

УДК 636.082.11:591.11

DOI: 10.33284/2658-3135-102-4-43

Влияние полиморфизма гена фактора дифференциации роста 5 на элементный статус бычков

А.В. Харламов¹, А.Н. Фролов¹, О.А. Завьялов¹, В.И. Косилов², Г.А. Морган³

¹Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук (г. Оренбург)

²Оренбургский государственный аграрный университет (г. Оренбург)

³Veterinary Management Services Ltd (Остров принца Эдварда, Канада)

Аннотация. Исследования проведены на бычках калмыцкой породы (n=182), возраст при отборе биосубстратов – 12-14 месяцев, живая масса – 343,7±6,4 кг. На первом этапе для определения однонуклеотидного полиморфизма фактора дифференциации роста 5 (T586C в экзоне 1) произведён отбор проб крови. Из цельной крови выделялись образцы ДНК с использованием набора реагентов фирмы IsoGeneLab. Праймеры, использованные в исследовании, синтезированы в НПФ «Литех». Для амплификации ДНК использовался термоциклер «MyCycler».

Установлена частота встречаемости полиморфных групп в гене GDF5, которая составила по гомозиготным аллелям: Т – 48,9 %, С – 4,4 %, гетерозиготным – 46,7 %.

На втором этапе исследований произведён отбор проб шерсти с верхней части холки у 8 голов из каждой выявленной группы животных. Элементный состав биосубстратов исследовали по 25 показателям, методами атомно-эмиссионной и масс-спектрометрии (АЭС-ИСП и МС-ИСП).

Установлено влияние полиморфизма в гене фактора дифференциации роста 5 на элементный статус бычков. Так, у бычков с генотипом СС в шерсти содержалось больше макро- и эссенциальных элементов: Са – на 38,4 и 35,8 %, К – 169,1 и 113,1 %, Na – на 112,9 и 92,2 %, I – на 39,0 и 30,4 %, Se – на 21,1 и 18,8 %, при уменьшении токсичных: As – на 37,5 и 2,3 %, Al – на 61,2 и 50,8 %, Pb – на 52,3 и 39,0 % относительно животных с генотипами ТТ и ТС соответственно.

Дано заключение о необходимости проведения дальнейших исследований с увеличением группы животных по гомозиготному генотипу С.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, бычки, ген, GDF5, SNP, элементный статус, токсичные элементы.

UDC 636.082.11:591.11

The influence of polymorphism of growth differentiation factor 5 on elemental status of bulls

Anatoly V Kharlamov¹, Alexey N Frolov¹, Oleg A Zavyalov¹, Vladimir I Kosilov², Gary A Morgan³

¹Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences (Orenburg, Russia)

²Orenburg State Agrarian University (Orenburg, Russia)

³Veterinary Management Services Ltd (Prince Edward Island, Canada)

Summary. The studies were performed on calves of the Kalmyk breed (n = 182), the age of selecting bio-substrates was 12-14 months, live weight was 343.7 ± 6.4 kg. At the first stage, blood samples were taken to determine the single nucleotide polymorphism of growth differentiation factor 5 (T586C in exon 1). DNA samples were isolated from whole blood using an IsoGeneLab reagent kit. The primers used in the study were synthesized in NPF Litech. For amplification of DNA, the MyCycler thermal cycler was used. The frequency of occurrence of polymorphic groups in the GDF5 gene was established, it was according to homozygous alleles: T – 48.9%, C – 4.4%, heterozygous – 46.7%.

At the second stage of research, hair samples were taken from the upper part of withers of 8 animals from each identified group of animals. The elemental composition of biosubstrates was studied according to 25 indicators, using atomic emission and mass spectrometry (AES-ICP and MS-ICP).

The effect of polymorphism in the gene of growth differentiation factor 5 on the elemental status of bulls has been established. So, hair of bulls with CC genotype contained more macro- and essential elements:

Ca – 38.4 and 35.8%, K – 169.1 and 113.1%, Na – 112.9 and 92.2 %, I – by 39.0 and 30.4%, Se – by 21.1 and 18.8%, with a decrease in toxic: As – by 37.5 and 2.3%, Al – by 61.2 and 50,8%, Pb – by 52.3 and 39.0% relative to animals with TT and TC genotypes, respectively.

It is concluded that further research is needed with a larger group of animals according to homozygous genotype C.

Key words: cattle, bulls, gene, GDF5, SNP, elemental status, toxic elements.

Введение.

Понимание роста и развития скелетных мышц является одной из важнейших задач в мясном скотоводстве. На мясную продуктивность и характеристики мяса влияют многие факторы, среди которых первостепенное значение имеют генетические. Выявление причинных локусов продуктивности и качества мяса является важной задачей, стоящей перед генетиками всего мира (Garrick DJ and Ruvinsky A, 2014). На интенсивность роста влияют как факторы окружающей среды, включая рацион питания, так и различные гены, наследуемость этого признака свыше 80 % (Silventoinen K et al., 2003; Pilia G et al., 2006).

В связи с этим выявление генов-кандидатов и их полиморфных видов, связанных с продуктивностью животных и качеством продукции, является перспективным направлением исследований.

