

Животноводство

УДК 619.9.097:575

DOI: <https://doi.org/10.31857/S2500-26272019347-50>**ХАРАКТЕРИСТИКА РОМАНОВСКОЙ ПОРОДЫ ПО ЛОКУСУ BMP-15, ОТВЕТСТВЕННОМУ ЗА МНОГОПЛОДИЕ ОВЕЦ**

**Н.С. Марзанов,¹ доктор биологических наук,
О.П. Малюченко,² Е.А. Корецкая,³ С.Н. Марзанова,⁴ Л.К. Марзанова,¹ кандидаты биологических наук,
Ю.И. Тимошенко,⁴ кандидат сельскохозяйственных наук,
Ф.Р. Фейзуллаев,⁴ доктор сельскохозяйственных наук**

¹Федеральный научный центр животноводства имени академика Л.К. Эрнста,
142132, Московская область, Подольск-Дубровицы, 60

²Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии
127550, Москва, ул. Тимирязевская, 42

³Тверская государственная сельскохозяйственная академия,
170904, Тверь, пос. Сахарово, ул. Маршала Василевского, 7

⁴Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина,
109472, Москва, ул. Академика Скрябина, 23
E-mail: nmarzanov@yandex.ru

Рассмотрена проблема диагностики гена многоплодия у овец романовской породы. На основе исследований предложен метод диагностики полиморфного гена костного морфогенетического белка 15 (BMP-15), влияющего на многоплодие у овец романовской породы. Выявлена частота встречаемости нормального и мутантного аллелей, генотипов, ответственных за многоплодие овец в локусе. Из количественных показателей учитывали численность родившихся ягнят на момент отбивки, число яловых и выбракованных маток с учетом генотипов локуса BMP-15. Установлена корреляция между встречаемостью и количеством получаемого потомства, а также яловостью и выбраковкой маток романовской породы. Отмечено, что наибольший выход ягнят на момент рождения и отбивки был у овцематок, гомозиготных (MM) по мутантному аллелю. Животные с гетерозиготным генотипом (WM) оказались на втором месте. Обнаружено, что у носителей WW гомозиготы был самый большой процент выбракованных и яловых маток. По полученным данным сделан вывод, что при отборе маток на плодовитость необходимо учитывать генотипы по локусу BMP-15. Также при необходимости улучшения этого показателя важны дальнейшие исследования для более глубокого изучения установленного явления у романовской породы, поскольку многоплодие выявлялось у некоторых овцематок WW группы.

CHARACTERISTICS OF ROMANOV BREED LOCUS BMP-15, RESPONSIBLE FOR PROLIFICACY OF THE SHEEP

**Marzanov N.S.,¹ Maluchenko O.P.,² Koreckaja E.A.,³ Marzanova S.N.,⁴
Marzanova L.K.,¹ Timoshenko Yu.I.,⁴ Feizullaev F.R.⁴**

¹All-Russian research Institute of Animal Husbandry named after academy member L.K. Ernst,
142132, Moskovskaya oblast, Podolsk-Dubrovitsy, 60

²State Scientific Institution All-Russian Scientific Research Institute of Agricultural Biotechnology,
127550, Moskva, ul. Timiriazevskaya, 42

³Tver State Agricultural Academy; 170904, Tver; Sakharovo, ul. Marshala Vasilevskogo, 7

⁴The Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K.I. Skryabina,
109472, Moscow, ul. Akademika Skryabina, 23
E-mail: nmarzanov@yandex.ru

