

O), the wheat Kazakhstan isolate PVS -Arosa was identified as a strain PVS A. PVS isolates showed a smaller a range of modal lengths of virions compared to the known an electron microscopic study of highly purified preparations of Russian. By the method of indicator plants, the Russian isolate PVS -Prestige was assigned to PVSA and PVSO, the Kazakhstan isolate PVS -Tustep to PVS A. On the basis of immunization of rabbits with the preparation of isolate PVS -Prestige, an-tisera with a titer of specific antibodies of 1: 51200 were obtained and ELISA test systems for PVS with a sensitivity of about 16 ng / ml were constructed.

Key words: Potato virus S, isolates, strains, electron microscopy, indicator plants, in vitro potato plants, inoculation, polymerase chain reaction, enzyme-linked immunosorbent assay.

ПОЛИМОРФИЗМ ДНК–МАРКЕРОВ МЯСОСАЛЬНЫХ ПОРОД ОВЕЦ КАЗАХСТАНА ПО ГЕНАМ ГОРМОНА РОСТА (GH2) И ИНСУЛИНОПОДОБНОГО ФАКТОРА РОСТА 1(IGF-1)

*Н.Б.Муханов¹, к.с.-х.н, доцент,
Ю.А.Юлдашбаев², д.с.-х.н., профессор
Б.Б.Траисов³, д.с.-х.н., профессор
Р.И.Кудияров⁴, к.с.-х.н, доцент,
Н.Ж.Кожамуратов⁴, к.э.н.
О.С.Султанов⁵, к.с.-х.н, доцент*

*¹Кызылординский государственный университет им.Коркыт Ата,
120014, г.Кызылорда, ул.Айтеке би, 29а, п.mukhanov@inbox.ru*

*²Российский государственный аграрный университет -МСХА им.К.А. Тимирязева, 127550, г.
Москва, ул.Тимирязевская, 49, zoo@rgau-msha.ru*

*³Западно – Казахстанский аграрно –технический университет им. Жангир хана, 090009, ЗКО г.
Уральск, ул. Жангир хана, 5, btraisov@mail.ru*

*⁴Гуманитарно-технический институт «Акмешит»,
120016 г.Кызылорда, ул.Муратбаева, 43, aktmeshit@mail.ru*

*⁵Казахский агротехнический университет имени С.Сейфуллина,
01011, г.Нур – Султан, пр. Жеңіс, 62*

Аннотация

В последние годы в животноводстве наиболее актуальными становятся исследования, направленные на поиск и выявление молекулярно-генетических маркеров, связанных с продуктивными признаками с.-х. животных. Выявление предпочтительных с точки зрения селекции вариантов таких генов позволит дополнительно к традиционному отбору животных проводить селекцию на основе ДНК-технологий, т.е. по генотипу. В статье приведены результаты изучения полиморфизма ДНК-маркеров мясосальных пород овец Казахстана по генам гормона роста (GH2) и инсулиноподобного фактора роста 1(IGF-1). Данные гены являются многообещающими генами-кандидатами, ассоциированными с хозяйственно-полезными признаками овец (рост мышечной ткани, скорость роста, нежность мяса, качество туши, жиротложение в тканях). Исследования генетической структуры казахской курдючной породы по данным полиморфизма гена GH2 показали наличие генотипов AA, AG и GG. В результате тестирования было выявлено, что ген GH2 является полиморфным в изучаемой популяции овец. При этом наиболее высокой частотой встречаемости характеризуется аллель G (0,7169), который встречался в гомозиготном состоянии у 51,4% овец и в гетерозиготном – у 40,7% овец. При тестировании крови овец эдильбаевской породы было выявлено, что все исследуемые овцы несут генотип GG, т.е. ген GH2 является мономорфным в изучаемой выборке. В результате анализа было установлено, что генотип CC был преобладающим по гену IGF1 в популяции овец казахской курдючной породы (70,9%). При оценке аллельных вариантов в гене IGF1 в популяции овец эдильбаевской породы выявлено два генотипа: CC и CT, при этом генотип CC был преобладающим в изучаемой популяции овец – 56,7%.

Ключевые слова: казахская курдючная порода, эдильбаевская порода, мясная продуктивность, ДНК-маркеры, аллели, мясо-сальное овцеводство, живая масса, курдюк, наследственность, скороспелость.

Введение

В Казахстане исторически развито мясосальное овцеводство. Отличительная особенность овец мясосальных пород – отличная приспособленность к круглогодовому пастбищному содержанию в самых экстремальных

условиях. Высокая живая масса, хорошая скороспелость, отложение большого количества жира в виде курдюка для этих овец являются наследственно-обусловленными признаками, и их уровень в основном определяется геноти-

пом животных.

