

УДК: 591.151:636.22

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.3.377

ПОЛИМОРФИЗМ АЛЛЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ У ДОЙНЫХ КОРОВ, РАЗВОДИМЫХ В УСЛОВИЯХ ГОРНОГО И РАВНИННОГО ДАГЕСТАНА

Оздемиров А.А. – канд. биол. наук, зав. лабораторией геномных исследований, селекции и племенного дела (ORCID 0000-0003-2150-2192).

ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Республики Дагестан»

*alim72@mail.ru

Ключевые слова: аллельный полиморфизм, генотипирование, генотип, частота встречаемости, Дагестан.

Keywords: allelic polymorphism, genotype, frequency of occurrence, Dagestan.

Поступила: 20.08.2024

Принята к публикации: 20.09.2024

Опубликована онлайн: 01.10.2024



РЕФЕРАТ

В Республике Дагестан, где животноводство является ключевым направлением, молочные породы крупного рогатого скота, такие как красная степная и кавказская бурая, не исследовались с точки зрения генетической идентификации, что и послужило целью настоящих исследований. Вариации в генах *PIT-1*, *PRL* и *GH*, связанные с производительностью молока, могут дать важное понимание адаптации этих пород к различным экологическим условиям Дагестана — от равнин до гор и предгорий. Это также может раскрыть уникальные аллельные характеристики этих генов, что и является центральным в нашем исследовании. Для исследований использовалась ДНК, извлеченная из крови коров кавказской бурой породы, разводимых в условиях горной ($n=74$) и равнинной ($n=28$) вертикальной зональности, а также красной степной породы, разводимой в условиях равнинного Дагестана ($n=52$). Исследуемые популяции крупного рогатого скота были генотипированы методом полимеразно-цепной реакции — полиморфизм длин рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДФ) на программируемом четырехканальном термоциклере «Терцик» фирмы «ДНК-технология» (Россия). Постановка полимеразно-цепной реакции (ПЦР) осуществлялась с использованием синтезируемых специфических праймеров. Изучение кавказской бурой породы КРС показало различия в генетических профилях особей, обитающих в разных экосистемах. В горных районах аллель гипофизарного фактора транскрипции *PIT-1A* встречается с частотой 0,10, в то время как аллель *PIT-1B* — с частотой 0,90. Напротив, в равнинных районах доля аллеля *PIT-1A* возрастает до 0,18, а *PIT-1B* снижается до 0,82. В горной зоне генотипы *PIT-1AA*, *PIT-1BB* и *PIT-1AB* составляют 2,0%, 82,0% и 16,0% соответственно. В равнинной зоне генотип *PIT-1AA* не наблюдается. Крупный рогатый скот, выращенный в определенных природных условиях, демонстрирует уникальные аллельные комбинации, которые являются результатом адаптации к местной среде. Полученные данные позволяют учитывать эти особенности и использовать в дальнейшей селекционной работе.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Исследование генетического материала местных пород скота, приспособившихся к условиям определенных регионов, критически важно для поддержания генетического разнообразия и последующего увеличения биоразнообразия. Выращиваемый в Дагестане крупный рогатый скот, за долгое время эволюции в разных природных зонах, прекрасно адаптировался к местным климатическим и природным условиям. Это касается животных как равнинных (красная степная порода), так и горных зон (кавказская бурая порода). Высокая адаптивность и способность к производству молочной продукции в экстремальных условиях делают молочный скот кавказской бурой и красной степной породы особенно востребованным [1,2]. Современные технологии в области генетики дают возможность производить миллионы копий гена. Это открывает новые горизонты не только для выявления основных генов, связанных с признаками, ценными для сельского хозяйства, но и для сбора, а также консервации генотипов с важным селекционным потенциалом в племенных популяциях [3,4].

Изучение гена *PRL* ценно для понимания связи генетических маркеров с характеристиками молока. Ген бета-лактоглобулина оказывает влияние на белковый состав молока, где аллель *B* связан с повышенным уровнем казеинов и жира, в то время как аллель *A* предрасполагает к большому количеству сывороточных белков. Пролактин, полипептидный гормон, производимый лактотропными клетками передней доли гипофиза, важен для роста молочных желез и процесса лактации. Его роль в улучшении производительности молока делает его ключевым кандидатом для изучения генетических аспектов молочной продуктивности.

