

УДК:636.3.082.25

DOI 10.30914/2411-9687-2022-8-1-49-53

АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА GDF9 У БАРАНОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ ПОРОДЫ РОССИЙСКИЙ МЯСНОЙ МЕРИНОС

О. Н. Онищенко

Ставропольский государственный аграрный университет, г. Ставрополь, Российская Федерация

Аннотация. Введение. В статье представлены результаты исследования полиморфизма гена дифференциального фактора роста (GDF9) у баранов-производителей породы российский мясной меринос в условиях хозяйств племязавода имени Ленина и СХА (колхоз) «Родина» Арзгирского и Апанасенковского районов Ставропольского края. **Цель данной статьи:** определение полиморфизма гена дифференциального фактора роста – GDF9 у баранов-производителей породы российский мясной меринос с применением метода ПЦР-ПДРФ. **Материалы и методы.** Молекулярно-генетические исследования проводились на базе лаборатории иммуногенетики и ДНК-технологий ВНИИОК – филиала ФГБНУ «Северо-Кавказский ФНАЦ». На сегодняшний день одним из перспективных генов-маркеров плодовитости овец является ген дифференциального фактора роста (GDF9). **Результаты** полученных данных свидетельствуют о проявлении полиморфных вариантов гена GDF9, что позволяет предположить о возможности их дальнейшего использования при организации исследований, направленных на выявление взаимосвязи уровня продуктивности с выявляемыми генотипами. Современные молекулярно-генетические исследования позволяют повышать точность оценки и прогнозирования продуктивных качеств животных. **Заключение.** Анализ ПЦР-диагностики показывает то, что полиморфизм гена GDF9 представлен аллелями, у которых имеется разная частота встречаемости, а именно 0,29 и 0,71. Гомозиготные генотипы присутствуют в исследуемой группе животных – 28,6 % и 71,4 %, что нельзя сказать о гетерозиготном генотипе, который отсутствует у баранов-производителей данной выборки. Результат проведения ДНК-диагностики выборки баранов-производителей указывает о средней степени гомозиготности (Ca) гена GDF9, который составил 59,18 % в локусе. Основные факторы, такие, как невысокое количество желательных аллелей (Na), полное отсутствие гетерозигот в локусах гена GDF9, низкие уровни ожидаемой (Hex) и отсутствие наблюдаемой (Hobs) гетерозиготности гена GDF9, а также показатели генетической изменчивости (V), говорят об изменении генетического равновесия. Данные, полученные о наличии аллельных вариантов гена (GDF9) в рассматриваемой выборке животных, указывают на потенциальную возможность использования рассматриваемого гена в маркерной селекции.

Ключевые слова: генотипирование, локус, полиморфизм, дифференциальный фактор роста GDF9, генетическая изменчивость, бараны-производители, частота аллелей, молекулярно-генетические методы, генотип

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Онищенко О. Н. Анализ полиморфизма гена GDF9 у баранов-производителей породы российский мясной меринос // Вестник Марийского государственного университета. Серия «Сельскохозяйственные науки. Экономические науки». 2022. Т. 8. № 1. С. 49–53. DOI: <https://doi.org/10.30914/2411-9687-2022-8-1-49-53>

ANALYSIS OF THE GDF9 GENE POLYMORPHISM IN RAMS OF THE RUSSIAN MERINO MEAT BREED

O. N. Onishchenko

Stavropol State Agrarian University, Stavropol, Russian Federation

Abstract. Introduction. The article presents the results of a study of the polymorphism of the growth differential factor gene (GDF9) in rams of the Russian Merino meat breed in the conditions of the farms of the Lenin stud farm and the Rodina collective farm of the Arzgirsky and Apanasenkovsky districts of the Stavropol Territory. **The purpose of this article:** determination of the polymorphism of the differential growth factor gene - GDF9, in sires of the Russian meat merino breed using the PCR-RFLP method. **Materials and methods.** Molecular genetic studies were carried out on the basis of the laboratory of immunogenetics and

