УДК 636.082.11:636.22/28.082.13

DOI: 10.31563/1684-7628-2018-48-4-59-64

К.М. Джуламанов, М.И. Селионова, Н.П. Герасимов

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОПУЛЯЦИИ ГЕРЕФОРДСКОГО СКОТА

Ключевые слова: *герефордская порода; популяция; ДНК-маркер; генотип; аллель; генетическая дистанция.*

Введение. В современном мясном скотоводстве наиболее перспективным направлением, обеспечивающим интенсификацию отрасли, является создание внутривидовых типов мясного скота. В исследованиях сельскохозяйственных животных выделяется ряд новых направлений с использованием сочетания сложившихся классических методов селекции с современными методами биохимической генетики. Анализ мировых информационных данных позволил выявить ряд потенциальных ДНК-маркеров продуктивных признаков крупного рогатого скота, для определения полиморфизма которых были разработаны аналитические тест-системы [3–4]. Исследования показали полиморфизм основных ДНК-маркеров, при этом частоты встречаемости желательных аллелей характеризовались заметно высоким размахом изменчивости в зависимости от используемой селекционной программы. Оценка генетической структуры герефордского скота, а также прогноз влияния генотипов некоторых ДНК-маркеров на продуктивные показатели животных желательного типа скота представляют интерес. Актуальность этого вопроса возрастает и в связи с тем, что в герефордской породе создается новый внутривидовой тип мясного скота с высокими племенными качествами и приспособленный к экстремальным условиям резкоконтинентального климата значительной зоны разведения.

Цель исследования – анализ однонуклеотидного полиморфизма ДНК-маркеров у герефордского скота российской популяции и формирование банка ДНК животных для проведения популяционно-генетических исследований.

Материал и методы исследований. Исследования проведены на выборке животных (быки-производители, коровы, бычки, тёлки) герефордской породы из ООО «Агрофирма Калининская», ОАО «Птицефабрика Челябинская» Челябинской области и ОАО «Белокопанское», СПК «Племзавод «Родина» Ставропольского края. Для определения полиморфизма генов CAPN 1, CAST, GDF 5, TG 5, bGH у подопытных животных брали пробы крови из яремной вены. Кровь вносили в пробирки с 600 мкл этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) до получения объёма 10 мл. Образцы ДНК выделены из

цельной крови с использованием набора реагентов «DIAtomtm DNA Prep 200» (IsoGene Lab, Москва). Для проведения полимеразной цепной реакции использовали набор GenePaktm PCR Core (IsoGene Lab, Москва) и набор Encyclo PCR kit (фирма «Evrogen», Москва). Праймеры синтезированы в НПФ «Литех». Нуклеотидная последовательность праймеров представлена в таблице 1.

Частоту встречаемости генотипов определяли по формуле:

$$p = n/N, \quad (1)$$

где p – частота генотипа, n – количество особей, имеющих определённый генотип, N – число особей.

Частоту отдельных аллелей определяли по формуле:

$$\begin{aligned} P_A &= (2n_{AA} + n_{AB}) \div 2N; \\ q_B &= (2n_{BB} + n_{AB}) \div 2N, \end{aligned} \quad (2)$$

где P_A – частота аллеля А, q_B – частота аллеля В, N – общее число аллелей.

По закону Харди – Вайнберга рассчитывали ожидаемые частоты генотипов в исследуемой популяции. Статобработку данных, кластерный анализ проводили с использованием программ STATISTICA 6.0. Уровень достоверности результатов определяли по критерию χ^2 .

Результаты и обсуждение исследований.

Генетическая характеристика популяции герефордского скота по генам CAPN 1, CAST, GDF 5, TG 5, bGH представлена в таблице 2. Многочисленными исследованиями показана связь полиморфизма в гене CAPN1 с нежностью мяса [9].

ДНК-диагностикой герефордов по локусу гена CAPN1 установлена максимальная частота генотипа GG в популяции, составляющая 63,2 %. Гомозиготный вариант CC встречается у 7,9 % животных, а гетерозиготный CG – у 28,9 % особей. При этом частота аллеля G достигает 77,6 %, что превышает распределение аллеля C на 55,2 %. Анализ полиморфизма гена кальпаина у мясных пород скота показал изменчивость концентрации G-аллеля в пределах 0,663–0,730 [1].