Фактор дифференциации роста 5 (GDF5) является членом суперсемейства трансформирующего фактора роста- β (TGF- β) (Feng C et al., 2015), влияет как на рост, так и на поддержание костей, мышц и сухожилий (Nishitoh H et al., 1996; Francis-West PH et al., 1999; Mikic B et al., 2002).

Обширные исследования в медицине установили связь аллеля T с меньшим продуцированием белка GDF5, что приводит к снижению роста (Sanna S et al., 2008; Gudbjartsson DF et al., 2008), предрасположенности к таким заболеваниям, как остеоартрит (Southam L et al., 2007; Miyamoto Y et al., 2007; Evangelou E et al., 2009), симфалангизм (Elkington SG and Huntsman RG, 1967; Plett SK et al., 2008), дегенерация поясничного диска (Feng C et al., 2015) и др.

Принимая во внимание все эти данные, в животноводстве изучение полиморфизма гена может решить проблему не только отбора животных, устойчивых к развитию заболеваний в опорно-двигательном аппарате, но и в качестве гена, влияющего на параметры тела и интенсивность роста.

Роль химических элементов в функционировании организма огромна, доказано их участие в большинстве биохимических процессов и функций. При этом каждый макро- или микроэлемент характеризуется определённым оптимальным диапазоном содержания в организме, отклонения в их концентрации способны привести к возникновению реакций различной степени выраженности, физиологическим изменениям в пределах обычной регуляции, значительным нарушениям метаболизма и специфическим заболеваниям (Авцын А.П. и др., 1991).

В этой связи оценка элементного статуса бычков в зависимости от полиморфизма гена GDF5 даст исчерпывающую информацию о его влиянии на обмен минеральных веществ.

Цель исследования.

Изучение влияния полиморфизма в гене GDF5 на элементный статус бычков калмыцкой породы.

Материалы и методы исследования.

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 уменьшения количества используемых образцов.

Схема эксперимента. Исследование проведено в 2019 году 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 D1Atom DNAprep 200 (ООО «Лаборатория Изоген», Россия). Для проведения полимеразной цепной реакции использовали набор GenePak PCR Core (ООО «Лаборатория Изоген», Россия) и набор Encyclo PCR kit («Evrogen», Россия). Праймеры синтезированы в НПФ «Литех» (Россия). Нуклеотидная последовательность праймера для гена маркера GDF5 представлена в таблице 1.

Таблица 1. Характеристика праймера, использованного в работе
Table 1. Primer characteristics, used in work

Ген-маркер/ Marker gene	Последовательность праймера/Primer sequence	Размер продукта, п. н./ Product size, bps	Источник информации/ The source of information
GDF5	F: 5'-TGTCCGATGCTGACAGAAAGG-3' R: 5'-GAGTGAGGTTAATCCCAGATACCA-3'	235	Liu YF, et al. (2010)

ПЦР-ПДРФ гена GDF5 проводили в термоциклере «MyCycler» Bio-Rad (США).

Реакцию 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
Table 2. Characterization of endonuclease and sizes of restriction products depending on genotype

Ген/ Gene	Рестриктаза/ Restrictase	Замена нуклеотида/Nucleotide replacement	Температура инкубации, °C/ Incubation temperature, °C	Размеры продуктов, п. н./ Product sizes, bp
GDF5	<i>MvaI</i>	TC	+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 °C в течение 5 часов. Полученный продукт разделяли методом горизонтального электрофореза (в 1х трис-боратном буфере при напряжении 80 В) в 2,5 %-ном агарозном геле с окрашиванием бромистого этидия. После чего гель анализировали в ультрафиолетовом свете на трансиллюминаторе «UVT-1» (ООО Биокот, Россия), фотографировали с помощью системы «VITran v.1.0» (ООО Биокот, Россия). Определение длины фрагментов проводили с помощью маркера молекулярных масс «GenePakR DNA Ladder M 50» (ООО «Лаборатория Изоген», Россия).

На втором этапе исследований произведён отбор проб шерсти с верхней части холки в количестве не менее 0,4 г у 8 голов из каждой выявленной группы животных при помощи беспроводной машинки Heiniger Saphir (Швейцария).

Оценка элементного статуса. Элементный состав шерсти определяли методами атомно-эмиссионной и масс-спектрометрии (АЭС-ИСП и МС-ИСП) в испытательной лаборатории АНО

«Центр биотической медицины» (г. Москва, Россия; Registration Certificate of ISO 9001: 2000, Number 401–5.04.06). Озоление биосубстратов проводили с использованием микроволновой системы разложения MD-2000 (США). Оценка содержания элементов в полученной золе осуществлялась с использованием масс-спектрометра Elan 9000 (Perkin Elmer, США) и атомно-эмиссионного спектрометра Optima 2000 V (Perkin Elmer, США). Элементный состав биосубстратов исследовали по 25 показателям (Al, As, B, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, I, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, P, Pb, Se, Si, Sn, Hg, Sr, V, Zn).

Оборудование и технические средства. Исследования выполнялись на оборудовании и наборах реагентов в условиях Испытательного центра ЦКП ФНЦ БСТ РАН (аттестат аккредитации № RA.RU.21ПФ59 от 02.12.2015).

