

**ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ GH, CAST У ОВЕЦ  
ПОРОДЫ ДАГЕСТАНСКАЯ ГОРНАЯ, АНАЛИЗ АССОЦИАЦИЙ ИХ ГЕНОТИПОВ  
С ПОКАЗАТЕЛЯМИ ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА**

**Алимсолтан Ахмедович Оздемиров, кандидат биологических наук**

**Рабият Алибулатовна Акаева, научный сотрудник**

**Етар Магомедовна Алиева, научный сотрудник**

**Зухра Магомедовна Гусейнова, научный сотрудник**

**Мадина Адильхановна Даветеева, научный сотрудник**

*ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр», г. Махачкала, Республика Дагестан, Россия*

E-mail: alim72@mail.ru

**Аннотация.** Цель работы – изучить полиморфизм генов GH, CAST у овец породы дагестанская горная и участие этих полиморфизмов в формировании иммунного статуса и реактивности. Генетические исследования дагестанской горной породы овец (по генам CAST, GH) проводили в условиях отгонно-животноводческих хозяйств Дагестана, лаборатории геномных исследований, селекции и племенного дела ФГБНУ «ФАНЦ РД», аккредитованной лаборатории иммуногенетики и ДНК-технологий ВНИИОК-филиал ФГБНУ «Северо-Кавказский ФНАЦ» методом ПЦР-ПДРФ (полимеразно-цепная реакция – полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) с использованием специфических праймеров. В результате проведения ПЦР диагностики получены данные, показывающие очень низкую (0,03) частоту встречаемости аллеля CAST<sup>N</sup> и высокую (0,97) аллеля CAST<sup>M</sup>. Установлена высокая (93,0%) частота встречаемости гомозиготного генотипа CAST<sup>MM</sup>, при этом аналог CAST<sup>NN</sup> обнаружен не был, его частота встречаемости – 7,0%. Анализ данных генотипирования говорит о неоднозначном распределении аллельного профиля в локусах исследуемых генов. Высокая частота встречаемости (0,97) аллеля CAST<sup>M</sup>, но низкая (0,03) аллеля CAST<sup>N</sup> привели к ситуации когда в изучаемых популяциях овец отсутствует гомозиготный генотип CAST<sup>NN</sup>. Это отразилось на значениях констант: степень генетической изменчивости (V, %), количество эффективно-действующих аллелей (Na), уровень наблюдаемой (Hobs) и теоретически ожидаемой (Hex) гетерозиготности. По результатам проведенного в сравнительном аспекте анализа показателей, которые характеризуют иммунитет (индекс иммунной реактивности), можно сделать вывод, что правильное соотношение количества T и В лимфоцитов, их субпопуляций T-хелперов и T-супрессоров в липидах крови, CAST<sup>NN</sup> и GH<sup>BB</sup> генотипов обеспечивает высокий иммунный ответ на внешние условия среды.

**Ключевые слова:** полиморфизм, гены GH, CAST, генетическая изменчивость, иммунная реактивность, адаптация, овцы

**POLYMORPHISM OF GH, CAST GENES  
IN DAGESTAN MOUNTAIN SHEEP, ANALYSIS OF THEIR GENOTYPES ASSOCIATIONS  
WITH INDICATORS OF IMMUNOBIOLOGICAL STATUS**

**A.A. Ozdemirov, PhD in Biological Sciences**

**R.A. Akaeva, Researcher**

**E.M. Alieva, Researcher**

**Z.M. Guseynova, Researcher**

**M.A. Daveteeva, Researcher**

*Federal Agricultural Research Center of the Republic of Dagestan, Mahachkala, Respublika Dagestan, Russia*

