

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА (*GDF9*) У ОВЕЦ САЛЬСКОЙ ПОРОДЫ

Ключевые слова: ген *GDF9*, сальская порода овец, плодовитость, ПЦР-ПДРФ.

Резюме: На сегодняшний день одним из перспективных генов-маркеров плодовитости овец является ген дифференциального фактора роста (*GDF9*). Целью исследований было проведение молекулярно-генетических исследований у овец сальской породы, в результате были определены аллельные варианты гена *GDF9* по точкам G1 и G4 методом ПЦР-ПДРФ.

Введение

В современных условиях одной из стратегически важных задач агропромышленного комплекса является стабилизация и конкурентоспособность животноводческого сектора [1,2]. В связи с этим внедрение в производство инновационных методов селекционно-племенной работы, использование генетических ресурсов племенных животных и улучшение воспроизводства стада имеет особое значение [5,6].

В настоящее время все большую популярность приобретают генетические маркеры, основанные на генах (гены-кандидаты), белковый продукт которых играет значительную роль в формировании или регуляции биохимических и физиологических процессов [3,4,11,12]. Сам ген при этом должен обладать различными аллельными вариантами (полиморфизмом), которые связаны с вариативностью уровня продуктивности [7,8].

Одним из перспективных генов-кандидатов, который рассматривается в качестве маркера воспроизводительной продуктивности овец, является ген дифференциального фактора роста (*GDF9*).

Ген *GDF9* у овец был определен на 5-й хромосоме [9,10]. Протяженность гена приблизительно 2,5 т.н.п. и состоит из 2 экзонов, разделенных одним интроном (1126 н.п.), кодирует пропептид из 453 аминокислот, зрелый пептид состоит из 135 аминокислот [10].

Восемь различных точечных мутаций

(G1-G8) были определены в гене *GDF9* [10]. Три мутации из восьми не приводят к изменению аминокислотной последовательности (G2, G3 и G5). Пять оставшихся нуклеотидных замен (G1, G4, G6, G7 и G8) приводят к аминокислотным заменам.

Материал и методы исследований

Исследования выполнялись на сальской породе овец в ООО «Белозерное» Сальского района Ростовской области. Исследования проводили на базе лаборатории молекулярной диагностики и биотехнологии с.-х. животных Донского государственного аграрного университета. Для проведения ДНК-генотипирования у овец (n=60) были отобраны образцы ткани площадью 1 см² (ушные выщипы). Генетический анализ проводился методом ПЦР-ПДРФ (полимеразной цепной реакции - полиморфизм длин рестрикционных фрагментов).

Выделение ДНК из проб проводили с использованием набора реагентов для выделения D1Atom DNA Prep 100 (ООО «НПФ Генлаб»). ПЦР проводили на амплификаторе Терцик. Специальные олигонуклеотидные праймеры представлены в таблице 1 [10].

Условия ПЦР: первоначальная денатурация – 2 мин при 940С; денатурация 940С - 30с, отжиг 630С - 40с, элонгация 720С – 30 с (35 циклов), завершающая элонгация при 720С 4 мин.

ПЦР-ПДРФ анализ фрагмента ге-

Таблица 1. Последовательность олигонуклеотидных праймеров

Ген <i>GDF9</i>	Праймер	Длина фрагмента, н.п.
G1	GAAGACTGGTATGGGGAAATG CCAATCTGCTCCTACACACCT	462
G4	GGAATATTACATGTCTGTAAATTTTACATGTTGG GAGGGAATGCCACCTGTGAAAAGCC	161

на GDF9-G1 длиной 462 н.п. проводили с использованием эндонуклеазы BstHNI (ООО «СибЭнзим-М»). Рестрикционные фрагменты разделяли в 2%-ном агарозном геле.

ПЦР-ПДРФ анализ фрагмента гена GDF9-G4 длиной 161 н.п. проводили с использованием эндонуклеазы Vru14 (ООО «СибЭнзим-М»). Рестрикционные фрагменты разделяли в 3%-ном агарозном геле. Визуализацию электрофореграмм проводили на трансиллюминаторе в УФ свете. Статистическую обработку данных проводили по стандартным методикам.

Результаты и обсуждение

В результате проведения молекулярно-генетических исследований у овец сальской породы были определены аллельные варианты гена GDF9 по точкам G1 (рис. 1) и G4 (рис. 2).

Таким образом, полученные результаты частот аллелей и генотипов гена GDF9 показали очень низкий уровень полиморфизма по точкам G1 и G4 в исследуемой популяции овец сальской породы (табл. 2).