DNA technologies of VNIIOK, a branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution “North Caucasian FSAC”. Today, one of the promising marker genes for sheep fertility is the growth differential factor gene (GDF9). **Results.** According to the data obtained, the nature of the manifestation of polymorphic variants of the GDF9 gene suggests the possibility of their further use in the organization of studies aimed at identifying the relationship between the level of productivity and the detected genotypes. Modern molecular genetic studies make it possible to improve the accuracy of assessing and predicting the productive qualities of animals. **Conclusion.** Analysis of PCR diagnostics shows that the GDF9 gene polymorphism is represented by alleles which have different frequencies of occurrence, namely 0.29 and 0.71. Homozygous genotypes are present in the studied group of animals – 28.6 % and 71.4 %, which cannot be said about the heterozygous genotype, which is absent in rams of this sample. The result of the DNA diagnostics of a sample of rams indicates the average degree of homozygosity (Ca) of the GDF9 gene, which was 59.18 % in the locus. The main factors, such as the low number of desirable alleles (Na), the complete absence of heterozygotes in the GDF9 gene loci, the low levels of expected (Hex) and the absence of observed (Hobs) heterozygosity of the GDF9 gene, as well as indicators of genetic variability (V), indicate a change in the genetic balance. The data obtained on the presence of allelic variants of the gene (GDF9) in the considered sample of animals indicate the potential use of the considered gene in marker selection.

Keywords: genotyping, locus, polymorphism, growth differential factor GDF9, genetic variability, rams, allele frequency, molecular genetic methods, genotype

The author declares no conflict of interests.

For citation: Onishchenko O. N. Analysis of the GDF9 gene polymorphism in rams of the Russian Merino meat breed. *Vestnik of the Mari State University. Chapter “Agriculture. Economics”*, 2022, vol. 8, no. 1, pp. 49–53. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.30914/2411-9687-2022-8-1-49-53>

Введение

Первостепенной задачей агропромышленного комплекса в современных условиях развития считается стабильное развитие и конкурентоспособность животноводческих предприятий, которые активно решают данную задачу [1; 2; 3; 5], поэтому внедрение современных методов селекционно-племенной работы, применение генетических ресурсов племенных животных, а также усовершенствование воспроизводства стада приобретают важное значение [4; 6; 7].

Усовершенствованные направления в овцеводстве основаны на применении новейших способов использования ДНК-технологий. В свою очередь это дает гарантию рентабельности данной отрасли. Селекция, основанная на маркерах, считается значимым фактором развития генетики, которая предполагает применение ДНК-маркеров, связанных с продуктивностью сельскохозяйственных животных. Использование технологий ДНК-маркеров активно находит применение в селекционных программах ряда стран с развитой овцеводческой базой [10; 11].

Полиморфизм является степенью генетической изменчивости популяции. В принципе полиморфизма находятся такие фундаментальные

процессы, как адаптация, эволюция, которые связаны с селекционным процессом, и дают возможность определить механизм приспособления к окружающей среде и на основе принципа сделать целенаправленное селекционное воздействие [5; 7].

Основной целью данного исследования является изучение полиморфизма гена дифференциального фактора роста – GDF9 у баранов-производителей породы российский мясной меринос, разводимой в Ставропольском крае. Исследование дифференциального фактора роста (GDF9) открывает большие возможности в отрасли овцеводства. В современных условиях данный ген рассматривается в качестве маркера воспроизводительной продуктивности и связан с энергией роста у овец [8; 9].

Цель: определение полиморфизма гена дифференциального фактора роста – GDF9, у баранов-производителей породы российский мясной меринос с применением метода ПЦР-ПДРФ.

Материал и методы исследований

Исследования проведены на баранах-производителях (n = 7) породы российский мясной

меринос по гену *GDF9* (*дифференциальный фактор роста*) в условиях хозяйств племзавода имени Ленина Арзгирского и СХА (колхоз) «Родина» Апанасенковского районов Ставропольского края. Молекулярно-генетические исследования проводились на базе лаборатории иммуногенетики и ДНК-технологий ВНИИОК – филиала ФГБНУ «Северо-Кавказский ФНАЦ» (Свидетельство ПЖ – 77N008326 от 18.04.2018 г.), методом ПЦР-ПДРФ (полимиразно-цепная реакция – полиморфизм длин рестриционных фрагментов) на четырехканальном программируемом термоциклере «Терцик» фирмы «ДНК-технология» (Россия) с использованием специфических праймеров, синтезированных в научно-производственной лаборатории

«СИНТОЛ» Москва). В качестве биоматериала была использована ДНК баранов-производителей вышеуказанных хозяйств породы российский мясной меринос с использованием наборов для выделения ДНК «*DiatomtmDNAPrep100*» по методике, которая была представлена изготовителем (*IsoGeneLab*, Москва). В целях ПЦР-диагностики использовались комплексы наборов «*GenePakPCRCore*», (*IsoGeneLab*, Москва). В агарозном геле (2,0–4,0 %) длина и значение фрагментов рестрикции в присутствии 10,0 мкл 10,0 % бромистого этидия определялись методом гель-электрофореза при УФ-свете. Определение полиморфизма гена осуществлялось с использованием эндонуклеазы рестрикции – *Bst*НН1 (табл. 1).

