

УДК 636.4.082.12

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДНК-ТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНЫХ КАЧЕСТВ ОВЕЦ

*Широкова Н.В., кандидат биологических наук научный сотрудник
лаборатории молекулярной диагностики и биотехнологии
сельскохозяйственных животных
ФГБОУ ВО Донской ГАУ, п. Персиановский, Россия*

Работа выполнена за счет средств гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых-кандидатов наук — договор № 14.W01.17.1030-МК «22» февраля 2017 г.

Ключевые слова: *Овцеводство, маркерная селекция, воспроизводство, гены.*

В работе представлены результаты полиморфизма гена дифференциального фактора роста GDF9 у овец мериносовых пород и двух- и трехпородных животных. Низкая плодовитость является одной из главных причин плохой продуктивности овец, значительно повышает себестоимость молодняка, сдерживает темпы селекции и в итоге наносит огромный материальный ущерб хозяйствам. Цель исследований заключалась в изучении полиморфизма гена GDF9 и выявлении значимых ассоциаций его вариантов с воспроизводительными качествами овец мериносовых пород.

Введение. Повышение плодовитости сельскохозяйственных животных (в том числе овец) является одной из важнейших задач, стоящих перед животноводством многих стран мира и в Российской Федерации.

Низкая плодовитость является одной из главных причин плохой продуктивности овец, значительно повышает себестоимость молодняка, сдерживает темпы селекции и в итоге наносит огромный материальный ущерб хозяйствам.

Показатели воспроизводительной функции сельскохозяйственных животных принадлежат к числу полигенных признаков с крайне низкой наследуемостью.

Освоение лабораторных разработок в области ДНК-диагностики в племенных и товарных хозяйствах при решении вопросов отбора и подбора сельскохозяйственных животных призвано обеспечить ускорение селекционного процесса и повысить его эффективность [1,2].

Целью работы - определить полиморфизм гена GDF9 по точкам G1 и G4 и их влияние на продуктивные качества овец.

Материал и методика исследований. Объектом исследований служили овцы: сальской породы (n=58) ООО «Белозерное» Сальского района Ростовской области; двух- и трехпородные помеси (n=41) с различной долей кровности ОАО «Победа» Сальского района Ростовской области: (тексель, ташлинская, южная мясная, восточно-фризская, эдильбаевская).

Для проведения молекулярно-генетических исследований у овец (n=60) были отобраны образцы ткани с ушной раковины площадью 1 см² (ушные выщипы). 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.

Условия ПЦР: первоначальная денатурация – 2 мин при 94°C; денатурация 94°C - 30с, отжиг 63°C - 40с, элонгация 72°C – 30 с (35 циклов), завершающая элонгация при 72°C 4 мин. ПЦР-ПДРФ анализ фрагмента гена GDF9-G1 длиной 462 н.п., проводили с использованием эндонуклеазы BstHNI (ООО «СибЭнзим-М»).

Визуализацию электрофореграмм проводили на трансиллюминаторе в УФ свете. Статистическую обработку данных проводили по стандартным методикам.

Рестрикционные фрагменты разделяли в 2%-ном агарозном геле (рис.1).

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 (рис.2).

Результаты исследований. В результате проведения молекулярно-генетических исследования у овец сальской породы были определены аллельные варианты гена GDF9 по точкам G1 и G4. Полученные результаты частот аллелей и генотипов гена GDF9 показали очень низкий уровень полиморфизма по точкам G1 и G4 в исследуемой популяции овец сальской породы (таб.1).

У овец установлены высокие частоты аллеля G и генотипа GG по точке G1 и аллеля A и генотипа AA по точке G4 гена GDF9. Гомозиготные генотипы AA (G1) и GG (G4) в исследуемой популяции отсутствовали. При оценке двухпородных и трехпородных помесных овец также были

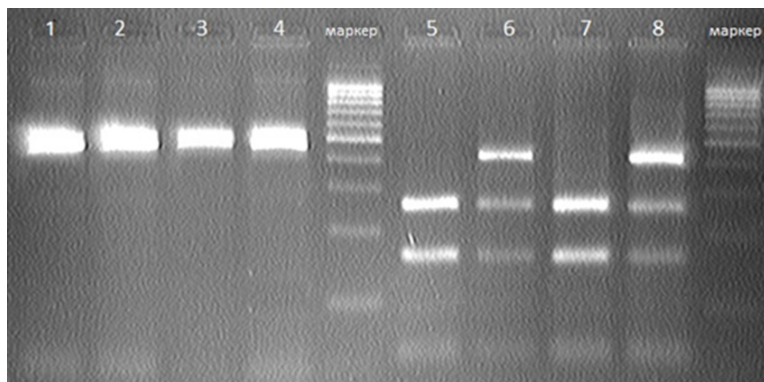


Рисунок 1 - Электрофореграмма результата ПЦР-ПДРФ гена GDF9/G1 в 2% агарозном геле: М - ДНК-маркеры 100 бр (СибЭнзим); 1-4 – ПЦР-продукт гена GDF9/G1 (462н.п.); 5,7 - генотип GG (254/117 н.п.); 6, 11 - генотип AG (410/254/117 н.п.)

