

**ДИНАМІКА РОСТУ І РОЗВИТКУ БАРАНЦІВ АСКАНІЙСЬКОЇ
М'ЯСО-ВОВНОВОЇ ПОРОДИ З РІЗНИМИ ГЕНОТИПАМИ
ЗА ГЕНОМ CAST**

Яковчук Г.О.

ORCID: 0000-0002-2141-8540

Скрепець К.В., кандидат сільськогосподарських наук,
старш. наук. співроб.

ORCID: 0000-0002-8873-3801

Інститут тваринництва степових районів імені М.Ф. Іванова
«Асканія-Нова» – Національний науковий селекційно-генетичний
центр з вівчарства
e-mail: anna10jakovchuk@gmail.com

Наведено результати досліджень зв'язку генотипів гену калпастатину (CAST) з рівнем росту та розвитку баранців асканійської м'ясо-вовнової породи (AMB). Встановлено, що баранці м'ясо-вовнової породи з генотипом MM мали вищу живу масу порівняно з носіями генотипу MN у всі досліджені вікові періоди, при цьому у 4-місячному віці різниця вірогідна ($p < 0,05$). При народженні тварини обох генотипів не відрізнялися суттєво за розмірами статей тіла, в 4 місяці тварини-носії генотипу MM мали вірогідно вищі показники розмірів ширини грудей і ширини в моклаках: 17,8 проти 17,4 та 13,9 проти 12,8 відповідно, більшим був і обхват грудей за лопатками - 75,2 проти 72,7. В 6 місяців у тварин-носіїв генотипу MM показник розміру обхват грудей за лопатками був вірогідно вищим: 84,2 проти 80,7. За індексами будови тіла тварини з генотипом MM перевершують носіїв типу MN за індексами, що вказують на м'ясні якості тварин.

Ключові слова: вівці, генотип, ДНК, метод ПЦР-ПДРФ, продуктивність.

DOI: 10.33694/2617-0787-2023-1-16-60-69

UDC: 636.32/.38.082.12

**GROWTH AND DEVELOPMENT DYNAMICS OF ASKANI MEAT-
WOOL SHEEPS WITH DIFFERENT GENOTYPES
BY THE CAST GENE**

Yakovchuk G.O.

ORCID: 0000-0002-2141-8540

Skrepets K.V., Candidate of Agricultural Sciences, Senior Research Associate

ORCID: 0000-0002-8873-3801

Ivanov's Institute of Animal Husbandry in Steppe Regions "Askaniya-Nova" – National Scientific Selection-Genetical Center of Sheep Breeding

e-mail: anna10jakovchuk@gmail.com

The results of studies of the relationship between the genotypes of the calpastatin gene (CAST) and the level of growth and development of sheep of the Ascanian meat-wool breed (AMB) are presented. It was found that sheep of the meat-wool breed with the MM genotype had a higher live weight compared to carriers of the MN genotype in all studied age periods, while at 4 months of age the difference is significant ($p < 0.05$). At birth, animals of both genotypes did not differ significantly in body measurements, at 4 months, animals carrying the MM genotype had significantly higher measurements of chest width and width in the withers: 17.8 versus 17.4 and 13.9 versus 12.8, respectively, and the chest girth behind the shoulder blades was also greater - 75.2 versus 72.7. At 6 months, the MM genotype carriers had a significantly higher chest girth measurement behind the shoulder blades: 84.2 versus 80.7. According to body composition indices, animals with the MM genotype outperformed MN carriers in indices indicating meat quality of animals.