Рациональное использование генетического потенциала овец мясосальных пород в республике и создание на этой основе перспективных популяции, сочетающих в себе высокую мясную и хорошую шерстную продуктивность, имеет большое научно-практическое значение. При этом важную роль призваны сыграть такие породы как казахская грубошерстная курдючная и эдильбаевская породы [1-3].

Генетический прогресс в овцеводстве можно ускорить в результате комплексного применения традиционных методов селекции и современных ДНК-технологии с использованием молекулярно-генетических маркеров (генов), связанных с основными хозяйственно-полезными признаками. Выявление таких генов позволяет, дополнительно к традиционному отбору, проводить селекцию направленно, непосредственно на уровне ДНК, т.е. по генотипу [4-9].

Особое значение среди полигенных систем

Материалы и методы

Экспериментальная часть работы выполняется в ФХ «Багдаулет» (казахская курдючная порода) Кызылординской области и в КХ «Наурыз» (эдильбаевская порода) Западно-Казахстанской области.

Объектами исследований являются чистопородные грубошерстные овцы казахской курдючной и эдильбаевской пород разных половозрастных групп. Для исследования ДНК животных использовали пробы крови, отобранные в пробирки, содержащие антикоагулянт (ЭДТА). Выделение ДНК выполняли с помощью набора реагентов Экстран-2 для выделения геномной ДНК ткани животных (НПК «Синтол», Россия) и на колонках Nexttec («Nexttec Biotechnologie GmbH», Германия) в соответствии с протоколом производителя.

Оценку степени чистоты и целостности геномной ДНК проводили при помощи геле-

Результаты исследований

В рамках изучения полиморфизма ДНК-маркеров овец было произведено тестирование овец мясосальных пород Казахстана по генам GH2 и IGF1. Данные гены являются многообещающими генами-кандидатами, ассоциированными с хозяйственно-полезными признаками овец (рост мышечной ткани, скорость роста, нежность мяса, качество туши, жиротложение в тканях).

организма имеют системы белков крови, такие как гены гормона роста (bGH), инсулиноподобного фактора роста – 1(IGF-1).

Необходимо отметить, что изучению полиморфизма белков крови у овец посвящено значительно меньше работ, чем по другим видам животных.

Выявление аллельных вариантов в генах-кандидатах, ассоциированных с признаками продуктивности, позволяет проводить ранний отбор овец и раскрыть более полно генетический потенциал животных, что, в свою очередь, является актуальным направлением селекционной работы [10-14].

Основной целью наших исследований является изучение полиморфизма основных белков крови овец мясосальных пород и установление его связи с хозяйственно-полезными признаками грубошерстных (мясосальных) пород овец по ДНК-маркерам продуктивно-биологических особенностей (гены гормона роста (GH2), инсулиноподобного фактора роста – 1(IGF-1).

электрофореза и с использованием спектрофотометра NanoDrop 8000. Концентрацию препаратов ДНК определяли с помощью Qubit™ (Invitrogen™). Анализ ДНК и постановку ПЦР проводили стандартными методами.

Анализ полиморфизма в генах гормона роста (GH2), инсулиноподобного фактора роста – 1(IGF-1) проводился с помощью тест-систем, которые были специально разработаны для выполнения НИР в лаборатории молекулярных основ селекции ФГБНУ ФНЦ ВИЖ им. Л.К.Эрнста. Тест-системы детекции полиморфизма в гена IGF-1 были основаны на использовании ПЦР-ПДРФ анализа. Выявление однонуклеотидных замен в фрагментах гена GH2 было выполнено на основе пиросеквенирования на пиросеквенаторе PSQ96MA (Pyrosequencing, Швеция) с помощью программного обеспечения PSQ96MA SNP Software v.2.0.

Гормон роста GH представляет собой белковый гормон, состоящий из одной полипептидной цепи, который синтезируется и секретуется клетками эозинофилов переднего гипофиза у позвоночных. Гормон роста GH может ускорить обмен веществ и способствовать росту многих органов и тканей, особенно костных, мышечных и висцеральных органов. Кроме того, известно влияние гормона роста

на молочную продуктивность и здоровье млекопитающих.

Ген гормона роста (GH2) оказывает прямое влияние на синтез и секрецию гормона роста, и тем самым, играет важную роль в росте животных. Гормон роста оказывает также влияние на организм млекопитающих посредством косвенных эффектов, включая секрецию инсули-

ноподобного фактора роста 1 (IGF-1).

