

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
«Южный федеральный университет»

На правах рукописи

В. Шевцова

Шевцова Варвара Сергеевна

**Полногеномное исследование овец отечественных пород с целью выявления
генетических вариаций, ассоциированных с воспроизводительными
признаками и мясной продуктивностью**

1.5.7. Генетика (биологические науки)

Диссертация на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель
доктор биологических наук,
профессор
Усатов Александр Вячеславович

Ростов-на-Дону – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОГЛАВЛЕНИЕ.....	2
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	4
ВВЕДЕНИЕ.....	6
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ.....	19
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	19
1.1 Генетическое разнообразие сельскохозяйственных животных.....	19
1.2 Молекулярно-генетические методы в селекции сельскохозяйственных животных.....	23
1.3 Наследование продуктивных качеств овец.....	29
1.4 Развитие овцеводства в России.....	38
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	45
2.1 Материалы исследований.....	45
2.2 Методы исследований.....	46
2.2.1 Измерение фенотипических показателей овец и их статистическая обработка.....	46
2.2.2 Отбор образцов для генотипирования, выделение ДНК.....	48
2.2.3 Полногеномное генотипирование овец на чипах средней плотности (Illumina, США).....	48
2.2.4 Фильтрация данных, полученных в ходе генотипирования.....	49
2.2.5 Расчет индекса генетической дифференциации F_{ST}	51
2.2.6 Определение локализации значимых генетических вариантов.....	53
2.2.7 Оценка влияния локализованных ДНК-полиморфизмов на живую массу овец.....	54
2.2.8 Функциональное аннотирование генов-кандидатов живой массы овец	54
2.2.9 Оценка влияния локализованных ДНК-маркеров живой массы овец на их плодовитость.....	55
3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	56

3.1 Анализ плодовитости и живой массы овец южной мясной и волгоградской пород.....	56
3.2 Локализация ДНК-полиморфизмов, ассоциированных с показателем живой массы овец южной мясной и волгоградской пород.....	76
3.3 Влияние идентифицированных ДНК-полиморфизмов на живую массу овец.....	82
3.4 Влияние идентифицированных ДНК-полиморфизмов, ассоциированных с живой массой овец южной мясной и волгоградской пород, на их плодовитость.....	105
4 ЗАКЛЮЧЕНИЕ	110
ВЫВОДЫ	113
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ ЛИТЕРАТУРЫ.....	114
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	129
Приложение 1. Локализация ДНК-полиморфизмов, ассоциированных с живой массой овец волгоградской породы.....	129
Приложение 2. Локализация ДНК-полиморфизмов, ассоциированных с живой массой овец южной мясной породы.....	131
Приложение 3. Влияние ДНК-полиморфизмов в генах-кандидатах живой массы на плодовитость у наиболее перспективных для разведения овцематок южной мясной породы.....	133

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АПХ – агропромышленный холдинг

Гол. – голов

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

дрДНК – древняя ДНК

КРС – крупный рогатый скот

МРС – мелкий рогатый скот

мтДНК – митохондриальная ДНК

мяРНК – малая ядерная РНК

НАДФ - никотинамидадениндинуклеотидфосфат

Т.п.н. – тысяч пар нуклеотидов

ЭПР – эндоплазматический ретикулум

BGD – база данных генома КРС (bovine genome database)

CNV – вариации числа копий (copy number variations)

FAO (англ. Food and Agriculture Organization, FAO) — организация ООН, основной задачей которой является борьба с голодом

GWAS – полногеномный поиск ассоциаций (genome wide association study)

ICAR - международный комитет по записи данных о животных (International committee for animal recording)

Indels – инсерции/делеции (insertions/deletions)

ISAG – международное общество генетики животных (international society for animal genetics)

ISGC – международный консорциум по изучению генома овец (international sheep genome consortium)

QTL – локусы количественных признаков (quantitative trait loci)

QTLdb – база данных локусов количественных признаков (database of quantitative trait loci)

SV – структурные варианты (structural variants)

SNP – однонуклеотидный полиморфизм (single nucleotide polymorphism)

USDA – департамент сельского хозяйства США (Unites States department of agriculture)

VEP – встроенный в базу данных Ensembl инструмент аннотирования генов (variant effect predictor)

WGS – полногеномное секвенирование (whole genome sequence)

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Биоразнообразие домашних животных – важный компонент глобального биоразнообразия. Около 40 видов домашних животных обеспечивают потребности человека в мясе, шерсти, молоке, яйцах, энергии и т.д. На 2021 год по данным международной организации ФАО сельскохозяйственные животные представлены 8800 породами, из которых самыми многочисленными являются – свиньи (свыше 200) при этом численность пород овец в мире составляет около 1000.

Последние годы продемонстрировали резкое увеличение продуктивности сельскохозяйственных животных. В значительной мере это обусловлено глобальным распространением нескольких высокопродуктивных, но узкоспециализированных пород крупного и мелкого рогатого скота, большинство из которых было создано в Европе. Хорошо известный пример – высокопродуктивная голштинофризская порода КРС, ставшая наиболее широко представленной молочной породой КРС в мире. В овцеводстве такой породой стали мериносовые, основным хозяйственным направлением которых при создании являлось производство шерсти. На сегодняшний день существует множество тонкорунных и полутонкорунных пород, созданных на их основе, и распространенных по всему земному шару.

Однако распространение высокопродуктивных пород привело к негативным последствиям, основной из которых является снижение генетического разнообразия сельскохозяйственных животных. Аборигенные породы, при разведении которых используются, в основном, классические методы селекции, не могут конкурировать по продуктивности с высокоспециализированными. По этой причине в ООН была разработана Конвенция по биологическому разнообразию, в которую с 2022 года было внесено положение о том, что генетические ресурсы одомашненных растений и животных теперь рассматриваются, как один из видов природных ресурсов (Мамонтова, 2016; <https://www.cbd.int>). Доклад ФАО о Состоянии и тенденциях изменения генетических ресурсов животных,

подготовленный в 2020 г., продемонстрировал критическое положение ряда аборигенных пород. На сегодняшний день вымершими считаются 7 % зарегистрированных пород сельскохозяйственных животных; свыше 25 % пород – находятся на грани исчезновения; статус 50% аборигенных пород развивающихся стран неизвестен.

Важно отметить, что узкоспециализированные породы, при низком уровне разнообразия сочетают в себе высокую продуктивность с накоплением рецессивных леталей и генетических вариантов (далее ДНК-полиморфизмов), ослабляющих их жизнеспособность. Впервые эта проблема была детально изучена у крупного рогатого скота, что позволило выявить ряд гаплотипов фертильности (VanRaden; 2011; Zinovieva, 2016; Ковалюк и др., 2023). Однако на сегодняшний день аналогичные гаплотипы фертильности исследованы и в овцеводстве (Ben Braiek et al., 2021).

Следствием использования в сельском хозяйстве более высокопродуктивных пород является то, что аборигенные породы, демонстрирующие меньшую продуктивность, постепенно вытесняются (Simmons, Ekarius, 2019). Эта же проблема стоит и перед животноводами в РФ. Отставание отечественных пород по продуктивности обусловлено несопоставимо низким с европейскими показателями уровнем их селекции.

События последних лет значительно повысили интерес исследователей к аборигенным породам. С одной стороны, местные породы более устойчивы к условиям, в которых они были созданы, чем интродуцированные (Hoffmann et al., 2010), которые либо не могут полностью реализовать свой потенциал в некоторых регионах, либо требуют полного и дорогостоящего переоборудования фермерских хозяйств, дополнительного ветеринарного обслуживания и пересмотра рационов кормления. Другая причина повышенного внимания к локальным породам обусловлена необходимостью восстановления разрушенных экосистем, ускорить которое позволит выпас домашних копытных на заброшенных сельхозугодьях, т.к. домашний скот в этом случае займет нишу травоядных животных (Carey, 2016).

Очевидно, что для этой роли подойдут только животные, адаптированные к местным условиям. Наконец, глобальная пандемия COVID-19 привела к повышению информированности людей о зоонозах и преимуществах высокого уровня биоразнообразия в естественных и искусственных системах (Liverani et al., 2013; Simianer, Reimer, 2021).

Становится очевидным, что эффективность ведения отрасли овцеводства связана с особенностями районированных пород, т.е. хорошо адаптированных к природно-климатической зоне их разведения. Широкое разнообразие генетических ресурсов сельскохозяйственных животных является основой для развития животноводческой отрасли и повышения ее рентабельности. Поэтому особый интерес представляет изучение наследования основных признаков отбора в разных зонах разведения.

Согласно Государственной программе развития сельского хозяйства и регулирования рынков сельскохозяйственной продукции, сырья и продовольствия (Постановление Правительства России от 16 декабря 2021г. N 2309), генетика и селекция сельскохозяйственных животных и растений являются ключевым ориентиром развития агропромышленного комплекса РФ. А увеличение объема производства продукции по животноводству – одна из основных задач Федеральной научно-технической программы развития сельского хозяйства (Постановление Правительства РФ № 996 от 25 августа 2017 г.). Это ставит перед животноводами РФ, и овцеводами, в частности, задачу повышения продуктивности местных пород сельскохозяйственных животных.