E-mail: alim72@mail.ru

**Abstract.** The real problem is the lack of any significant information about the gene pool of local, aboriginal breeds of cattle and small cattle, which are bred in various natural and geographical zones. In view of the fact that the peculiarity of their gene structures remains the reserve of genetic variability, due to which high adaptive qualities of populations are achieved, the main goal of this research work was to study the polymorphism of the GH and CAST genes of the Dagestan Mountain sheep and the participation of these polymorphisms in the formation of the immune status and reactivity. Genetic studies of the Dagestan mountain breed of sheep (for the CAST, GH genes) were carried out in the conditions of transhumance and livestock farms of Dagestan, the laboratory of genomic research, selection and breeding of the Federal State Budgetary Scientific Institution "FANC RD", an accredited laboratory of immunogenetics and DNA technologies of VNIIOK, a branch of the Federal State Budgetary Scientific Institution "Severo-Caucasian FNAC" by PCR-RFLP (polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism) using specific primers. As a result of PCR diagnostics, results were obtained showing a very low (0.03) frequency of the CAST<sup>N</sup> allele and a high (0.97) frequency of the CAST<sup>M</sup> allele of the CAST gene. The data obtained indicate a high – 93.0% frequency of occurrence of the homozygous CAST<sup>MM</sup> genotype, while the -CAST<sup>NN</sup> analogue was not found. The frequency of occurrence of the CAST<sup>MN</sup> genotype in this case had an indicator of 7.0%. Analysis of genotyping data indicates an ambiguous distribution of the allelic profile in the loci of the studied genes. The high frequency of occurrence (0.97) of the CAST<sup>M</sup> allele, but the low (0.03) of the CAST<sup>N</sup> allele led to a situation where the homozygous CAST<sup>NN</sup> genotype is absent in the studied sheep populations. This, in turn, could not but affect the values of the following constants: the degree of genetic variability (V, %), the number of effective alleles (Na), the levels of observed (Hobs) and theoretically expected (Hex) heterozygosity. According to the results of the comparative analysis of indicators that characterize immunity (immune reactivity index), we can conclude that the

*correct ratio of the number of T and B lymphocytes, their subpopulations – T-helpers and T-suppressors in blood lipids, CASTNN and GHBB genotypes provides a high immune response to external environmental conditions.*

**Keywords:** *polymorphism, GH genes, CAST, genetic variability, immune reactivity, adaptation, sheep*

Горные и предгорные районы России (Северный Кавказ) – огромный резерв для развития овцеводческой отрасли, которая может давать больше экологически чистого мяса и молока, качественной шкуры и шерсти.

Академик М.Ф. Иванов – один из основателей современной зоотехнии отмечал, что создание новых пород овец особенно важно для тех районов, где разведению культурных пород препятствуют климатические и кормовые условия.

Овец *дагестанской горной* породы (80,0%) ранней весной ежегодно перегоняют в высокогорные летние пастбища. Овцеголовье больше двух месяцев находится в пути преодолевая расстояния в 250...300 и более километров, их маршрут лежит через разные природно-географические зоны, которые могут сильно отличаться по климатическим и природным характеристикам. [5, 6]

Селекционно-племенные работы вели посредством воспроизводительного скрещивания с жестким требованием к отбору – выбраковка животных с ослабленной конституцией и недостатками в экстерьере. Помеси желательного типа второго поколения разводились в «себе», а также частично и помеси третьего поколения. Овцы *дагестанской горной* породы смогли отлично приспособиться к отгонно-пастбищному содержанию благодаря наличию крепкого костяка и твердости копытного рога, обладая при этом высоким качеством руна (21...25 микрон) шерсти. Убойный выход мяса доходит до 49%. Овцематки дают жирное молоко, с высоким содержанием белка (7...8%), что делает возможным производство высококачественной сырной продукции.

Из-за разных причин (в основном экономические) наблюдается понижение рентабельности ведения овцеводства в Республике, в результате чего теряется генетическое разнообразие, а также утрачиваются некоторые локальные аборигенные породы. [5, 6] Актуальные задачи – сохранение имеющего генофонда отечественных пород, совершенствование их племенных и продуктивных качеств. [1–4, 7–9, 11, 12]

Цель работы – изучить полиморфизм генов GH и CAST овец породы *дагестанская горная* и участие этих полиморфизмов в формировании иммунного статуса и реактивности.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Генетические исследования *дагестанской горной* породы овец (по генам CAST, GH) проводили в условиях отгонно-животноводческих хозяйств Дагестана, лаборатории геномных исследований, селекции и племенного дела ФГБНУ «ФАНЦ РД», аккредитованной лаборатории иммуногенетики и ДНК-технологий ВНИИОК – филиал ФГБНУ «Северо-Кавказский ФНАЦ» методом ПЦР-ПДРФ (полимиразно-цепная реакция – полиморфизм длин рестрикционных фрагментов)

с использованием специфических праймеров (табл. 1).