Фермент кальпаастатин, кодируемый геном CAST, является ингибитором μ -кальпаина и также ответственен за формирование нежности

мяса [12]. Исследование полиморфизма гена CAST показало высокое распространение животных с генотипом CC – 70,0 %, превосходящее концентрацию гомозигот GG на 60 %. В то же время 20 % герефордов являются носителями гетерозиготного варианта. Частота распространения С-аллеля гена CAST в популяции герефордского скота составляет 80,0 %. Схожее распределение аллелей (C = 0,72 и G = 0,28) у мясного скота установлено в работе A. L. Van Eenennaam et al. (2007). Дифференцирующий фактор роста иг-

рает решающую роль в морфогенезе костей, связок и сухожилий [10]. При одинаковых условиях кормления и содержания межгрупповые различия по живой массе герефордов разных типов телосложения наиболее полно характеризовались особенностью весового и линейного роста с возрастом. При этом нельзя особо не отметить тот факт, что максимальная концентрация желательного аллеля гена GDF5 установлено в группе высокорослых бычков, потомков быков-производителей канадской селекции.

Таблица 1 Специфические однонуклеотиды и программа проведения ПЦР

Ген	Праймеры
CAPN1	F: 5'-AGCAGCCCACCATCAGAGAAA-3' R: 5'-TCAGCTGGTTCGGCAGAT-3'
CAST	5'-TGGGGCCCAATGACGCCATCGATG-3' 5'-GGTGGAGCAGCACTTCTGATCACC-3'
GDF 5	5'-TGTCCGATGCTGACAGAAAGG-3' 5'-GAGTGAGGTTAATCCAGATACCA-3'
TG5	F: 5'-GTGAAAATCTGTGGAGGCTGTA-3' R: 5'-GGGGATGACTACGAGTATGACTG-3'
bGH	F: 5'-ATCCACACCCCTCCACACAGT-3' R: 5'-CATTTTCCACCCTCCCCTACAG-3'

Таблица 2 Полиморфизм генов у герефордского скота

Частота генотипов, %			Частота аллелей, %		Ожидаемая гетерозиготность (H _e), %	Оценка избытка гетерозигот (D)	χ ²
CAPN1 (n = 114)							
GG	CG	CC	G	C	34,7	−0,166	0,028
63,2	28,9	7,9	77,6	22,4			
CAST (n = 60)							
CC	CG	GG	C	G	32,0	−0,375	0,141
70,0	20,0	10,0	80,0	20,0			
GDF5 (n = 44)							
AA	AC	CC	A	C	10,7	−0,788	0,621
93,2	2,3	4,5	94,3	5,7			
TG5 (n = 81)							
CC	CT	TT	C	T	26,1	−0,196	0,038
74,1	21,0	4,9	84,6	15,4			
bGH (n = 89)							
VV	LV	LL	V	L	45,7	−0,337	0,113
20,2	30,3	49,4	35,4	64,6			

В условиях интенсификации производства мясной продукции повысились требования к экстерьеру и конституции животных мясного направления продуктивности. Особое значение приобретает максимальная стандартизация животных по крупности формата туловища [2, 6–7]. Выделение животных желательного экстерьерного типа с выявлением ассоциации генов с количественными и качественными характеристиками продуктивности поддерживает отбор, распространение и конкуренцию в племенных стадах желательных аллелей.

Характеристика генетической изменчивости локуса гена GDF5 свидетельствует о преобладании животных с генотипом AA в изучаемой популяции. Встречаемость гомозиготного варианта CC составляла только 4,5 %, а гетерозигот-

ный генотип выявлен лишь у 2,3 % животных. Такое распределение генотипов было связано с довольно большой разницей в концентрации А и С аллелей – 94,3 и 5,7 % соответственно. Ген TG5 контролирует выработку тиреоглобулина, который оказывает значительное влияние на жировой метаболизм. В связи с этим ген рассматривается в качестве маркера мраморности мяса [8]. Аллельный полиморфизм гена тиреоглобулина (TG5) характеризуется высокой концентрацией гомозиготного генотипа CC (74,1 %) и средней гетерозиготного СТ (21,0 %). Особи-носители гомозиготного варианта TT составляют всего 4,9 % популяции. При этом минимальная встречаемость зафиксирована у Т-аллеля гена TG5 (15,4 %). Это согласуется с исследованиями полиморфизма гена тиреоглобулина у герефорд-