Гормон роста (*GH* или соматотропин) играет ключевую роль в регулировании роста организма и метаболизма жиров. Некоторые исследования подчеркивают связь между генетическими вариантами этого гормона и продуктивными характе-

ристиками, включая удои, жирность молока и вес животных.

Транскрипционный фактор *PIT-1*, относящийся к POU-доменным регуляторам, является центральным элементом в контроле экспрессии гормонов, таких как пролактин и соматотропин. Этот фактор влияет на дифференциацию и рост эндокринных клеток. Блокировка синтеза *PIT-1* приводит к уменьшению активности генов, ответственных за производство этих гормонов.

Полиморфизм в гене *PIT-1* может оказывать влияние на мясные и молочные показатели продуктивности, поскольку регулирует активность генов, отвечающих за секрецию пролактина и гормона роста. Это делает его потенциальным биомаркером этих свойств.

Изучение генетического разнообразия в сельскохозяйственных животных становится все более популярным в мире. В России, и особенно в Дагестане, где животноводство является ключевым направлением, молочные породы крупного рогатого скота, такие как красная степная и кавказская бурая, не исследовались с точки зрения генетической идентификации [5]. Вариации в генах *PIT-1*, *PRL* и *GH*, ассоциированные с молочной продуктивностью КРС, могут дать важное понимание адаптации этих пород к различным экологическим условиям Дагестана — от равнин до гор и предгорий [6,7]. Это также может раскрыть уникальные аллельные характеристики, что и является центральным в нашем исследовании.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Для исследований использовалась ДНК, извлеченная из крови коров кавказской бурой породы, разводимых в условиях горной ($n=74$) и равнинной ($n=28$) вертикальной зональности, а также красной степной породы, разводимой в условиях равнинного Дагестана ($n=52$). Исследуемые популяции крупного рогатого скота были генотипированы методом полимерно-цепной реакции — полиморфизм длин рестрикционных фрагментов

(ПЦР-ПДРФ) на программируемом четырехканальном термоциклере «Терцик» фирмы «ДНК-технология» (Россия). Постановка полимеразно-цепной реакции (ПЦР) осуществлялась с использованием синтезируемых специфических праймеров [8] (табл. 1).

Методом горизонтального гелелектрофореза при УФ-свете определя-

лось число и длина фрагментов рестрикции с использованием эндонуклеаз в агарозном геле разной концентрации от 1,8 до 2,5 % после окрашивания этидием бромистым. Использовался стандартный коммерческий набор M50 «GenePakDNAMarkers» (ISOGENELAB, Москва) в качестве маркера молекулярных масс.

Таблица 1 – Условия проведения ПЦР-ПДРФ анализа

Нуклеотидные последовательности	Т°С, отжиг	Амплификат, (п.н.)	Эндонуклеаза	Замена нуклеотида	Генотип
<i>GH</i>					
<i>F: 5'-gct-gct-cct-gag-cct-tcg -3'</i> <i>R: 5'-gcggcggcacttcacgacct-3'</i>	65	223	<i>AluI</i>	<i>C→A</i>	<i>VV/ VL/ LL</i>
<i>PIT-1</i>					
<i>F: 5'-caatgagaaagttgggtgc -3'</i> <i>R: 5'-tcgcattcgagatgctc -3'</i>	55	660	<i>HinfI</i>	<i>A→G</i>	<i>AA/ AB/ BB</i>
<i>PRL</i>					
<i>F: 5'-cgagtccttatgagcttgattctt-3'</i> <i>R: 5'-gccttcagaaagtcgtttgttttc -3'</i>	63	156	<i>RsaI</i>	<i>A→G</i>	<i>AA/ AB/ BB</i>

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Исследование генетического разнообразия в группе испытательных коров было выполнено с помощью методики ПЦР-ПДРФ. Анализ показал наличие аллелей в нескольких генах: - в гене гипофизарного фактора транскрипции (*PIT-1*) выявлены аллели *PIT-1A* и *PIT-1B*. — В случае пролактина (*PRL*) обнаружены разновидности *PRLA* и *PRLB*. — ген соматотропина (*GH*) содержит аллели *GHV* и *GHL*. Эти данные подтверждают полиморфную природу исследуемых генетических последовательностей в популяции коров.