Большинство селекционно-значимых показателей относятся к количественным признакам, для которых характерны мультифакторность и полигенность. В животноводстве это ростовые показатели, такие как, живая масса в динамике, плодовитость животных, объем получаемого молока. Мультифакторность признака означает, что его манифестация и степень выраженности обусловлены не только генотипом, а находятся в зависимости от факторов внешней среды (условия содержания, рацион кормления и т.д.) (Brown,

Swan, 2014). Полигенные признаки, как правило, имеют низкие коэффициенты наследуемости и формируются с участием генных комплексов, постепенно вовлекаемых в формирование показателя в ходе онтогенеза.

Ключевыми факторами продуктивности мясного овцеводства являются живая масса и плодовитость овцематок. Исследование генетики этих параметров проводится учеными всего мира.

Живая масса животного – один из критериев мясной продуктивности, является наиболее показательной величиной и легко регистрируемой величиной. Коэффициент наследуемости этого показателя варьирует для разных возрастов, наибольшее его значение имеет живая масса взрослого животного (0.30-0.41) (ICAR Guidelines Section 21, 2021). Однако эти данные усредненные и коэффициенты наследуемости могут различаться в разных популяциях, у представителей разных пород (Brito et al., 2017; Lôbo et al., 2009).

Ряд универсальных полиморфизмов, влияющих на различные показатели мясной продуктивности овец и показатели массы тела у млекопитающих, уже известен и используется в некоторых программах по разведению (Bolormaa et al., 2016). Среди них полиморфизмы в генах гормона роста, кальпаина, кальпастатина, калипингии, лептина, миостатина и др. (Дейкин и др., 2016; Трухачев и др., 2018). Эти и другие гены-кандидаты показали свою вовлеченность в формирование продуктивных показателей у представителей разных пород и постепенно внедряются в практику исследования в племенных и опытных хозяйствах (Абдулсалимов и др., 2020; Бакоев, Гетманцева, 2020; Лушников и др., 2020; Яцык и др., 2020; Скорых, 2021), однако до сих пор не стали рутинными при селекции овец в РФ.

Исследование репродуктивных показателей овец и их повышение являются задачей множества ученых (Beattie, Howard, 2020). Коэффициент наследуемости такого показателя, как количество ягнят за одно ягнение очень низок и составляет $h^2=0.08-0.11$, для массы ягнят при рождении в зависимости от породы – 0.02-0.29 (Snowder, 2008; ICAR Guidelines Section 21, 2021). Условия содержания и сроки

первого осеменения играют важную роль в формировании этих качеств. Однако в последние годы в области изучения генетических основ плодовитости овец достигнуты существенные результаты. Подробный анализ генетики репродуктивных качеств овец разных пород дан в монографии Зиновьевой и др. (2014). Очень показательны в этом контексте ген *BMP15*, в котором обнаружено 8 полиморфизмов (по два у пород белклейр и ромни-марш; по одному у пород лакон, раса арагонеса, олькуска, кембриджской и гиветт), ассоциированных с плодовитостью и ген *GDF9* – 3 полиморфизма отдельно для каждой из пород белклейр/кембриджская, исландская и санта инес. Ген рецептора к *BMP15* (*BMPR1B*), получивший название гена бурула по наименованию одной из пород мериносов, у которых полиморфизм плодовитости был обнаружен впервые, был выявлен также у пород гароле, яванезской и кендрапада и др. (Abdoli, 2016; Chu et al., 2007; Hanrahan et al., 2004; Silva et al., 2011; Souza et al., 2001). Полиморфизмы плодовитости овец объединяются в так называемое Fec- семейство.

Количество работ по генетической оценке плодовитости российских пород овец удручающе мало и как правило, посвящено попыткам применения уже известных маркеров. Поиск полиморфизмов *BMPR1B*/FecB и *GDF9*/FecG на популяции овец романовской породы оказалось неуспешным. Были выявлены аллели дикого типа, то есть высокая плодовитость породы не может быть объяснена этими известными маркерами (Малюченко и др., 2011). В работе, посвященной изучению двух полиморфизмов в гене *GDF9* на популяции сальской породы овец, были выявлены крайне низкие частоты полиморфизмов, что также не дает возможности использовать их в качестве маркеров плодовитости (Колосов и др., 2014).

Вышесказанное делает очевидной проблему изучения наследования селекционно-значимых признаков плодовитости и живой массы у овец. Применение традиционных методов селекции для их улучшения требует значительных временных и финансовых ресурсов. На сегодняшний день методы маркер-ассистированной селекции ускорили процесс выявления и закрепления в

потомстве важных для человека признаков сельскохозяйственных животных и повысили рентабельность животноводческой отрасли (Wang et al., 2017; Sousa-Junior et al., 2022).

Однако новая эпоха в исследовании продуктивности сельскохозяйственных животных наступила с расшифровкой геномов сельскохозяйственных животных на рубеже 2010-х гг и последующим созданием SNP-панелей или чипов, позволяющих за один цикл исследований получать информацию о тысячах SNPs, рассеянных по всему геному. Результаты генотипирования на таких чипах дают возможность при достаточном количестве фенотипических данных находить новые ассоциации “комплекс полиморфизмов - фенотип”. Кроме того, панели таких производителей, как Illumina, Affymetrix и др., являются универсальными, что позволяет аккумулировать результаты, полученные учеными со всего мира в унифицированном виде.

Благодаря использованию SNP-чипов база данных локусов количественных признаков значительно пополнилась за последние 15 лет. Раздел, посвященный исследованным локусам у овец (SheepQTLdb) на сегодняшний день содержит информацию о 270 полиморфизмах, связанных с показателем живой массы овец разных пород на разных этапах онтогенеза, от массы при рождении, до массы взрослого животного (<http://www.animalgenome.org/QTLdb/>). В основном, эти данные были получены на популяциях европейских пород и ряда азиатских и африканских, для которых продукция аборигенных пород часто является основным источником питания.

Из анализа ряда работ, посвященных исследованию генетической архитектуры продуктивных и репродуктивных качеств овец, следует, что SNPs, ассоциированные с основными селекционно-значимыми показателями не являются универсальными (Gholizadeh et al., 2015; Ma et al., 2019). Рядом исследований показана породоспецифичность, характерная для живой массы и плодовитости овец. Так например, были выявлены локусы количественных признаков (QTL) в хромосомах OAR1, 3, 6, 11, 21, 23, 24 и 26, связанные с живой массой при рождении

и скоростью роста в помесной популяции мериносовые овцы авасси (Raadsma et al., 2009). В работе, посвященной полногеномному поиску ассоциаций с показателем живой массы 9-месячных ягнят австралийских мериносов выявлен регион на OAR6, содержащий 13 значимых SNPs (Al-Mamun et al., 2015). Подробное исследование, целью которого был поиск ассоциаций с показателями живой массы овец иранской породы балучи на основе полногеномного генотипирования при рождении, при отъеме и в возрасте 6 и 12 месяцев позволил установить полиморфизмы на OAR 5, 6, 7, 8, 13, 15, 16 и 25, значимые в разные периоды жизни (Gholizadeh et al., 2015). В результате полногеномного исследования восьмимесячных овцематок породы ромни-марш выявлены гены-кандидаты *TNC*, *TNFSF8* (OAR2) и *COL28A1* (OAR4), ассоциированные в большей или меньшей степени с живой массой этой породы (Haslin et al., 2023).

То есть для различных пород найдены уникальные полиморфизмы, обуславливающие их высокие показатели плодовитости или живой массы. Эти факты свидетельствуют о необходимости строгого учета фенотипических показателей в овцеводческих хозяйствах и молекулярно-генетических исследований отечественных пород овец как для качественного изменения и улучшения селекционной работы, так и для изучения их происхождения.

В этой связи особое внимание следует обратить на хорошо зарекомендовавшие себя районированные породы мясошерстного и мясного направления продуктивности. Одной из наиболее успешных и многочисленных в РФ тонкорунных пород является волгоградская порода мясошерстного направления. Весьма перспективной, но требующей проведения мероприятий по поддержанию разнообразия полутонкорунная южная мясная порода, относимая к малочисленной группе.

Вышесказанное делает поиск ДНК-полиморфизмов, ассоциированных с показателями живой массы и плодовитости овец отечественных пород весьма актуальным, так как тест-системы, разработанные на их основе, обладают научной новизной и найдут свое применение в современных селекционных программах,

призванных повысить продуктивность животных и сохранить отечественные породы.

Объект и предмет исследования

Объектом диссертационного исследования являются овцы волгоградской и южной мясной пород отечественной селекции. Предметом исследования являются продуктивные показатели овец – их живая масса, определенная в ходе контрольных взвешиваний, и тип ягнения (одинцовое, двойненое) за период исследований 4-5 лет, а также определенные в результате генотипирования полиморфизмы в геноме исследуемых пород овец, ассоциированные с показателями продуктивности.

Цель работы

Целью работы является исследование ДНК-полиморфизмов и разработка на их основе ДНК-маркеров живой массы и плодовитости овец южной мясной и волгоградской пород отечественной селекции.