Keywords: *sheep, genotype, DNA, PCR-RFRP method, productivity.*

DOI: 10.33694/2617-0787-2023-1-16-60-69

Постановка проблеми. Орієнтація сучасного вівчарства на збільшення м'ясної продуктивності та покращення якості м'ясної продукції потребує залучення нових підходів у селекції, до яких відноситься зокрема селекція за маркерними генами. Не зважаючи на свою, відносно недавню, появу, молекулярно-генетичні методи широко використовуються у роботі з тваринами, що дало змогу вченим визначити гени, прямо чи опосередковано пов'язані з продуктивними ознаками тварин. Відомо, що останні мають полігенний характер, а їх прояв залежить від багатьох факторів, але, все ж таки, існують основні гени кількісних ознак (гени-кандидати), внесок яких у прояв специфічної ознаки є вирішальним. За оглядами доступної наукової літератури, серед генів-кандидатів, що розглядаються, як маркери продуктивності та мають вплив на м'ясні якості, присутній і ген калпастатину. Цей ген є поліморфним у

багатьох порід овець [1, 2, 3].

Калпастатин є специфічним ендogenousним інгібітором калпаїну і грає основну роль в регулюванні активності останнього в клітинах, та виступає головним модулятором протеїнового метаболізму [3]. Він грає важливу роль у рості скелетних м'язів, впливає на протеоліз міофібрил, а також детермінує швидкість дозрівання м'яса після забою [4].

Припускають, що мутації гену CAST, що призводять до інгібування його активності (або зниження синтезу калпастатину), можуть привести до збільшення активності калпаїну і, отже, до збільшення проліферації міобластів у живих клітинах та посилення проліферації білків, що може мати позитивний вплив на кількісні і якісні індекси м'ясної продуктивності. І, навпаки, мутації, що призводять до збільшення синтезу призведуть до зниження активності калпаїну, зниження в рості скелетної мускулатури та менший посмертний протеоліз білків міофібрил [5].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Калпастатин (Gene ID: 443364) розташований у овець на 5 хромосомі, має довжину 89 тис 553 п.н. і складається з 29 екзонів. Поліморфізм гена, розташований у першому інтроні між екзонами IC та ID, визначається за методом поліморфізму довжин рестрикційних фрагментів полімеразної ланцюгової реакції за допомогою рестриктази MspI [5, 6].

Більша частка досліджень, що зустрічаються, стосується визначення поліморфізму гену у різних порід овець [7]. Зустрічаємо повідомлення про зв'язок гену з довголіттям і плодючістю овець [8]. В ряді досліджень був виявлений зв'язок окремих генотипів гену CAST з показниками м'ясної продуктивності. Так, Помітун із співавторами в дослідженнях на придніпровських м'ясних вівцях помітили тенденцію до збільшення живої маси тіла ягнят носіїв алелю N (генотипи NN та MN), порівняно з показниками для ягнят з генотипом MM [5]. В той час, як Ramadevi B на вівцях породи Nellore, Sutikno S. на локальних породах Індонезії, B.R. Palmer на помісному поголів'ї, повідомили про відсутність такого зв'язку [9, 10, 12].

Попередніми дослідженнями локусу CAST у овець асканійської селекції було встановлено його поліморфний стан та виявлено три генетичні варіанти [11], але можливий зв'язок між інтенсивністю росту і розвитку та різними генотипами у молодняку овець асканійської м'ясо-вовнової породи за цим геном ще не вивчався. Тому визначення особливостей росту і розвитку молодняку овець асканійської м'ясо-вовнової породи різних генотипів за геном калпастатину було основною метою цієї роботи.

Мета статті. Метою наших досліджень було визначення

особливості формування живої маси та лінійного росту баранців асканійської м'ясо-вовнової породи з різними генотипами за локусом CAST.

Матеріал і методика. Дослідження проводили на вівцях асканійської м'ясо-вовнової породи (АМВ, $n = 22$), які утримуються у ДПДГ «Асканія-Нова» Каховського району Херсонської області. Динаміку росту і розвитку тварин досліджували шляхом зважування, взяття основних промірів статей тіла та визначення основних індексів будови тіла в періоди: при народженні, в 4 та 6 місяців. При цьому кожне ягня одразу після народження, в 4 та в 6 місяців атестували за наступними конституціональними ознаками: жива маса, висота в холці і в крижах; коса довжина тулуба; глибина, ширина та обхват грудної клітини; ширина в моклаках, ширина в сідничних горбах, ширина та довжина голови, та обхват п'ясті, а також напівобхват заду. На основі отриманих даних визначали вікову мінливість живої маси та динаміку лінійного росту баранців, та шляхом визначення основних індексів будови тіла за прийнятою в селекційних дослідженнях методикою.