У овец установлены высокие частоты аллеля G и генотипа GG по точке G1 и аллеля A и генотипа AA по точке G4 гена

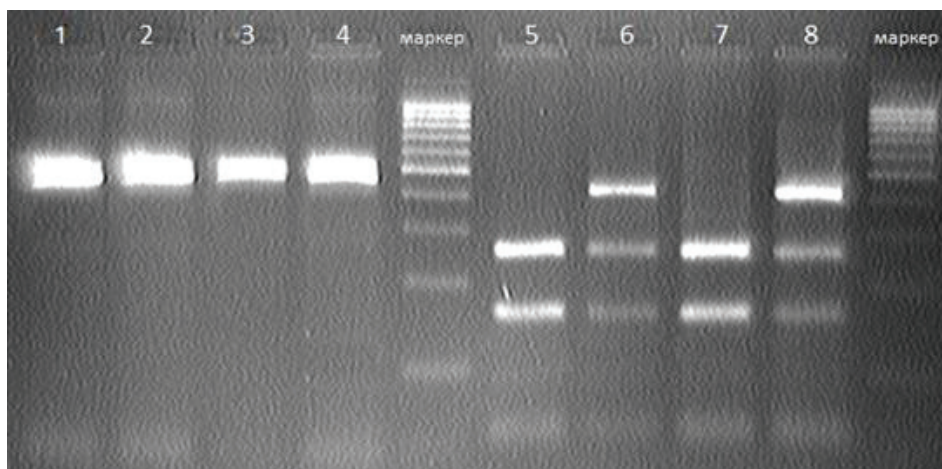


Рис. 1. Электрофореграмма результата ПЦР-ПДРФ гена GDF9/G1 в 2% агарозном геле

Обозначения: М - ДНК-маркеры 100 bp (СибЭнзим); 1-4 - ПЦР-продукт гена GDF9/G1 (462н.п.); 5,7 - генотип GG (254/117 н.п.); 6, 11 - генотип AG (410/254/117 н.п.).

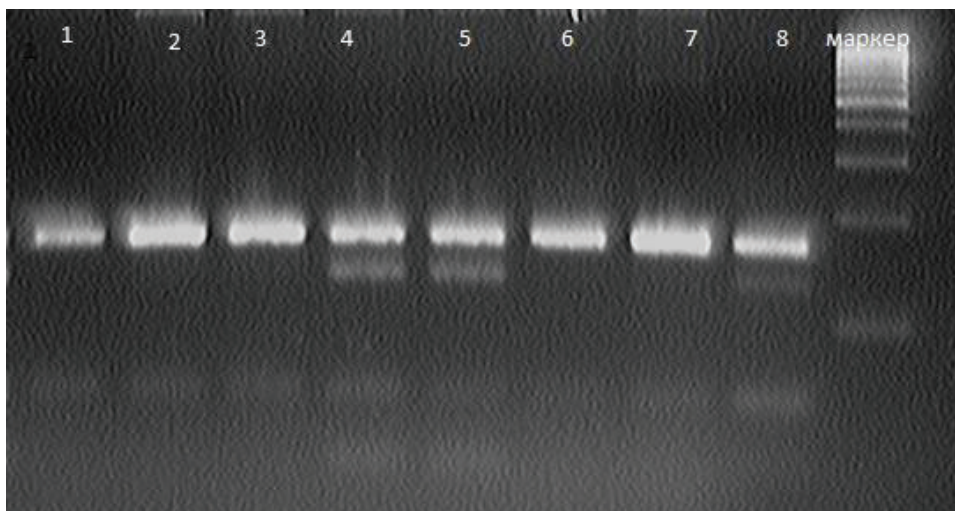


Рис. 2. Электрофореграмма результата ПЦР-ПДРФ гена GDF9/G4 в 3% агарозном геле

Обозначения: М - ДНК-маркеры 100 bp (СибЭнзим); 1-3- ПЦР-продукт гена GDF9/G4 (161 н.п.); 4,5,8- генотип AG; 6, 7 - генотип AA.

Таблица 2. Частота аллелей и генотипов гена GDF9 овец сальской породы

Ген	Аллели		Генотипы, %		
	A	G	AA	AG	GG
GDF9/G1	0,05	0,95	-	10	90
GDF9/G4	0,95	0,05	90	10	-

GDF9. Можно отметить, что все особи, гетерозиготные по точке G1, были также гетерозиготные по точке G4. Гомозиготные генотипы AA (G1) и GG (G4) в исследуемой популяции отсутствовали.

Заключение

В результате проведенных исследова-

ний нами было установлено разнообразие аллельных вариантов гена GDF9 (по точкам GDF9/G1 и GDF9/G4) у овец сальской породы. Таким образом, полученные результаты показали низкий уровень полиморфизма по исследуемым точкам.