Биологическим материалом стала ДНК, выделенная из крови подопытных овец *дагестанской горной* породы (n = 44). Для ПЦР диагностики применяли комплексы наборов «GenePakPCRCore» (IsoGeneLab).

Длину и число фрагментов рестрикции в агарозном геле (2...4%), с присутствием 10,0 мкл 10,0% этидия бромистого, определяли по методу гель-электрофореза при УФ-свете и фиксировали с помощью видеосистемы.

В качестве маркера молекулярных масс применяли стандартный набор M50 «GenePakDNA Markers» (IsoGeneLab).

**РЕЗУЛЬТАТЫ**

После проведения ПЦР диагностики получили данные, показывающие очень низкую (0,03) частоту

**Таблица 1.**  
**Характеристика аллельных вариантов**

Ген	Нуклеотидная последовательность	Температура отжига, °C	Амплификат, п.н.	Эндонуклеаза	Генотип
GH	F:5'-ggaggcaggaaggatgaa -3' R:5'-ccaaggaggaggagacaga -3'	60	277	HaeIII	AA/AB/BB
CAST	F:5'-tggggccaatgacgccatcgatg -3' R:5'-ggtggagcacttctgatcacc -3'	62	422	MspI	MM/MN/NN

**Таблица 2.**  
**Показатели аллельного профиля генов GH, CAST у овец породы дагестанская горная**

Ген-маркер	Генотип	n	Частота встречаемости	
			генотипа, %	аллеля
GH	AA	44	100,0	A 1,0 B 0
	BB*	0	0	
	AB	0	0	
CAST	MM	41	93,0	M 0,97±0,03 N 0,03±0,02
	NN*	0	0	
	MN	3	7,0	

**Таблица 3.**  
**Показатели генетической структуры овец породы дагестанская горная**

Ген	Ca, %	Na	V, %	Hobs	Hex	TГ
GH	100,0	0	0	0	0	-0,11 Φ<T
CAST	94,2	1,06	3,8	0,073	0,062	+0,011 Φ>T

встречаемости аллеля CAST<sup>N</sup> и высокую (0,97) аллеля CAST<sup>M</sup> гена CAST.

Установлена высокая (93,0%) частота встречаемости гомозиготного генотипа CAST<sup>MM</sup>, при этом аналог CAST<sup>NN</sup> обнаружен не был с частотой – 7,0% (табл.2).

Отсутствие полиморфизма гена GH – характерная особенность изучаемой популяции овец. Мономорфизм в локусе гена GH доказывает присутствие аллеля GH<sup>A</sup> с показателем 100 и полное отсутствие GH<sup>B</sup>.

Анализ данных генетической структуры исследуемой популяции овец подтверждает высокую степень гомозиготности (Ca) генов CAST (94,2%) и GH (100,0%). О нарушении генетического равновесия свидетельствуют факторы: минимальное количество, до полного отсутствия, гетерозигот в локусах генов GH и CAST; незначительное количество эффективно действующих аллелей (Na); уровни ожидаемой (Hex) и наблюдаемой (Hobs) гетерозиготности; низкие показатели генетической изменчивости (V) (табл. 3).

О влиянии полиморфизма генов CAST и GH на разные процессы в организме есть много информации из различных источников, но пока не проводили изучение в отношении участия этих генов в построении иммунного статуса и реактивности у овец *дагестанской горной* породы.

Известна взаимосвязь интенсивности роста, развития животных и иммунной реактивности организма. Исходя из того, что развитие иммунного статуса проходит под генетическим контролем, то и защитный потенциал молодняка овец

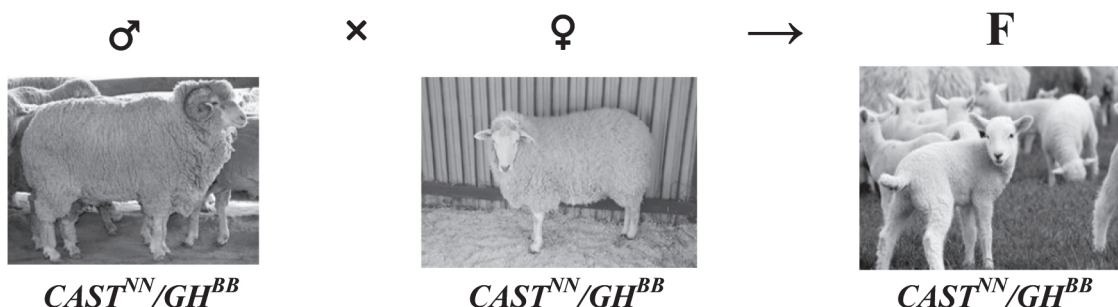
Таблица 4.  
Показатели иммунологической реактивности овец разных генотипов