Для определения полиморфизма в гене GDF5 использовалось следующее оборудование: термоциклер «MyCycler» («Bio-Rad», США), наборы реагентов «DIAtom DNA Prep 200», GenePak PCRCore и маркер молекулярных масс «GenePakR DNA Ladder M 50» (ООО «Лаборатория Изоген», Россия), набор EncycloPCRkit (ЗАО Евроген, 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 STD). Для обработки данных использовали пакет прикладных программ «Statistica 10.0» («Stat Soft Inc.», США).

Результаты исследований.

Определение однонуклеотидного полиморфизма (T586C) в гене GDF5 показало различную частоту его встречаемости (табл. 3).

Таблица 3. Частота встречаемости полиморфизма в гене GDF5
Table 3. The frequency of occurrence of polymorphism in GDF5 gene

Генотип/Genotype	Количество животных, гол./ Quantity of animals, head	Частота встречаемости, %/ Frequency of occurrence, %
ТТ	89	48,9
ТС	85	46,7
СС	8	4,4

Установлена низкая частота встречаемости особей по гомозиготному генотипу С.

Изучение элементного состава шерсти с холки бычков различных генотипов позволила установить следующие характеристики (табл. 4).

У бычков с генотипом СС относительно животных с генотипами ТТ и ТС отмечалось повышенное содержание Са на 38,4 ($P \leq 0,001$) и 35,8 % ($P \leq 0,05$), К – на 169,1 ($P \leq 0,001$) и 113,1 % ($P \leq 0,001$), Na – на 112,9 ($P \leq 0,001$) и 92,2 % ($P \leq 0,001$), I – на 39,0 ($P \leq 0,001$) и 30,4 % ($P \leq 0,001$), Se – на 21,1 ($P \leq 0,001$) и 18,8 % ($P \leq 0,001$), В – на 35,2 ($P \leq 0,001$) и 35,4 % ($P \leq 0,001$), Li – на 69,4 ($P \leq 0,001$) и 56,1 % ($P \leq 0,001$), сниженное по As – на 37,5 ($P \leq 0,001$) и 2,3 %, Al – на 61,2 ($P \leq 0,001$) и 50,8 % ($P \leq 0,001$), Pb – на 52,3 ($P \leq 0,001$) и 39,0 % ($P \leq 0,001$) соответственно.

Таблица 4. Концентрация химических элементов в шерсти бычков разных генотипов, мг/кг (M±STD)

Table 4. The concentration of chemical elements in hair of bulls with different genotypes, mg/kg (M±STD)

Элемент/ Element	Генотип/Genotype		
	ТТ	ТС	СС
Макроэлементы/Macroelements			
Ca	3252±566,0	3314±967,3	4499±744,2***
K	2687±1012,0	3393±2110,2	7230±1608,9***
Mg	690±147,4	757±420,2	878±286,0
Na	897±247,0	994±421,9	1910±353,0***
P	276±53,7	270±65,2	254±65,6
Эссенциальные микроэлементы/Essential microelements			
Co	0,54±0,24	0,48±0,42	0,56±0,28
Cr	2,54±0,83	2,47±1,74	3,18±1,20
Cu	12,96±1,47	11,21±2,55	11,72±1,24
Fe	593,75±193,88	537,25±324,49	728,25±208,64
I	0,86±0,05	0,92±0,19	1,20±0,17***
Mn	56,51±8,18	48,66±28,35	61,81±26,54
Se	0,51±0,06	0,52±0,06	0,62±0,04***
Zn	118,61±18,03	115,70±10,59	118,12±10,05
Условно-эссенциальные микроэлементы/Conditionally essential microelements			
B	3,16±0,36	3,15±0,66	4,27±0,51***
Si	2,77±1,17	2,22±2,39	2,51±1,43
Li	1,05±0,30	1,15±0,48	1,79±0,38***
Ni	5,25±2,34	5,35±4,90	5,70±2,63
V	2,7±0,81	2,68±1,21	3,39±1,29
As	0,34±0,08	0,22±0,12*	0,21±0,03***
Токсичные микроэлементы/Toxic microelements			
Al	602,6±123,79	475,0±74,75*	233,7±62,54***
Sr	17,89±3,25	18,63±6,58	23,68±8,12
Pb	0,49±0,10	0,38±0,04*	0,24±0,07***
Sn	0,017±0,01	0,016±0,01	0,015±0,01
Cd	0,04±0,01	0,03±0,02	0,035±0,02
Hg	0,0225±0,01	0,0275±0,00	0,0125±0,01

Примечание: * – P≤0,05; ** – P≤0,01; *** – P≤0,001 по сравнению с ТТ

Note: * – P≤0.05; ** – P≤0.01; *** – P≤0.001 in comparison with TT

Построение элементного профиля бычков сравниваемых групп на основании концентрации химических элементов в шерсти выявила существенные их изменения по полиморфизму гена GDF5 (рис. 1 и 2).

Анализ элементных профилей показал, что мутации гена с ТТ к СС при невысокой их частоте встречаемости приводят к увеличению макро- и эссенциальных элементов при снижении уровня токсичных.

Информативные данные по минерализации шерсти в зависимости от полиморфизма гена даёт расчёт суммы количества веществ, выраженной в молях (табл. 5).