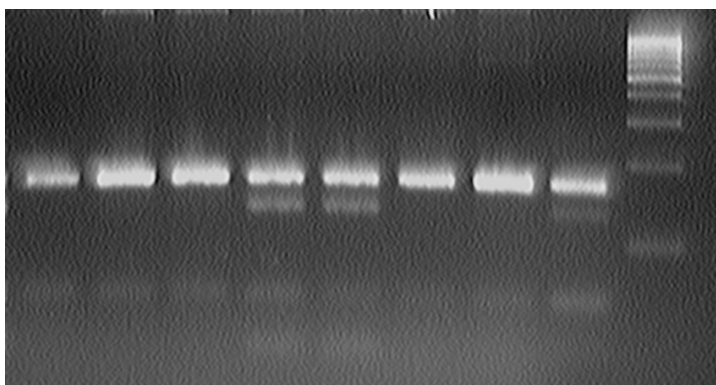


Рисунок 2 - Электрофореграмма результата ПЦР-ПДРФ гена GDF9/G4 в 3% агарозном геле: М - ДНК-маркеры 100 бр (СибЭнзим); 1-3- ПЦР-продукт гена GDF9/G4 (161 н.п.); 4,5,8- генотип AG; 6, 7 - генотип AA

установлены высокие частоты аллеля G и генотипа GG по точке G1 и аллеля A и генотипа AA по точке G4 гена GDF9 (таб.2).

В результате, если анализировать данные (табл. 3) по первому окоту овец сальской породы, то и первой, и во второй группе частота

Таблица 1 - 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	-

Таблица 2 - Частота аллелей и генотипов гена GDF9 у двухпородных и трехпородных помесных овец

Ген	Аллели		Генотипы, %		
	A	G	AA	AG	GG
GDF9/G1	0,08	0,92	-	16	84
GDF9/G4	0,92	0,08	84	16	-

Таблица 3 - Частота генотипа AG гена GDF9/G1 у овец

Порода овец	Номер окота	1 группа	2 группа
Сальская порода	1	0,13	0,11
Сальская порода	2	0	0,08
Помесные	1	0	0,58

генотипа AG практически одинаковая. Но уже по данным второго окота в группе овец, имеющих одного ягненка, генотип AG отсутствовал, в то время как во второй группе были сосредоточены все животные, имеющие генотип AG. Естественно, процент от общего числа животных в группе составил всего 8%, но это напрямую связано с очень низкой частотой данного генотипа в популяции. Аналогичная картина прослеживается у помесных овец. В первой группе овец отсутствует генотип AG, а во второй группе более чем 50% животных имеют «желательный» генотип AG.

Все это служит прямым доказательством связи между генотипами гена GDF9 и плодовитостью овец. Необходимо проведение дальнейших исследований на большем количестве животных различных пород для поиска генов-маркеров, связанных с продуктивностью овец.

Заключение. В результате проведенных исследований было изучено разнообразие аллельных вариантов гена GDF9 (по точкам GDF9/G1 и GDF9/G4) у овец пород сальская, и помесных овец. Полученные

результаты показали низкий уровень полиморфизма по исследуемым точкам, но наличие гетерозиготных вариантов в изучаемой популяции дает основания предположить, что дальнейшие исследования в этом направлении будут способствовать выявлению информативных генов-маркеров связанных с продуктивными качествами овец.

Библиографический список:

1. Колосов Ю.А. Использование генофонда мериносовых овец отечественной и импортной селекции для совершенствования местных мериносов/ Ю.А. Колосов // Овцы, козы, шерстное дело.- 2012.- №4.- С.13-16.
2. Широкова Н.В. Генетическое детерминирование плодовитости овец Н.В. Широкова// Молодой ученый. - 2013. -№6. - С. 785-787.

THE USE OF DNA TECHNOLOGIES TO ASSESS THE REPRODUCTIVE QUALITIES OF SHEEP

Shirokova N. V.

Key words: *sheep breeding, marker assisted breeding, reproduction, genes.*

The paper presents the results of the gene polymorphism, differential growth factor GDF9 in sheep Merino breeds and two - and three-pedigree animals. Low fertility is one of the main causes of poor sheep productivity, significantly increases the cost of young animals, restrains the rate of selection and, as a result, causes huge material damage to farms. The purpose of the research was to study polymorphism of GDF9 gene and the identification of important associations with reproductive qualities of sheep Merino breeds.