

4  
НОМЕР

БОНЦ

ISSN 2304-9081

ЭЛЕКТРОННЫЙ ЖУРНАЛ  
On-line версия журнала на сайте  
<http://www.elmag.uran.ru>

# БЮЛЛЕТЕНЬ

ОРЕНБУРГСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА УРО РАН

*Cetonia aurata* (Linnaeus, 1761)  
Золотистая бронзовка  
Шовкун Д.Ф.



2019

УЧРЕДИТЕЛЬ  
ОРЕНБУРГСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР УРО РАН

© Коллектив авторов, 2019

УДК 636.082:636.082.11

*А.В. Харламов, А.Н. Фролов, О.А. Завьялов*

## **ИЗМЕНЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ ТЕЛА БЫЧКОВ В ЗАВИСИМОСТИ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ФАКТОРА ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ РОСТА 5**

Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН, Оренбург, Россия

*Цель.* Изучение влияния полиморфизма в гене GDF5 на параметры тела бычков калмыцкой породы.

*Материалы и методы.* Исследование проведено в 2019 году в условиях СПК колхоз «Красногорский» Оренбургской области на бычках калмыцкой породы, возраст – 12-14 мес, живая масса –  $343,7 \pm 6,4$  кг. На первом этапе для выявления одного нуклеотидного полиморфизма (SNP) (T586C в экзоне 1) у бычков калмыцкой породы (n=182) были взяты пробы крови. Отбор проб крови производили утром до кормления и поения. Кровь брали из хвостовой вены на уровне средней трети тела 2-5 хвостовых позвонков в вакуумные пробирки. На втором этапе исследований произведено измерение параметров тела у 8 голов из каждой выявленной группы животных. Промеры брали мерной палкой Лидтина, циркулем Вилькенса и мерной лентой. Исследования выполнялись на следующем оборудовании и наборах реагентов в условиях Испытательного центра ЦКП БСТ РАН, Оренбург (аттестат аккредитации RA.RU.21ПФ59 от 12.10.2015, [www.цкп-бст.рф](http://www.цкп-бст.рф); <http://ckp-rf.ru/ckp/77384>): термоциклер «MyCycler» (Bio-Rad, США), наборы реагентов «DIAtom DNA Prep 200», GenePak PCRCore и маркер молекулярных масс «GenePakR DNA Ladder M 50», Россия), набор EncycloPCRkit (ЗАО Евроген, Россия)

*Результаты.* Обнаружено три генотипа «мутации T>C». Частота встречаемости бычков с генотипом TT составила – 89 голов (48,9%), с TC – 85 голов (46,7%) и CC – 8 голов (4,4%). Полиморфизм в гене сопровождается изменением параметров тела таких как: высота в холке, в крестце, косая длина туловища, ширина груди за лопатками, ширина в маклаках, в тазобедренных сочленениях, глубина груди, обхват груди за лопатками и полуобхват зада, это отразилось на индексах мясности и массивности.

*Заключение.* Отбор бычков по полиморфизму гена GDF5, позволяет формировать группы животных с различными типами телосложения (высокорослый, компактный).

*Ключевые слова:* крупный рогатый скот, бычки, ген, GDF5, SNP, промеры телосложения.

---

---

*A.V. Kharlamov, A.N. Frolov, O.A. Zavyalov*

## **CHANGES IN BULL-CALVES` BODY PARAMETERS IN DEPENDENS OF POLYMORPHISM IN GROWTH DIFFERENTIATING FACTOR 5 GENE**

Federal Research Center of Biological Systems and Agrotechnologies of RAS, Orenburg, Russia

*Objective.* Study of the effect of polymorphism in the GDF5 gene on the body parameters of gobies of Kalmyk breed.

*Materials and methods.* The study was conducted in 2019 in the conditions of the SEC of the Krasnogorsk collective farm of the Orenburg region on calves of Kalmyk breed, age 12-14 months, live weight  $343.7 \pm 6.4$  kg. At the first stage, blood samples were taken to identify one nucleotide polymorphism (SNP) (T586C in exon 1) from calves of the Kalmyk breed (n = 182). Blood samples were taken in the morning before feeding and drinking. Blood was taken from the caudal vein at the level of the middle third of the body of 2-5 caudal vertebrae into vacuum tubes. At the second stage of research, measurements were made of body parameters in 8 ani-

mals from each identified group of animals. The measurements were taken with a Lidtin measuring stick, a Wilkens compass and a measuring tape. The studies were carried out on the following equipment and kits of reagents in the conditions of the Testing Center of the Central Laboratory of BST RAS, Orenburg (accreditation certificate RA.RU.21PF59 of 12.10.2015, [www.tskp-bst.rf](http://www.tskp-bst.rf); <http://ckp-rf.ru/ckp/77384>): MyCycler thermal cycler (Bio-Rad, USA), DAtom DNAPrep 200 reagent kits, GenePak PCRCore and molecular weight marker GenePakR DNA Ladder M 50, Russia), EncycloPCRkit kit (CJSC Evrogen, Russia)

