

Оригинальное исследование

DOI: 10.31862/2500-2961-2023-13-3-251-262

УДК 575.162

**В.С. Шевцова^{1, 2}, А.Я. Куликова³,
Л.В. Гетманцева⁴, А.В. Усатов¹**

¹ Южный федеральный университет,
344006 г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

² Южный научный центр Российской академии наук,
344006 г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация

³ Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии,
350055 г. Краснодар, Российская Федерация

⁴ Донской государственный аграрный университет,
346493 Ростовская область, пос. Персиановский,
Российская Федерация

Новые гены-кандидаты живой массы, выявленные у овец южной мясной породы на основе полногеномного генотипирования

Изучение генетической архитектуры овец отечественных пород – важный шаг на пути сохранения их генофонда. Целью работы было выявление генов-кандидатов, связанных с показателем живой массы у взрослых овец южной мясной породы, имеющей высокие показатели продуктивности, но из-за малой численности находящейся под угрозой критического снижения генетического разнообразия. Живая масса сельскохозяйственных



животных является одним из ключевых селекционных показателей. Наряду с полигенностью этого количественного признака рядом авторов показана его породоспецифичность. Генотипирование проведено на чипах средней плотности Ovine SNP50 Genotyping Bead Chip. Обработка результатов генотипирования и фильтрация результатов проведены в программных пакетах Rstudio 2023.03.0 и plink1.9. По результатам взвешивания генотипированные животные были разделены на две группы по принципу case/control с различиями в живой массе между представителями групп 25–30 кг. Методом расчета индексов генетической дифференциации определены значимые ДНК-полиморфизмы. Дальнейший анализ полиморфизмов, выполненный в геномном браузере Ensembl, выявил гены-кандидаты, локализованные в хромосомах 5, 6, 12, 20, в интронах которых локализованы исследуемые полиморфизмы. Проведенный статистический анализ живой массы показал достоверные различия исследуемого показателя у овцематок различных генотипов по четырем генам. Выявленные в ходе исследования гены-кандидаты могут быть рекомендованы для использования в качестве маркеров, исследование которых позволит повысить показатели продуктивности овец южной мясной породы и поможет сохранить породу.

Ключевые слова: породы овец, южная мясная порода овец, живая масса у домашних животных, значимые полиморфизмы, генотип

Благодарности. Исследование выполнено в рамках работ по гранту Российского фонда фундаментальных исследований № 20-316-90048.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Новые гены-кандидаты живой массы, выявленные у овец южной мясной породы на основе полногеномного генотипирования / Шевцова В.С., Куликова А.Я., Гетманцева Л.В., Усатов А.В. // Социально-экологические технологии. 2023. Т. 13. № 3. С. 251–262. DOI: 10.31862/2500-2961-2023-13-3-251-262

DOI: 10.31862/2500-2961-2023-13-3-251-262

**V.S. Shevtsova^{1, 2}, A.Ya. Kulikova³,
L.V. Getmantseva⁴, A.V. Usatov¹**

¹ Southern Federal University,
Rostov-on-Don, 344006, Russian Federation

² The Southern Scientific Centre
of the Russian Academy of Sciences,
Rostov-on-Don, 344006, Russian Federation

³ Krasnodar Research Centre
for Animal Husbandry and Veterinary Medicine,
Krasnodar, 350055, Russian Federation

⁴ Don State Agrarian University,
Persianovski, Rostov region, 346493, Russian Federation

The novel candidate genes related to live weight trait in southern meat sheep breed revealed by genome-wide genotyping

The study of the local sheep breeds' genetic architecture is an important step on the way to preserve their gene pool. The aim of our work was to identify candidate genes associated with the live weight trait in adult southern meat breed sheep. This breed has high productivity, but is under threat of a critical decrease in genetic diversity due to a small number. The live weight of farm animals is one of the key breeding indicators. This quantitative trait is polygenic and breed specific as it has been shown by a number of authors. Animals were genotyped on the Illumina Ovine SNP50 Genotyping Bead Chip assay using standard procedures. Results in quality control, statistics and visualization were carried out in Rstudio 2023.03.0 and plink1.9. Genotyped animals were divided into two groups according to the case/control principle with differences in live weight between representatives of groups of 25–30 kg. Significant genetic variants were determined by the fixation indices method. Further analysis of significant variants (in intron positions)

was performed in Ensembl genomic browser and revealed candidate genes localized in chromosomes 5, 6, 12, 20. The statistical analysis of live mass showed significant differences of the studied trait in different genotypes on four genes. The candidate genes identified can be recommended for using as genetic markers, their study could improve the productivity of southern meat sheep breed and help to preserve its gene pool.