Библиографический список:

1. Гетманцева Л.В. Влияние полиморфизма генов MC4R, IGF2 и POU1F1 на продуктивные качества свиней: автореферат диссертации кандидата сельскохозяйственных наук / Л.В. Гетманцева // Донской государственный аграрный университет, - п. Персиановский, 2012. - 24 с.
2. Гетманцева Л.В., Полиморфизм гена MUC4 и воспроизводительные качества свиней / Гетманцева Л.В., Михайлов Н.В., Колосов А.Ю., Радюк А.В. // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: Наука и высшее профессиональное образование. - 2013. - Т. 1. - № 3-1 (31). - С. 143-146.
3. Колосов Ю.А., Какие же люди «съели овец»? / Ю.А. Колосов, Д.Е. Белов // Овцы, козы, шерстное дело. - 2013. - №2. - С. 57-60.
4. Колосов Ю.А., Рост и мясные качества овец различного происхождения / Ю.А. Колосов, А.С. Дегтярь, Н.В. Широкова, В.В. Совков В.В. // Овцы, козы, шерстное дело. - 2013. - №1. - С. 32-33.
5. Колосов Ю.А. Использование генотипа меринских овец отечественной и импортной селекции для совершенствования местных меринских // Овцы, козы, шерстное дело. - 2012. - №4. - С. 13-16.
6. Колосов Ю.А., Мясные качества чистопородных и помесных баранчиков разного происхождения / Ю.А. Колосов, Н.В. Широкова // Овцы, козы, шерстное дело. - 2012. - №3. - С. 44-46.
7. Колосов Ю.А., Создание новых мясных продуктов с использованием баранины / Ю.А. Колосов, Н.В. Широкова, А.И. Баранников // Научный журнал Кубанского ГАУ [Электронный ресурс]. - Краснодар: КубГАУ 2013. - №05 (089).
8. Широкова Н.В. Генетическое детерминирование плодовитости овец / Н.В. Широкова // Молодой ученый. - 2013. - №6. - С. 785-787.
9. Hanarahan JP. Autosomal gene affecting the structure and function of the sheep ovary/irish grassland and Animal Production Association Proceedings of Agricultural Research Forum. - 2004/ 50.
10. Hanrahan, J. P., Mutations in the genes for oocyte derived growth factors GDF9 and BMP15 are associated with both increased ovulation rate and sterility in Cambridge and Belclare sheep (Ovisaries) / Hanrahan, J.P., S. M. Grogan, P. Mulsant, M. Mullen, G. H. Davis, R. Powell and S. Galloway // Biol. Reprod. - 2004. / 70: 900-909.
11. Kolosov Yu., Sheep Breeding Resources in Rostov Region / Kolosov Yu., Getmantseva L., Shirokova N // World Applied Sciences Journal. - 2013. - Т. 23 - № 10: 1322-1324.
12. Karagodina N., 2014. Influence of Various Bio-Stimulants on the Biochemical and Hematological Parameters in Porcine Blood Plasma. / Karagodina N., Y. Kolosov, A. Usatov, S. Bakoev, A. Kolosov, M. Leonova, N. Shirokova, A. Svyatogorova and L. Getmantseva, // World Applied Sciences Journal, - 2014. - 30 (6): 723-726.

References:

1. Getmantseva L.V. Vliyaniye polimorfizma genov MC4R, IGF2 i POU1F1 na produktivnyye kachestva sviney [Effect of gene polymorphism MC4R, IGF2 and POU1F1 on productive qualities of pigs]: avtoreferat dissertatsii kandidata selsk Khozyaystvennykh nauk / L.V. Getmantseva // Donskoy gosudarstvennyy agrarnyy universitet, - p. Persyanovskiy, 2012. - 24 s.
2. Getmantseva L.V., Polimorfizm gena MUC4 i vosproizvoditelnyye kachestva sviney [MUC4 gene polymorphism and reproductive qualities of pigs] / Getmantseva L.V., Mihaylov N.V., Kolosov A.Yu., Radyuk A.V. // Izvestiya Nizhnevolzhskogo agrouniversitetskogo kompleksa: Nauka i vysshee professionalnoe obrazovanie. - 2013. - T. 1. - # 3-1(31). - S. 143-146.
3. Kolosov Yu.A., Kakie zhe lyudi «s-eli ovets»? [What people are «eaten sheep»?] / Yu.A. Kolosov, D.E. Belov // Ovtsy, kozyi, sherstnoe delo. - 2013. - #2. - S. 57-60.
4. Kolosov Yu.A., Rost i myasnyye kachestva ovets razlichnogo proishozhdeniya [Growth and meat quality of sheep of different origin] / Yu.A. Kolosov, A.S. Degtyar, N.V. Shirokova, V.V. Sovkov V.V. // Ovtsy, kozyi, sherstnoe delo. - 2013. - #1. - S. 32-33.
5. Kolosov Yu.A. Ispolzovanie genofonda merinosovykh ovets otechestvennoy i importnoy selektsii dlya sovershenstvovaniya mestnykh merinosov [Using gene pool Merino sheep domestic and imported breeding to improve local merino] // Ovtsy, kozyi, sherstnoe delo. - 2012. - #4. - S. 13-16.
6. Kolosov Yu.A., Myasnyye kachestva chistopородnykh i pomeshnykh baranchikov raznogo proishozhdeniya [Meat quality purebred and crossbred rams of different origin] / Yu.A. Kolosov, N.V. Shirokova // Ovtsy, kozyi, sherstnoe delo. - 2012. - #3. - S. 44-46.
7. Kolosov Yu.A., Sozdaniye novykh myasnykh produktov s ispolzovaniem baraniny [Creation of new meat products with lamb] / Yu.A. Kolosov, N.V. Shirokova, A.I. Barannikov // Nauchnyy zhurnal Kubanskogo GAU [Elektronnyy resurs]. - Krasnodar: KubGAU,

2013. - #05 (089). fertility of sheep] / N.V. Shirokova // Molodoy
 8. Shirokova N.V. Geneticheskoe determinirovanie ucheniy. - 2013. - #6. - S. 785-787.
 plodovitosti ovets [Genetic determination of the 9. - 12. Vide supra.

Kolosov Yu. A., Getmantseva L. V., Shirokova N. V. GDF9 POLYMORPHISM IN SALSCK BREED SHEEP

Key Words: GDF9, Salsk sheep breed, fecundity, PCR-RFLP.

Abstract: Today growth differential factor gene (GDF9) is considered one of the most promising marker genes of fecundity in sheep. This research focused on molecular and genetic study in Salsk breed sheep and resulted in detection of allelic variants of GDF9 gene at G1 and G4 points using PCR-RFLP method.

Сведения об авторах:

Колосов Юрий Анатольевич, доктор сельскохозяйственных наук, профессор Донского государственного аграрного университета, 346493 Ростовская область, Октябрьский р-н п. Персиановский.

Гетманцева Любовь Владимировна, кандидат сельскохозяйственных наук, заведующая лабораторией молекулярной диагностики и биотехнологии с.-х. Донского государственного аграрного университета, 346493 Ростовская область, Октябрьский (с) район, п. Персиановский, e-mail: ilonaluba@mail.ru

Широкова Надежда Васильевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики и биотехнологии с.-х. животных Донского государственного аграрного университета, 346493 Ростовская область, Октябрьский (с) район, п. Персиановский, e-mail: nadya.shirokova@yandex.ru.

Author affiliation:

Yuri Kolosov, Doctor of Agricultural Sciences, Professor Don State Agrarian University 346493 Rostov region, October r n. Persianovsky.

Lyubov Getmantseva, Candidate of Agricultural Sciences, Head of the Laboratory of Molecular Diagnostics and Biotechnology of agricultural Don State Agrarian University, 346493 Rostov region, October (c) District., Persianovsky e-mail: ilonaluba@mail.ru

Nadine Shirokova, PhD, Researcher, Laboratory of Molecular Diagnostics and Biotechnology of agricultural Animal Don State Agrarian University, 346493 Rostov region, October (c) District., Persianovsky. E-mail: nadya.shirokova@yandex.ru

УДК 636.22/28.082

Приступа В.Н., Колосов А.Ю., Казьмин А.В., Приступа Е.Н., Бабкин О.А.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ МОЛОДНЯКА ВНОВЬ СОЗДАВАЕМЫХ ЛИНИЙ КАЛМЫЦКОЙ ПОРОДЫ

Ключевые слова: компьютерные программы, калмыцкая порода, заводская линия, родственная группа, мясная продуктивность.

Резюме: В статье представлены новые данные, полученные на основании разработанного авторами комплекса компьютерных программ и проведенного анализа созданной электронной базы данных 60 тыс. голов скота донской популяции калмыцкой породы. С их помощью восстановлены генеалогические связи и проведен сравнительный анализ выращивания и формирования мясной продуктивности у молодняка заводских генеалогических линий и вновь создаваемых родственных групп Пирата 6626 и Похвального 8643. Их потомки в 15-месячном возрас-