Для выявления аллельных вариантов в гене GH2 проводили скрининг у 189 голов овец казахской курдючной породы. Результаты анализа частот встречаемости аллелей и генотипов по GH2 в популяции овец казахской курдючной породы приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Частота встречаемости аллелей и генотипов гена GH2 у популяции овец казахской курдючной породы

Показатели	Число голов	Частота встречаемости				
		генотипы, %			аллели	
GH2		AA	AG	GG	A	G
Исследуемая выборка овец	189	15	77	97	0,2831	0,7169
	%	7,9	40,7	51,4		

Исследования генетической структуры казахской курдючной породы по данным полиморфизма гена GH показали наличие генотипов AA, AG и GG. В результате тестирования было выявлено, что ген GH2 является полиморфным в изучаемой популяции овец. Наибольшей частотой встречаемости характеризовался аллель G (0,7169), который встречался в гомозиготном состоянии у 97 (51,4%) овец и

в гетерозиготном – у 77 (40,7%) овец. Частота встречаемости аллеля A и генотипа AA составили 0,2831 и 7,9%, соответственно.

При тестировании крови овец эдильбаевской породы было выявлено, что все исследуемые овцы несут генотип GG в данной позиции гена гормона роста, т. е. ген GH является мономорфным в изучаемой выборке (таблица 3).

Таблица 3 – Частота встречаемости аллелей и генотипов GH2 у овец эдильбаевской породы

Показатели	Число голов	Частота встречаемости				
		генотипы, %			аллели	
GH2		AA	AG	GG	A	G
Исследуемая выборка овец	30	-	-	30	0,000	1,000
	%	-	-	100		

В последние годы наряду с геном гормона роста (GH) в качестве ДНК-маркеров мясных качеств сельскохозяйственных животных используется ген инсулиноподобного фактора роста – IGF1. Инсулиноподобный фактор роста (IGF1) является важным фактором роста, вовлеченным в регуляцию таких значимых физиологических процессов, как размножение, развитие плода (эмбриогенез) и рост животных. Предполагается, что IGF-1 ассоциирован с размерами жирных хвостов, весом невыттой шерсти, качеством и количеством семени у баранов, стойкостью лактации у молочных овец

и с размером приплода.

Благодаря роли в регуляции клеточной пролиферации, развитию мышечной ткани посредством стимулирующего эффекта гормона роста и тестостерона и роста животных, ген IGF-1 рассматриваются как маркер-кандидат для показателей роста и мясной продуктивности у сельскохозяйственных животных.

В таблице 4 представлены результаты анализа животных по частоте встречаемости аллелей и генотипов гена IGF-1 у исследуемой популяции овец казахской курдючной породы.

Таблица 4 – Частота встречаемости аллелей и генотипов гена IGF-1 у овец казахской курдючной породы

Показатели	Число голов	Частота встречаемости				
		генотипы, %			аллели	
IGF-1		СС	СТ	ТТ	Т	С
Исследуемая выборка овец	189	134	49	6	0,1614	0,8386
	%	70,9	25,9	3,2		

В результате проведенного анализа было установлено, что генотип СС был преобладающим по гену IGF1 в изучаемой популяции овец (70,9%). Частота встречаемости аллеля С была значительно выше, чем аллеля Т: 0,8386 и 0,1614, соответственно. Гомозиготный генотип ТТ был выявлен как наиболее редкий в ис-

следуемой выборке овец (3,2%).

При определении аллельных вариантов в гене IGF1 в популяции овец эдильбаевской породы выявлены два генотипа: СС и СТ, при этом генотип СС был преобладающим в изучаемой популяции овец - 56,7% (таблица 5).

Таблица 5 – Частота встречаемости аллелей и генотипов гена IGF1 у исследуемой популяции овец эдильбаевской породы

Показатели	Число голов	Частота встречаемости				
		генотипы, %			аллели	
IGF1		СС	СТ	ТТ	С	Т
Исследуемая выборка овец	30	17	13	-	0,7833	0,2167
	%	56,7	43,3	-		

В результате проведенных работ впервые были получены данные о частоте встречаемости генотипов в двух исследованных генах, ассоциированных со скоростью роста и мясными качествами овец. Было установлено, что в изучаемой выборке овец казахской курдючной породы гены GH2 и 1(IGF1) были полиморфными, а в группе овец эдильбаевской породы ген GH был мономорфным, а ген IGF1 полиморфным.