Изучение кавказской бурой породы КРС показало различия в генетических профилях особей, обитающих в разных экосистемах. В горных районах аллель гипофизарного фактора транскрипции *PIT-1A* встречается с частотой 0,10, в то время как аллель *PIT-1B* — с частотой 0,90. Напротив, в равнинных районах доля аллеля *PIT-1A* возрастает до 0,18, а *PIT-1B* снижается до 0,82. Эти данные также отражаются в распределении генотипов среди популяций. В горной зоне генотипы *PIT-1AA*, *PIT-1BB* и *PIT-1AB* составляют 2,0%,

82,0% и 16,0% соответственно. В равнинной зоне генотип *PIT-1AA* не наблюдается; *PIT-1BB* и *PIT-1AB* присутствуют в соотношении 65,0% и 35,0% (табл.2).

После изучения генетического состава крупного рогатого скота породы красная степная обнаружено, что распределение аллелей и генотипов гена *PIT-1* (*PIT-1A* и *PIT-1B*) несёт в себе уникальные особенности. Данные показатели характеризуются почти равными долями в популяции. Процентное соотношение аллелей составляет 41% для *PIT-1A* и 59% для *PIT-1B*. Что касается генотипов, то их распределение таково: 23% приходится на *PIT-1AA*, 42% на *PIT-1AB* и 35% на *PIT-1BB*.

В популяции наблюдается доминирование аллеля *GHL* гормона роста с частотой 0,70, в то время как аллель *GHV* встречается значительно реже — его частота составляет всего 0,30. Генетический анализ выявил, что гомозиготы *GHLL* и *GHVV* составляют 60% и 21% соответственно, а гетерозиготы *GHLV* — 19%. Относительно гена пролактина, аллель *PRLA*

встречается гораздо чаще (с частотой 0,84), в сравнении с малочастотным аллелем *PRLB* (0,16). Это привело к такому распределению генотипов: гомозиготы *PRLAA* преобладают с частотой 73%, в то время как гетерозиготы *PRLAB* и гомозиготы *PRLBB* встречаются в 23% и 4% случаев соответственно.

В ходе исследования генетической структуры кавказских бурых пород были выявлены интересные особенности. Например, аллель *PRLA* встречается очень часто — его частота достигает 87% в равнинных районах. В то же время, присутствие аллеля *PRLB* оказалось значительно ниже — всего 13%. Это отражается и в распределении генотипов: *PRLAA* обнаружен в 80% случаев, *PRLAB* — в 15%, а *PRLBB* встречается лишь в 5% случаев среди животных равнинной зоны. Ситуация меняется в горной зоне, где аллель *PRLA* по-прежнему преобладает, но с частотой 75%. Аллель *PRLB* в этой зоне встречается чаще, чем на равнине — его частота равна 25%. Соответственно, генотип *PRLAA* здесь представлен в 54% случаев, *PRLAB* — в 42%,

и только 4% приходится на *PRLBB*. Исследование показало, что частота аллелей и генотипов меняется в зависимости от конкретного гена и места обитания животных. В равнинных условиях аллели *GHV* и *GHL* встречаются с частотой 0,20 и 0,80 соответственно, в то время как в горах их распределение составляет 0,33 и 0,67. Что касается генотипов, то в равнинной местности найдено 20% *GHVV*, 80% *GHL* и отсутствие *GHLV*. В горной местности соотношение генотипов отличается: 26% *GHVV*, 60% *GHL* и 14% *GHLV*. Особенно интересно отмечать различия в появлении аллеля *PIT-IA*. В горах его частота в 1,8 раза ниже, чем на равнине. Гомозиготный генотип *PIT-IAA* в равнинной популяции не обнаружен, в то время как в горах он составляет 2%. Гетерозиготный генотип *PIT-IAB* встречается в 16% случаев в горных районах, что в два раза превышает показатель равнинных популяций. Таким образом, местность оказывает существенное влияние на генетический состав популяций.