*Results.* Three genotypes of “mutations T> C” were found. The incidence rate of gobies with TT genotype was 89 animals (48.9%), with TS –85 animals (46.7%) and SS - 8 animals (4.4%). Polymorphism in the gene is accompanied by changes in body parameters such as: height at the withers, in the sacrum, oblique length of the body, width of the chest behind the shoulder blades, width in the mackles, in the hip joints, depth of the chest, girth of the chest behind the shoulder blades and half-circumference of the backside, this reflected in the meatiness indices and massiveness.

*Conclusions.* Selection of gobies according to GDF5 gene polymorphism allows forming groups of animals with different body types (tall, compact).

*Key words:* cattle, gobies, gene, GDF5, SNP, body measurements.

## **Введение**

Отбор высокопродуктивных животных является главной целью генетического улучшения стада. Использование молекулярной генетики дало значительные селекционные преимущества по сравнению с традиционными методами селекции.

Однонуклеотидные полиморфизмы (SNP), которые были обнаружены сравнительно недавно с помощью секвенирования ДНК, считаются одними из наиболее полезных типов генетического маркирования. Выявлены маркеры роста, изменения параметров тела, качества мяса, которые могут быть использованы для прогнозирования продуктивности животных через образцы крови в первые несколько дней жизни животных [1-5].

Следовательно, характеристика локусов количественных признаков позволяет биомаркерному ассортименту экономически важных признаков обеспечивать наиболее быстрый генетический эффект [6].

Фактор дифференциации роста 5 (GDF5) является одним из генов, участвующих в развитии, поддержании и восстановлении костей и хрящей [7-9], известный как хрящевой морфогенетический белок 1 (CDMP1), являющийся членом суперсемейства трансформирующего фактора роста- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) тесно связан с подсемейством костных морфогенетических белков (BMPs) [10].

Основываясь на важной роли гена GDF5 в хондрогенезе и синтезе про-

теогликана [11-13], изучение полиморфных групп гена у крупного рогатого скота и их влияние на интенсивность роста и характеристики тела может решить проблему отбора животных и способствовать внесению его в генетическую панель при тестировании.

Цель исследования – изучение влияния полиморфизма в гене GDF5 на параметры тела бычков калмыцкой породы.

### Материал и методы

Объект исследования – бычки калмыцкой породы, возраст – 12-14 мес., живая масса –  $343,7 \pm 6,4$  кг.

Обслуживание животных и экспериментальные исследования были выполнены в соответствии с инструкциями и рекомендациями Russian Regulations, 1987 (Order No. 755 on 12.08.1977 the USSR Ministry of Health) and «The Guide for Care and Use of Laboratory Animals (National Academy Press Washington, D.C. 1996)». При выполнении исследований были предприняты усилия, чтобы свести к минимуму страдания животных и уменьшить количество используемых образцов.

*Схема эксперимента.* Исследование проведено в 2019 г. в условиях СПК колхоз «Красногорский» Оренбургской области. На первом этапе для выявления одного нуклеотидного полиморфизма (SNP) (T586C в экзоне 1) у бычков калмыцкой породы (n=182) были взяты пробы крови. Отбор проб крови производили утром до кормления и поения. Кровь брали из хвостовой вены на уровне средней трети тела 2-5 хвостовых позвонков в вакуумные пробирки.

Образцы ДНК выделены из цельной крови с использованием набора реагентов DIALOM DNAprep 200. Для проведения полимеразной цепной реакции использовали набор GenePak PCR Core и набор Encyclo PCR kit. Праймеры синтезированы в НПФ «Литех» (Россия). Нуклеотидная последовательность праймера для гена маркера GDF 5 представлена в таблице 1.

Таблица 1. Характеристика праймера, использованного в работе

Ген-маркер	Последовательность праймера	Размер продукта, п. н.	Источник информации
GDF 5	F: 5'-TGTCCGATGCTGACAGAAAGG-3' R: 5'-GAGTGAGGTTAATCCCAGATACCA-3'	235	Liu YF и др. (2010)

ПЦР-ПДРФ гена GDF5 проводили в термоциклере “MyCycler”. Реак-

цию рестрикции полученных продуктов амплификации GDF5 проводили с использованием эндонуклеаз рестрикции *MvaI* (табл. 2).