ского скота, проведёнными Л.Г. Сурундаевой (2016). Гормон роста крупного рогатого скота оказывает влияние на интенсивность приростов живой массы, тип телосложения, молочную продуктивность и здоровье животных [11]. Изучение вариативности генотипов по гену гормона роста (bGH) показало, что концентрация гомозигот находится в пределах 20,2–49,4 % при максимальном значении варианта LL и минимальном VV. Встречаемость аллеля V у исследуемой группы животных достигала 35,4 %, аналогичный показатель аллеля L находился на уровне 64,6 %. В исследованиях Yoon et al. (2003) частота рецессивного аллеля гена гормона роста у герефордов, ангусов, шароле, голштин, симменталов, лимузинов находилась в пределах 0,000–0,054. В то же время концентрация аллеля L у крупного рогатого скота варьировала от 0,520 до 0,867 [13]. Степень генетического разнообразия в популяции мясного скота определяет эффективность направленной селекции по маркерам мясной продуктивности путём подбора и отбора, формируя стада с высокой племенной ценностью. Максимальная гетерозиготность среди исследуемых генетических маркеров в популяции герефордского скота наблюдалась по генам CAPN1 и bGH, которая варьировала в пределах 0,289–0,303 (таблица 2). Минимальной гетерогенностью отличался ген GDF5. Следует отметить дефицит гетерозигот по всем изучаемым генетическим маркерам, а наиболее высокая нехватка наблюдалась по гену GDF5. Liu et al. (2010) установили широкий диапазон изменчивости гетерозиготности (0,046–0,499) по гену GDF5 в разрезе пород. В свою очередь Shi et al. (2011) отмечали, что в популяциях мясного скота Китая гетерозиготность по гену CAPN1 находилась в пределах 0,4735–0,4957.

С уменьшением гетерозиготности отмечается снижение числа эффективных аллелей (рисунок 1). В результате понижается генетическое

разнообразие популяции. В наших исследованиях минимальное число эффективных аллелей (1,120) установлено в гене GDF5. Относительно высокое число эффективных аллелей зафиксировано по гормону соматотропину (1,843).

Информация по генетическому полиморфизму в отдельных племенных стадах по разведению герефордского скота была использована для исследования сходства и различия в разных субпопуляциях (рисунок 2). Результаты кластерного анализа по изучаемым генам-маркерам свидетельствуют о чёткой дифференциации стад на уральскую и северокавказскую субпопуляции, дистанция между которыми превышает 0,20 единиц. В то же время отмечается достаточно высокая консолидация поголовья герефордов из племзаводов «Белокопанское» и «Родина», генетическое расстояние между ними составляет 0,12 единиц. Сравнительно большая изменчивость частоты изучаемых ДНК-маркеров установлена в стадах уральской субпопуляции.

Анализ сходства и различия изучаемых популяций герефордов по антигенным факторам крови выявил несколько иную закономерность (рисунок 3).

Так, достаточно консолидированный кластер образован тремя племзаводами «Птицефабрика Челябинская», «Родина» и «Белокопанское». Интенсивное насыщение крови поголовья «АФ Калининская» канадской генетикой достаточно сильно отделили стадо по антигенному спектру от хозяйств, совершенствование племенного потенциала которых основывается преимущественно за счёт внутренних ресурсов. Наиболее высокая генетическая дистанция (0,89 ед.) установлена между стадами «АФ Калининская» и «Белокопанское». В то же время максимальное сходство (0,61 ед.) по частоте антигенов выявлено среди особей-представителей «Птицефабрика Челябинская» Челябинской области и «Родина» Ставропольского Края.

Рисунок 1
Эффективное число аллелей генов CAPN1, CAST, GDF5, TG5, bGH у герефордского скота

Рисунок 2

Генетические дистанции между стадами герефордской породы по частотам аллелей ДНК-маркеров

Рисунок 3

Генетические дистанции между стадами герефордской породы по частотам антигенов крови

Выводы. При проведении селекционных мероприятий обычными зоотехническими методами необходимо учитывать частоту встречаемости аллелей и генотипов. Животные-носители ценных аллелей могут быть использованы при подборе родительских пар для получения бычков и тёлочек с наилучшими показателями весового и линейного роста. Исследования

молекулярно-генетических основ реализации генотипа племенных животных будут направлены на расширение и повышение эффективности использования высокоценных герефордов в селекции.

Исследования выполнены в соответствии с планом НИР на 2018–2020 годы ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН № 0761-2018-0009.