Геномну ДНК виділяли з цільної крові з використанням набору реагентів для екстракції ДНК „ДНК-Сорб-Б” за стандартною методикою, згідно рекомендацій виробника (Амплісенс). Визначення генотипу тварин здійснювалося методом ПЛР-ПДРФ з використанням програмованого ампліфікатора Libe Line.

Для проведення ампліфікації використовували наступні праймери (Palmer et. al., 1998):

F: 5'-TGGGGCCCAATGACGCCATCGATG-3';

R: 5'-GGTGGAGCAGCACTTCTGATCACC-3'

Температурний режим ампліфікації гена CAST: початкова денатурація – 5 хв. при 94 °С; 33 цикли: денатурація – 30 с при 94 °С; відпал праймерів – 30 с при 67 °С; синтез – 60 с при 72 °С; термінальна елонгація – 8 хв. при 72 °С. Рестрикцію продуктів ампліфікації проводили з використанням рестриктази MspI (C/CGG). Реакційну суміш інкубували в термостаті при температурі 37° С протягом 6 годин.

Для розділення продуктів ампліфікації та рестрикції проводили горизонтальний електрофорез у 2,5 % агарозному гелі з додаванням бромистого етідію. Візуалізацію отриманих результатів здійснювали за допомогою транслюмінатора в УФ світлі з подальшим документуванням електрофореграм цифровою фотокамерою. Диференціацію ампліконів за розмірами проводили за допомогою маркера молекулярних мас GeneRuler TM 50bp DNA Ladder (Fermentas).

Довжина ділянки гену калпастатину складає 622 п.н. Після рестрикції на електрофореграмі у носіїв генотипу ММ присутні дві смуги з довжиною фрагментів 336 п.н. та 286 п.н. Для генотипу MN характерна наявність трьох фрагментів довжиною 622 п.н., 336 п.н. та 286 п.н., а для NN – тільки фрагменту 622 п.н.

Результати досліджень. В результаті проведення ДНК-аналізу встановлено, що тварини є носіями двох з трьох теоретично можливих генотипів (ММ та MN), що утворюються двома алельними варіантами гену (М та N), генотип NN не був виявлений. Кожен алельний ген виконує в організмі певну функцію, яка через генетичний гомеостаз впливає на синтез білкових продуктів і в кінцевому результаті визначає величину і якість продуктивної чи фізіологічної ознаки. Щоб оцінити вплив досліджуваного генетичного фактору на рівень росту і розвитку, баранців було розподілено за певним генотипом та визначено величину ознаки в межах сформованих груп. Генотипи розподілились порівну, тож кожна група складалася з 11 голів.

Жива маса – це перша і основна ознака, що досліджується при вивченні росту і розвитку тварин, її показник характеризує як організм в цілому, так і сумарну величину всіх його органів і частин. Вікова мінливість живої маси показує індивідуальні особливості росту, скоростиглості і знаходиться в певному зв'язку з продуктивністю тварин.

За результатами експериментальних досліджень в ідентичних умовах годівлі та утримання піддослідних тварин встановлено, що найвищою живою масою, як при народженні, так і в наступні вікові періоди характеризувався молодняк м'ясо-вовнової породи з генотипом ММ порівняно з носіями генотипу MN. Так, при народженні, носії варіанту ММ перевершували показник баранців з альтернативним генотипом на 0,5 кг, проте різниця була недостовірна (табл. 1).

У 4-х та 6-ти місячному віці різниця за живою масою збереглася на користь тварин з генотипом ММ і становила 3,9 ($p < 0,05$) та 1,0 кг. Схожі дані було отримано в дослідженнях на вівцях порід Jonggol (Indonesia) [12], Awassi (Jordan) [13], Nellore (India) [9], де тварини з генотипом ММ також відрізнялися вищою живою масою в різні вікові періоди, порівняно із своїми ровесниками з альтернативним генотипом MN.