Заключение

Несмотря на ускоренное развитие мясo-сального овцеводства в Казахстане вопросы повышения мясной продуктивности пород данного направления на основе маркер-ассоциированной селекции (MAS) пока является наименее изученной. Если учесть низкие коэффициенты наследуемости признаков мясности, то выявление соответствующих генов-кандидатов и проведение селекции по этим генам имеет большие перспективы. В настоящей работе для исследования вариантов генетического полиморфизма в качестве генов-кандидатов были выбраны гены гормона роста (GH2) и инсулиноподобного фактора роста (IGF1). Исследования генетической структуры казахской

Сравнительный анализ частоты встречаемости аллелей гена IGF1 позволяет выявить некоторые закономерности в распределении частот встречаемости аллелей изучаемого гена в породном аспекте. Так, высокими частотами встречаемости аллеля С, связанного со скоростью роста в основном характеризуются овцы казахской курдючной породы (0,8386). У овец эдильбаевской породы аллель С встречается чуть меньшей частотой.

курдючной породы по данным полиморфизма гена GH показали наличие генотипов AA, AG, и GG. В результате тестирования было выявлено, что ген GH2 является полиморфным в изучаемой популяции овец. Наиболее высокой частотой встречаемости характеризуется аллель G (0,7169), который встречался в гомозиготном состоянии у 51,4% овец и в гетерозиготном – у 40,7% овец. При тестировании крови овец эдильбаевской породы было выявлено, что все исследуемые овцы несут генотип GG, т.е. ген GH является мономорфным в изучаемой выборке.

В результате проведенного анализа было установлено, что генотип СС был преобладаю-

щим по гену IGF1 в популяции овец казахской курдючной породы (70,9%). Частота встречаемости аллеля С была значительно выше, чем аллеля Т: 0,8386 и 0,1614, соответственно. При оценке аллельных вариантов в гене IGF1 в популяции овец эдильбаевской породы выявлено два генотипа: СС и СТ, при этом генотип СС был преобладающим в изучаемой популяции овец – 56,7%. Частота встречаемости аллеля С была значительно выше, чем аллеля Т: 0,7633 и 0,2167, соответственно.

Предварительные результаты изучения ассоциации генов-кандидатов с продуктивными

показателями овец в изучаемых популяциях показывает, что применение генетического тестирования по генам-маркерам GH2 и IGF1 позволяет целенаправленно совершенствовать продуктивные качества овец мясосальных пород, прогнозировать их нагульные и мясные качества в раннем возрасте.

Исследования были профинансированы Комитетом науки Министерства науки и образования Республики Казахстан (грант AP05135427).

Список литературы

1. Ермеков М.А., Голоднов А.В. Курдючные овцы Казахстана. – Алма-Ата: Кайнар, 1981. – С. 75-78.
2. Канапин К., Исинбаев К. Прикладное значение казахских курдючных овец // Вестник сельскохозяйственной науки. – 2007. - №7. – С. 31-34.
3. Канапин К. Эдильбаевская овца. – Алматы, 2009. – 182 с.
4. Эрнст Л.К., Зиновьева Н.А. Биологические проблемы животноводства в 21-веке. – М.: РАСХН, 2008. – 501 с.
5. Зиновьева Н.А. Роль ДНК-маркеров признаков продуктивности сельскохозяйственных животных // Зоотехния. – 2010. - №1. – С. 8-10.
6. Костюнина О.В. Селекция на основе ДНК технологий // Животноводство России. – 2008. – Вып.11.(ч.2). – С.51-58.
7. Леонова М.А., и др. Перспективные гены-маркеры продуктивности сельскохозяйственных животных // Молодой ученый. – 2013. – №12. – С. 612-614.
8. Сулимова Г.Е. ДНК-маркеры в генетических исследованиях: типы маркеров, их свойства и области применения // Успехи современной биологии. – 2004. - №3. – С.260-271.
9. Лобан Н.А. Полиморфизм гена IGF2 у свиней мясных пород в Республике Беларусь и его влияние на откормочные и мясные качества // Сельскохозяйственная биология. – 2009. - №2. – С.27-30.
10. Гладырь Е.А., и др. Характеристика аллелофонда якутского скота по микросателлитам // Сельскохозяйственная биология. – 2011. - №6. – С. 65-69.
11. Долматова И.Ю., Ильясов И.Г. Полиморфизм гена гормона роста крупного рогатого скота в связи с молочной продуктивностью // Генетика. – 2011 - №6. – С.814-820.
12. Столповский Ю.А., и др. Сравнительный анализ полиморфизма ISSR – маркеров у пород КРС // Генетика. – 2011. – т. 47. - №2. – С. 213-226.
13. Марзанов Н.С., Магомадов Т.А. Аллелофонд овец романовской породы // Сельскохозяйственная биология. – 1997. - №2. – С. 37-41.
14. Озеров М.Ю., и др. Генетический профиль у различных пород овец по микросателлитам // Вестник РАСХН. – 2003. - №5. – С. 72-75.