Таблица 2 – Генотипы в исследуемых популяциях КРС

Параметры	GH			PRL			PIT-I		
	генотип								
	VV* (V)	LV	LL (L)	AA (A)	AB	BB* (B)	AA* (A)	AB	BB (B)
красная степная, (n=52)									
Частота аллеля	0,30± 0,04		0,70± 0,03	0,84± 0,05		0,16± 0,02	0,41± 0,03		0,59± 0,04
Частота генотипов, %	21,0	19,0	60,0	73,0	23,0	4,0	23,0	35,0	42,0
крупный рогатый скот кавказской бурой породы в горной зоне (n=74)									
Частота аллеля	0,33± 0,06		0,67± 0,06	0,75± 0,05		0,25± 0,07	0,10± 0,05		0,90± 0,05
Частота генотипов, %	26,0	14,0	60,0	54,0	42,0	4,0	2,0	16,0	82,0
крупный рогатый скот кавказской бурой породы в равнинной зоне (n=28)									
Частота аллеля	0,20± 0,06		0,80± 0,06	0,87± 0,05		0,13± 0,05	0,18± 0,06		0,82± 0,06
Частота генотипов, %	20,0	0	80,0	80,0	15,0	5,0	0	35,0	65,0

* Примечание: генотип *GH^{VV*}* - характеризуются более лучшими показателями по жиру, белку, а также высокими показателями удоя; генотип *PRL^{BB*}* - повышенным количеством в молоке белка и высокими коагуляционными свойствами; генотип *PIT-I^{AA*}* - ассоциируется с показателями обильной молочности.

Таблица 3 – Генетическая структура кавказской бурой и красно-степной пород по гену *PIT-1*

Показатель		Порода		
		кавказская бурая (равнина)	кавказская бурая (горы)	красная степная
<i>PIT-1</i>	гомозиготы (n)	15	61	34
	гетерозиготы (n)	13	13	18
	Hobs	0,538	0,190	0,548
	Hex	0,420	0,219	0,837
	χ^2	0,870	0,620	3,42
	Ca, %	70,5	82,0	51,6
	Na	1,42	1,22	1,94
	V, %	24,5	16,0	46,4
	TГ	+0,12 Ф>Т	-0,03 Ф<Т	-0,29 Ф<Т

Примечание: Hobs – наблюдаемая гетерозиготность; Hex-ожидаемая гетерозиготность; χ^2 – хи-квадрат для определения генетического равновесия; Ca, % - степень гомозиготности; Na - количество эффективно действующих аллелей; V, % - показатели генетической изменчивости; TГ - тест гетерозиготности.

Анализ показал, что аллель *PRLB* встречается в разных условиях с разной частотой. В горной зоне его присутствие в два раза выше (25%) по сравнению с равнинной (13%). Несмотря на это, процент гомозигот по генотипу *PRLBB* оставался схожим для обеих групп, составляя 5% и 4% соответственно. Заметное различие обнаружено в доле гетерозиготного генотипа *PRLAB*. В популяции равнинной зоны такие особи составляли всего 15%, в то время как в горах их было обнаружено в 2,5 раза больше — 42% (табл.2).

Проведенное исследование показало интересный факт: в популяции скота, обитающего в равнинах, наблюдается более низкая частота встречаемости аллеля *GHV* по сравнению с животными из горных районов. Данные показатели составили 0,20 и 0,33 соответственно. Кроме того, было выявлено, что в равнинном стаде отсутствуют особи с гетерозиготным генотипом *GHV*.

Исследование показало, что генетические характеристики коров менялись в зависимости от конкретного гена и местности. Например, уровень однородности генов (гомозиготность) различался в зависимости от породы и условий со-

держания (табл.3).

В генах *PIT-1*, у красной степной породы гомозиготность была на нижнем уровне, составляя 51,6%, в то время как у коров кавказской бурой породы в горах этот показатель достиг 82%.

Исследование показало различия в генетическом разнообразии среди коров разных пород. В частности, в гене *PIT-1* красная степная порода демонстрировала высокое количество эффективных аллелей (1,94), в то время как у кавказской бурой породы это число было заметно ниже (1,22).

