0±0,06	3,4±0,09	3,6±0,6
4	***33,1±0,43	29,1±0,78	*32,4±1,3
5	***36,9±0,09	33,7±0,68	**37,0±2,4
6	***41,1±0,51	38,6±0,69	40,6±3,2
8	49,1±0,61	49,1±0,84	50,4±3,15
12	***65,1±0,96	58,9±1,51	64,0±4,0
Настриг шерсти, кг	***4,61±0,09	4,16±0,14	4,7±0,31
Длина шерсти, см	13,6±0,16	13,4±0,29	13,8±0,4

Примечание – Достоверно *** $P < 0,001$, ** $P < 0,01$, * $P < 0,05$

генотипов и преимущество животных генотипа ММ составляло от 4,1% до 6,0% (табл. 2).

В последующие возрастные периоды, до 6-мес. возраста, овцы гетерозиготного генотипа превосходили по среднесуточному привесу живой массы генотип ММ на 19,9% ($P = 0,01$), а генотип NN – на 28,8% ($P < 0,001$), от 6 до 8 мес. – на 27,5% ($P < 0,01$) и 2,6% соответственно. По относительной скорости роста овцы генотипа MN имели более высокую интенсивность роста до 8-мес. возраста по сравнению с генотипом ММ – от 3,8% до 6,2%, а генотипом NN – от 1,5% до 2,4%.

Плодовитость овец подтверждена влиянию как генетических, так и паратипических факторов. По типу рождения в гомозиготном генотипе $CAST^{MM}$ многоплодных особей было на 16,7% меньше, чем в гетерозиготном $CAST^{MN}$, среди которых 8,9% родились в числе троен, 64,7% – двоен и 29,4% – одиночками. В гомозиготном генотипе $CAST^{MM}$ продолжительность хозяйственного использования овцематок ЮМ ($n = 24$) составляла от трех до семи ягнений, за этот период было получено 146 ягнят или 6,1 ягненка на одну матку за ее жизнь при плодовитости 148,0%. В гетерозиготном генотипе $CAST^{MN}$ плодовитость была ниже на 9,0%. В то время как в среднем на одну матку за ее жизнь было получено 6,0 ягнят, то есть в группе было больше многоплодных овцематок. Гетерозиготные генотипы овец ЮМ малочисленны и поэтому полученные данные относятся к предварительным, требующим подтверждения на репрезентативной выборке (табл. 3).

Таблица 2. Динамика скорости роста овец ЮМ при аллельных вариантах гена $CAST$

Table 2. Average daily gain in southern meat sheep of different genotypes on $CAST$ gene

Возраст, мес.	ММ		MN		NN	
	прирост в сутки, г	скорость роста, %	прирост в сутки, г	скорость роста, %	прирост в сутки, г	скорость роста, %
0-4	234,1±6,0	156,9	224,7±5,6	158,1	220,8±10,4	160,0
4-5	156,5±7,2	10,9	160,9±12,8	14,7	159,3±17,4	13,2
5-6	148,2±5,3	10,8	***177,8±9,9	13,6	138,0±7,4	9,3
6-8	136,3±5,9	17,7	***173,8±9,2	23,9	169,3±18,0	21,5
8-12	126,0±5,8	28,0	89,3±8,4	18,1	111,7±11,9	23,8

Примечание – Достоверно *** $P < 0,001$

Таблица 3. Плодовитость овцематок ЮМ породы разных генотипов гена $CAST$

Table 3. Fecundity in southern meat ewes of different genotypes on $CAST$ gene

Ген	Генотип	n	Получено ягнят, гол			Среднее количество ягнений за жизнь
			всего	на 1 матку за жизнь	за одно ягнение	плодовитость, %
CAST	ММ	24	146	6,1	1,48	148
	MN	9	54	6,0	1,39	139

Выводы. В результате экспериментальных исследований получены новые данные о полиморфизме гена $CAST$ у овец генфондного стада южной мясной породы. В субпопуляции ЮМ выявлены три генотипа с двумя аллелями с разной частотой встречаемости. Преобладание гомозиготных генотипов наблюдается в локусах генов $CAST^{MM}/_{NN}$ – 83%. По абсолютной величине живой массы гомозиготные $CAST^{MM}$ достоверно превосходили гетерозиготных $CAST^{MN}$ от рождения до отъема на 17,8%, а в 12 мес. на 10,8%, по настригу – на 10,8%. Лучшими воспроизводительными качествами обладали овцематки ЮМ породы гетерозиготного генотипа гена $CAST^{MN}$ (64,7% – двоен и 8,9% – троен) [4, 5, 6, 7].

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии у них конфликта интересов. Финансирование работы отсутствовало.