Key words: sheep breeds, southern meat, live weight, fixation indices, significant polymorphisms, genotype

Acknowledgements. This study was supported by the Russian Foundation of Basic Research, project No. 20-316-90048.

FOR CITATION: Shevtsova V.S., Kulikova A.Ya., Getmantseva L.V., Usatov A.V. The novel candidate genes related to live weight trait in southern meat sheep breed revealed by genome-wide genotyping. *Environment and Human: Ecological Studies*. 2023. Vol. 13. No. 3. Pp. 251–262. (In Rus.) DOI: 10.31862/2500-2961-2023-13-3-251-262

Введение

Сохранение локальных пород на сегодняшний день является одной из ключевых задач специалистов в области исследования генетики животных. Ценность районированных пород обусловлена высокой степенью их адаптации к местным условиям, что позволяет животным в полной мере продемонстрировать свои продуктивные качества без значительного ущерба для окружающей среды. Широко распространенная в последние годы практика повышения рентабельности животноводческой отрасли за счет прилития кровей высокопродуктивных пород влечет за собой ряд негативных последствий. С одной стороны, интродуцированные животные требуют повышенного внимания (необходимость подогрева помещений, дополнительные ветеринарные услуги, особые рационы питания). Интенсификация животноводства неизбежно повышает давление фермерского хозяйства на окружающую среду. С другой, критически снижается генетическое разнообразие сельскохозяйственных животных. Конвенция по биологическому разнообразию 2022 года рассматривает генетические ресурсы домашних животных и культурных растений как один из видов природных ресурсов [Мамонтова, 2021].

Одной из хорошо зарекомендовавших себя высокими продуктивными показателями и адаптивностью является полутонкорунная южная

мясная порода овец, созданная на территории Краснодарского края [Ульянов, Куликова, 2019]. Признаки роста животных и живая масса, в частности, являются ключевыми в экономике мясошерстного овцеводства. Живая масса взрослого животного – наиболее показательная и, в то же время, легко регистрируемая величина, имеющая также самый высокий коэффициент наследуемости (0,30–0,41) [ICAR..., 2021].

Будучи количественным признаком, живая масса обусловлена комплексом генетических и средовых факторов. Наряду с вошедшими в обиход исследованиями ДНК-маркеров таких генов, как миостатин, гормон роста, кальпаин и др., идет поиск ранее неизвестных участков генома, ассоциированных с этим показателем [Генетические маркеры..., 2016, 2018]. Так, в работе, посвященной исследованию популяции мериносовых овец × авасси были выявлены локусы количественных признаков (QTL), связанные с живой массой, в хромосомах OAR1, 3, 6, 11, 21, 23, 24 и 26 [Raadsma et al., 2009]. В работе по полногеномному поиску ассоциаций с ростовыми показателями у австралийских мериносов выявлен регион на OAR6 [Al-Mamun, 2015]. Крупномасштабный проект по изучению показателей живой массы при рождении, при отъеме и в возрасте 12 месяцев у овец породы балучи (Иран) позволил установить значимые полиморфизмы на OAR 8, 13, 25 и 7 [Gholizadeh, Rahimi-Mianji, Nejati-Javaremi, 2015]. Четыре новых гена-кандидата живой массы (*C1H1orf94*, *KCNA4*, *S100-A7* и *ZNF706*), локализованные в хромосомах OAR1, 5, 9 и 15, были выявлены с помощью генотипирования на чипах высокой плотности у овец северокавказской мясо-шерстной породы [Поиск генов-кандидатов..., 2023]. Ранее этот показатель был исследован у овец породы джалгинский меринос, в результате было выявлено 13 уникальных для породы генов-кандидатов [Krivoruchko et al., 2021].

Важно отметить породоспецифичность локусов количественных признаков, связанных с формированием показателя живой массы. Это говорит о необходимости изучения факторов, лежащих в ее основе у представителей наиболее перспективных отечественных пород, в частности, южной мясной.