Задачи исследования

1. Провести анализ показателей живой массы и плодовитости овец волгоградской и южной мясной пород.
2. Определить зависимость между живой массой овец южной мясной и волгоградской пород и их плодовитостью.
3. Идентифицировать ДНК-полиморфизмы, ассоциированные с показателями живой массы овец.
4. Оценить влияние идентифицированных ДНК-полиморфизмов на показатель живой массы овец.
5. Оценить влияние ДНК-полиморфизмов, ассоциированных с живой массой овец южной мясной и волгоградской пород, на их плодовитость.

Научная новизна работы

Впервые на основе полногеномного генотипирования и последующего анализа результатов исследована генетическая основа и наследование показателя живой массы овец двух отечественных пород (волгоградской и южной мясной), обладающих высокой адаптивностью к условиям Южного Федерального округа.

Выявлен ряд уникальных информативных ДНК-маркеров, ассоциированных с исследуемым показателем, подтверждено их влияние на живую массу и отсутствие негативного влияния на плодовитость.

Для каждой из пород выявлены по два ДНК-маркера, ассоциированные как с показателем живой массы, так и с плодовитостью.

Установлено, что ДНК-маркеры, локализованные в ходе исследования уникальны для каждой из обеих пород.

Практическая значимость работы

Банк генотипов, полученный в ходе генотипирования овец на чипах средней плотности, как и база данных, созданная в ходе исследования, могут использоваться в дальнейших исследованиях механизмов формирования как ростовых показателей овец и их фертильности, так и для изучения генетических основ других селекционно-значимых показателей овец южной мясной и волгоградской пород.

Результаты работы ориентированы на понимание наследования живой массы овец мясного и мясошерстного направления продуктивности, что создаст предпосылки для разработки эффективных методов селекции специалистами и сыграет положительную роль в развитии программы по замещению импортного продовольствия и сохранению ценного генофонда отечественных пород.

Методы исследования

В качестве образцов были использованы ушные выщипы овцематок. Проведены измерения живой массы овцематок, исследована их плодовитость, происхождение, динамика живой массы ягнят от рождения до отъема. Статистическая обработка полученных данных проведена с помощью программных пакетов MATLAB R2021 и Mathcad 14 с использованием таких статистических характеристик выборок, как коэффициент корреляции, доверительные интервалы, блочные диаграммы с обязательной проверкой на наличие выбросов. Генотипирование SNP-маркеров проводилось на чипе средней плотности OvineSNP50 Genotyping BeadChip (GeneSeek / Illumina Inc., США),

содержащем свыше 54 тыс. SNP. Фильтрация и статистическая обработка результатов генотипирования, а также расчет индекса генетической дифференциации F_{ST} проведены с использованием программных продуктов plink1.9 и Rstudio2023.03.0, для визуализации результатов (построение манхэттенского графика и блочных диаграмм) использован пакет R ggplot2.

Положения, выносимые на защиту

1. Корреляция между живой массой овец и их плодовитостью породоспецифична: положительна у южной мясной породы и отсутствует у волгоградской.
2. ДНК-маркеры живой массы овец уникальны для каждой породы.
3. ДНК-маркеры живой массы овец не оказывают негативного влияния на плодовитость овцематок и могут быть рекомендованы в качестве маркеров мясной продуктивности.

Степень достоверности и апробация результатов

Работы по генотипированию биологических образцов овец выполнялись в специализированной аккредитованной лаборатории Мираторг-Генетика на оборудовании компании Illumina по методике, утвержденной Illumina и общепринятой при полногеномном генотипировании на чипах этого производителя. Достоверность определения генотипов по SNP-маркерам достигалась фильтрацией первичных данных и отбором лишь тех SNPs, которые отвечают установленным критериям качества согласно протоколам генотипирования и контроля качества, разработанным производителем оборудования. Фильтрация результатов генотипирования проводилась по методике, рекомендованной FAO для геномной оценки генетических ресурсов животных, с использованием программного обеспечения, применяемого в аналогичных исследованиях.

Основные результаты диссертационного исследования были представлены на 7 профильных научных конференциях:

Научно-практическая конференция с международным участием «Генетика — фундаментальная основа инноваций в медицине и селекции» г.Ростов-на-Дону, 26-29 сентября 2019г.;

Ежегодная конференция Американского и Канадского обществ наук о животных (2020 ASAS-CSAS-WSASAS Virtual Annual Meeting and Trade Show), г.Мэдисон, шт. Висконсин, 19-23 июля 2020;

XVI Международная научно-практическая конференция «Научные основы повышения продуктивности, здоровья животных и продовольственной безопасности», ФГБНУ КНЦЗВ, г. Краснодар, 15-17 июня 2022;

Международная научно-практическая конференция «Инновационные научные разработки – Развитию агропромышленного комплекса», г. Ставрополь, 22–23 сентября 2022;

V Международная научная конференция «Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы», Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, г. Минск, респ. Беларусь, 21-25 ноября 2022;

XVII Международная научно-практическая конференция «Научные основы повышения продуктивности, здоровья животных и продовольственной безопасности», ФГБНУ КНЦЗВ, г. Краснодар, 21-23 июня 2023;

II Всероссийская школа-конференция «Клеточные и геномные технологии для совершенствования сельскохозяйственных животных», Санкт-Петербург-Пушкин, 26-27 июня, 2023 г;

Приняты материалы для участия в 14 Международном симпозиуме “AGROSYM 2023”, Яхорина, Босния и Герцеговина, 5-8 октября 2023.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 133 страницах и содержит следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методика исследований, результаты исследований и обсуждение, выводы, заключение, список сокращений и условных обозначений, список использованных источников литературы, включающий 54

отечественных и 96 зарубежных источников, 3 приложения. Работа содержит 9 таблиц и 42 рисунка.

Публикации по теме диссертации

По материалам диссертации опубликовано 11 работ, в числе которых 1 статья в журнале, входящем в международную базу цитирования Web of Science, 3 статьи в журналах, входящих в международную базу цитирования SCOPUS и 1 статья в журнале из списка, рекомендованного ВАК, 4 тезиса конференций и 2 свидетельства о регистрации базы данных.

Личный вклад автора

Диссертационная работа основана на оригинальных данных, полученных автором в экспериментальных исследованиях в период 2018-2022 год. Тематика исследования, цель и задачи работы, объект исследования и методы проведения экспериментов выбраны автором совместно с научным руководителем. Автором самостоятельно выполнен анализ научных источников информации по исследуемой тематике, совместно с представителями племенных хозяйств проведены измерения живой массы животных и собраны данные о типе ягнения овцематок; статистический анализ фенотипических данных, отбор образцов для генотипирования, проведен ряд молекулярно-генетических исследований, обработка и анализ полученных результатов выполнены самостоятельно.

Благодарности

Автор выражает глубокую признательность за руководство и конструктивную критику научному руководителю профессору кафедры генетики АБиБ ЮФУ д.б.н. Усатову А.В; за помощь, рекомендации и поддержку заведующей кафедрой генетики АБиБ ЮФУ д.б.н. Шкурат Т.П.; за уточнения и рекомендации по оформлению работы д.б.н. Машкиной Е.В.; за всестороннюю поддержку, помощь в сборе фенотипических данных и рекомендации по проведению исследований, расчетам и их оформлению д.с.-х.н. Куликовой А.Я., д.с.-х.н. Колосову Ю.А., д.б.н. Гетманцевой Л.В. и к.б.н. Бакоеву С.Ю.

Конкурсная поддержка работы

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ №20-316-90048 «Полногеномное исследование овец волгоградской породы с целью выявления генетических вариаций, ассоциированных с воспроизводительными признаками и мясной продуктивностью».

В процессе выполнения диссертационного исследования соискатель принимал участие в выполнении грантов РФФИ МК-1443.2018.11 (Исследование полиморфизма мтДНК у свиней различных пород и поиск их эффективных ассоциаций с продуктивными качествами) и РФФИ № 19-016-00068 (Исследование молекулярно-генетических вариантов, ассоциированных с экстерьерной оценкой конечностей и признаками продуктивности свиней на основе многомерного анализа), что позволило отработать методики фильтрации и обработки результатов генотипирования, используемые в представленной работе.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Генетическое разнообразие сельскохозяйственных животных

Сегодняшний уровень разнообразия домашних животных является результатом длительной общей истории, начавшейся с одомашниванием животных в период 15000-1000 лет назад. Согласно последним теориям, овцы были одомашнены 11000 лет назад, козы – 10500, куры – около 4000 лет назад. В ходе совместной истории домашние животные мигрировали вместе с человеком и распространились по всему земному шару. В основе разнообразия сельскохозяйственных животных лежат такие факторы, как адаптация к местным условиям, искусственный отбор, мутации и дрейф генов. Результатом этого в последние столетия стало возникновение множества пород, демонстрирующих широкий диапазон сельскохозяйственных показателей.

Последние 50 лет продемонстрировали глобальное распространение нескольких высокоспециализированных пород домашних животных, большинство из которых было создано в Европе. Хорошо известный пример – высокопродуктивная голштинофризская порода КРС, ставшая наиболее широко распространенной молочной породой КРС в мире. Для овец такой породой стали мериносовые, основным хозяйственным направлением которых при создании было производство шерсти. Мериносовые овцы как порода сформировались в Средние века в Испании. На сегодняшний день существует множество тонкорунных и полутонкорунных пород, созданных на их основе, распространенных по всему земному шару.