Изменчивость генетических локусов. Исследования показали, что уровень генетической вариативности в локусе гена *PIT-1* различается в зависимости от популяции коров. Наибольшая изменчивость (46,4%) зафиксирована у красной степной породы. В то время как у коров кавказской бурой породы, обитающих на равнине, этот показатель падает почти вдвое, составляя 24,5%. Наименьший уровень вариативности (16,0%) отмечен у животных той же породы, но живущих в горной местности. Обнаружено, что уровень генетического разнообразия, измеряемый как гетерозиготность гена *PIT-*

1, значительно выше у стад на низменности по сравнению с горными стадами.

Исследования показали уровень гетерозиготности у особей кавказской бурой породы. Индекс гетерозиготности варьировал от $-0,03$ до $-0,56$, что указывает на дефицит гетерозигот в популяции. Такие данные подтверждают уникальные особенности генетической структуры данной группы скота.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведённый анализ отражает специфику генетического состава крупного рогатого скота изучаемой породы и подчёркивает слабовыраженность гетерозиготности;

Крупный рогатый скот, выращенный в определенных природных условиях, демонстрирует уникальные аллельные комбинации, которые являются результатом адаптации к местной среде;

Использование передовых генетических методов позволяет улучшить продуктивные характеристики животных, сохраняя при этом особенности местных локальных пород.

POLYMORPHISM OF ALLELIC VARIANTS OF GENES IN DAIRY COW'S BREED IN THE CONDITIONS OF MOUNTAIN AND PLAIN DAGESTAN

Ozdemirov A.A. – PhD, Head of the Laboratory of Genomic Research, Selection and Breeding (ORCID 0000-0003-2150-2192).

Federal State Budgetary Scientific Institution «Federal Agrarian Scientific Center of the Republic of Dagestan»

*alim72@mail.ru

ABSTRACT

In the Republic of Dagestan, where livestock farming is a key area, dairy cattle breeds such as Red Steppe and Caucasian Brown have not been studied in terms of genetic identification. Variations in the PIT-1, PRL and GH genes associated with milk productivity can provide important insights

into the adaptation of these breeds to various environmental conditions of Dagestan - from plains to mountains and foothills. This can also reveal the unique allelic characteristics of these genes, which is the central focus of our study. The DNA used for the study was extracted from the blood of Caucasian Brown cows bred in mountain ($n=74$) and foothill ($n=52$) vertical zonality, as well as the Red Steppe breed bred in the conditions of lowland Dagestan ($n=52$). The studied cattle populations were genotyped by the polymerase chain reaction method – restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) on a programmable four-channel thermal cycler "Tercik" of the company "DNA-technology" (Russia). The polymerase chain reaction (PCR) was carried out using synthesized specific primers. The study of the Caucasian brown cattle breed showed differences in the genetic profiles of individuals living in different ecosystems. In mountainous areas, the allele of the pituitary transcription factor PIT-1A occurs with a frequency of 0.10, while the allele PIT-1B - with a frequency of 0.90. On the contrary, in lowland areas, the proportion of the allele PIT-1A increases to 0.18, and PIT-1B decreases to 0.82. In the mountain zone, the genotypes PIT-1AA, PIT-1BB and PIT-1AB are 2.0%, 82.0% and 16.0%, respectively. In the plain zone, the genotype PIT-1AA is not observed. Cattle raised in certain natural conditions demonstrate unique allelic combinations that are the result of adaptation to the local environment. The data obtained allow us to take these features into account and use them in further breeding work.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Volkova V.V., Abdelmanova A.S., Denis-kova T.E., Romanenkova O.S., Khozhokov A.A., Ozdemirov A.A., Sermyagin A.A., Zinovieva N.A. Investigation of the genetic diversity of dagestan mountain cattle using str-markers //Diversity. - 2022. Т. 14. № 7. С. 569.

2. Оздемиров А.А., Хожоков А.А., Гусейнова З.М., Даветеева М.А. Анализ поли-

морфизмов в генах, ассоциируемых с молочной продуктивностью у районированных пород крупного рогатого скота, выращиваемых в условиях республики Дageстан//Юг России:экология, развитие.2023.Т.18.№3(68).С.196-200.