Цель и задачи исследования

Целью работы является поиск значимых SNPs, связанных с признаком живой массы у овец породы южная мясная. В рамках поставленной цели решаются следующие задачи: генотипирование животных, обработка и фильтрация результатов генотипирования, поиск значимых генетических вариантов и их аннотирование, статистические расчеты и сравнение фенотипических показателей животных различных генотипов.

Материалы и методы

Данные по живой массе овцематок южной мясной породы старше 24 месяцев и биологические образцы (ушные выщипы) были любезно предоставлены хозяйством ФГУП «Рассвет – Кубань», расположенном в пос. Знаменский Краснодарского края.

Для генотипирования на чипах средней плотности Ovine SNP50 Genotyping Bead Chip были отобраны 48 образцов.

Обработка результатов генотипирования, их фильтрация, расчеты и визуализация проводились по стандартной методике в программных пакетах RStudio 2023.03.0 и plink1.9.

Результаты исследований и их обсуждение

После фильтрации результатов генотипирования (частота минорных аллелей <5%, генотипированные аллели с частотами <10%, генотипированные образцы с частотами <10%, равновесие Харди–Вайнберга 0,001 и оценки неравновесия по сцеплению) были отобраны для исследования 46 447 полиморфизмов. Овцематки были ранжированы по признаку живой массы и отобраны крайние варианты (максимальные и минимальные) для расчета индексов генетической дифференциации: контрольная группа включала животных с живой массой 55–59 кг, опытная группа была представлена овцематками с живой массой, превышающей 80 кг.

Методом расчета индексов генетической дифференциации (F_{ST}) сравнили генетические варианты овец из двух групп. Значимыми полиморфизмами считали те, у которых значения F_{ST} превысили уровень квантиля 0,999 (0,1% выбросов). Результаты позволили выявить 55 полиморфизмов, связанных с показателем живой массы у овец южной мясной породы. Аннотирование значимых полиморфизмов, проведенное в геномном браузере Ensembl, показало, что значительная часть выявленных полиморфизмов локализована в межгенных участках. Поэтому для последующего анализа были отобраны 4 полиморфизма в интронах генов, имеющие максимальные значения индекса генетической дифференциации 0,52–0,58 (табл. 1).

Далее влияние генотипов каждого гена-кандидата на показатель живой массы было исследовано по всей выборке. Результаты статистической обработки результатов представлены на рис. 1. По трем генотипам каждого из четырех генов были рассчитаны средняя живая масса и стандартное отклонение, а также определены уровни значимости различий между средними (p) путем попарного сравнения средних значений живой массы у разных генотипов.

Таблица 1

Полиморфизмы, связанные с показателем живой массы
[Polymorphisms associated with body weight]

Полиморфизм [Polymorphism]	Хромосома [Chromosome]	Ген [Gene]	rs (бдSNP)	Индекс фиксации F_{ST} [Fixation index]
s27609.1	12	<i>LOC101104591</i>	rs427293175	0.580975
OAR5_54849290.1	5	<i>NDFIP1</i>	rs405818026	0.555556
OAR20_6896923.1	20	<i>LRR1</i>	rs422829400	0.555556
OAR6_64284257.1	6	<i>WDR19</i>	rs419744348	0.522895

Овцематки с генотипами GG по генам *LOC101104591* и *LRR1* в сравнении с гетерозиготами демонстрируют более высокие показатели живой массы – 9,35 кг и 11,33 кг соответственно, при уровне статистической значимости $p < 0,001$. Различия в живой массе овцематок с генотипами GG по сравнению с AG по гену *WDR19* не столь велики, но достоверны (7,82 кг, $p < 0,005$). Овцы с желательным генотипом GG по гену *NDFIP1* демонстрируют превышение средней живой массы на 11,92 кг ($p = 0,0062$). Важно отметить, что по генам *LOC101104591* и *WDR19* обнаружено всего по одной гомозиготе AA. В результате чего рассчитать среднюю живую массу для этих генотипов не представилось возможным, однако разница в средних ее значениях между гомозиготами GG и гетерозиготами достаточно велика для формирования обоснованных выводов о желательности гомозиготного генотипа.

Заключение

Проведенные исследования позволили выявить специфичные для овец южной мясной породы ДНК-полиморфизмы, локализованные в интронах генов *LOC101104591*, *NDFIP1*, *LRR1*, *WDR19*, локализованных в хромосомах OAR12, 5, 20 и 6 соответственно. Установлено, что желательным генотипом по генам *LOC101104591*, *NDFIP1*, *LRR1*, *WDR19* является (GG), связанный с повышенным показателем живой массы.