Повсеместное распространение узкоспециализированных пород поставило под угрозу исчезновения многие хорошо адаптированные местные породы. Эта тенденция стала общей, как для высокоинтенсивных производств в развитых странах (Godber, Wall, 2014; Sponenberg et al., 2018), так и для территорий в

развивающихся странах, где преобладали традиционные методы ведения сельского хозяйства (Köhler-Rollefson et al., 2009).

Согласно докладу о Состоянии и тенденциях генетических ресурсов животных – 2020 (FAO, 2021), на сегодняшний день около 7 % зарегистрированных пород домашнего скота уже вымерли, более 25 % находятся под угрозой исчезновения, т.е. каждый месяц исчезает около 6 пород домашних животных (Simmons, Ekarius, 2019). Кроме того, неизвестен статус около 50 % пород, которые разводятся в развивающихся странах.

По данным FAO за 2015 год основными причинами снижения генетического разнообразия сельскохозяйственных животных стали непродуманные программы по скрещиванию племенных животных, а также межпородное скрещивание с представителями высокоспециализированных пород (например, так. наз. *голитинизация*) (Hodges, 2006; FAO 2007a; Bruford et al., 2015). Аборигенные породы, не выдерживая конкуренции с коммерческими высокопродуктивными, вытесняются из рынка, некоторые из них безвозвратно утрачиваются. Однако из-за ограниченного количества производителей у высокопродуктивных пород их генетическое разнообразие падает, эффективный размер популяции критически снижается, что ведет, в свою очередь, к снижению жизнеспособности их представителей (Амерханов, Колдаева, 2023).

Все негативные последствия генетической эрозии и инбредной депрессии (снижение жизнеспособности, потеря фертильности, снижение устойчивости к инфекционным заболеваниям, часто вызванные накоплением рецессивных гомозигот) подробно исследуются, потому что их проявления способны нанести существенный урон сельскому хозяйству (FAO 2007b; Taberlet et al., 2008; Howard et al., 2017).

События последних лет значительно повысили интерес исследователей к местным породам. Во-первых, в контексте продолжающихся изменений климата, в которых устойчивость местных пород дает им ощутимые преимущества перед интродуцируемыми (Hoffmann et al., 2010). С другой стороны, повышается интерес

к восстановлению экосистем, которое предполагает повторное использование заброшенных сельхозугодий, где домашние копытные при пастбищном содержании будут занимать нишу травоядных животных (Carey, 2016). Очевидно, что для этой роли подойдут только животные, адаптированные к местным условиям. Третьей причиной, формирование которой во многом обусловлено глобальной пандемией COVID-19, является повышение информированности и осведомленности людей о зоонозах и преимуществах, которые дает высокий уровень биоразнообразия в естественных и искусственных системах (Liverani et al., 2013) (Simianer, Reimer, 2021).

Для сохранения пород сельскохозяйственных животных стала разработка Глобального плана действий по сохранению генетических ресурсов животных (*Global Plan of Action for Animal Genetic Resources*). Задачами которого являются сбор, систематизация и постоянный мониторинг данных о биоразнообразии сельскохозяйственных животных (Friedrich, Wiener, 2020). Это необходимо как для оценки важности той или иной породы, так и для последующей разработки программ по сохранению и развитию пород.

В целях изучения и восстановления численности редких и исчезающих пород были созданы международные организации, целью которых является сохранение биоразнообразия домашних животных. В середине 1970-х гг. в США была создана организация Livestock Conservancy. В 1987г. аналогичная ей Canadian Rare Breeds Conservancy была зарегистрирована в Канаде. Этими организациями была разработана классификация исчезающих пород домашних животных, основанная на их численности:

Критическое состояние (*critical*): ежегодно в США регистрируются менее 200 животных, популяция породы в мире – менее 2000 особей. По состоянию на 2019 год к этой категории относится 4 породы овец, в т.ч. санта круз.

Находящиеся под угрозой исчезновения (*threatened*): ежегодно в США регистрируются менее 1000 животных, популяция породы в мире – менее 5000

особей. В 2019 году эта группа включала 11 пород овец, в т.ч. линкольн и навахо-чурро.

Находящиеся под наблюдением (*watch*): породы, имеющие недостаточную численность, а также ограниченное географическое распространение - ежегодно в США регистрируются менее 2500 животных, численность популяции породы в мире – менее 10000 особей. Категория включает 5 пород овец, в т.ч. оксфордскую, шропширскую, тунисскую.

Восстановливающиеся (*recovering*): породы, которые когда-то были занесены в более малочисленные категории, но теперь их численность превысила порог категории *watch*. Несмотря на это, они все еще нуждаются в мониторинге. В 2019 году в этой категории было две породы овец - шетландская и саутдон.

Породы, требующие дальнейшего изучения (*study*), с целью выяснения, заслуживают ли их история, генетические особенности, глобальный статус и численность в США включения в Список приоритетов сохранения.

Благодаря деятельности этих организаций удалось спасти такие старые породы овец, как котсволд и джейкоб. Которые были интродуцированы в США, но из-за не очень высоких показателей продуктивности у себя на родине в Великобритании, почти исчезли.

В овцеводстве потеря местных пород наиболее опасна для малых фермерских предприятий с традиционным содержанием животных (противоположность им - индустриализированные фермерские комплексы стойлового содержания животных с системами автоматизированной подачи корма, поддержанием микроклимата и т.д.) (Hoffmann et al., 2006). Несмотря на то, что местные породы овец не демонстрируют исключительной продуктивности, они имеют ряд преимуществ. Как правило, они хорошо приспособлены к содержанию в местном климате и не требуют создания специальных условий. Многие из них выпасаются на пастбищах без дополнительной подкормки или с незначительным ее количеством. Животные местных пород более устойчивы к инфекциям и паразитам, характерным для конкретного региона. Представители некоторых пород имеют очень хорошие

материнские качества, что в значительной степени облегчает труд фермера в сезон ягнения. И, наконец, многие местные породы имеют смешанное направление хозяйственного использования, например мясошерстное.

1.2 Молекулярно-генетические методы в селекции сельскохозяйственных животных

В некоторых случаях породы фенотипически уникальны и хорошо различимы, что характерно для пород, выведенных с помощью подробно разработанных программ разведения. В противоположность этому некоторые местные породы, в основном, возникшие в Африке и Азии, были связаны с поселениями местных жителей и не имели четких границ. Кроме того, существуют породы, имеющие общее происхождение, внешнее сходство и ряд помесей в истории своего развития (Felius et al., 2011). Все эти факты не позволяют четко разделять представителей пород по фенотипическим признакам, в то же время делая породы домашних животных частью культурного наследия.

На сегодняшний день молекулярно-генетические исследования могут не только дополнять фенотипическую характеристику и знания коренных народов, помогая идентифицировать уникальные породы, но и давать исследователям ценную информацию, которая в дальнейшем может быть использована в селекции.

Ученые начали использовать достижения молекулярной генетики для исследования скота в начале 1990-х. Одновременно с развитием молекулярной биологии совершенствовались методы анализа генетического разнообразия животных (Groeneveld et al., 2010; Bruford et al., 2015). Исследователи во многих странах методами молекулярной биологии характеризуют местные породы и объединяя усилия, создают международные базы молекулярно-генетических данных для большинства видов сельскохозяйственных животных.

Первыми генетическими маркерами для характеристики породных особенностей животных были микросателлитные маркеры, совершившие

революцию в молекулярной генетике в 1990-х гг., и именно они использовались при составлении руководящих документов FAO (FAO, 2011). Однако они имели ряд недостатков. Во-первых, определение одних и тех же аллелей трудно воспроизвести в разных лабораториях. Во-вторых, несмотря на совместные усилия FAO и ISAG по стандартизации, многие лаборатории продолжали использовать кастомные (уникальные) панели генетических маркеров, что препятствовало объединению наборов данных и в значительной мере снижало результативность таких исследований. Микросателлитные маркеры широко применялись для картирования локусов количественных признаков (рост, масса, количество молока и т. д.), в течение длительного времени будучи основным источником получения данных о генетической архитектуре продуктивных показателей сельскохозяйственных животных. Сегодня сфера их применения не столь широка, т.к. они вытеснены более легкими в использовании и универсальными для лабораторных исследований однонуклеотидными полиморфизмами – SNPs.

Однонуклеотидные полиморфизмы были выявлены не только в ядерном геноме, но и в митохондриальной ДНК. Помимо успехов и открытий в филогенетике, ряд исследователей использовали мтДНК для поиска ассоциаций ее полиморфизмов с хозяйственно-полезными признаками животных. Удобство работы с мтДНК обусловлено рядом ее особенностей и, в частности, малым размером. Т.к. у большинства млекопитающих длина последовательности мтДНК составляет около 16-16.5 тысяч нуклеотидов. Кроме того, она очень эргономична – интроны отсутствуют, и почти каждая пара оснований входит в состав какого-либо гена. Совместно с коллегами из ДонГАУ (Донской Государственный Университет) и ВИЖ (Всероссийский Институт Животноводства им. Л.К.Эрнста) нами были исследованы гаплотипы гена *COXII*, локализованного в мтДНК свиней и их связь с продуктивными качествами свиней породы крупная белая. В исследованной популяции было выявлено 3 гаплотипа мтДНК, из которых Нар_2, оказался ассоциированным с толщиной шпига (Kolosova et al., 2019).