Таблица 1 / Table 1

Олигонуклеотидная последовательность праймеров /
Oligonucleotide sequence of primers

Ген / Gene	Нуклеотидная последовательность / Nucleotide sequence	Амплификация (п.н.) / Amplification (p.n.)
GDF9	F:5'- GAAGACTGGTATGGGGAAATG-3' R:5'-CCAATCTGCTCCTACACACCT -3'	462

Результаты

Анализ ПЦР-диагностики показывает то, что полиморфизм гена *GDF9* представлен аллелями *GDF9^A* и *GDF9^G* у которых имеется разная частота встречаемости, а именно 0,29 и 0,71. Гомо-

зиготные генотипы *GDF9^{AA}* и *GDF9^{GG}* присутствуют в исследуемой группе животных – 28,6 % и 71,4 %, что нельзя сказать о гетерозиготном генотипе *GDF9^{AG}*, который отсутствует у баранов-производителей данной выборки (табл. 2).

Таблица 2 / Table 2

Аллельный профиль генов у баранов-производителей породы российский мясной меринос /
Allelic profile of genes in sires of the Russian Merino meat breed

Ген-маркер / Gene-marker	Генотип / Genotype	Количество животных (n) / Number of animals (n)	Частота встречаемости / Frequency of occurrence	
			генотипа, % / genotype, %	аллели / alleles
GDF9	AA*	2	28,6	A 0,29±0,04 G 0,71±0,05
	GG	5	71,4	
	AG	0	0	

Результат проведения ДНК-диагностики выборки баранов-производителей указывает о средней степени гомозиготности (Ca) гена *GDF9*, который составил 59,18 % в локусе. Основные факторы, такие как невысокое количество желательных аллелей (Na), полное отсут-

ствие гетерозигот в локусах гена *GDF9*, низкие уровни ожидаемой (Hex) и отсутствие наблюдаемой (Hobs) гетерозиготности гена *GDF9*, а также показатели генетической изменчивости (V), говорят об изменении генетического равновесия (табл. 3).

Характеристика генетической структуры баранов-производителей породы российский мясной меринос /
Characteristics of the genetic structure of sires of the Russian Merino meat breed

Ген / Gene	Показатель / Indicator					
	Ca, %	Na	V, %	Hobs	Hex	ТГ
GDF9	59,18	1,69	26,5	0	0,31	-0,31 Ф<Т

В дифференциальном факторе роста у баранов-производителей можно наблюдать число эффективно действующих аллелей (Na) – 1,69, уровень генетической изменчивости (V) – 26,5. Наблюдаемая (Hobs) гетерозиготность – 0, а теоретически ожидаемая (Hex) гетерозиготность – 0,31.

Заключение

Генотипирование баранов-производителей в условиях хозяйств племзавода имени Ленина Арзгирского и СХА (колхоз) «Родина» Апанасенковского районов Ставропольского края свидетель-

ствует, что распределение частот аллелей и генотипов гена дифференциального фактора роста (GDF9) имеет некоторые отличительные признаки, которые связаны с породной принадлежностью исследуемых животных. Частота встречаемости (0,29) аллели GDF9^A и (0,71) аллели GDF9^G способствовала отсутствию в исследуемой выборке животных гетерозиготного GDF9^{AG} генотипа. Данные, полученные в ходе исследования, могут служить началом более детального изучения уникального генофонда овец породы российский мясной меринос.