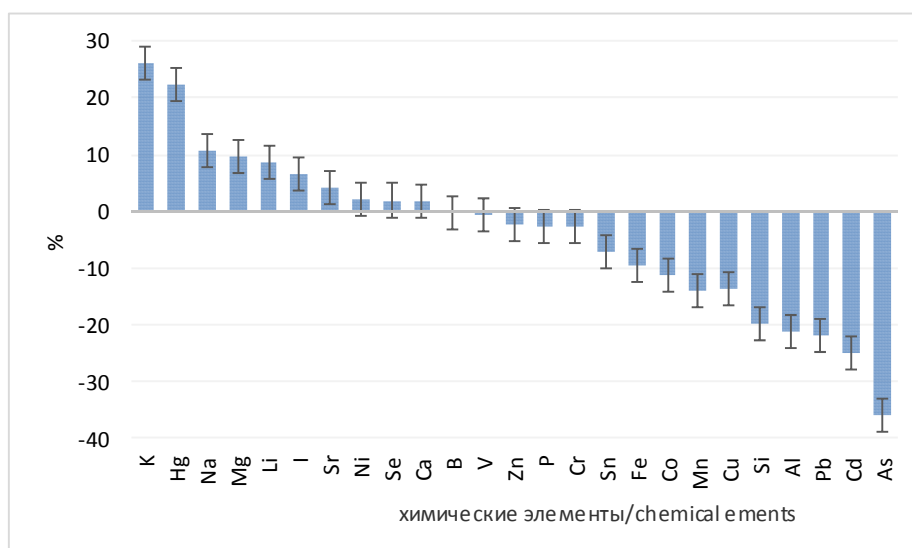


Рис. 1 – Элементный профиль бычков калмыцкой породы в возрасте 12 месяцев генотип ТС относительно ТТ, %

Figure 1 – Elemental profile of Kalmyk bulls at the age of 12 months, genotype TC relative to TT, %

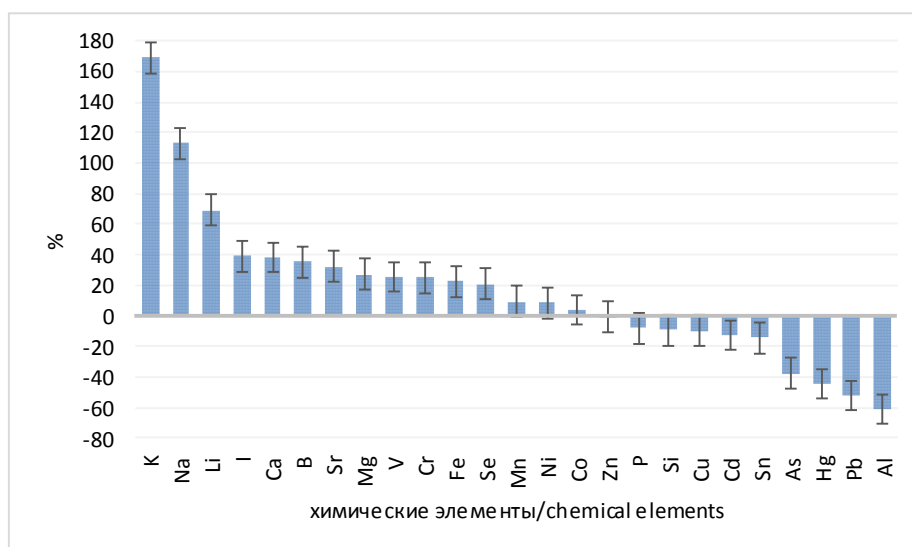


Рис. 2 – Элементный профиль бычков калмыцкой породы в возрасте 12 месяцев генотип СС относительно ТТ, %

Figure 2 – Elemental profile of Kalmyk bulls at the age of 12 months, genotype CC relative to TT, %

Бычки с генотипом СС превосходили сверстников с генотипами ТТ и ТС по концентрации суммы эссенциальных микроэлементов в шерсти на 18,1 ($P \leq 0,01$) и 29,8 % ($P \leq 0,001$), но уступали по сумме токсичных на 60,4 % ($P \leq 0,001$) и 49,9 % ($P \leq 0,001$).

Таблица 5. Количество химических элементов в шерсти бычков, ммоль/кг (M±STD)
Table 5. The number of chemical elements in hair of bulls, mmol/kg (M±STD)

Элементы/Elements	Полиморфизм/Polymorphism		
	ТТ	ТС	СС
Эссенциальные /Essential	13,72±1,53	12,49±1,07	16,21±1,24**
Токсичные/Toxic	23,38±0,91	18,48±0,74	9,26±0,88***

Примечание: * – при $P \leq 0,05$; ** – при $P \leq 0,01$; *** – при $P \leq 0,001$

Note: * – at $P \leq 0.05$; ** – at $P \leq 0.01$; *** – at $P \leq 0.001$

Обсуждение полученных результатов.

С развитием ДНК технологий ген-маркерная селекция на основе определения однонуклеотидных полиморфизмов рассматривается как важный инструмент для генетического улучшения поголовья мясного скота и облегчает геномный отбор по заданному признаку продуктивности (Cole JB et al., 2011).

Изучение перспективного гена-кандидата продуктивности GDF5 и его воздействия на элементный статус бычков при откорме показало, что у молодняка с редким полиморфным генотипом СС (n=8 при выборке 182 головы) относительно животных с генотипами ТТ и ТС отмечалось повышение минерализации шерсти по макроэлементам: Ca, K, Na и эссенциальным: I и Se при снижении токсичных: As, Al, Pb.