Однако до недавнего времени открытие новых SNPs, влияющих на те или иные селекционно-значимые признаки происходило довольно медленно. Основными причинами этого были отсутствие секвенированного и аннотированного генома, незначительность влияния большинства отдельных полиморфизмов на изучаемый показатель а, следовательно, и трудность получения статистически достоверных данных об их влиянии. Преодолеть эти трудности позволила расшифровка геномов ряда сельскохозяйственных животных (коровы – 2009 г, овцы – 2012 г и т.д.) и последующее изобретение SNP -чипов (Дейкин, 2016).

В начале 2000-х гг ученые из 26 институтов (CSIRO Livestock Industries, AgResearch, Utah State University, BGI-Shenzhen, The Roslin Institute, HGSC – BCM, INRA Toulouse и др.), расположенных в 8 странах мира объединили усилия по расшифровке генома овцы для разработки новых более эффективных стратегий разведения и содержания овец различных направлений хозяйственного использования. Результаты этого масштабного исследования, продолжавшегося около 8 лет, были опубликованы в 2014 году в журнале Science.

Объектом для секвенирования с помощью технологий Illumina была выбрана овца породы тексель. Для уточнения и заполнения пробелов (gaps) был расшифрован геном барана этой же породы. В результате была представлена первая сборка генома овцы v1.0 (ACIV000000000). Размер генома *Ovis aries* составляет приблизительно 2.7 миллиарда пар оснований, локализованных на 26 парах аутосом и паре половых хромосом.

Следствием секвенирования геномов стало изобретение метода полногеномного поиска ассоциаций (genome-wide association study - GWAS), который впервые был успешно применен в 2002 году для поиска ассоциаций однонуклеотидных полиморфизмов с предрасположенностью к инфаркту миокарда у человека. Метод GWAS стал прорывным, так как позволял за один цикл исследований выявить сразу множество полиморфизмов, лежащих в регуляторных областях или в интронах генов, и в той или иной мере связанных с исследуемым признаком или вовлеченных в основные метаболические пути. Новый метод

кардинальным образом изменил подход к исследованию продуктивности животных, он оказался более эффективным, чем метод маркер-связанной селекции (MAS), предполагающий исследования ограниченного числа маркеров с известными ассоциациями в фенотипе. Выявленные с помощью GWAS полиморфизмы, ассоциированные с хозяйственно-ценными фенотипами, могут в дальнейшем использоваться как ДНК-маркеры, собранные в тест-системы или применяемые отдельно, при разведении животных. В последние годы метод полногеномного поиска ассоциаций позволил обнаружить тысячи ранее неизвестных однонуклеотидных полиморфизмов, обуславливающих те или иные качества исследуемых популяций. Преимуществами метода GWAS является точность в определении локализации того или иного полиморфизма и оценка не только вклада отдельного геномного варианта в формирование признака, но и суммарное отслеживание полиморфизмов с незначительными эффектами, которые при другом способе исследования не принимались бы во внимание. Метод GWAS позволяет анализировать результаты генотипирования биологических образцов на чипах (панелях), в которые включены десятки и сотни тысяч полиморфизмов SNPs. Основными производителями чипов для коммерческого использования являются компании Illumina и Affymetrix.

Эти открытия спровоцировали огромный рост количества данных о генотипах и данных секвенирования, что сопровождалось развитием множества новых способов статистического анализа и программного обеспечения для обработки данных (Biscarini et al., 2018).

Для большинства сельскохозяйственных видов домашних животных были получены довольно полные генетические данные со всего света – включая не только породы из высокоразвитых стран, но и породы из Азии, Африки и Южной Америки. Благодаря использованию единых наборов для генотипирования эти данные равнозначны и единообразны, а публикация результатов генотипирования в международных базах данных делает их доступными для ученых всего мира, позволяя проводить популяционные и филогенетические исследования.

Характеристика геномов различных пород показала, что породы не являются статичными из-за давления отбора и периодического скрещивания (Felix et al., 2015).

Закономерным следствием изобретения метода GWAS стало создание интернациональных консорциумов, каждый из которых имеет свою базу данных, содержащую информацию о генетических особенностях разных видов сельскохозяйственных животных. Например, база данных генома крупного рогатого скота *Bovine Genome Database (BGD)*, или *Sheep Genomes Database*, основанная международным консорциумом по изучению генома овец (ISGC-International sheep genomics consortium) при финансовой поддержке министерства сельского хозяйства США (USDA).

ISGC была создана при участии Meat & Livestock Australia и Australian Wool Innovation Limited, а также 11 австралийских и новозеландских исследовательских организаций. Люди, стоявшие у истоков ISGC, так описывали его общую задачу - «найти полезные гены и заставить их работать» (<https://www.sheephapmap.org>). Около 70 % мирового экспорта баранины обеспечивают Австралия и Новая Зеландия – страны, закономерно ставшие инициаторами создания международного консорциума по геномике овец. Его долгосрочной задачей является разработка ресурсов и агрегация больших объемов данных для международного научного сообщества при одновременном снижении временных и финансовых затрат.

Деятельность консорциума позволила собрать информацию о различных полиморфизмах в геноме овец разных пород и создать чипы (панели) для одновременного генотипирования множества полиморфизмов, рассеянных по всему геному. В сотрудничестве с Illumina, консорциум создал первый чип - SNP50BeadChip, позволяющий идентифицировать свыше 50000 точек. Этот чип довольно широко используется исследователями во всем мире для поиска геномных ассоциаций (GWAS). На сегодняшний день чип 50k включает ряд маркеров хозяйственно-полезных признаков – устойчивости к возбудителям некоторых заболеваний, плодовитости, мясных и шерстных показателей

(Deniskova et al., 2015). С помощью панели SNP50BeadChip был идентифицирован ряд моногенных признаков - микрофтальмия у породы тексель, карликовость/ахондроплазия у пород шевииот и тексель, эпидермолиз соединительной ткани у немецких черноголовых овец, рогатость/комолость и т.д.

Полученные данные об ассоциациях полиморфизмов с селекционно-значимыми признаками или заболеваниями агрегируются в онлайн базах данных, таких как OMIA (<https://www.omia.org/home/>) и «Sheep Genomes Database» (<https://sheepgenomesdb.org/home>).

«Sheep Genomes Database» (SGD), созданная при финансовой поддержке Министерства сельского хозяйства США (USDA AFRI), является специализированной базой данных по генетике и геномике овец. Инициатором ее разработки стал международный консорциум по овцеводству (International Sheep Genomics Consortium). Кураторами этого проекта выступили James Kijas, Noelle Cockett (Utah State University), Kim Worley (Baylor College of Medicine Human Genome Sequencing Centre, Rudiger Brauning (AgResearch) и Hans Daetwyler (the Department of Economic Development, Jobs, Transport and Resources Victoria). База SGD является хранилищем достоверных данных по геномике овец и непрерывно пополняется.

Ключевыми задачами SGD являются:

- 1) агрегирование новой достоверной информации по геному овец и обеспечение доступа к ней;
- 2) хранение и свободный доступ к ранее загруженным сиквенсам, что может быть необходимо для поиска аналогий с вновь полученными;
- 3) загрузка новых данных по SNP и CNV из непрерывно пополняющейся коллекции геномов.

Важно отметить, что в SheepGenomesDB возможен поиск генетических вариантов по расположению в определенной группе сцепления, по результатам аннотирования SNP или по породам, представляющим интерес. Эта опция полезна не только для специалистов, заинтересованных в поиске и применении новых

маркеров для более целенаправленной селекции, но и для проведения эволюционных исследований, поиска “подписей селекции”, связанных с одомашниванием.

Подробное исследование SNPs, indels и CNVs в последние годы может быть объяснено тем, что именно они обуславливают формирование сложных показателей адаптированности животного к окружающей среде и продуктивных показателей, являющихся полигенными. Кроме того, были разработаны методы выявления участков генома, находящихся под давлением отбора – так называемых подписей селекции (Smith, Haigh, 1974; Randhawa et al., 2016; Friedrich, Wiener, 2019).

Другим следствием инноваций в области молекулярной генетики стало прогрессивное развитие исследований древней ДНК (McHugo et al., 2019). Все это позволило достичь следующих результатов:

- Дикие предки большинства домашних животных были идентифицированы с помощью исследования митохондриальной ДНК (мтДНК) (MacHugh et al., 2017);
- Гомогенность представителей одной породы и межпородные различия могут быть однозначно определены;
- Генетическая конституция пород может быть исследована с помощью количественных показателей разнообразия, инбридинга, ассортативного скрещивания;
- Эволюционная история видов и популяций может быть реконструирована с помощью филогении – полученные данные визуализируются в виде древовидной структуры и могут помочь выявить поток генов между породами с различной историей.

1.3 Наследование продуктивных качеств овец

Ключевыми показателями продуктивности в мясном овцеводстве являются живая масса животного на разных этапах онтогенеза (скорость роста) и

плодовитость овцематок. Рассмотрим подробнее данные о генетической архитектуре этих показателей.