Таблиця 1. Жива маса баранців асканійської м'ясововнової породи з різними генотипами CAST у різні вікові періоди, кг

Вікові періоди	n	Генотипи CAST		В середньому
		MM	MN	
При народженні	22	5,2±0,299	4,7±0,287	5,0±0,214
В 4 місяці	22	28,0±1,087*	24,1±1,086	26,3±0,873
В 6 місяців	22	37,5±1,397	36,5±1,446	37,0±0,987

* - $p < 0,05$

Показник живої маси не може повною мірою визначити рівень розвитку та співвідношення окремих частин тіла тварини, її екстер'єрних особливостей. Об'єктивним критерієм інтенсивності розвитку молодняку стають також проміри тіла, які дають уявлення як про загальну величину тварин, так і про розвиток найбільш важливих його частин. Хоча ріст і розвиток тісно пов'язані, визначають один одного, але згідно з біологічною зумовленістю, вікові зміни будови тіла тварин значною мірою залежать від різної інтенсивності росту їхнього скелету на різних етапах постнатального онтогенезу. На це вказують показники лінійних промірів основних статей екстер'єру піддослідних ягнят в динаміці від народження до 6-місячного віку. У наших дослідженнях ми використовували дванадцять основних промірів. Показники лінійних промірів основних статей екстер'єру новонароджених піддослідних ягнят у віці 1 – 2 днів, у 4 та 6 місяців наведені в таблиці 2.

Аналіз одержаних результатів вимірювання свідчить про те, що при народженні носії генотипу MM переважали тварин з варіантом MN за всіма показниками окрім проміру глибини грудей, але різниця була достовірною лише за проміром напівобхват заду 21,7 см у тварин з генотипом MM проти 20,2 см у тварин з MN ($p < 0,05$).

В 4 місяці тварини - носії генотипу MM також мали вищі показники за всіма промірами статей тіла, окрім ширини в сідничних горбах (9,0 см проти 9,9 см), довжини голови (15,3 см проти 15,8 см) та обхвата п'ястка (8,1 см проти 8,3 см). При цьому достовірно вищими у тварин з генотипом MM були проміри ширини грудей (17,8 см проти 17,4 см) та ширини в моклаках (13,9 см проти 12,8 см) ($p < 0,05$). Більшим у цих тварин виявився також і обхват грудей за лопатками (75,2 см проти 72,7 см).

У 6-місячному віці спостерігалась така ж тенденція: тварини з генотипом MM мали дещо вищі показники всіх статей тіла крім ширини в сідничних буграх і обхвата п'ястка, особливо відрізнявся і в цьому віці показник обхвату грудей за лопатками 84,2 см у носіїв MM проти 80,7 см у тварин з типом MN.

Для того, щоб визначити, тварини якої тілобудови формують кожен з груп тварин в межах генотипу, з використанням лінійних промірів було обраховано 9 основних індексів тілобудови (табл.3)

Таблиця 2. Проміри тіла ягнят АМВ породи з різними генотипами CAST у різні вікові періоди, см