Библиографический список

1. Косян, Д.Б. Использование метода ПЦР для генотипирования крупного рогатого скота по гену *CAPN1* с использованием генетических маркеров [Текст] / Д.Б. Косян, Л.Г. Сурундаева, Л.А. Маевская, Е.А. Русакова, О.В. Кван // Вестник ОГУ. 2012. № 6 (142). С. 26–30.
2. Масалимов, И.А. Экстерьерная оценка молодняка бестужевской породы и её помесей с

породой салерс и обрак [Текст] / И.А. Масалимов, И.В. Миронова // Вестник Башкирского государственного аграрного университета. 2012. № 4 (24). С. 40–42.

3. Мирошников, С.А. Оценка взаимосвязи полиморфизма гена *CAPN1* с гематологическими показателями и характеристикой неспецифического иммунитета крупного рогатого

скота [Текст] / С.А. Мирошников, Д.Б. Косян, Л.Г. Сурундаева, Е.А. Русакова // Современные проблемы науки и образования. 2017. № 6. С. 258.

4. Седых, Т.А. Полиморфизм микросателлитных локусов крупного рогатого скота герефордской породы различных эколого-генетических генераций [Текст] / Т.А. Седых, Е.А. Гладырь, И.Ю. Долматова, В.В. Волкова, Р.С. Гизатуллин, Н.А. Зиновьева // Вестник АПК Ставрополя. 2014. № 3 (15). С. 121–128.

5. Сурундаева, Л.Г. Аллельный полиморфизм гена тиреоглобулина у крупного рогатого скота мясных пород [Текст] / Л.Г. Сурундаева // Вестник мясного скотоводства. 2016. № 3 (95). С. 47–53.

6. Тагиров, Х.Х. Изменение промеров тела и особенности экстерьера молодняка чёрнопёстрой породы и её помесей с породой обрак [Текст] / Х.Х. Тагиров, Л.А. Гильмияров, И.В. Миронова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2011. Т. 1. № 29-1. С. 85–87.

7. Тагиров, Х.Х. Факторы, влияющие на мясную продуктивность молодняка крупного рогатого скота [Текст] / Х.Х. Тагиров, Н.В. Гизатова // Вестник мясного скотоводства. 2009. Т. 2. № 62. С. 164–171.

8. Panier L., Mullen A.M., Hamill R.M., Stapleton P.C., Sweeney T. (2010) Association analysis of nucleotide polymorphisms in DGAT1, TG and FABP4 genes and intramuscular fat in cross-bred Bos taurus cattle. J. Meat. Sci. V. 85. № 3. P. 515–518.

9. Casas E., White S.N., Wheeler T.L., Shackelford S.D., Koohmaraie M., Riley D.G., Chase C.C. Jr., Johnson D.D., Smith T.P.L. (2006). Effects of calpastatin and micro-calpain markers in beef cattle on tenderness traits. J. Anim. Sci. 84: 520–525.

10. Chen X., Zankl A., Niroomand F., Liu Z., Katus H.A., Jahn L., Tiefenbacher C. (2006). Up-regulation of ID protein by growth and differentiation factor 5 (GDF5) through a smad-dependent and MAPK-independent pathway in HUVSMC. J. Mol. Cell. Cardiol. 41: 26–33.

11. Ge W., Davis M.E., Hines H.C., Irvin K.M. and Simmen R.C. (2003). Association of single nucleotide polymorphisms in the growth hormone receptor genes with blood serum insulin-like growth factor I concentration and growth traits in Angus cattle. J. Anim. Sci. 81: 641–648.

12. Koohmaraie M. (1996). Biochemical factors regulating the toughening and tenderization process of meat. J. Meat Sci. 43: S193–S201.

13. Lee B.K., Lin G.F., Crooker B.A. et al. (1996). Association of somatotropin (bst) gene polymorphism at the 5th exon with selection for milk yield in Holstein cows. J. Domestic Anim. Endocrinol. V. 13 No. 4. P. 373–381.

14. Liu Y.F., Zan L.S., Li K., Zhao S.P., Xin Y.P., Lin Q., Tian W.Q., Wang Z.W. (2010). A novel polymorphism of GDF5 gene and its association with body measurement traits in Bos taurus and Bos indicus breeds. Mol. Biol. Rep. 37: 429–434.

15. Shi M., Gao X., Ren H., Yang Z., Wu H., Li J., Zhang L., Gao H., Li J., Xu S. (2011). Association analysis of CAPN1 gene variants with carcass and meat quality traits in Chinese native cattle. Afr. J. Biotechnol. Vol. 10 (75), pp. 17367–17371.

16. Van Eenennaam A., Li J., Thallman R., Quaas R., Dikeman M., Gill C., Franke D., Thomas M. (2007). Validation of commercial DNA tests for quantitative beef quality traits. J. Anim. Sci. 85 (4): 891–900. DOI: 10.2527/jas.2006-512.