Ген	Генотип	Иммунная реактивность, 10 <sup>9</sup> /л				ИРИ
		T-лимфоциты	B-лимфоциты	T-супрессоры	T-хелперы	
CAST	MM	0,55 ± 0,2	0,33 ± 0,06	0,39 ± 0,04	0,26 ± 0,05	0,67
	NN	0,62 ± 0,09	0,36 ± 0,04	0,35 ± 0,08	0,27 ± 0,04	0,77
	MN	0,58 ± 0,05	0,33 ± 0,05	0,37 ± 0,12	0,25 ± 0,08	0,68
GH	AA	0,59 ± 0,32	0,51 ± 0,1	0,36 ± 0,08	0,25 ± 0,12	0,69
	BB	0,71 ± 0,08	0,57 ± 0,06	0,31 ± 0,08	0,29 ± 0,05	0,94
	AB	0,68 ± 0,23	0,49 ± 0,09	0,32 ± 0,12	0,24 ± 0,08	0,75

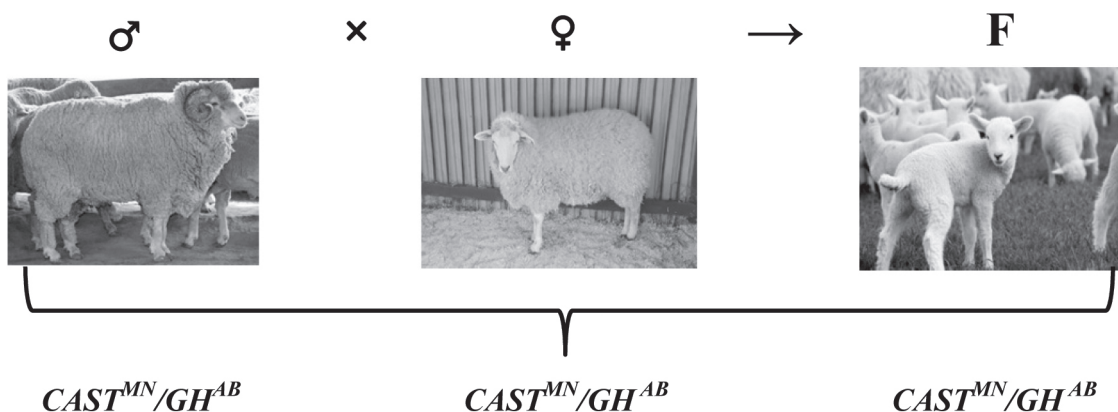
определяли по уровню генетически детерминированных T-, B-клеток, а также их субпопуляций в биоматериале молодняка разных генотипов.

В результате исследований в сравнительном аспекте и анализа показателей, которые характеризуют иммунную реактивность (T-, B-лимфоциты), выявлено, что у молодняка овец с генотипами GH<sup>BB</sup> и CAST<sup>NN</sup>, по сравнению с GH<sup>AA</sup> и CAST<sup>MM</sup>, количество T- и B-клеток было больше: 0,71 и 0,62; 0,57 и 0,36 10<sup>9</sup>/л – против 0,59 и 0,55; 0,51 и 0,33 10<sup>9</sup>/л соответственно (P < 0,01).

В отношении субпопуляций T-хелперов и T-супрессоров установлено, что в крови овец GH<sup>BB</sup> и CAST<sup>NN</sup> генотипов, по сравнению с генотипами GH<sup>AA</sup> и CAST<sup>MM</sup>, T-хелперов мигрировало больше, а T-супрессоров меньше: 0,31; 0,25 и 0,27; 0,26 10<sup>9</sup>/л,



Вариант № 1. Гомозиготный вариант – полная пенетратность, 100% частота и вероятность фенотипического проявления гена.



Вариант № 2. Гетерокомплексы – 75...50% пенетратность.

Желательные генокомплексы.