Снижение токсичных элементов, возможно, произошло в связи с повышением концентрации Se, между которыми присутствуют антагонистические связи, это подтверждают работы Kotyzova D et al. (2010), Skalnaya MG et al. (2018).

Установлено, что воздействие токсичных микроэлементов вызывает широкий спектр неблагоприятных последствий для здоровья животных, приводя к снижению как продуктивных, так и репродуктивных качеств (Ronis MJ et al., 1996; Kalashnikov V et al., 2018). Причём в относительно меньших уровнях потребления токсичных элементов, чем предполагалось ранее (Advisory Committee on Childhood Lead Poisoning Prevention, of the Centers for Disease Control and Prevention, 2012).

В связи с этим представляется перспективным продолжение исследований по полиморфизму гена GDF 5 с увеличением гомозиготной группы по аллелю С в качестве гена-кандидата снижения уровня токсичной нагрузки.

Выводы.

Проведённые исследования указывают на влияние генотипа бычков по гену фактора дифференциации роста 5 на элементный статус. Так, у бычков с генотипом СС относительно животных с генотипами ТТ и ТС отмечалось повышенное содержание Ca на 38,4 ($P \leq 0,001$) и 35,8 % ($P \leq 0,05$), K – на 169,1 ($P \leq 0,001$) и 113,1 % ($P \leq 0,001$), Na – на 112,9 ($P \leq 0,001$) и 92,2 % ($P \leq 0,001$), I – на 39,0 ($P \leq 0,001$) и 30,4 % ($P \leq 0,001$), Se – на 21,1 ($P \leq 0,001$) и 18,8 % ($P \leq 0,001$), B – на 35,2 ($P \leq 0,001$) и 35,4 % ($P \leq 0,001$), Li – на 69,4 ($P \leq 0,001$) и 56,1 % ($P \leq 0,001$), сниженное по As – на 37,5 ($P \leq 0,001$) и 2,3 %, Al – на 61,2 ($P \leq 0,001$) и 50,8 % ($P \leq 0,001$), Pb – на 52,3 ($P \leq 0,001$) и 39,0 % ($P \leq 0,001$) соответственно.

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. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология: монография / А.П. Авцын, А.А. Жаворонков, М.А. Риш, Л.С. Строчкова. М.: Медицина, 1991. 496 с. [Avtsyyn AP,

Zhavoronkov AA, Rish MA, Strochkova LS. Mikroelementozy cheloveka: etiologiya, klassifikatsiya, organopatologiya: monografiya. Moscow: Meditsina; 1991: 496 p. (In Russ)].

2. Centers for Disease Control and Prevention, Advisory Committee on Childhood Lead Poisoning Prevention. Low Level Lead Exposure Harms Children: A Renewed Call for Primary Prevention – Report of the Advisory Committee on Childhood Lead Poisoning Prevention of the Centers for Disease Control and Prevention. Atlanta (GA): Centers for Disease Control and Prevention. 2012; Jan 4: 1-54.

3. Cole JB, Wiggans GR, Ma L, et al. Genome-wide association analysis of thirty one production, health, reproduction and body conformation traits in contemporary U.S. Holstein cows. BMC Genomics. 2011;12:408. doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-408>

4. Elkington SG, Huntsman RG. The Talbot fingers: a study in symphalangism. Br Med J. 1967;1(5537):407-411.

5. Evangelou E, Chapman K, Meulenbelt I, Karassa FB, Loughlin J, Carr A, Doherty M, Doherty S, Gómez-Reino JJ, Gonzalez A, et al. Large-scale analysis of association between GDF5 and FRZB variants and osteoarthritis of the hip, knee, and hand. Arthritis Rheumatism. 2009;60(6):1710-1721. doi: <https://doi.org/10.1002/art.24524>

6. Feng C, Liu H, Yang Y, Huang B, Zhou Y. Growth and differentiation factor-5 contributes to the structural and functional maintenance of the intervertebral disc. Cell Physiol Biochem. 2015;35(1):1-16. doi: <https://doi.org/10.1159/000369670>

7. Francis-West PH, Abdelfattah A, Chen P, Allen C, Parish J, Ladher R, Allen S, MacPherson S, Luyten FP, Archer CW. Mechanisms of GDF-5 action during skeletal development. Development. 1999;126(6):1305-1315.