CONFLICT OF INTEREST

All authors declare no conflicts of interest. This research wasn't funded by any funds.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

- Колосов Ю.А., Абонеев В.В., Куликова А.Я., Колосова Н.Н., Абонеева Е.В. Влияние интенсивности отбора и селекционного дифференциала на живую массу и настриг шерсти овец сальской породы • *Овцы, козы, шерстяное дело*, 2023. № 2 С. 3-7. DOI: 10.26897/2074-0840-2023-2-3-7.
Kolosov Yu.A., Aboneev V.V., Kulikova A.Ya., Kolosova N.N., Aboneeva E.V. The effect of the intensity of selection and the selection differential on the live weight and shearing of the wool of Salian sheep • *Sheep, goats, wool business*, 2023. № 2 Pp. 3-7. DOI: 10.26897/2074-0840-2023-2-3-7.
- Куликова А.Я. Генетическая ассоциация полиморфизма гена гормона роста (GH) с продуктивностью овец южной мясной породы • *Овцы, козы, шерстяное дело*, 2023. № 2. С.30-33. DOI: 10.26897/2074-08402023-2-30-33.
Kulikova A.Ya. Genetical association of GH gene polymorphisms with the productivity in southern meat sheep • *Sheep, goats, wool business*, 2023. № 2. Pp. 30-33. DOI: 10.26897/2074-08402023-2-30-33.
- Куликова А.Я. Полиморфизм гена дифференциального фактора роста (GDF9) у овец южной мясной породы • *Сборник научных трудов КНЦЗВ*, 2023. Т. 12. № 2. С. 13-17. DOI: 10.48612/sbornik-2023-2-3.
Kulikova A.Ya. Polymorphisms of GDF9 gene in southern meat sheep • *Proceedings of the KRCAH-VM scientific papers*, 2023. T. 12. № 2. Pp. 13-17. DOI: 10.48612/sbornik-2023-2-3
- Лушников В.П., Фетисова Т.О., Стрильчук А.П. Полиморфизм гена $CAST$ у овец татарстанской и эдильбаевской пород • *Овцы, козы, шерстяное дело*, 2020. № 2. С. 9-11.

Lushnikov V.P., Fetisova T.O., Strilchuk A.P. *CAST* gene polymorphisms in Tatarstan and edibay sheep • *Sheep, goats, wool business*, 2020. № 2. Pp. 9-11.

5. Трухачев В.И. и др. Генетические маркеры мясной продуктивности овец (*Ovis Aries L.*). Сообщение I. мио-статин, кальпаин, кальпастатин • *Сельскохозяйственная биология*, 2018. Т. 53. № 6. С. 1107-1119.

Trukhachev V.I. et al. Genetic markers of sheep meat productivity (*Ovis Aries L.*). Message I. myostatin, calpain, calpastatin • *Agricultural biology*, 2018. Vol. 53. No. 6. Pp. 1107-1119.

6. Шевцова В.С., Куликова А.Я., Усатов А.В., Гетманцева Л.В. Поиск генов-кандидатов живой массы у овец южной мясной породы • *Генетика*, 2023. Т. 59. № 11. С. 1341-1342. DOI: 10.31857/S00166758231101039.

Shevtsova V.S., Kulikova A.Ya., Usatov A.V., Getmantseva L.V. Search for Candidate Genes for Live Weight in Sheep of the Southern Meat Breed • *Russian Journal of Genetics*, 2023. Т. 59. № 11. Pp. 1341-1342. DOI: 10.31857/S00166758231101039.

7. Greguła-Kania M. et al. Association of CAST gene polymorphism with carcass value and meat quality in two synthetic lines of sheep • *Meat science*, 2019. Т. 154. С. 69-74.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Анна Яковлевна Куликова, доктор с.-х. наук, профессор, гл. науч. сотрудник отдела разведения и генетики с.-х. животных; тел.: (960) 488-93-78, e-mail:

priemnaya@kubzv.ru. ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», 350055, Российская Федерация, г. Краснодар, п. Знаменский, ул. Первомайская, 4;

Варвара Сергеевна Шевцова, канд. биол. наук, ст. преподаватель кафедры генетики академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского; e-mail: barbaragen4@mail.ru. Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Южный федеральный университет», 344006, Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Anna Ya. Kulikova, Doctor of agricultural sciences, professor, chief researcher at Krasnodar Research Centre for Animal Husbandry and Veterinary Medicine, tel.: (960) 488-93-78, e-mail: priemnaya@kubzv.ru. 350055, Russian Federation, Krasnodar Territory, Pervomaiskaya Street, village, Znamenskii, 4;

Varvara S. Shevtsova, candidate of biological sciences, assistant professor at genetics dept. in Academy of Biology and Biotechnology at Federal State Educational Institution of Higher Education «Southern Federal University»; e-mail: barbaragen4@mail. 344006, Russian Federation, Rostov-on-Don, Prospect of Stachki, 194/1/.

Поступила в редакцию / Received 27.09.2024

Поступила после рецензирования / Revised 01.10.2024

Принята к публикации / Accepted 08.11.2024