Промір	При народженні		В 4 місяці		В 6 місяців	
	ММ	MN	ММ	MN	ММ	MN
Висота в холці	37,5 ±0,638	36,9±0,640	58,0±0,552	57,4±0,658	58,9±0,986	60,1±1,171
Висота в крижах	37,4±0,732	37,4±0,551	59,1±0,567	58,6±0,705	61,5±0,743	62,5±1,048
Коса довжина тулуба	32,3±0,687	31,5±0,731	57,4±0,790	57,2±0,563	59,6±0,742	61,8±1,052
Глибина грудей	12,8±0,228	12,9±0,406	25,1±0,431	24,8±0,335	26,4±0,559	26,7±0,541
Ширина грудей	9,0±0,238	8,7±0,364	17,8±0,400*	17,4±0,308	19,3±0,739	18,5±0,312
Ширина в моклаках	6,3±0,141	6,2±0,121	13,9±0,368*	12,8±0,327	13,8±0,501	13,4±0,338
Ширина в сідничних горбах	3,9±0,136	3,8±0,204	9,0±0,238	9,9±0,348	9,1±0,285	9,3±0,384
Ширина голови	7,5±0,142	7,3±0,204	11,4±0,136	11,0±0,167	11,7±0,273	11,5±0,312
Довжина голови	10,0±0,184	9,8±0,204	15,3±0,255	15,8±0,327	17,4±0,411	16,8±0,724
Напівобхват заду	21,7±0,557*	20,2±0,464	49,3±0,740	47,4±0,686	52,5±1,224	51,5±1,09
Обхват грудей за лопатками	34,4±0,637	34,1±0,637	75,2±0,951	72,7±1,578	84,2±1,394	80,7±1,778
Обхват п'ястка	4,8±0,086	4,7±0,186	8,1±0,148	8,3±0,171	8,9±0,176	9,0±0,213

* - $p < 0,05$

Таблиця 3. Індекси будови тіла ягнят АМВ з різними генотипами CAST у різні вікові періоди

Індекс	При народженні		В 4 місяці		В 6 місяців	
	ММ	MN	ММ	MN	ММ	MN
Розтягнутості	86,5±1,805	85,4±0,681	98,9±1,304	99,8±1,161	101,4±1,457	103,0±1,115
Збитості	106,8±2,296	108,3±1,469	131,2±1,580	127,0±1,713	141,3±2,407**	130,6±2,212
Перерослості	99,8±0,463	101,5±0,710	101,9±0,263	102,1±0,258	104,4±1,052	104,0±0,639
Костистості	12,8±0,245	12,7±0,455	14,0±0,256	14,4±0,268	15,2±0,397	15,0±0,460
М'ясності	58,0±1,146*	54,7±1,009	85,0±1,355	82,8±1,726	89,4±2,360	86,0±1,938
Грудний	70,0±1,473	67,7±2,414	71,0±0,925	70,2±1,479	72,8±1,726	69,5±1,004
Тазогрудний	143,1±3,509	140,0±4,705	128,7±3,301	136,5±4,671	140,4±5,641	139,3±2,921
Масивності	92,0±1,590	92,4±1,000	129,7±1,633	126,8±2,230	143,3±3,205*	134,4±1,580
Довгоногості	65,8±0,853	65,0±0,705	56,7±0,764	56,8±0,645	55,1±1,091	55,4±1,153

* - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$

При аналізі величини індексів тілобудови цікавим виявився той факт, що у тварин з генотипом ММ при народженні був підвищеним індекс м'ясності – 58,0 проти 54,7 у тварин з альтернативним генотипом ($p < 0,05$). В 4-місячному віці тварини з генотипом ММ також мають підвищені показники зазначених індексів. В 6-місячному віці

ця тенденція зберігається, при цьому індекс збитості у тварин з типом ММ складає 141,3 проти 130,6 у тварин з альтернативним варіантом ($p < 0,01$), масивності – 143,3 проти 134,4 ($p < 0,05$), також більшим показником відрізнявся і індекс м'ясності – 89,4 проти 86,0. Тобто тварини з генотипом ММ перевершують носіїв типу MN за індексами, що вказують на м'ясні якості тварин.