Выводы

Результаты полногеномного генотипирования с последующим применением метода расчета индекса генетической дифференциации позволили выявить в геноме овцематок южной мясной породы регионы, связанные с формированием полигенного признака живой массы. Наибольшее

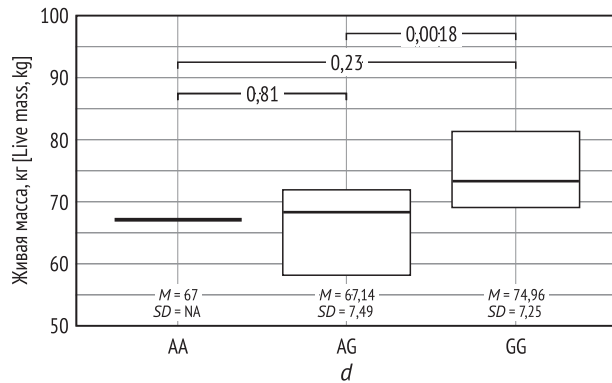
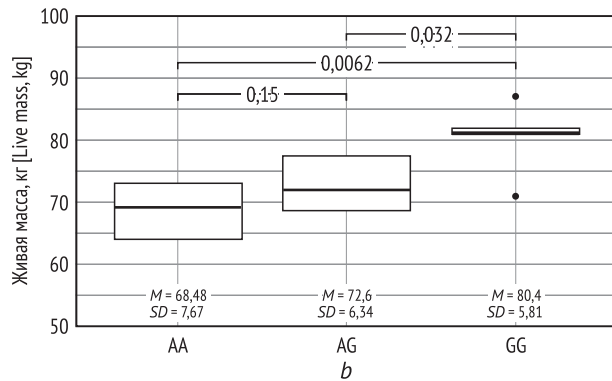
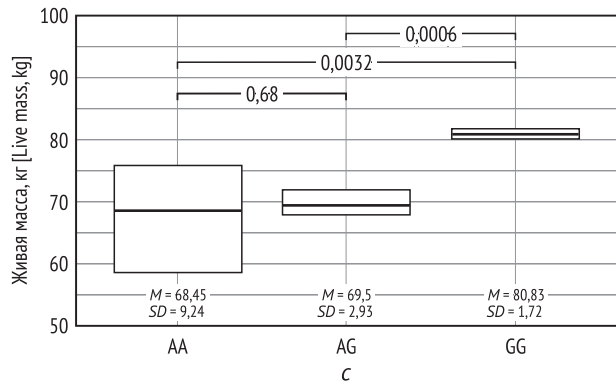
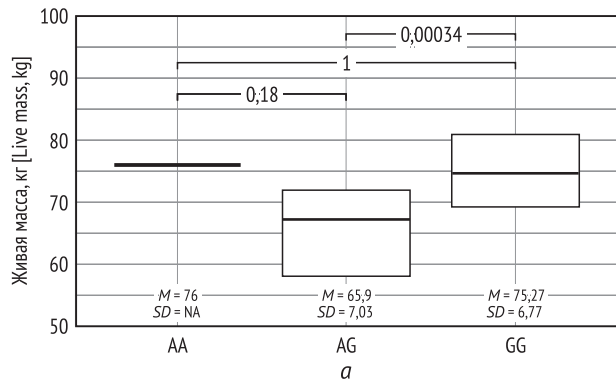


Рис. 1. Живая масса овцематок южной мясной породы различных генотипов по генам *LOC101104591* (a), *NDFIP1* (b), *LRRRC1* (c), *WDR19* (d):

M – среднее значение живой массы; *SD* – стандартное отклонение; уровни значимости различий средних (для каждой пары генотипов) показаны в верхней части графиков

Fig. 1. The live mass of south meat breed ewes of different genotypes on genes *LOC101104591* (a), *NDFIP1* (b), *LRRRC1* (c), *WDR19* (d):

M – mean; *SD* – standard deviation; significance levels of mean differences (for each pair of genotypes) are shown at the top of the gra

количество ДНК-полиморфизмов, влияющих на исследуемый показатель, локализовано в хромосомах OAR5, 6, 9, 12, 20. Для количественной оценки влияния выявленных ДНК-полиморфизмов на величину показателя живой массы были выбраны полиморфизмы с наибольшими значениями F_{ST} , локализованные в генах *LOC101104591*, *NDFIP1*, *LRRRC1*, *WDR19*.