References

1. Ermekov M.A., Golodnov A.V. Kurdyuchnye ovtsy Kazahstana. – Alma-Ata: Kajnar, 1981. – P. 75-78.
2. Kanapin K., Isinbaev K. Prikladnoe znachenie kazahskih kurdyuchnyh ovec // Vestnik sel'skohozyajstvennoj nauki. – 2007. - №7. – P. 31-34.
3. Kanapin K. Edil'baevskaya ovca. – Almaty, 2009. – 182 p.
4. Ernst L.K., Zinov'eva N.A. Biologicheskie problemy zhivotnovodstva v 21-veke. – M.: RASKHN,

2008. – 501p.

5. Zinov'eva N.A. Rol' DNK-markerov priznakov produktivnosti sel'skohozyajstvennyh zivotnyh // Zootekhniya. – 2010. - №1. – P. 8-10.

6. Kostyunina O.V. Selekcija na osnove DNK tekhnologij // ZHivotnovodstvo Rossii. – 2008. – Vyp.11.(ch.2). – P.51-58.

7. Leonova M.A., i dr. Perspektivnye geny-markery produktivnosti sel'skohozyajstvennyh zivotnyh // Molodoj uchenyj. – 2013. – №12. – P. 612-614.

8. Sulimova G.E. DNK-markery v geneticheskikh issledovaniyah: tipy markerov, ih svojstva i oblasti primeneniya // Uspekhi sovremennoj biologii.– 2004.- №3.– P.260-271.

9. Loban N.A. Polimorfizm gena IGF2 u svinej myasnyh porod v Respublike Belarus' i ego vliyanie na otkormochnye i myasnye kachestva // Sel'skohozyajstvennaya biologiya. – 2009. - №2. – P.27-30.

10. Gladyr' E.A., i dr. Harakteristika allelofonda yakutskogo skota po mikrosatellitam // Sel'skohozyajstvennaya biologiya. – 2011. - №6. – P. 65-69.

11. Dolmatova I.YU., Il'yasov I.G. Polimorfizm gena gormona rosta krupnogo rogatogo skota v svyazi s molochnoj produktivnost'yu // Genetika.– 2011 - №6.– P.814-820.

12. Stolpovskij YU.A., i dr. Sravnitel'nyj analiz polimorfizma ISSR – markerov u porod KRS // Genetika. – 2011. – t. 47. - №2. – P. 213-226.

13. Marzanov N.S., Magomadov T.A. Allelofond ovec romanovskoj porody // Sel'skohozyajstvennaya biologiya. – 1997. - №2. – P. 37-41.

14. Ozerov M.YU., i dr. Geneticheskij profil' u razlichnyh porod ovec po mikrosatellitam // Vestnik RASKHN. – 2003. - №5. – P. 72-75.

POLYMORPHISM OF DNA MARKERS MEAT AND LARD SHEEP BREED OF KAZAKHSTAN BY GENES OF GROWTH HORMONE (GH2) AND INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR 1 (IGF-1)

*Mukhanov N.B.¹, PhD of agriculture, associate professor,
Yuldashbayev Yu.A.², doctor of agriculture, professor
Traisov B.B.³, doctor of agriculture, professor
Kudiyarov R.I.⁴, PhD of agriculture, associate professor
N.Zh. of Kozhamuratov⁴, PhD of economy
O. S. Sultanov⁵, PhD of agriculture, associate professor
¹Korkyt Ata Kyzylorda State University,*

120014, Kyzylorda, Ayteke St.,29a, n.mukhanov@inbox.ru

*²Russian State Agrarian University -Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev,
127550, Moscow, Timiryazyev St.,4, zoo@rgau-msha.ru*

*³Zhangir Khan West-Kazakhstan Agrarian-Technical University,
090009, Uralsk, Zhangir Khan St., 5, btraisov@mail.ru*

*⁴Humanitarian and Technical Institute "Akmeshit"
120016 Kyzylorda, Muratbayev St., 43, akmeshit@mail.ru*

*⁵S.Seifullin Kazakh AgroTechnical University
01011, Nur- Sultan, Zhenis Avenue,62*

Summary

In recent years, research aimed at developing methods for selecting DNA -markers associated with the level of productivity has become particularly important. The introduction of these technologies into domestic lamb production is an urgent task, the solution of which is of important social and economic importance. During the study of polymorphic systems of blood proteins, the degree of differentiation of genetic structures of Kazakh fat-tailed and Edilbay breeds by alleles and genotypes of polymorphic proteins was determined, as well as their relationship with productive qualities. Testing revealed that