The article deals with the actual problem, the diagnostics of the prolificacy gene in sheep of the Romanov breed. The new method for the diagnostics of the polymorphic gene of the bone morphogenetic protein 15 (BMP-15), which causes the multiple pregnancy in the Romanov sheep, has been proposed based on the carried out surveys. The frequencies of occurrence of the normal (wild type) and mutant alleles responsible for the multiple pregnancy-related locus and the genotypes in the sheep are present. The economic indicators including the numbers of newborn lambs, the lambs at winning, and the dry and culled ewes were recorded with taking into consideration the genotypes of the BMP-15 locus. The relationships between the frequency of occurrence and the number of the produced posterity and between the dry and culled Romanov ewes were ascertained. It was proved that the highest percentage of the lamb output at birth to weaning was typical for the ewes homozygous (MM) for a mutant allele. The animals referred to as heterozygous genotypes (WM) appeared to be in the second position. With respect to the wild genotype, the highest percentage of the culled and dry ewes was recorded in the carriers of the WW homozygote. The obtained results allow us to conclude that the genotype frequency at the BMP-15 locus should be taken into account while estimating the fertility of the ewes. Therefore, the further researches into the determined phenomena in the Romanov sheep are required to improve this item, since the multi-fetal pregnancy is recorded in some ewes of group WW.

Ключевые слова: овцы, романовская порода, локус BMP-15, генотип, аллель, яловость, выбраковка

Key words: sheep, Romanov breed, locus of BMP-15, genotype, allele, sterility, culling

В настоящее время большое развитие получает овцеводство мясошерстного и мясо-шубного направлений, поскольку в современных условиях эффективность разведения овец, его рентабельность на 80% зависят от реализации производства баранины и только на 20% – от реализации шерсти и овчин. Одна из выдающихся пород мясо-шубного направления, тради-

ционно разводимых на территории РФ – романовская. Овцы этой породы характеризуются естественным многоплодием. При нормальных условиях содержания каждые 100 маток дают за одно ягнение 260 ягнят, а подбор наиболее эффективных родительских пар позволяет повысить этот показатель [1, 2].

В молекулярно-биологических исследованиях ав-

стралийских, новозеландских, европейских, индийских ученых выявлен ряд генов, участвующих в регуляции признаков плодовитости овец и получивших общее название Fec-гены (Fecundity genes). Гены плодовитости обнаружены у известных многоплодных пород овец: австралийского бурула (BMPr-IB/FecB), яванской (FecJ), кембриджской (Fec^C), тока (Fec^I), олкуска, лакаун, белклейр, вудландской (FecX2^w), ромни-марш (FecX^I, FecX^H) и других, из чего следует, что на проявление этих генов значительно влияет фактор породы [3-11].

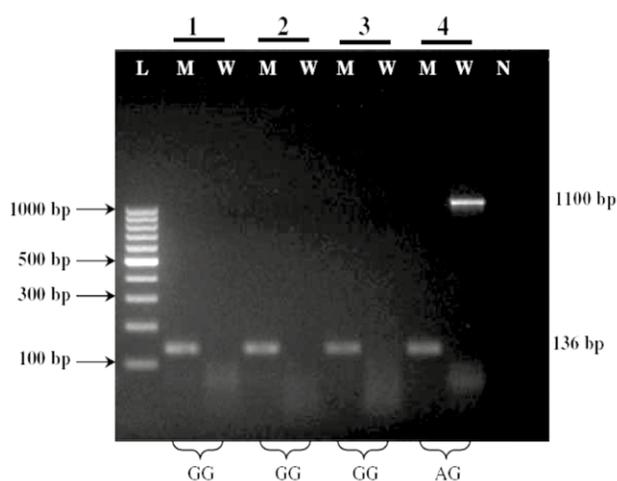
Актуально применение генетических маркеров многоплодия и продуктивности у овец, позволяющих улучшить селекционную работу. Для решения этой задачи были проведены исследования, связанные с выявлением одного из маркеров многоплодия у овец – полиморфного гена костного морфогенетического белка 15 (BMP-15, *bone morphogenetic protein*) – трансформирующего ростового бета-фактора (TGF- β , *transforming growth factor- β*). BMP-15 расположен на 11 хромосоме. Костные морфогенетические белки (BMP) относятся к группе факторов роста, также известны как цитокины, первоначально открыты благодаря их способности воздействовать на формирование кости и хряща. Известно, что BMP – одна из основных групп морфогенетических сигнальных белков, ответственных за синтез тканей в организме, BMP-15 также играет существенную роль в развитии ооцитов и фолликулов [8].