Висновки. Результати аналізу динаміки живої маси баранців з різними генотипами гену CAST від народження до 6-місячного віку свідчать про те, що тварини – носії ММ генотипу, мають дещо кращі показники порівняно з носіями альтернативного генотипу MN. При цьому різниця між групами тварин у віці 4 місяців вірогідна. Екстер'єрна оцінка досліджуваних груп баранців показала, що молодняк з гомозиготним генотипом ММ має вищі показники за розмірами статей тіла, а також індексами будови тіла у всі досліджені періоди, порівняно з носіями гетерозиготного MN.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Nikmard M., Molaee V., Eskandarinasab M. P., Dinparast Djadid N., & Vajhi A. R. Calpastatin polymorphism in Afshari sheep and its possible correlation with growth and carcass traits. *Journal of Applied Animal Research*. 2012. Vol 40. № 4, P. 346–350. doi:10.1080/09712119.2012.692330
2. Sumantri C., Diyono R., Farajallah A. and Inounu I. Polymorphism of Calpastatin gene and its effect on body weight of local sheeps. *JITV* 2008. Vol 13. № 2. P. 117-126.
3. Bagatoli A., Gasparino E., Soares M.A.M., Amaral R.M., Macedo F.A.F., Voltolini D.M. and Del Vesco A.P. Expression of calpastatin and myostatin genes associated with lamb meat quality. *Genetics and Molecular Research*. 2013. Vol 12. №4. P 6168 - 6175.
4. Ibrahim A.H.M. et al. Calpastatin Polymorphism in Barki Lambs and their Effects on Growth and Carcass Traits. *Journal of American Science*. 2015. Vol 11. № 3. P.105 - 112.
5. Pomitun I.A., Rossokha V.I., Boyko Ye.A., Gusevatyi O.E., Shpilka M.V., Kulibaba R.O. Analysis of Calpastatin and Callipyge Genes Polymorphism in Prydniprovskaya Meat Sheep. *Agricultural Science and Practice*. 2019. Vol 6. №2. P. 58 - 65.
6. Palmer B.R., Roberts N., Hickford J.G., Bickerstaffe R. Rapid communication: PCR-RFLP for MspI And NcoI in the ovine calpastatin gene. *Journal of Animal Science*. 1998. Vol 76. № 5. P. 1499 - 1500. <https://doi.org/10.2527/1998.7651499x>.
7. Suleman M., Khan S., Riaz M., Yousaf M., Abdullah Shah, Ishaq R.,

Ghafoor A. Calpastatin (CAST) gene polymorphism in Kajli, Lohi and Thalli sheep breeds. *African Journal of Biotechnology Agricultural and Food Sciences*. 2012. Vol. 6. №2, P. 193–196. doi:[10.5897/AJB11.2478](https://doi.org/10.5897/AJB11.2478)

8. Byun Seung-Ok. Genes associated with variation in longevity and fecundity in sheep: A thesis submitted in fulfilment of the requirements for the Degree of Doctor of Philosophy. New Zealand. Lincoln University. 2012. 255 p.

9. Ramadevi B., Punya Kumari B., Sudhakar K., Gangaraju G. and Vinod U. Polymorphism of the Ovine Calpastatin (CAST) Gene and its Association with Productive Traits in Nellore Sheep. *Journal of Animal research*. 2020 Vol 10. №6. P. 881 - 887. Doi: 10.30954/2277-940X.06.2020.4.

10. Palmer B.R., Morton J.D., Roberts N., Ilian M.A. and Bickerstaffe R. Marker-assisted selection for meat quality and the ovine calpastatin gene. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*. 1999. Vol 59. P. 266 - 268.

11. Іовенко В.М., Скрепець К.В., Писаренко Н.Б. Поліморфізм гена CAST у овець української селекції. *Conferinta Stiintifico-Practica cu Participare Internationala "Inovatss in zootehnie si siguranta produselor animatiere-realizare si perspective"* 30 septembrie – 01 oktombrie 2021. Moldova. Maximovca. 2021. P. 305 - 310.

12. Sutikno A. K., Yamin M., Sumantri C. Association of Polymorphism Calpastatin Gene with Body Weight of Local Sheep in Jonggol. *Media Peternakan*. Indonesia. 2011. Vol 34. № 1, P. 1 - 6. Doi:105398/med pet 2011.34.1.1.

13. Jawasreh K. I., Al-Amareen A. H. and Aad P. Y. Relationships between Hha1 Calpastatin Gene Polymorphism, Growth Performance, and Meat Characteristics of Awassi Sheep. *Animals*. 2019. Vol 9, №9. P. 667 - 674. Doi:10.3390/ani9090667.