17. Yoon D.H., Kim T.H., Lee K.H., Park E.W., Lee H.K., Cheong I.C. and Hong K.C. (2003). A missense mutation in exon 5 of the bovine growth hormone gene. J. Anim. Sci. Technol. (Kor) 45: 13–22.

Сведения об авторах

1. **Джуламанов Киниспай Мурзагулович**, доктор сельскохозяйственных наук, зав. лабораторией селекции мясного скота, ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук», 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, тел.: 8 (3532) 43-46-41, e-mail: kinispai.d@yandex.ru.

2. **Селионова Марина Ивановна**, доктор биологических наук, профессор РАН, ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр», 356241, Ставропольский кр., Шпаковский р-н, г. Михайловск, ул. Никонова, д. 49, тел.: +7 (8652) 71-70-33, e-mail: priemnaya@sniizhk.ru.

3. **Герасимов Николай Павлович**, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник отдела разведения мясного скота, ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук», 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, тел.: 8 (3532) 43-46-41, e-mail: nick.gerasimov@rambler.ru.

Целью исследования являлся анализ однонуклеотидного полиморфизма ДНК-маркеров у герефордского скота российской популяции и формирование банка ДНК животных для проведения популяционно-генетических исследова-

ний. В статье обобщены результаты исследований полиморфизма потенциальных ДНК-маркеров локусов количественных признаков герефордского скота. Приведены данные о частотах встречаемости желательных аллелей генов

CAPN 1, CAST, GDF 5, TG 5, bGH. Исследование полиморфизма гена CAST, ответственного за формирование нежности мяса, показало достаточно высокое распространение животных с генотипом CC – 0,700. Значительная гетерозиготность среди изучаемых генетических маркеров в популяции герефордского скота наблюдалась по генам CAPN1 и bGH, которая колебалась

в пределах 0,289–0,303. Минимальное число эффективных аллелей (1,120) установлено в гене GDF5, наоборот, высокое число (1,843) – по bGH. Результаты кластерного анализа по изучаемым генам-маркерам свидетельствуют о четкой дифференциации стад на уральскую и северокавказскую субпопуляции, дистанция между которыми превышала 0,20 единиц.

K. Dzhulamanov, M. Selionova, N. Gerasimov

THE GENETIC CHARACTERISTIC OF HEREFORD CATTLE POPULATION

Key words: *Hereford breed; population; DNA-marker; genotype; allele; genetic distance.*

Authors' personal details

1. **Dzhulamanov Kinispay**, Doctor of agricultural sciences, head of the beef cattle selection laboratory, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 460000, Russia, Orenburg, Deviatoe Yanvary St., 29, phone: 8 (3532) 43-46-41, e-mail: kinispai.d@yandex.ru.

2. **Selionova Marina**, Doctor of biological sciences, professor of the Russian Science Academy, North-Caucasian Federal Agrarian Research Centre, 356241, Stavropol ter., Mikhailovsk, Nikonov street, 49, phone: +7 (8652) 71-70-33, e-mail: priemnaya@sniizhk.ru.

3. **Gerasimov Nikolay**, Candidate of agricultural sciences, senior researcher of the beef cattle breeding department, Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences, 460000, Russia, Orenburg, Deviatoe Yanvary St., 29, phone: 8 (3532) 43-46-41, e-mail: nick.gerasimov@rambler.ru.

The aim of the study was to analyze the single nucleotide polymorphism of DNA markers in Russian population of Hereford cattle and to form the DNA bank of animals to conduct population and genetic researches. The article summarizes the results of potential DNA markers polymorphism of quantitative traits loci in Hereford cattle. The desirable allelic frequencies of the genes CAPN 1, CAST, GDF 5, TG 5, bGH is presented. The study of CAST gene polymorphism responsible for meat tenderness showed a high prevalence of animals with the CC

genotype – 0,700. Significant heterozygosity was observed in CAPN1 and bGH genes among the studied genetic markers in the Hereford population, which ranged from 0,289–0,303. Minimum effective number of alleles (1,120) was established in GDF5 gene, on the contrary, the highest number (1,843) in bGH. The cluster analysis results of the marker's genetic frequencies indicate a clear differentiation of the herds into Ural and North Caucasian subpopulations, the distance between them being more than 0,20 units.

© Джуламанов К.М., Селионова М.И., Герасимов Н.П.