1. Колосов Ю. А. Использование генофонда мериносовых овец отечественной и импортной селекции для совершенствования местных мериносов // Овцы, козы, шерстное дело. 2012. № 4. С. 13–16. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=18287888> (дата обращения: 18.12.2021).
2. Колосов Ю. А., Гетманцева Л. В., Широкова Н. В. Полиморфизм гена (GDF9) у овец сальской породы // Ветеринарная патология. 2014. № 3–4. С. 78–81. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=23162378> (дата обращения: 15.12.2021).
3. Колосов Ю. А., Широкова Н. В. Мясные качества чистопородных и помесных баранчиков разного происхождения // Овцы, козы, шерстное дело. 2012. №3. С. 44–46. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=18010566> (дата обращения: 15.12.2021).
4. Мамонтова Т. В., Айбазов М. М. Генетические маркеры в селекции животных: опыт и перспективы: сб. науч. тр. Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства. 2016. Т. 1. № 9. С. 480–485. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=27114980> (дата обращения: 09.12.2021).
5. Широкова Н. В., Колосов Ю. А., Гетманцева Л. В., Радюк А. В., Бакоев Н. Ф. Оптимизация техники проведения ПЦР-ПДРФ для генотипирования овец // Научный журнал КубГАУ. 2015. № 113 (09). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/optimizatsiya-tehniki-provedeniya-ptsr-pdrf-dlya-genotipirovaniya-ovets> (дата обращения: 03.12.2021).
6. Лушников В. П., Фетисова Т. О., Селионова М. И., Чижова Л. Н., Суржикова Е. С. Полиморфизм генов соматотропина (GH), кальпастина (CAST), дифференциального фактора роста (GDF 9) у овец татарстанской породы // Овцы, козы, шерстяное дело. 2020. № 1. С. 2–3. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=42579579> (дата обращения: 06.12.2021).
7. Селионова М. И., Чижова Л. Н., Суржикова Е. С., Подкорытов Н. А., Подкорытов А. Т. Полиморфизм генов CAST, GH, GDF9 овец горно-алтайской породы // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2020. № 50 (1). С. 92–100. DOI: <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2020-1-11>
8. Hajhosseinlo A., Semsarnejad A., Abollow E., Hashrafi F., Negahdary M. Effect of GH gene polymorphisms on biometric traits in Makooeisheep // Annals of Biological Research. 2013. Vol. 4. No. 6. Pp. 351–355.
9. Gorlov I. F., Kolosov Y. A., Shirokova N. V. et al. GDF9 gene polymorphism and its association with litter size in two Russian sheep breeds // Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali. 2018. Vol. 29. Pp. 61–66. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12210-017-0659-2>
10. Wakchaure R., Ganguly S., Praveen P. K., Kumar A. et al. Marker Assisted Selection (MAS) in Animal Breeding: A Review // Journal of Drug Metabolism & Toxicology. 2015. Vol. 6. No. 5. P. 127. DOI: <https://doi.org/10.4172/2157-7609.1000e127>
11. Selionova M. I., Podkorytov N. A. Polymorphism of the gene GDF9 in sheep of Prikatun type of Altai Mountains breed and its correlation with indices of meat rate productivity // Theory and Practice of Meat Processing. 2021. Vol. 6. No. 1. Pp. 4–9. DOI: <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2021-6-1-4-9>

Статья поступила в редакцию 29.12.2021 г.; одобрена после рецензирования 28.02.2022 г.; принята к публикации 14.03.2022 г.

Об авторе

Онищенко Ольга Николаевна

аспирант, Ставропольский государственный аграрный университет (355017, Российская Федерация, г. Ставрополь, Зоотехнический пер., д. 12), 74helga74@mail.ru

Автор прочитал и одобрил окончательный вариант рукописи.