Проведенные статистические расчеты позволили установить, что желательным генотипом по всем четырем генам является GG. При этом средняя живая масса овцематок с желательным генотипом по гену *LOC101104591* на 9,35 кг превышает этот показатель у гетерозигот; по гену *NDFIP1* – на 11,92 кг выше; по гену *LRRRC1* – на 11,33 кг; по гену *WDR19* – на 7,82 кг. Наиболее достоверные различия исследуемого показателя при статистическом уровне значимости $p = 0,00034$ установлены для ДНК-полиморфизма в гене *LOC101104591*.

Выявленные в ходе исследования гены-кандидаты могут быть использованы в качестве генетических маркеров для улучшения селекционной работы с южной мясной породой и повышения рентабельности отрасли мясного овцеводства. Дальнейшие исследования генетической архитектуры южной мясной породы позволят сохранить ее уникальный генофонд.

Библиографический список / References

Генетические маркеры в мясном овцеводстве / Дейкин А.В., Селионова М.И., Криворучко А.Ю. и др. // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016. Т. 20. № 5. С. 576–583. DOI: 10.18699/VJ16.139 [Deykin A.V., Selionova M.I., Krivoruchko A.Yu. et al. Genetic markers in sheep meat breeding. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2016. No. 20 (5). Pp. 576–583. DOI: 10.18699/VJ16.139 (In Rus.)]

Генетические маркеры мясной продуктивности овец (*Ovis Aries* L.). Сообщение I. Миостатин, кальпаин, кальпаастатин / Трухачев В.И., Селионова М.И.,

Криворучко А.Ю., Айбазов А.-М.М. // Сельскохозяйственная биология. 2018. Т. 53. № 6. С. 1107–1119. [Trukhachev V.I., Selionova M.I., Krivoruchko A.Yu., Aybazov A.-M.M. Genetic markers of sheep meat productivity (*Ovis Aries* L.). Message I. Myostatin, calpain, calpastatin. *Agricultural Biology*. 2018. Vol. 53. No. 6. Pp. 1107–1119. (In Rus.)]

Куликова А.Я. Скороспелость и мясная продуктивность овец районированных полутонкорунных пород // Сборник научных трудов КНЦЗВ. 2020. Т. 9. № 2. С. 89–93. [Kulikova A.Ya. Precocity and meat productivity of sheep of zoned semi-fine wool breeds. *Sbornik nauchnykh trudov KNTsZV*. 2020. Vol. 9. No. 2. Pp. 89–93. (In Rus.)]

Поиск генов-кандидатов, ассоциированных с живой массой у овец северокавказской мясо-шерстной породы / Зуев Р.В., Криворучко А.Ю., Кухарук М.Ю., Никитина А.В. // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). 2023. № 1. С. 123–129. [Zuev R.V., Krivoruchko A.Yu., Kukharuk M.Yu., Nikitina A.V. Search for candidate genes associated with live weight in sheep of the North Caucasian meat and wool breed. *Bulletin of the NGAU*. 2023. No. 1. Pp. 123–129. (In Rus.)]

Система сохранения и рационального использования генетических ресурсов высокоценных генотипов сельскохозяйственных животных / Мамонтова Т.В., Коваленко Д.В., Губаханов М.А., Айбазов А.-М.М. Ставрополь, 2021. [Mamontova T.V., Kovalenko D.V., Gubakhanov M.A., Aybazov A.-M.M. Sistema sokhraneniya i ratsionalnogo ispolzovaniya geneticheskikh resursov vysokotsennykh genotipov selskokhozyaystvennykh zhivotnykh [System of preservation and rational using of agricultural animals genetic resources]. Stavropol, 2021.]

Ульянов А.Н., Куликова А.Я. Селекционно-генетические аспекты повышения продуктивности овец южной мясной породы // Овцы, козы, шерстяное дело. 2019. № 3. С. 15–17. [Ulyanov A.N., Kulikova A.Ya. Breeding and genetic aspects of increasing the productivity of southern meat breed sheep. *Sheep, Goats, Wool Business*. 2019. No. 3. Pp. 15–17. (In Rus.)]