Крупнейшими экспортерами баранины являются Новая Зеландия, Австралия и Великобритания. Наиболее распространенные породы в этих странах – меринос, дорсет, ромни-марш, гемпшир и тексель. Страны Ближнего Востока выращивают овец местных пород. Как правило, крупнейшие исследования генетики овец представлены именно этими странами. Первое опубликованное GWAS исследование овец было посвящено особенностям наследования формы рогов, следующая работа касалась развития гипофосфатемического рахита у ягнят породы корридель. В дальнейшем метод стал применяться для исследования как моногенных заболеваний, так и для изучения генетической обусловленности селекционно-значимых показателей.

Быстрое накопление данных, вызванное разработкой чипов для полногеномного генотипирования и появлением метода GWAS, позволило создать базу данных локусов количественных признаков (QTL). В ней агрегирована информация о ряде хозяйственно-ценных признаков и на сегодняшний день она содержит уже несколько тысяч полиморфных локусов, продолжая непрерывно пополняться. Например, в ней содержится информация о полиморфизмах, влияющих на следующие репродуктивные показатели у овец: twinnings (двойни) – 3 SNP – на 10 хромосоме и 1 SNP в хромосоме 15; lambs born alive (количество живорожденных ягнят) – 4 SNP, расположенные на 3, 6 и 22 хромосомах; stillbirth (мертворожденные) – 4 SNP на 3 хромосоме, ovulation rate (уровень овуляции) - 3 SNP на 5 хромосоме; age at puberty (возраст наступления половой зрелости) – 4 SNP на 1 хромосоме; возраст первого ягнения (age at first lambing) – 1 SNP; total lambs born (общее количество ягнят за одно ягнение) – 217 SNP, рассеянных по всему геному, и т.д. Обширную группу селекционно-значимых показателей, связанных с ростом животных на разных этапах развития, составляют объединенные в одну группу продуктивные показатели, включающие в себя среднесуточные привесы, массу, длину и ширину тела в разном возрасте. Так для живой массы овец на

сегодняшний день есть информация по 270 локусам, ассоциированным с этим показателем в возрасте 3, 4, 6, 8, 12 месяцев, масса ягненка при отъеме от матки и т.д.

Живая масса животного – сложный количественный признак, в формировании которого участвует множество генетических и средовых факторов. В то же время она является наиболее показательной и легко регистрируемой величиной. Важным признаком, позволяющим оценить мясную продуктивность животных, является скороспелость молодняка (Куликова, 2020). Динамика живой массы ягнят от рождения до отъема может служить достоверным признаком продуктивности. Именно поэтому следует уделять пристальное внимание способности ягнят к быстрому и сбалансированному росту (Абонеев и др. 2011).

Показатель живой массы считается полигенным. Коэффициенты наследуемости показателей живой массы разительно отличаются на разных этапах развития. Так показатель живой массы ягнят при рождении имеет коэффициент наследуемости 0.15-0.21, живая масса в возрасте отъема ягненка от матки - 0.18-0.23, а коэффициент наследуемости этого показателя у взрослых животных составляет 0.30-0.41 (ICAR Guidelines., 2021). Однако эти данные усредненные и коэффициенты наследуемости могут различаться в разных популяциях, у представителей разных пород (Brito et al., 2017; Lôbo et al., 2009).

Исследования генетической обусловленности ростовых качеств овец мясных пород, как правило, представлены работами по изучению отдельных полиморфизмов. Так в работе, посвященной исследованию влияния гена миостатина, также известного, как фактор роста и дифференцировки *GDF8* на рост скелетной мускулатуры у овец породы Ромни-марш, было идентифицировано пять гаплотипов этого гена (Han, Forrest, 2015). При этом гаплотип H1 был ассоциирован с большей массой ягнят при рождении, гаплотип H2 – с большим выходом постного мяса, H3 – с высокой скоростью роста и быстрым набором массы, гаплотипы H5 и H7 негативно сказались на мясных качествах животных.

В работе, посвященной исследованию влияния миогенного фактора 5 (*MYF5*) на мясные качества новозеландских овец породы Ромни-марш, в результате секвенирования последовательности *MYF5* обнаружилось 4 аллельных варианта гена, один из которых значимо ассоциирован с набором массы животными (Wang et al., 2017).

Работа бразильских ученых (Sousa et al., 2019) позволила выявить 104 новых полиморфизма при секвенировании генов *MyoD1*, *MyoG*, *MyF5*, *MyF6*, и *MSTN*. Все исследованные гены принимают участие в росте и дифференцировке мышечных волокон, поэтому обнаруженные полиморфизмы могут рассматриваться в качестве генов-кандидатов при селекции овец на мясную продуктивность.

Ген лептина, хорошо зарекомендовавший себя в ряде работ, посвященных наследованию продуктивных и репродуктивных показателей свиней и коров (Ярышкин и др., 2022), неоднократно был целью исследователей генетики продуктивных качеств овец. В одной из работ по определению влияния полиморфизмов в гене лептина на такие показатели, как среднесуточный привес, состав туши и качество мяса работе было проведено секвенирование последовательности этого гена у ягнят пород суффолк и дорсет (Boucher et al., 2006). В результате было обнаружено три ранее неизвестных полиморфизма, выявлено отрицательное влияние полиморфизма A103G во втором интроне гена лептина на рост мышечной ткани у ягнят породы Suffolk. Для двух других полиморфизмов корреляции с хозяйственно полезными признаками не выявлено. Однако в заключении статьи авторы признают необходимость проведения дальнейших исследований с большим количеством образцов.

В более поздней работе (Barzekar et al., 2009) рассматривалось влияние того же полиморфизма на A103G на рост и характеристики туши у трех иранских пород овец. Было показано достоверное влияние аллеля G на более высокое содержание жира в туше для одной из исследованных пород, в то время как для ягнят другой породы данный аллель был ассоциирован с недостаточным набором веса в период отъема от матери.

Группа исследователей из Австралии провела одну из самых крупномасштабных работ по поиску полиморфизмов, ассоциированных с массой туши у овец (Al-Mamun et al., 2015). В результате полногеномного поиска ассоциаций у 9-месячных породы австралийский меринос было обнаружено 39 полиморфизмов, 13 из которых локализовано в шестой хромосоме, которые значимы в формировании таких признаков, как масса туши и характеристики роста животных. По результатам исследования гены *LAP3*, *NCAPG* и *LCORL*, ассоциированные с ростом и массой тела у человека и коровы, определены, как гены-кандидаты, содержащие обнаруженные полиморфизмы.

Значительное количество исследований на основе полногеномного генотипирования показало породоспецифичность, характерную для живой массы овец. Так например, были выявлены локусы количественных признаков (QTL) в хромосомах OAR1, 3, 6, 11, 21, 23, 24 и 26, связанные с живой массой при рождении и скоростью роста в помесной популяции мериносовые овцы хавасси (Raadsma et al., 2009). Подробное исследование, целью которого был поиск ассоциаций с показателями живой массы овец иранской породы балучи на основе полногеномного генотипирования при рождении, при отъеме и в возрасте 6 и 12 месяцев позволил установить полиморфизмы на OAR 5, 6, 7, 8, 13, 15, 16 и 25, значимые в разные периоды жизни (Gholizadeh et al., 2015). В результате полногеномного исследования восьмимесячных ярок (♀) породы ромни-марш выявлены гены-кандидаты *TNC*, *TNFSF8* (OAR2) и *COL28A1* (OAR4), ассоциированные в большей или меньшей степени с живой массой этой породы (Haslin et al., 2023).

Ряд универсальных полиморфизмов, влияющих на различные показатели мясной продуктивности овец и показатели массы тела у млекопитающих, уже известен и используется в некоторых программах по разведению (Bolormaa et al., 2016). Среди них полиморфизмы в генах гормона роста, кальпаина, кальпастатина, калипингии, лептина, миостатина и др. (Дейкин и др., 2016; Трухачев и др., 2018). Эти и другие гены-кандидаты показали свою вовлеченность в формирование

продуктивных показателей у представителей разных пород и постепенно внедряются в практику исследования в племенных и опытных хозяйствах (Абдулсалимов и др., 2020; Бакоев, Гетманцева, 2020; Лушников и др., 2020; Яцык и др., 2020; Скорых, 2021), однако до сих пор не стали общепринятыми при селекции овец в РФ.

Репродуктивные качества и многоплодие, в частности, относятся к количественным признакам с очень низкими коэффициентами наследуемости. Это означает, что не существует одного или нескольких генов, определенное сочетание аллелей которых, однозначно определяет высокую или низкую плодовитость особи. Особенность количественных признаков состоит в том, что каждый такой признак контролируется несколькими генами, при этом число генов, вовлеченных в процесс и их эффект, могут варьировать в очень широких пределах. Работы, посвященные изучению наследования репродуктивных качеств овец, немногочисленны, по сравнению с аналогичными исследованиями в области разведения КРС или свиноводства.