8. Garrick DJ, Ruvinsky A, editors. The Genetics of Cattle. 2nd ed. CAB International; 2014. 640 p.

9. Gudbjartsson DF, Walters GB, Thorleifsson G, Stefansson H, Halldorsson BV, Zusmanovich P, Sulem P, Thorlacius S, Gylfason A, Steinberg S, Helgadóttir A, Ingason A, Steinthorsdóttir V, Ólafsdóttir EJ, Ólafsdóttir GH, Jonsson T, Borch-Johnsen K, Hansen T, Andersen G, Jorgensen T, Pedersen O, Aben KK, Witjes JA, Swinkels DW, den Heijer M, Franke B, Verbeek AL, Becker DM, Yanek LR, Becker LC, Tryggvadóttir L, Rafnar T, Gulcher J, Kiemeny LA, Kong A, Thorsteinsdóttir U, Stefansson K. Many sequence variants affecting diversity of adult human height. Nature Genetics. 2008;40(5):609-615. doi: <https://doi.org/10.1038/ng.122>

10. Kalashnikov V, Zajcev A, Atroshchenko M, Miroshnikov S, Frolov A, Zav'yalov O, Kalinkova L, Kalashnikova T. The content of essential and toxic elements in the hair of the mane of the trotter horses depending on their speed. Environmental science and pollution research international. 2018;25(22):21961-21967. doi: [10.1007/s11356-018-2334-2](https://doi.org/10.1007/s11356-018-2334-2)

11. Kotyzova D, Cerna P, Leseticky L, Eybl V. Trace elements status in selenium-deficient rats-interaction with cadmium. Biological Trace Element Research. 2010;136(3):287-293. doi: <https://doi.org/10.1007/s12011-009-8541-4>

12. Liu YF, Zan LS, Li K, Zhao SP, Xin YP, Lin Q, Tian WQ, Wang ZW. A novel polymorphism of GDF5 gene and its association with body measurement traits in *Bos taurus* and *Bos indicus* breeds. Molecular Biology Reports. 2010;37(1):429-434. doi: <https://doi.org/10.1007/s11033-009-9604-5>

13. Mikic B, Battaglia TC, Taylor EA, Clark RT. The effect of growth/differentiation factor-5 deficiency on femoral composition and mechanical behavior in mice. Bone. 2002;30(5):733-737. doi: [https://doi.org/10.1016/S8756-3282\(02\)00699-3](https://doi.org/10.1016/S8756-3282(02)00699-3)

14. Miyamoto Y, Mabuchi A, Shi D, Kubo T, Takatori Y, Saito S, Fujioka M, Sudo A, Uchida A, Yamamoto S, et al. A functional polymorphism in the 5' UTR of GDF5 is associated with susceptibility to osteoarthritis. Nature Genetics. 2007;39:529-533. doi: <https://doi.org/10.1038/2005>

15. Nishitoh H, Ichijo H, Kimura M, Matsumoto T, Makishima F, Yamaguchi A, Yamashita H, Enomoto S, Miyazono K. Identification of type I and type II serine/threonine kinase receptors for growth/differentiation factor-5. Journal of biological chemistry. 1996;271(35):21345-21352. doi: [10.1074/jbc.271.35.21345](https://doi.org/10.1074/jbc.271.35.21345)

16. Pilia G, Chen WM, Scuteri A, Orrù M, Albai G, Dei M, Lai S, Usala G, Lai M, Loi P, Mameli C, Vacca L, Deiana M, Olla N, Masala M, Cao A, Najjar SS, Terracciano A, Nedorezov T, Sharov A, Zon-

derman AB, Abecasis GR, Costa P, Lakatta E, Schlessinger D. Heritability of cardiovascular and personality traits in 6,148 Sardinians. *PLoS Genetics*. 2006;2(8):1207-1223. doi: 10.1371/journal.pgen.0020132

17. Plett SK, Berdon WE, Cowles RA, Oklu R, Campbell JB. Cushing proximal symphalangism and the NOG and GDF5 genes. *Pediatric Radiology*. 2008;38(2):209-215. doi: <https://doi.org/10.1007/s00247-007-0675-y>

18. Ronis MJ, Badger TM, Shema SJ, Roberson PK, Shaikh F. Reproductive toxicity and growth effects in rats exposed to lead at different periods during development. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1996;136(2):361-371. doi: 10.1006/taap.1996.0044

19. Sanna S, Jackson AU, Nagaraja R, Willer CJ, Chen WM, Bonnycastle LL, Shen H, Timpson N, Lettre G, Usala G, Chines PS, Stringham HM, Scott LJ, Dei M, Lai S, Albai G, Crisponi L, Naitza S, Doheny KF, Pugh EW, Ben-Shlomo Y, Ebrahim S, Lawlor DA, Bergman RN, Watanabe RM, Uda M, Tuomilehto J, Coresh J, Hirschhorn JN, Shuldiner AR, Schlessinger D, Collins FS, Davey SG, Boerwinkle E, Cao A, Boehnke M, Abecasis GR, Mohlke KL. Common variants in the GDF5-UQCC region are associated with variation in human height. *Nature Genetics*. 2008;40:198-203. doi: 10.1038/ng.74

20. Silventoinen K, Sammalisto S, Perola M, Boomsma DI, Cornes BK, Davis C, Dunkel L, De Lange M, Harris JR, Hjelmborg JV, Luciano M, Martin NG, Mortensen J, Nisticò L, Pedersen NL, Skytthe A, Spector TD, Stazi MA, Willemsen G, Kaprio J. Heritability of adult body height: a comparative study of twin cohorts in eight countries. *Twin Research and Human Genetics*. 2003;6(5):399-408. doi: <https://doi.org/10.1375/twin.6.5.399>

21. Skalnaya MG, Jaiswal SK, Prakash R, Prakash NT, Grabeklis AR, Zhegalova IV, Zhang F, Guo X, Tinkov AA, Skalny AV. The level of toxic elements in edible crops from seleniferous area (punjab, india). *Biological Trace Element Research*. 2018;184(2):523-528. doi: 10.1007/s12011-017-1216-7

22. Southam L, Rodriguez-Lopez J, Wilkins JM, Pombo-Suarez M, Snelling S, Gomez-Reino JJ, Chapman K, Gonzalez A, Loughlin J. An SNP in the 5'-UTR of GDF5 is associated with osteoarthritis susceptibility in Europeans and with in vivo differences in allelic expression in articular cartilage. *Human Molecular Genetics*. 2007;16(18):2226-2232. doi: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddm174>

References

1. Avtsyn AP, Zhavoronkov AA, Rish MA, Strochkova LS. Human microelementoses: etiology, classification, organopathology: monograph. Moscow: Meditsina; 1991: 496 p.