Таблица 2. Характеристика эндонуклеазы и размеры продуктов рестрикции в зависимости от генотипа

Ген	Рестриктаза	Замена нуклеотида	Температура инкубации, °С	Размеры продуктов, п. н.
GDF5	<i>MvaI</i>	T C	37	ТТ – 235 п. н. СС – 181 и 54 п. н. СТ – 235, 181 и 54 п. н.

Для проведения реакции в пробирке смешивали 20 мкл ПЦР-продукта и 10 ед. *MvaI* с последующим инкубированием при  $t + 37^\circ\text{C}$  в течение 5 часов. Полученный продукт разделяли методом горизонтального электрофореза (в 1х трис-боратном буфере при напряжении 80 В) в 2,5% агарозном геле с окрашиванием бромистым этидием. После чего гель анализировали в ультрафиолетовом свете на трансиллюминаторе «UVT-1», фотографировали с помощью системы «VITran v.1.0». Определение длины фрагментов проводили с помощью маркера молекулярных масс «GenePakR DNA Ladder M 50».

На втором этапе исследований произведено измерение, параметров тела у 8 голов из каждой выявленной группы животных.

*Оборудование и технические средства.* Промеры брали мерной палкой Лидтина, циркулем Вилькенса и мерной лентой. Исследования выполнялись на следующем оборудовании и наборах реагентов в условиях Испытательного центра ЦКП БСТ РАН, Оренбург (аттестат аккредитации RA.RU.21ПФ59 от 12.10.2015, [www.цкп-бст.рф](http://www.цкп-бст.рф); <http://ckp-rf.ru/ckp/77384>): термоциклер «MyCycler» (Bio-Rad, США), наборы реагентов «DIAtom DNA Prep 200», GenePak PCRCore и маркер молекулярных масс «GenePakR DNA Ladder M 50», Россия), набор EncycloPCRkit (ЗАО Евrogen, Россия)

*Статистическая обработка.* Для проверки гипотезы о нормальности распределения количественных признаков применяли критерий Шапиро-Уилка. Закон распределения исследуемых числовых показателей не отличался от нормального, поэтому достоверность различий проверяли с помощью общепринятого параметрического метода (t-критерий Стьюдента). Во всех процедурах статистического анализа рассчитывали достигнутый уровень значимости (P), при этом критический уровень значимости в данном исследовании принимался меньшим или равным 0,05. В таблицах приведены средние значения показателей (M) и их стандартные отклонения ( $\pm\text{STD}$ ). Для об-

работки данных использовали пакет прикладных программ «Statistica 10.0» («Stat Soft Inc.», США).

### Результаты и обсуждение

Определение однонуклеотидного полиморфизма в гене GDF5 показало различную частоту его встречаемости в общей выборке состоящей из 182 голов бычков, с генотипом ТТ обнаружено – 89 голов (48,9%), с ТС – 85 голов (46,7%) и СС – 8 голов (4,4%).

Животные с одинаковой живой массой зачастую имеют различные параметры тела, определение которых позволяет вести целенаправленный селекционный отбор. Выявление особенностей индивидуального развития животных (формирование того или иного типа телосложения и направления продуктивности) производится при помощи промеров и индексов.

В нашем исследовании особенности формирования экстерьера бычков изучались в зависимости от полиморфизма в гене GDF5 (табл. 3).

Таблица 3. Промеры подопытных бычков в возрасте 12 мес., см

Показатель	Полиморфизм		
	ТТ	ТС	СС
Высота в холке	117,2±2,48	117,8±3,18	119,6±2,75*
Высота в крестце	120,1±3,60	120,7±2,83	122,4±2,59*
Ширина груди	38,4±1,32	38,9±1,24	39,6±1,05**
Глубина груди	59,4±1,20	59,7±1,47	60,5±0,93**
Косая длина туловища	140,2±3,52	140,8±4,18	143,6±2,94**
Обхват груди за лопатками	182,1±2,48	183,4±2,75	184,9±2,21**
Ширина в маклоках	41,2±1,20	41,4±1,82	42,3±1,70
Ширина в тазобедренных сочленениях	43,3±1,08	43,6±1,20	45,1±1,05***
Обхват пясти	18,8±0,46	18,9±0,54	19,0±0,54
Полуобхват зада	110,4±2,75	112,1±2,48	114,3±2,59***

Примечание: \* - при  $P \leq 0,05$ ; \*\* - при  $P \leq 0,01$ , \*\*\* - при  $P \leq 0,001$ , по сравнению с ТТ.