Одним из ключевых показателей продуктивности овец является репродуктивная эффективность (reproductive efficiency), определяемая количеством ягнят, рождаемых ежегодно одной овцематкой. Пика репродуктивной эффективности овцематки достигают обычно ко 2-3 беременности, а хозяйственное использование животных составляет, как правило, 4-6 лет. При средней продолжительности беременности 5 месяцев плодовитость овец многоплодных пород теоретически может составлять до 5 ягнят ежегодно в регионах низких широт, где возможно два окота в год (Gootwine, 2011). Фактическая же плодовитость значительно ниже и составляет 1-2 ягненка в год. Поэтому улучшение репродуктивных показателей и выявление факторов, влияющих на их развитие, являются одними из основных целей овцеводства. Кроме того, улучшение таких показателей как фертильность, многоплодие, выживаемость ягнят и частота ягнения, находящихся в значительной зависимости от факторов внешней среды, может внести значительно больший вклад в развитие отрасли, чем

улучшение показателей роста, рассмотренных выше и обладающих более высокой наследуемостью (Rosatia et al., 2002).

Важно отметить, что плодовитость овцематок с возрастом животного постепенно повышается, достигая максимальных значений к 3-4 ягнению, после чего снижается в результате естественного угасания репродуктивных функций животного (Подкорытов А.Т., 2019).

Исследование репродуктивных показателей овец и их повышение являются задачей множества ученых (Beattie, Howard, 2020). Коэффициент наследуемости такого показателя, как количество ягнят за одно ягнение очень низок и составляет $h^2=0.08-0.11$, для массы ягнят при рождении в зависимости от породы – $0.02-0.29$ (Snowder, 2008; ICAR Guidelines Section 21, 2021). Условия содержания и сроки первого осеменения играют важную роль в формировании этих качеств. Однако в последние годы в области изучения генетических основ плодовитости овец достигнуты существенные результаты.

Наиболее подробные расчеты коэффициентов наследуемости для 13 репродуктивных показателей у овец приведены в работе Rosatia. Авторами были проанализированы данные по 23000 окотов 7642 овцематок, за период с 1975 по 1983гг. В исследовании участвовали как чистопородные животные (Дорсет, Суффолк, Финская, Рамбулье, Тарги) так и кроссбредные овцематки. Среди прочих результатов по определению коэффициентов наследуемости различных признаков, наиболее показательными являются количество ягнят $h^2=0.1$ и средняя живая масса новорожденных ягнят $h^2=0.13$. В работе (Tera et al., 2021) на основании 15595 индивидуальных фенотипических записей о 1500 овцематок эфиопской местной породы бонга были рассчитаны коэффициенты наследуемости для следующих показателей – возраст первого окота, интервал между окотами и количество ягнят за один окот, составившие соответственно 0.015 ± 0.143 , 0.009 ± 0.070 и 0.085 ± 0.110 . Наследуемость такого показателя, как возраст полового созревания, низка и лежит в диапазоне $0.1-0.26$. (Petrović, 2007). Наследуемость уровня овуляции

варьирует в широких пределах, составляя 0.05 у мериносов в Австралии и 0.50 у представителей финской породы в Ирландии.

Более подробно коэффициенты наследуемости репродуктивных показателей рассчитаны для коров различных пород. Полученные результаты свидетельствуют о невозможности значительного улучшения исследуемых параметров на основании только лишь селекции по фенотипическим показателям. В работах (Lopez et al., 2019; Pantelić et al., 2011) были определены коэффициенты наследуемости для таких показателей как возраст первого отела, межотельный интервал, продолжительность беременности. Несмотря на то, что эти репродуктивные показатели выходят за рамки данного обзора, интересно, отметить, что коэффициенты их наследуемости лежат в очень узком диапазоне 0.01-0.16 и варьируют на протяжении нескольких последовательных отелов.

Подробный анализ генетических основ репродуктивных качеств овец разных пород дан в монографии Зиновьевой и др. (2014). Очень показательны в этом контексте ген *BMP15*, в котором обнаружено 8 полиморфизмов (по два у пород белклэр и ромни-марш; по одному у пород лакон, раса арагонеса, олькуска, кембриджской и гиветт), ассоциированных с плодовитостью и ген *GDF9* – для которого известно не менее 12 мутаций, влияющих на уровень овуляции у овец пород белклеър/кембриджская, исландская и санта инес и др. Ген рецептора к *BMP15* (*BMPIB*), получивший название гена бурула по наименованию одной из пород мериносов, у которых полиморфизм плодовитости был обнаружен впервые, был выявлен также у пород гароле, яванезской и кендрапада и др. (Abdoli, 2016; Chu et al., 2007; Hanrahan et al., 2004; Silva et al., 2011; Souza et al., 2001). Полиморфизмы плодовитости овец объединяются в так называемое Fec- семейство.

Ген *GDF9* также оказывает влияние на массу ягнят при рождении. В совместной работе с коллегами из ДонГАУ и ВИЖ по исследованию массы новорожденных ягнят волгоградской породы нами было установлено отсутствие у овцематок гомозиготного генотипа AA по одному из полиморфизмов гена *GDF9*, приводящему к замене G260A (Getmantseva et al., 2019). Желательным, как и при

исследовании плодовитости, оказался гетерозиготный генотип овцематки, дающий ее ягненку преимущество по массе 150-200 г, как в случае одиночного ягнения, так и в двойне. Носительниц гомозигот AA в исследованной выборке выявлено не было. Причинами этого может быть как отсутствие селекции на плодовитость у волгоградской породы, так и отрицательное влияние этого генотипа на репродуктивные показатели, показанное в других исследованиях.

В работе Hanrahan (2004) был проведен анализ секвенированных полных последовательностей генов *GDF9* и *BMP15*, для которых на тот момент было известно более 12 мутаций, влияющих на фертильность овец. Объектом исследования стали овцы пород белклэр и финский ландрас, хорошо известной своей плодовитостью и хорошими материнскими качествами, а потому часто используемой при межпородных скрещиваниях для улучшения этих показателей. В результате была выявлена новая мутация в гене *GDF9*, нехарактерная для других пород. Гомозиготные по этой мутации овцы породы белклэр имели существенно более высокие репродуктивные показатели.

В работе Ma (2019) с помощью метода GWAS были исследованы аборигенные овцы региона Синьцзян в Китае. Отличительной чертой этих животных является многоплодие; так нередки пометы, насчитывающие 2-4 ягненка. При этом необходимо отметить высокую выживаемость ягнят. В результате исследования было выявлено 17 генов-кандидатов, ассоциированных с такими репродуктивными показателями овец, как количество ягнят за одно ягнение и процесс овуляции.

Масштабная работа по исследованию воспроизводительных качеств овец 6 различных пород была проведена коллективом исследователей из 4 стран (Xu et al., 2018). Цель работы состояла в поиске генетических механизмов, лежащих в основе многоплодных беременностей у овец. В исследовании приняли участие 5 пород с высокой плодовитостью (wadi, hu, icelandic, finnsheep и романовская порода) и тексель – порода, отличающаяся более низкой плодовитостью по сравнению с вышеперечисленными, и рассматриваемая авторами исследования, как контроль.

Полногеномный поиск ассоциаций проводился с использованием чипа высокой плотности Ovine Infinium HD BeadChip, который позволяет анализировать около 600 тыс. полиморфизмов. Было обнаружено, что многоплодие у различных пород обусловлено принципиально разными метаболическими путями. Так, например, для животных пород вади (wadi) и ху (hu) определяющими оказались уровни секреции лютенизирующего и фолликулостимулирующего гормонов; у овец романовской породы многоплодие возможно благодаря преовуляторному созреванию фолликулов, а для овец породы тексель критическими являются уровень эстрогена и рост фолликулов.

Количество работ по исследованию генетических основ плодовитости российских пород овец крайне мало и, как правило, посвящено попыткам применения уже известных маркеров. Поиск полиморфизмов *BMPRII/FecB* и *GDF9/FecG* на популяции овец романовской породы оказался неудачным. Были выявлены аллели дикого типа, то есть высокая плодовитость породы не может быть объяснена этими известными маркерами (Малюченко и др., 2011). В работе, посвященной изучению двух полиморфизмов в гене *GDF9* на популяции сальской породы овец, были выявлены крайне низкие частоты генотипов AA, вызывающих различные нарушения репродуктивных показателей овец (Колосов и др., 2014).

В совместной работе с коллегами из ДонГАУ и ВИЖ нами были выявлены четырнадцать новых полиморфизмов, локализованных в интронах генов хромосом OAR1, 2, 4, 7, 15, 18 и 19, ассоциированных с многоплодием (двойневые ягнения) у овец волгоградской породы (Shevtsova et al., 2020).

1.4 Развитие овцеводства в России

В целом на 2019 год по данным ФАО численность овец в мире составляла 1209.5 млн голов. При этом в Африке и Азии за этот же период численность овец значительно выросла. Лидером по этому показателю является Китай, где рост поголовья за указанный период составил +52.85 млн голов.

Изучение мирового опыта овцеводства свидетельствует о перспективности ее перехода на получение, в основном, мясной продукции в условиях интенсификации сельского хозяйства. На сегодняшний день баранина более востребована, чем овечья шерсть, поэтому экономически более выгодно разводить мясные породы овец. Сектор мясного овцеводства в России еще не окончательно сформирован. Причиной этого является длительная история работы с тонкорунными породами для получения шерстной продукции и как следствие этого – специализированные мясные породы представлены не очень широко.