2. Centers for Disease Control and Prevention, Advisory Committee on Childhood Lead Poisoning Prevention. Low Level Lead Exposure Harms Children: A Renewed Call for Primary Prevention – Report of the Advisory Committee on Childhood Lead Poisoning Prevention of the Centers for Disease Control and Prevention. Atlanta (GA): Centers for Disease Control and Prevention. 2012; Jan 4: 1-54.

3. Cole JB, Wiggans GR, Ma L et al. Genome-wide association analysis of thirty one production, health, reproduction and body conformation traits in contemporary U.S. Holstein cows. *BMC Genomics*. 2011;12:408. doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-408>

4. Elkington SG, Huntsman RG. The Talbot fingers: a study in symphalangism. *Br Med J*. 1967;1(5537):407-411.

5. Evangelou E, Chapman K, Meulenbelt I, Karassa FB, Loughlin J, Carr A, Doherty M, Doherty S, Gómez-Reino JJ, Gonzalez A, et al. Large-scale analysis of association between GDF5 and FRZB variants and osteoarthritis of the hip, knee, and hand. *Arthritis Rheumatism*. 2009;60(6):1710-1721. doi: <https://doi.org/10.1002/art.24524>

6. Feng C, Liu H, Yang Y, Huang B, Zhou Y. Growth and differentiation factor-5 contributes to the structural and functional maintenance of the intervertebral disc. *Cell Physiol Biochem*. 2015;35(1):1-16. doi: <https://doi.org/10.1159/000369670>

7. Francis-West PH, Abdelfattah A, Chen P, Allen C, Parish J, Ladher R, Allen S, MacPherson S, Luyten FP, Archer CW. Mechanisms of GDF-5 action during skeletal development. *Development*. 1999;126(6):1305-1315.