Бычки с генотипом СС превосходили сверстников с генотипами ТТ и ТС как по высотным промерам – высоте в холке соответственно на 2,0 ( $P \leq 0,05$ ) и 1,5%, в крестце – на 1,9 ( $P \leq 0,05$ ) и 1,4%, косой длине туловища – на 2,4 ( $P \leq 0,01$ ) и 2,0% ( $P \leq 0,01$ ), так и широтным промерам – ширине груди за

лопатками – на 3,1 ( $P \leq 0,01$ ) и 1,8%, ширине в маклаках – на 2,7 ( $P \leq 0,05$ ) и 2,3%, в тазобедренных сочленениях – на 4,2 ( $P \leq 0,001$ ) и 3,4% ( $P \leq 0,01$ ), глубине груди – на 1,9 ( $P \leq 0,01$ ) и 1,3%, объёму груди за лопатками – на 1,5 ( $P \leq 0,01$ ) и 0,8% полуобъёму зада – на 3,5 ( $P < 0,001$ ) и 2,0% ( $P \leq 0,05$ ) соответственно.

Для объективной оценки изменений параметров пропорций тела, на основании взятых промеров были определены индексы телосложения подопытных животных (табл. 4).

Таблица 4. Индексы телосложения подопытных бычков в возрасте 12 месяцев, %

Показатель	Полиморфизм		
	ТТ	ТС	СС
Длинноногости	97,3±1,86	97,3±1,67	97,7±2,21
Растянутости	119,6±1,98	119,5±1,43	120,1±1,63
Тазогрудной	93,2±1,47	94,0±1,78	93,6±1,51
Грудной	64,6±1,24	65,2±0,81	65,5±1,32
Сбитости	129,9±1,20	130,3±0,70	128,8±1,08*
Перерослости	102,5±1,51	102,5±2,01	102,3±1,70
Широкотелости	30,9±0,81	31,1±1,01	31,1±2,05
Костистости	16,0±0,70	16,0±0,81	15,9±0,66
Массивности	155,4±1,10	155,7±1,20	154,6±0,85*
Мясности	94,2±1,32	95,2±1,82	95,6±1,20**
Комплексный	144,2±1,82	143,8±2,01	144,5±1,63

Примечание: \* - при  $P \leq 0,05$ ; \*\* - при  $P \leq 0,01$ , \*\*\* - при  $P \leq 0,001$ , по сравнению с ТТ.

Расчеты индексов показали, что однонуклеотидный полиморфизм (Т586С) в гене GDF5 оказал влияние только на индексы сбитости, массивности, которые были выше у бычков с генотипом ТС и мясности у генотипа СС.

### Заключение

Полиморфизм в гене GDF5 оказывает существенное влияние на параметры тела бычков. Мутации в гене от ТТ к СС сопровождаются повышением как высотных промеров (высота в холке, в крестце, косая длина туловища), так и широтных (ширина груди за лопатками, ширина в маклаках, в та-

зобедренных сочленениях, глубина груди, обхват груди за лопатками и полу-обхват зада).

Отбор животных с учетом гена GDF5 по генотипу СС позволит увеличить убойные качества бычков, о чем свидетельствует индекс мясности, который повышается на 1,4% по сравнению с генотипом ТТ.

Необходимо проведение дальнейших исследований с увеличением группы животных по гомозиготному генотипу С.

*(Исследования выполнены в соответствии с планом НИР на 2019-2021 гг. ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН; № 0761-2019-0006)*