Цель настоящей работы – выявить генотипы и аллели BMP-15 локуса в геноме у овец романовской породы; изучить взаимосвязь между генотипами BMP-15 локуса и количеством полученного потомства на момент рождения и при отбивке от маток; определить связь между встречаемостью генотипов BMP-15 локуса с яловостью и выбраковкой.

Методика. В ходе исследования отобрали кровь от 50 овцематок романовской породы Муниципального унитарного сельскохозяйственного предприятия «Прогресс» Воронежской области. Возраст животных на момент взятия образцов крови составлял 4-5 лет. Выделение ДНК из цельной крови проводили по методике, описанной О.П. Малюченко и др. [12]. Генотипы BMP-15 локуса определяли методом аллель-специфичной ПЦР, предложенным Sh. Polley et al. [8]. С каждым образцом проводили две реакции, положительный результат которых указывал на присутствие в исследуемом генотипе дикого (W) или мутантного (M) аллеля. Работа по оптимизации режима ПЦР-анализа и определению генотипов была выполнена во Всероссийском научно-исследовательском институте сельскохозяйственной биотехнологии в рамках госзадания № 0574-2019-0003.

Учет данных за три года проводили совместно со специалистами предприятия «Прогресс» Воронежской области. Учитывали количество родившихся ягнят и на момент отбивки, число яловых и выбракованных маток с учетом генотипов BMP-15 локуса. Обработку популяционно-генетических характеристик проводили на основе общепринятых подходов [13]. Статистический анализ полученных данных осуществляли по Спирмену и Стьюденту [14].

Результаты и обсуждение. На агарозном геле анализ аллельного состава локуса BMP-15 выглядит следующим образом: каждому образцу соответствуют две дорожки, наличие продукта размером 1100 п.о. (пар оснований) на дорожке W демонстрирует присутствие в генотипе аллеля дикого типа, а продукт размером 136 п.о. на дорожке M – наличие в исследуемом генотипе мутантного аллеля (рис.).



Электрофорез в 2% ном агарозном геле аллельспецифического продукта ПЦР. Дорожка L – ДНК-маркер молекулярной массы; N – образец без геномной ДНК, отрицательный контроль; образец 4 – гетерозиготы, имеющие как W, так и M аллели.

Данные по встречаемости аллелей и генотипов в локусе BMP-15 у овец романовской породы представлены в табл. 1. Таким образом, выявлено три генотипа: 26 животных с гетерозиготным генотипом WM, 17 – с WW гомозиготой по дикому или нормальному аллелю и 7 – по мутантному аллелю (MM). Гомозиготный WW генотип по дикому или нормальному W аллелю в данном исследовании служит контролем.

Табл. 1. Характеристика локуса BMP-15 у маток романовской породы

Пол и порода	n	Гт	Встречаемость генотипов в локусе BMP-15			Встречаемость аллелей в локусе BMP-15		$\Sigma\chi^2$	df
			WM	WW	MM	W	M		
Матки романовской породы	50	H	26*	17*	7*	0,6	0,4	0,36	1
		O	24*	18*	8*				

*P>0,05.

Примечание. Гт – генотип, H – наблюдаемое число генотипов, O – ожидаемое число генотипов, W – (wild) дикий или нормальный аллель, M – (mutant) мутантный аллель, WM – гетерозиготный генотип, WW – гомозиготный генотип по дикому или нормальному аллелю; MM – гомозиготный генотип по мутантному аллелю.

Частота встречаемости нормального аллеля W в исследованной группе составила 0,6, мутантного – 0,4. Проведенный анализ показал отсутствие у животных нарушения генетического равновесия по локусу BMP-15 ($\Sigma\chi^2=0,36$; df=1; P>0,05).