против 0,31; 0,36 и 0,35; 0,41  $10^9$ /л, что сказалось на иммунорегуляторном индексе (ИРИ), который был больше в крови генотипов CAST<sup>NN</sup> и GH<sup>BB</sup>, чем у CAST<sup>MM</sup> и GH<sup>AA</sup>, составив 0,79 и 0,93 против 0,69 и 0,71 ( $P < 0,01$ ) (табл. 4).

Анализ полученных данных говорит об индивидуальной реактивности каждого генотипа, зависящей от его генетической программы, позволяющей организму реагировать на неблагоприятные факторы внешней среды посредством усиленной выработки Т-хелперов, Т- и В-лимфоцитов, и в меньшей степени Т-супрессоров, что дает возможность корректировать недостаток адаптивно-компенсаторных механизмов в процессе развития фенотипа на всех этапах онтогенеза.

**Выводы.** Из-за высокой частоты встречаемости (0,97) аллеля CAST<sup>M</sup> и низкой (0,03) CAST<sup>N</sup> в изучаемых популяциях овец отсутствует гомозиготный генотип CAST<sup>NN</sup>, что отражается на степени генетической изменчивости (V, %), количестве эффективно-действующих аллелей (Na), уровне наблюдаемой (Hobs) и теоретически ожидаемой (Hex) гетерозиготности.

Значения равные нулю у V, Na, Hex, Hobs и стопроцентная (абсолютная) степень гомозиготности Ca в локусе гена GH образуют неблагоприятную ситуацию, потому что потеря (элиминация) аллелей приводит к сокращению резерва генетической изменчивости, а также сужению генетического разнообразия и утрате адаптивных качеств популяции.

Данную информацию необходимо рассматривать как фактор, стимулирующий адаптивно-приспособительные функции организма овец, с одной стороны, и эволюционно-селекционный процесс, который способствует формированию в популяции специфического уклада генетических структур — с другой. Количество овец с желательным набором генетических структур возможно увеличить посредством целенаправленного подбора родительских пар.

Фенотипические признаки того или иного гена могут проявляться в зависимости от варианта (см. рисунок).

Результаты исследований могли бы послужить отправной точкой для более углубленного изучения уникального генофонда овец *дагестанской горной* породы для дальнейшего его совершенствования с учетом природно-географических зон выращивания. Правильное соотношение количества Т и В лимфоцитов, их субпопуляций Т-хелперов и Т-супрессоров в липидах крови, CAST<sup>NN</sup> и GH<sup>BB</sup> генотипов обеспечивает высокий иммунный ответ на внешние условия среды.

#### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Абилов Б.Т., Зарытовский А.И., Сорокина М.А., Болотов Н.А. Способ прогнозирования индивидуальной интенсивности роста молодняка овец. Пат. 2662905 Россия, МПК А61В 5/04 (2006.01) А01К 67/02 (2006.01). (355017, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, 15, ФГБНУ) № 2017111957; Заявл. 07.04.2017; Оpubl. 31.07.2018.
2. Григорян Л.Н., Хатаев С.А., Хмелевская Г.Н., Степанова Н.Г. Современные тенденции развития Российского овцеводства разного направления продуктивности // Зоотехния. 2019. № 5. С. 10.

3. Дунин И.М., Зелятдинов В.В., Орешникова С.М., Давыденкова В.П. Новые подходы в сертификации шерсти в России // Зоотехния. 2019. № 5. С. 13–16.
4. Куликова К.А. Полиморфизм гена кальпастатина (CAST) у овец горного и степного внутривидовых типов тувинской короткожировостой породы // Вестник БГАУ. 2018. № 1. С. 84–89.
5. Магомедов Ш.М., Хожиков А.А., Римиханов Н.И. и др. Состояние и перспективы развития овцеводства в Республике Дагестан // Овцы, козы, шерстное дело. 2018. № 1. С. 5–7.
6. Оздемиров А.А. Из истории создания Дагестанской горной породы овец // Главный зоотехник. 2019. № 12. С. 10–15.
7. Погодаев В.А., Сергеева Н.В., Завгородняя Г.В. Качество овчин и гистологическое строение кожи молодняка овец, полученного с использованием породы дорпер // Вестник НГАУ. 2019. № 2. С. 122–127.
8. Столповский Ю.А., Захаров-Гезехус И.А. Проблема сохранения генофондов domestцированных животных // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017. Т. 21. № 4. С. 477–486.
9. Хамируев Т.Н. Шерстная продуктивность и показатели качества шерсти у полугрубошерстных овец агинской породы зугалайского типа // Вестник НГАУ. 2019. № 1. С. 177–183.
10. Щугорева Т.Э., Бабушкин В.А., Гаглоев А.Ч. Особенности роста чистопородного и помесного молодняка овец // Вестник МичГАУ. 2019. № 1. С. 78–80.
11. Fraser R.S. Идентификация полиморфизмов в коллагеновых лектинах КРС и их ассоциация с инфекционными болезнями КРС // Identification of polymorphisms in the bovine collagenous lectins and their association with infectious diseases in cattle. Immunogenetics, Lumsden J.S., Lillie B.N. 2018. 70. № 8. С. 533–546.
12. Wei Xuefeng, Hui Li, Guangwei Zhao et al. FostB regulates rosiglitazone-induced milk fat synthesis and cell survival. 2018. 233. № 12. С. 9284–9298.