1. Kolosov Yu. A. Ispol'zovanie genofonda merinosovykh ovets otechestvennoi i importnoi seleksii dlya sovershenstvovaniya mestnykh merinosov [Using the gene pool of merino sheep of domestic and imported breeding to improve local merino]. *Ovtsy, kozy, sherstnoe delo* = Sheep, goats, wool business, 2012, no. 4, pp. 13–16. Available at: <https://elibrary.ru/item.asp?id=18287888> (accessed 18.12.2021). (In Russ.).
2. Kolosov Yu. A., Getmantseva L. V., Shirokova N. V. Polimorfizm gena (GDF9) u ovets sal'skoi porody [GDF9 polymorphism in salsk breed sheep]. *Veterinarnaya patologiya* = Veterinary Pathology, 2014, no. 3–4, pp. 78–81. Available at: <https://elibrary.ru/item.asp?id=23162378> (accessed 15.12.2021). (In Russ.).
3. Kolosov Yu. A., Shirokova N. V. Myasnye kachestva chistoporodnykh i pomesnykh baranchikov raznogo proiskhozhdeniya [Meat qualities of purebred and crossbred sheep of different origin]. *Ovtsy, kozy, sherstnoe delo* = Sheep, goats, wool business, 2012, no. 3, pp. 44–46. Available at: <https://elibrary.ru/item.asp?id=18010566> (accessed 15.12.2021). (In Russ.).
4. Mamontova T. V., Aybazov M. M. Geneticheskie markery v seleksii zhivotnykh: opyt i perspektivy [Genetic markers in animal breeding: experience and prospects (review)]. *Sb. nauch. tr. Vserossiiskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta ovtsevodstva i kozovodstva* = Col. of scientific works of the All-Russian Research Institute of Sheep and Goat Breeding, 2016, vol. 1, no. 9, pp. 480–485. Available at: <https://elibrary.ru/item.asp?id=27114980> (accessed 09.12.2021). (In Russ.).
5. Shirokova N. V., Kolosov Yu. A., Getmantseva L. V., Raduk A. V., Bakoev N. F. Optimizatsiya tekhniki provedeniya PtsR-PDRF dlya genotipirovaniya ovets [Optimization techniques for PCR-RFLP for genotyping sheep]. *Nauchnyi zhurnal KubGAU* = Scientific Journal of KubSAU, 2015, no. 113 (09). Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/optimizatsiya-tehniki-provedeniya-ptsr-pdrf-dlya-genotipirovaniya-ovets> (accessed 03.12.2021). (In Russ.).
6. Lushnikov V. P., Fetisova T. O., Selionova M. I., Chizhova L. N., Surzhikova E. S. Polimorfizm genov somatotropina (GH), kal'pastatina (CAST), differentsial'nogo faktora rosta (GDF 9) u ovets tatarstanskoi porody [Polymorphism of somatotropin (GH), calpastatin (CAST), growth differential factor (GDF 9) genes in sheep of the Tatarstan breed]. *Ovtsy, kozy, sherstnoe delo* = Sheep, goats, woolen business, 2020, no. 1, pp. 2–3. Available at: <https://elibrary.ru/item.asp?id=42579579> (accessed 06.12.2021). (In Russ.).
7. Selionova M. I., Chizhova L. N., Surzhikova E. S., Podkorytov N. A., Podkorytov A. T. Polimorfizm genov CAST, GH, GDF9 ovets gorno-altaiskoi porody [Polymorphism of CAST, GH, GDF9 genes of Gorno-Altai sheep breed]. *Sibirskii vestnik sel'skokhozyaistvennoi nauki* = Siberian Herald of Agricultural Science, 2020, vol. 50, no. 1, pp. 92–100. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2020-1-11>
8. Hajhosseinlo A., Semsarnejad A., Abollow E., Hashrafi F., Negahdary M. Effect of GH gene polymorphisms on biometric traits in Makooeisheep. *Annals of Biological Research*, 2013, vol. 4, issue 6, pp. 351–355. (In Eng.).
9. Gorlov I. F., Kolosov Y. A., Shirokova N. V. et al. GDF9 gene polymorphism and its association with litter size in two Russian sheep breeds. *Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali*, 2018, vol. 29, pp. 61–66. (In Eng.). DOI: <https://doi.org/10.1007/s12210-017-0659-2>
10. Wakchaure R., Ganguly S., Praveen P. K., Kumar A. et al. Marker Assisted Selection (MAS) in animal breeding: a review. *Journal of Drug Metabolism & Toxicology*, 2015, vol. 6, no. 5, p. 127. (In Eng.). DOI: <https://doi.org/10.4172/2157-7609.1000e127>
11. Selionova M. I., Podkorytov N. A. Polymorphism of the gene GDF9 in sheep of Prikatun type of Altai Mountains breed and its correlation with indices of meat rate productivity. *Theory and Practice of Meat Processing*, 2021, vol. 6, no. 1, pp. 4–9. (In Eng.). DOI: <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2021-6-1-4-9>

The article was submitted 29.12.2021; approved after reviewing 28.02.2022; accepted for publication 14.03.2022.

About the author

Olga N. Onishchenko

Postgraduate student, Stavropol State Agrarian University (12 Zootekhnicheskyy Lane, Stavropol 355017, Russian Federation), 74helga74@mail.ru

The author has read and approved the final manuscript.