8. Garrick DJ, Ruvinsky A, editors. *The Genetics of Cattle*. 2nd ed. CAB International; 2014. 640 p.

9. Gudbjartsson DF, Walters GB, Thorleifsson G, Stefansson H, Halldorsson BV, Zusmanovich P, Sulem P, Thorlacius S, Gylfason A, Steinberg S, Helgadóttir A, Ingason A, Steinthorsdóttir V, Olafsdóttir EJ, Olafsdóttir GH, Jonsson T, Borch-Johnsen K, Hansen T, Andersen G, Jorgensen T, Pedersen O, Aben KK, Witjes JA, Swinkels DW, den Heijer M, Franke B, Verbeek AL, Becker DM, Yanek LR, Becker LC, Tryggvadóttir L, Rafnar T, Gulcher J, Kiemeny LA, Kong A, Thorsteinsdóttir U, Stefansson K. Many sequence variants affecting diversity of adult human height. *Nature Genetics*. 2008;40(5):609-615. doi: <https://doi.org/10.1038/ng.122>
10. Kalashnikov V, Zajcev A, Atroshchenko M, Miroshnikov S, Frolov A, Zav'yalov O, Kalinkova L, Kalashnikova T. The content of essential and toxic elements in the hair of the mane of the trotter horses depending on their speed. *Environmental Science and Pollution Research International*. 2018;25(22):21961-21967. doi: [10.1007/s11356-018-2334-2](https://doi.org/10.1007/s11356-018-2334-2)
11. Kotyzova D, Cerna P, Leseticky L, Eybl V. Trace elements status in selenium-deficient rats-interaction with cadmium. *Biological Trace Element Research*. 2010;136(3):287-293. doi: <https://doi.org/10.1007/s12011-009-8541-4>
12. Liu YF, Zan LS, Li K, Zhao SP, Xin YP, Lin Q, Tian WQ, Wang ZW. A novel polymorphism of GDF5 gene and its association with body measurement traits in *Bos taurus* and *Bos indicus* breeds. *Molecular Biology Reports*. 2010;37(1):429-434. doi: <https://doi.org/10.1007/s11033-009-9604-5>
13. Mikic B, Battaglia TC, Taylor EA, Clark RT. The effect of growth/differentiation factor-5 deficiency on femoral composition and mechanical behavior in mice. *Bone*. 2002;30(5):733-737. doi: [https://doi.org/10.1016/S8756-3282\(02\)00699-3](https://doi.org/10.1016/S8756-3282(02)00699-3)
14. Miyamoto Y, Mabuchi A, Shi D, Kubo T, Takatori Y, Saito S, Fujioka M, Sudo A, Uchida A, Yamamoto S, et al. A functional polymorphism in the 5' UTR of GDF5 is associated with susceptibility to osteoarthritis. *Nature Genetics*. 2007;39:529-533. doi: <https://doi.org/10.1038/2005>
15. Nishitoh H, Ichijo H, Kimura M, Matsumoto T, Makishima F, Yamaguchi A, Yamashita H, Enomoto S, Miyazono K. Identification of type I and type II serine/threonine kinase receptors for growth/differentiation factor-5. *Journal of biological chemistry*. 1996;271(35):21345-21352. doi: [10.1074/jbc.271.35.21345](https://doi.org/10.1074/jbc.271.35.21345)
16. Pilia G, Chen WM, Scuteri A, Orrù M, Albai G, Dei M, Lai S, Usala G, Lai M, Loi P, Mameli C, Vacca L, Deiana M, Olla N, Masala M, Cao A, Najjar SS, Terracciano A, Nedorezov T, Sharov A, Zonderman AB, Abecasis GR, Costa P, Lakatta E, Schlessinger D. Heritability of cardiovascular and personality traits in 6,148 Sardinians. *PLoS Genetics*. 2006;2(8):1207-1223. doi: [10.1371/journal.pgen.0020132](https://doi.org/10.1371/journal.pgen.0020132)
17. Plett SK, Berdon WE, Cowles RA, Oklu R, Campbell JB. Cushing proximal symphalangism and the NOG and GDF5 genes. *Pediatric Radiology*. 2008;38(2):209-215. doi: <https://doi.org/10.1007/s00247-007-0675-y>
18. Ronis MJ, Badger TM, Shema SJ, Roberson PK, Shaikh F. Reproductive toxicity and growth effects in rats exposed to lead at different periods during development. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 1996;136(2):361-371. doi: [10.1006/taap.1996.0044](https://doi.org/10.1006/taap.1996.0044)
19. Sanna S, Jackson AU, Nagaraja R, Willer CJ, Chen WM, Bonnycastle LL, Shen H, Timpson N, Lettre G, Usala G, Chines PS, Stringham HM, Scott LJ, Dei M, Lai S, Albai G, Crisponi L, Naitza S, Doheny KF, Pugh EW, Ben-Shlomo Y, Ebrahim S, Lawlor DA, Bergman RN, Watanabe RM, Uda M, Tuomilehto J, Coresh J, Hirschhorn JN, Shuldiner AR, Schlessinger D, Collins FS, Davey SG, Boerwinkle E, Cao A, Boehnke M, Abecasis GR, Mohlke KL. Common variants in the GDF5-UQCC region are associated with variation in human height. *Nature Genetics*. 2008;40:198-203. doi: [10.1038/ng.74](https://doi.org/10.1038/ng.74)
20. Silventoinen K, Sammalisto S, Perola M, Boomsma DI, Cornes BK, Davis C, Dunkel L, De Lange M, Harris JR, Hjelmberg JV, Luciano M, Martin NG, Mortensen J, Nisticò L, Pedersen NL, Skytthe A, Spector TD, Stazi MA, Willemsen G, Kaprio J. Heritability of adult body height: a comparative study of twin cohorts in eight countries. *Twin Research and Human Genetics*. 2003;6(5):399-408. doi: <https://doi.org/10.1375/twin.6.5.399>

21. Skalnaya MG, Jaiswal SK, Prakash R, Prakash NT, Grabeklis AR, Zhegalova IV, Zhang F, Guo X, Tinkov AA, Skalny AV. The level of toxic elements in edible crops from seleniferous area (punjab, india). *Biological Trace Element Research*. 2018;184(2):523-528. doi: 10.1007/s12011-017-1216-7

22. Southam L, Rodriguez-Lopez J, Wilkins JM, Pombo-Suarez M, Snelling S, Gomez-Reino JJ, Chapman K., Gonzalez A., Loughlin J. An SNP in the 5'-UTR of GDF5 is associated with osteoarthritis susceptibility in Europeans and with in vivo differences in allelic expression in articular cartilage. *Human Molecular Genetics*. 2007;16(18):2226-2232. doi: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddm174>

Харламов Анатолий Васильевич, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, заведующий отделом технологии мясного скотоводства и производства говядины, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, тел.: 8(3532)30-81-78, e-mail: vniims.or@mail.ru

Фролов Алексей Николаевич, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник отдела технологии мясного скотоводства и производства говядины, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, тел.: 8(3532)30-81-78, e-mail: forleh@mail.ru

Завьялов Олег Александрович, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник отдела технологии мясного скотоводства и производства говядины, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, тел.: 8(3532)30-81-78, e-mail: oleg-zavyalov83@mail.ru

Косилов Владимир Иванович, доктор сельскохозяйственных наук, профессор кафедры технологии производства и переработки продукции животноводства, Оренбургский государственный аграрный университет, 460014, г. Оренбург, ул. Челюскинцев, 18

Morgan Gary A., доктор ветеринарной медицины, научный консультант Veterinary Management Services Ltd, Prince Edward Island, Canada COB 1VO, тел.: +1(902)859184

Поступила в редакцию 11 декабря 2019 г.; принята после решения редколлегии 16 декабря 2019 г.; опубликована 31 декабря 2019 г. / Received: 11 December 2019; Accepted: 16 December 2019; Published: 31 December 2019