#### REFERENCES

1. Abilov B.T., Zarytovskij A.I., Sorokina M.A., Bolotov N.A. Sposob prognozirovaniya individual'noj intensivnosti rosta molodnyaka ovec. Pat. 2662905 Rossiya, MPK A61V 5/04 (2006.01) A01K 67/02 (2006.01). (355017, g. Stavropol', per. Zootekhnicheskij, 15, FGBNU) № 2017111957; Zayavl. 07.04.2017; Opubl. 31.07.2018.
2. Grigoryan L.N., Hatataev S.A., Hmelevskaya G.N., Stepanova N.G. Sovremennye tendencii razvitiya Rossijskogo ovcevodstva raznogo napravleniya produktivnosti // Zootekhnija. 2019. № 5. S. 10.
3. Dunin I.M., Zelyatdinov V.V., Oreshnikova S.M., Davydenkova V.P. Novye podhody v sertifikacii shersti v Rossii // Zootekhnija. 2019. № 5. S. 13–16.
4. Kulikova K.A. Polimorfizm gena kal'pastatina (CAST) u ovec gornogo i stepnogo vnutripodnyh tipov tuvinskoj korotkozhirovostoj porody // Vestnik BGAU. 2018. № 1. S. 84–89.
5. Magomedov Sh.M., Hozhikov A.A., Rimihanov N.I. i dr. Sostoyanie i perspektivy razvitiya ovcevodstva v Respublike Dagestan // Ovtsy,kozy, sherstnoe delo. 2018. № 1. S. 5–7.
6. Ozdemirov A.A. Iz istorii sozdaniya Dagestanskoj gornoj porody ovec // Glavnyj zootekhnik. 2019. № 12. S. 10–15.

7. Pogodaev V.A., Sergeeva N.V., Zavgorodnyaya G.V. Kachestvo ovchin i gistologicheskoe stroenie kozhi molodnyaka ovec, poluchennogo s ispol'zovaniem porody dorper // Vestnik NGAU. 2019. № 2. S. 122–127.
8. Stolpovskij Yu.A., Zaharov-Gezekhus I.A. Problema sohraneniya genofondov domestikirovannyh zivotnyh // Vavilovskij zhurnal genetiki i selekcii. 2017. T. 21. № 4. S. 477–486.
9. Hamiruev T.N. Sherstnaya produktivnost' i pokazateli kachestva shersti u polugrubosherstnyh ovec aginskoj porody zugalajskogo tipa // Vestnik NGAU. 2019. № 1. S. 177–183.
10. Shchugoreva T.E., Babushkin V.A., Gagloev A.Ch. Osobennosti rosta chistoporodnogo i pomesnogo molodnyaka ovec // Vestnik MichGAU. 2019. № 1. S. 78–80.
11. Fraser R.S. Identifikaciya polimorfizmov v kollagenovyh lektinah KRS i ih asociaciya s infekcionnymi boleznyami KRS // Identification of polymorphisms in the bovine collagenous lectins and their association with infectious diseases in cattle. Immunogenetics, Lumsden J.S., Lillie B.N. 2018. 70. № 8. C. 533–546.
12. Wei Xuefeng, Hui Li, Guangwei Zhao et al. FostB regulates rosiglitazone-induced milk fat synthesis and cell survival. 2018. 233. № 12. C. 9284–9298.