3. Чинова Л.Н., Суржикова Е.С., Михайленко Т.Н. Оценка генетического потенциала молодняка молочного скота по маркерным генам CSN3, GH, PIT-1, PRL // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2020. N 6. С.40-47.

4. Селионова М.И., Чинова Л.Н., Михайленко А.К., Суржикова Е.С., Шарко Г.Н. Оценка адаптационной перестройки овец в разных условиях на основе биомаркеров // Вестник АПК Ставрополя. 2019. N 2(34). С. 19-25.

5. Селионова М.И., Чинова Л.Н., Суржикова Е.С., Шарко Г.Н., Михайленко Т.Н., Чудновец А.И. // Породные особенности аллельного профиля генов, контролирующей молочную продуктивность крупного рогатого скота // АгроЗooТехника. 2019. Т. 2. N 1. С. 3. DOI:10.15838/alt.2019.2.1.3

6. Зиновьева Н.А., Сермягин А.А., Доцев А.В., Боронетская О.И., Петрикеева Л.В., Абдельманова А.С., Врем Г. Генетические ресурсы животных: развитие исследований аллелофонда российских пород крупного рогатого скота – миниобзор // Сельскохозяйственная биология. - 2019. - Т.54. - N 4. - С.631-641.

7. Харламов А.В., Панин В.А., Косилов В.И. Повышение эффективности геномной селекции молочного скота. // Оренбург гос. аграр. ун-та. 2019. №3, с. 256-259,301,323-325.

8. Методические рекомендации по проведению ДНК-тестирования племенных животных субъектов племенного животноводства по генам, определяющим продуктивные качества. /сост. В.К. Пестис, О.А. Епишко и др. Гродно. ГГАУ. 2016. – 30 с.

REFERENCES

1. Volkova V.V., Abdelmanova A.S., Denis-kova T.E., Romanenkova O.S., Khozhokov

A.A., Ozdemirov A.A., Sermyagin A.A., Zinovieva N.A. Investigation of the genetic diversity of dagestan mountain cattle using str-markers // Diversity. - 2022. Vol. 14. No. 7. P. 569.

2. Ozdemirov A.A., Khozhokov A.A., Guseynova Z.M., Daveteeva M.A. Analysis of polymorphisms in genes associated with milk productivity in zoned cattle breeds raised in the Republic of Dagestan // South of Russia: ecology, development. 2023. Vol. 18. No. 3 (68). P. 196-200.

3. Chizhova L.N., Surzhikova E.S., Mikhailenko T.N. Evaluation of the genetic potential of young dairy cattle by the marker genes CSN3, GH, PIT-1, PRL // Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy. 2020. N 6. P.40-47.

4. Selionova M.I., Chizhova L.N., Mikhailenko A.K., Surzhikova E.S., Sharko G.N. Evaluation of adaptive restructuring of sheep in different conditions based on biomarkers // Bulletin of the AIC of Stavropol. 2019. N 2 (34). P. 19-25.

5. Selionova M.I., Chizhova L.N., Surzhikova E.S., Sharko G.N., Mikhailenko T.N., Chudnovets A.I. // Breed features of the allelic profile of genes controlling dairy productivity of cattle // AgroZooTechnika. 2019. Vol. 2. N 1. P. 3. DOI:10.15838/alt.2019.2.1.3

6. Zinovieva N.A., Sermyagin A.A., Dotsev A.V., Boronetskaya O.I., Petrikeeva L.V., Abdelmanova A.S., Brem G. Animal genetic resources: development of research on the allele pool of Russian cattle breeds - a mini-review // Agricultural biology. - 2019. - Vol.54. - N 4. - P.631-641.

7. Kharlamov A.V., Panin V.A., Kosilov V.I. Improving the efficiency of genomic selection of dairy cattle. // Orenburg state agrarian University. un-ta. 2019. No. 3, pp. 256-259,301,323-325.

8. Methodical recommendations for conducting DNA testing of breeding animals of subjects of breeding livestock for genes that determine productive qualities. / Compiled by V.K. Pestis, O.A. Epishko et al. Grodno. GSU. 2016. 30 p.