В табл. 2 представлены данные о количестве родившихся ягнят, ягнят на момент отбивки, яловости и выбраковки маток с учетом генотипов в BMP-15 локусе. Так, в выборке животных с генотипом WW был больший процент выбывших и яловых маток, чем у особей, гетерозиготных по данному локусу, у особей – носителей мутантного локуса – минимальный.

Табл. 2. Характеристика овцематок с различными генотипами локуса BMP 15

Показатель	Генотип в BMP-15 локусе		
	WW	WM	MM
Частота встречаемости генотипов	0,34	0,52	0,14
Число выявленных генотипов	17	26	7
Число яловых маток за 3 года	4	5	1
Число выбывших маток	4	3	0
Процент яловых маток	23,5	19,2	14,2
Процент выбывших маток	23,5	11,5	0

Из данных табл. 3 видно, что особи с генотипом MM дают больше всего ягнят как на момент рождения, так и отбивки, особи с генотипом WW – меньше всех. У животных с генотипом WW эти данные составили соответственно 92 и 85 голов, с генотипом WM – 181 и 170, MM – 63 и 56. Таким образом, существует прямая взаимосвязь между количеством родившихся и отбитых ягнят независимо от того, к группе с каким генотипом относится животное. Сравнительный анализ данных показал, что от животных с генотипом MM получено наибольшее число ягнят, а овцы с генотипом WM превосходили овец с генотипом WW. Таким образом, все три группы животных достоверно различались между собой по данному признаку.

Табл. 3. Характеристика овцематок по количеству полученных и отбитых ягнят с учетом генотипов локуса BMP-15

Показатель	Генотип по BMP-15 локусу		
	WM	WW	MM
Число маток с генотипами	23	13	7
Получено ягнят	181	92	63
Отбито ягнят	170	85	56
Получено ягнят на одну матку в среднем	7,9±0,5	7,0±0,6	9,0±0,7
Отбито ягнят на одну матку в среднем	7,4±0,5	6,5±0,5	8,0±0,9
Получено ягнят на одну матку в среднем за один год	2,6±0,4	2,3±0,4	3,0±0,3
Отбито ягнят на одну матку в среднем за один год	2,5±0,4	2,2±0,4	2,7±0,3
Получено ягнят на одну матку в среднем за один год, %	113	100	130
Отбито ягнят на одну матку в среднем за один год, %	114	100	123

Различия между группами по количеству отбитых ягнят на 1 матку за 3 года свидетельствуют о превышении этого показателя у гетерозиготных маток с генотипом WM по сравнению с WW. Различия также получены и между животными с генотипами MM и WW. В то же время между животными с генотипами MM и WM не было выявлено достоверного различия по показателю отбитых ягнят на 1 матку за 3 года. От особей с

генотипом MM получали больше ягнят, но вследствие отхода молодняка, на момент отбивки эти показатели приближались к показателям у животных с WM генотипом. С экономической точки зрения наиболее выгодный выход ягнят от животных с MM и WM генотипами по сравнению с WW особями.

Проведенный анализ с учетом локуса BMP-15 как показателя многоплодия у овец романовской породы позволяет сделать вывод о том, что изучение и внедрение в будущем в селекционную работу данного признака может привести к отбору животных желательных генотипов и соответственно к увеличению плодовитости, ускорению селекционного процесса, повышению выхода ягнят. Однако рождение двух и более ягнят от особей с WW генотипом свидетельствует о том, что существует еще неизвестный биологический механизм. Следует отметить, что аналогичные данные получены у завезенных во Францию романовских овец [15; 16]. Поэтому необходимы дальнейшие исследования по точному установлению сложного механизма, лежащего в основе многоплодия у овец романовской породы.