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Pedersen L.D., Sørensen A.C., Berg P. Marker-assisted selection can reduce true as well as pedigree-estimated inbreeding. *J. Dairy Sci.* 2009. 92: 2214-2223. doi: 10.3168/jds.2008-1616.
2. Raza S.H.A., Gui L., Khan R., Schreurs N.M., Wang X., Wu C., Mei L., Wang X., Ma D., Wei H., et al. Association between FASN gene polymorphisms ultrasound carcass traits and intramuscular fat in Qinchuan cattle. *Gene.* 2018. 645: 55-59. doi: 10.1016/j.gene.2017.12.034.
3. Boucher C.A., Carey N., Edwards Y.H., Siciliano M.J., Johnson K.J. Cloning of the human SIX1 gene and its assignment to chromosome 14. *Genomics.* 1996;33:140-142. doi: 10.1006/geno.1996.0172.
4. Lu D., Sargolzaei M., Kelly M., Vander Voort G., Wang Z., Mandell I. et al. Genome-wide association analyses for carcass quality in crossbred beef cattle. *BMC Genet.* 2013. 14: 80. doi: 10.1186/1471-2156-14-80.
5. Akanno E.C., Plastow G, Fitzsimmons C, Miller SP, Baron V, Ominski K, et al. Genome-wide association for heifer reproduction and calf performance traits in beef cattle. *Genome.* 2015. 58: 549-557. doi: 10.1139/gen-2015-0031.
6. Abd El-Hack M.E., Abdelnour S.A., Swelum A.A., Arif M. The application of gene marker-assisted selection and proteomics for the best meat quality criteria and body measurements in Qinchuan cattle breed. *Mol Biol Rep.* 2018. 45(5): 1445-1456. doi: 10.1007/s11033-018-4211-y.
7. Francis-West P.H., Abdelfattah A., Chen P., Allen C., Parish J., Ladher R., Allen S., MacPherson S., Luyten F.P., Archer C.W. Mechanisms of GDF-5 action during skeletal development. *Development.* 1999. 126: 1305-1315.
8. Edwards C.J., Frances-West P.H. Bone morphogenetic proteins in the development and healing of synovial joints. *Semin Arthritis Rheum.* 2001. 31: 33-42. doi:10.1053/sarh.2001.24875
9. Mikic B. Multiple effects of GDF5 deficiency on skeletal tissues, implications for therapeutic bioengineering. *Ann Biomed Eng.* 2004. 32: 466-476. doi:10.1023/B:ABME.0000017549.57126.51
10. Miyamoto Y., Mabuchi A., Shi D.Q., Kubo T., Takatori Y., Saito S., Fujioka M., Sudo A., Uchida A., Yamamoto S., Ozaki K., Takigawa M., Tanaka T., Nakamura Y., Jiang Q., Ikegawa S. A functional polymorphism in the 5' UTR of GDF5 is associated with susceptibility to osteoarthritis. *Nature Genetics.* 2007. 39: 529-533. doi: 10.1038/2005.
11. Wolfman N.M., Hattersley G., Cox K., Celeste A.J., Nelson R., Yamaji N., Dube J.L., DiBlasio-Smith E., Nove J., Song J.J., Wozney J.M., Rosen V. Ectopic induction of tendon

- and ligament in rats by growth and differentiation factors 5, 6, and 7, members of the TGF- $\beta$  gene family. *J Clin Invest.* 1997. 100: 321-330. doi: 10.1172/JCI119537
12. Kellgren J.H., Moore R. Generalized osteoarthritis and Heberden's nodes. *BMJ.* 1952. 1:181-187. doi: 10.1136/bmj.1.4751.181
  13. Oliveria S.A., Felson D.T., Reed J.I., Cirillo P.A., Walker A.M. Incidence of symptomatic hand, hip, and knee osteoarthritis among patients in a health maintenance organization. *Arthritis Rheum.* 1995. 38: 1134-1141. doi: 10.1002/art.1780380817

*Поступила 13 декабря 2019 г.*

*(Контактная информация: Харламов Анатолий Васильевич – доктор сельскохозяйственных наук, профессор, заведующий отделом технологии мясного скотоводства и производства говядины ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук»; адрес: 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, тел.:+7(3532) 30-81-78, e-mail: [vniims.or@mail.ru](mailto:vniims.or@mail.ru);*

**Фролов Алексей Николаевич** – кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник отдела технологии мясного скотоводства и производства говядины ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук»; адрес: 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, тел.:+7(3532) 30-81-78, e-mail: [forleh@mail.ru](mailto:forleh@mail.ru);

**Завьялов Олег Александрович** – кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник отдела технологии мясного скотоводства и производства говядины ФГБНУ «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук»; адрес: 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, тел.:+7(3532) 30-81-78, e-mail: [oleg-zavyalov83@mail.ru](mailto:oleg-zavyalov83@mail.ru))

---

---

**Образец ссылки на статью:**

Харламов А.В., Фролов А.Н., Завьялов О.А. Изменение параметров тела бычков в зависимости полиморфизма гена фактора дифференциации роста 5. *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН.* 2019. 4. 8с. [Электр. ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2019-4/Articles/KhAV-2019-4.pdf>). DOI: 10.24411/2304-9081-2019-14025