Al-Mamun H.A., Kwan P., Clark S.A. et al. Genome-wide association study of body weight in Australian Merino sheep reveals an orthologous region on OAR6 to human and bovine genomic regions affecting height and weight. *Genetics Selection Evolution*. 2015. Vol. 47. No. 1. Pp. 1–11. DOI: 10.1186/s12711-015-0142-4

Gholizadeh M., Rahimi-Mianji G., Nejati-Javaremi A. Genomewide association study of body weight traits in Baluchi sheep. *Journal of Genetics*. 2015. Vol. 94. Pp. 143–146.

ICAR Guidelines Section 21 Meat, reproduction and maternal trait recording in sheep and goats. The global standard for livestock data. 2021. URL: <https://www.icar.org/Guidelines/21-Meat-reproduction-and-maternal-traits-in-sheep-and-goats.pdf> (date of access: 18.01.2023).

Krivoruchko A., Semyagin A.A., Golovanova N., Saprykina T. Genome wide associations study of single nucleotide polymorphisms with productivity parameters in Jalgin merino for identification of new candidate genes. *Gene Reports*. 2021. Vol. 23. P. 101065.

Raadsma H.W. et al. Mapping quantitative trait loci (QTL) in sheep. I. A new male framework linkage map and QTL for growth rate and body weight. *Genetics Selection Evolution*. 2009. Vol. 41. Pp. 1–17. DOI: 10.1186/1297-9686-41-34

Статья поступила в редакцию 10.01.2023, принята к публикации 19.02.2023
The article was received on 10.01.2023, accepted for publication 19.02.2023

Сведения об авторах / About the authors

Шевцова Варвара Сергеевна – ассистент кафедры генетики Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского, Южный федеральный университет; младший научный сотрудник отдела ихтиологии, Южный научный центр Российской академии наук, г. Ростов-на-Дону

Varvara S. Shevtsova – assistant at the Department of Genetics of the Academy of Biology and Biotechnology, Southern Federal University; Junior Researcher at the Department of Ichthyology, Southern Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Rostov-on-Don

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8046-0223>

E-mail: barbaragen4@mail.ru

Куликова Анна Яковлевна – доктор сельскохозяйственных наук, профессор; главный научный сотрудник отдела разведения и генетики сельскохозяйственных животных, Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии, г. Краснодар

Anna Ya. Kulikova – Dr. Hab. (Agricultural Sciences); Chief Researcher at the Department of Breeding and Genetics of Farm Animals, Krasnodar Research Centre for Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Krasnodar

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0544-4914>

E-mail: skniig@yandex.ru

Гетманцева Любовь Владимировна – доктор биологических наук; ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетической экспертизы, Донской государственной аграрный университет, Ростовская область, пос. Персиановский

Lyubov V. Getmantseva – Dr. Biol. Hab.; leading researcher at the laboratory Molecular Genetic Testing Laboratory, Don State Agrarian University, Persianovski, Rostov region

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1868-3148>

E-mail: ilonaluba@mail.ru

Усатов Александр Вячеславович – доктор биологических наук; профессор кафедры генетики Академии биологии и биотехнологии имени Д.И. Ивановского, Южный федеральный университет, г. Ростов-на-Дону

Alexander V. Usatov – Dr. Biol. Hab.; Professor at the Department of Genetics of the Academy of Biology and Biotechnology, Southern Federal University, Rostov-on-Don

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0600-7927>

E-mail: usatova@mail.ru

Заявленный вклад авторов

В.С. Шевцова – сбор фенотипических данных, анализ и интерпретация результатов обработки данных, подготовка текста статьи

А.Я. Куликова – сбор фенотипических данных, участие в подготовке текста статьи

Л.В. Гетманцева – анализ и интерпретация результатов обработки данных, участие в подготовке текста статьи

А.В. Усатов – общее руководство направлением исследования, участие в подготовке текста статьи

Contribution of the authors

V.S. Shevtsova – collection of the phenotypes' data, analysis and interpretation of the results of data processing, preparation of the article's text

A.Ya. Kulikova – collection of the phenotypes' data, participation in the preparation of the article's text

L.V. Getmantseva – analysis and interpretation of the results of data processing, participation in the preparation of the article's text

A.V. Usatov – general management of the research direction, participation in the preparation of the article's text

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи
All authors have read and approved the final manuscript