Литература

1. Ерохин А.И., Карасев Е.А., Ерохин С.А. Романовская порода овец: состояние, совершенствование, использование генофонда. – М., 2005. – 329 с.
2. Корнев М.М., Фураева Н.С., Хрусталева В.И., Соколова С.И., Григорян Л.Н., Марзанов Н.С. Ценный мировой генофонд овец – романовская порода // Овцы, козы, шерстяное дело. – 2017. – № 3. – С. 2-4.
3. Piper L.R., Bindon B.M., Davis G.H. The single gene inheritance of the high litter size of the Booroola Merino. In *Genetics of Reproduction in Sheep* /R.B. Land, D.W. Robinson, eds. (London: Butterworth), 1985. – P.115–125.
4. Davis G.H. Combined effect of the Inverdale and Booroola prolificacy genes on ovulation rate in sheep. *Proceedings of the Association for the Advancement / G.H. Davis, K.G. Dodds, G.D. Bruce // Animal Breeding and Genetics.* – 1999. – Vol.13. – P. 74-77.
5. Montgomery G.W. Genes controlling ovulation rate in sheep / G.W. Montgomery, S. M. Galloway, G. H. Davis, K. P. McNatty // *Reproduction and Fertility.* – 2001. – Vol.121. – P. 1470-1626.
6. Davis G.H. Major genes affecting ovulation rate in sheep / G.H. Davis // *Genet. Sel. Evol.* – 2005. – Vol.37. – P. 11-23.
7. Bodin, L., Di Pasquale, E., Fabre, S., Bontoux, M., Monget, P., Persani, L., Mulsant, P. A Novel Mutation in the Bone Morphogenetic Protein 15 Gene Causing Defective Protein Secretion Is Associated with Both Increased Ovulation Rate and Sterility in Lacaune Sheep // *Endocrinology.* – 2007. – Vol. 148(1). – P. 393–400.
8. Polley Sh., Brahma S.De.B., Mukherjee A., Vinesh P.V., Batabyal S., Arora J.S., Pan S., Samanta A.K., Datta T.K., Goswami S.L. Polymorphism of BMP1B, BMP15 and GDF9 fecundity genes in prolific Garole sheep // *Trop. Anim. Health Prod.* DOI 10.1007/s11250-009-9518-1.
9. Jansson T. Genes involved in ovulation rate and litter size in sheep / T. Jansson. *Bachelor Thesis. Uppsala, 2014.* – 19p.
10. Марзанов Н.С., Комкова Е.А., Малюченко О.П., Алексеев Я.И., Озеров М.Ю., Кантанен Ю., Лобков В.Я., Марзанова Л.К., Астафьева Е.Е., Петров С.Н., Колпаков И.Н., Андрюхин А.П., Адамян К.К., Марзанова С.Н. Характеристика аллелофонда ро-

- мановской породы овец по различным типам генетических маркеров // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2015. – №2. – С.23-40.
11. Астафьева Е.Е. Генетическая оценка видов и пород животных, разводимых в разных экологических условиях. Дисс. канд. биол. наук. Москва, 2017. – 132с.
12. Малюченко О.П., Алексеев Я.И., Монахова Ю.А., Марзанова С.Н., Марзанов Н.С. Изучение молекулярной изменчивости генов плодовитости BMP-15 и GDF9 у романовской породы овец // Известия ТСХА. – 2011. – №6. – С.167-169.
13. Марзанов Н.С. Иммунология и иммуногенетика овец и коз. – Кишинев: Штиин-ца, 1991. – 238с.
14. Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика, 1999. – 334 с.
15. Ricordeau G. Research on the Romanov sheep breed in France: a review/ G. Ricordeau, J. Thimonier, J.P. Poivey, M.A. Driancourt, M.T. Hochereau-de-Reviere, L. Tchamitchian // INRA. Livest. Prod. Sci. – 1990. – Vol. 24. – P.305-332.
16. Fabre S. Regulation of ovulation rate in mammals: contribution of sheep genetic models / S. Fabre, A. Pierre, P. Mulsant, L. Bodin, E. Di Pasquale, L. Persani, P. Monget, D. Monniaux // Reproductive Biology and Endocrinology. – 2006. – Vol.4:20. DOI:10.1186/1477-7827-4-20

Поступила в редакцию 20.11.18
После доработки 20.02.19
Принята к публикации 25.03.19