Обширная территория РФ отличается исключительным разнообразием природных и климатических зон, что сыграло свою роль в формировании множества пород сельскохозяйственных видов животных. О богатстве генетического разнообразия России можно судить по 438 породам 50 видов домашних животных, созданным на территории нашей страны.

Для ряда регионов России, преимущественно для степных зон Ростовской, Волгоградской и других областей, а также Северного Кавказа, имеющих обширные естественные пастбища, наиболее перспективным направлением животноводства является овцеводство. Сочетание климатических факторов и особенностей ландшафта с грамотным ведением хозяйства могут служить прочной основой успешности развития именно этой отрасли сельского хозяйства. Поэтому основными поставщиками продукции овцеводства в РФ на сегодняшний день являются Северо-Кавказский и Южный Федеральные округа.

Однако овцеводство в России, развивалось нестабильно. На протяжении временного отрезка с начала 19 в. до сегодняшнего дня численность поголовья колебалась в очень широких пределах. В монографии Селионовой (2017) приводятся следующие значения: на начало 19 в. поголовье овец в России насчитывало 100 млн, к середине века оно уменьшилась вдвое, в начале 20 века размер поголовья снова вырос до 90 млн, тенденция эта сохранялась до конца 20 в, что позволило СССР стать крупнейшей мировой овцеводческой державой с поголовьем, насчитывавшим 140 млн животных. Однако, к началу 21 века

очередной спад привел к уменьшению численности до 12 млн, с 1990 по 2019 поголовье овец сократилось на 34.59 млн голов (Юлдашбаев, 2020).

По данным ежегодника по племенной работе в овцеводстве и козоводстве общая численность овец в хозяйствах РФ на конец 2020 года составляла 19 млн.777.7 тыс. голов, при общем количестве маток и ярок старше года – 13 млн.632.3 тыс. голов (Ежегодник по племенной работе..., 2021). Численность поголовья в течение этого года снизилась: общая – на 4.2 %, маток – на 5.4 %. Если же провести сравнение общего количества животных с таковым в 2000 году, то выявится четкая тенденция увеличения общей численности в 1.6 раза и маточного поголовья в 1.7 раза. При этом самые высокие темпы роста численности наблюдались в Южном федеральном (рост общей численности в 2.6 раза, маточного поголовья – в 3.1 раза) и Северо-Кавказском федеральном округах (рост общей численности в 1.9 раза, маточного поголовья – в 2.6 раза).

Сегодня в РФ разводят 46 пород овец, численность и процентное соотношение которых на 2020 год были следующими: тонкорунные – 15 пород (численность 1 млн. 664.22 тыс. голов или 53.6 % от общего поголовья), полутонкорунные – 14 пород (155.7 тыс. голов или 5.0 %), полугрубошерстные – 2 породы (45.0 тыс. голов или 1.4 %) и грубошерстные – 15 пород (1 млн. 64.5 тыс. голов или 34.3 %). В период с 2000 по 2020 гг. численность тонкорунных овец снизилась на 26.9 %, полутонкорунных в 2.6 раза и, наоборот, численность грубошерстных пород увеличилась в 6.4 раза.

Исторически сложилась ситуация, при которой значительная доля овец в РФ представлена тонкорунными породами. Они были созданы на основе местных пород с прилитием кровей тонкорунных овец, интродуцированных из Европы. Однако тонкорунные породы овец в РФ относятся к смешанному типу хозяйственного использования. По ряду признаков, таких как происхождение, экологические условия зоны разведения, степень выраженности шерстной и мясной продуктивности тонкорунные породы разделяются на три основных

направления хозяйственного использования – шерстно-мясное, шерстное и мясошерстное.

Среди тонкорунных пород одной из самых многочисленных является волгоградская (111.9 тыс. гол.). В этом направлении хозяйственного использования по численности ее опережают только дагестанская горная (909.4 тыс.гол.), грозненская (272.4 тыс.гол.) и советский меринос (126.9 тыс. гол.). Численность полутонкорунной южной мясной близка к критической – 557 голов на 2020 год.

В ежегоднике по племенной работе в овцеводстве и козоводстве количественные показатели производства мяса МРС просуммированы для баранины и козлятины, а потому выделить количественно баранину не представляется возможным. В 2020 году этот показатель значительно снизился в сравнении с 2019 г. (на 45.6 %), практически сравнявшись с показателями 1990 года (-0.9 %). Тот же показатель для Северо-Кавказского федерального округа в 2020 году составил 63.1 тыс. тонн (29.4 % от общего количества), а для Южного федерального – 67.8тыс. тонн (31.6 %) (2021).

К наиболее острым вопросам развития овцеводства относится улучшение репродуктивных показателей животных-производителей. В 2020 году выход ягнят на 100 маток в среднем по РФ по всем породам составил 74 гол. По сравнению с 2019 годом этот показатель уменьшился на 2 гол., с 1990 – на 8 гол.

Негативный тренд – снижение общей численности племенного поголовья по сравнению с 2000 годом на 8.1 %, при этом численность тонкорунных пород снизилась на 39.9 %, количество племенных полутонкорунных овец уменьшилось в 2.8 раза., что в свою очередь привело к двукратному сокращению валового объема производства баранины за этот период. Переориентирование овцеводства на специализированные комплексы, с узкой специализацией на производство баранины вызвало снижение шерстной продуктивности, с одновременным повышением суточных приростов.

В последние годы тенденция сохранения малочисленных местных пород появилась и в РФ. Однако до сих пор не выстроена единая стратегия, описывающая

этапы и пути достижения цели сохранения биоразнообразия отечественных пород. Важно сохранить племенные стада всех направлений продуктивности, являющиеся частью нашего культурного достояния и фундаментом успешного развития животноводства в будущем и восстановления отрасли овцеводства, в частности. Необходимым условием сохранения породного разнообразия является подробное изучение генетических особенностей российских пород и оперативная оценка продуктивных и репродуктивных показателей племенных животных, уже зарекомендовавших себя и достаточно многочисленных (волгоградская порода). Особого внимания заслуживают при этом малочисленные районированные, дающие максимальный выход продукции в своем регионе породы, такие как южная мясная (Куликова, 2021), генофонд которой необходимо сохранить и рационального использовать.

Этими причинами объясняется выбор южной мясной и волгоградской пород для исследования.

Южная мясная относится к полутонкорунным породам мясного направления продуктивности (Рисунок 1, 2). Создавалась в период с 1994 по 2009 гг. Авторы породы: А.Н. Ульянов, А.Я. Куликова, С.Н. Баша и др. “Порода создана методом воспроизводительного скрещивания баранов породы тексель и маток отечественных полутонкорунных пород (породы в типе корридель: северокавказская мясошерстная, советская мясошерстная, тип кубанский породы линкольн) и восточно-фризской молочной. Полукровные помеси желательного типа скрещивались "в себе" (между собой). Маток, не удовлетворявших требованиям желательного типа, далее скрещивали с баранами породы тексель” (Гос. реестр селекционных достижений ... Том 2, 2020).

Животные крупные, бараны достигают живой массы 85–105 кг и более. Бараны и матки комолые. Для породы характерна высокая скороспелость, живая масса ягнят в возрасте 4 месяцев составляет 26–30 кг и более. Плодовитость маток составляет 140–145 %. Овцы породы южная мясная сочетают высокую мясную и

шерстную продуктивность с хорошей приспособленностью климатическим условиям места их выведения.

Овцы южной мясной породы могут быть также использованы в коммерческом овцеводстве с целью получения мясной продукции высокого качества путем скрещивания с представителями других пород. (Ерохин, 2014).



Рисунок 1 – Баран южной мясной породы.



Рисунок 2 – Овцематки южной мясной породы.

Волгоградская тонкорунная порода овец была создана в 1932-1978 гг (Рисунок 3). Основу составляли грубошерстные курдючные матки, которых скрещивали с баранами пород новокавказская и прекос. Полученные помеси скрещивали с представителями кавказской и грозненской пород и на следующем этапе разводили “в себе”. Целью авторов породы было создание овец мясошерстного направления продуктивности с высокими молочными качествами.

Животные крупные, пропорционально сложенные, матки и большинство баранов комолые. Для представителей породы характерна высокая живая масса – бараны достигают 110-125 кг, матки 57-66 кг. Плодовитость маток составляет 130-160 % при молочности 95-105кг. Ягнята отличаются высокой скороспелостью, достигая живой массы 30-35 кг при отъеме от матки (Ерохин, 2014).

Лучшее племенное поголовье волгоградской породы представлено в племзаводах «Ромашковский» и «Палласовский» Волгоградской области.



Рисунок 3 – Баран волгоградской породы.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Материалы исследований

Объектом исследования являлись овцы двух пород отечественной селекции – волгоградской и южной мясной. Для исследования в племенном заводе СПК ПЗ «Ромашковский», с. Ромашки, Волгоградской области были отобраны матки (элита и 1 класс), типичные для волгоградской породы ($n=127$). По южной мясной породе исследования выполнены в генофондном хозяйстве ФГУП «Рассвет – Кубань» (КНЦЗВ), расположенном в п. Знаменский, Краснодарского края. Были отобраны матки класса элита, типичные для южной мясной породы ($n=73$).

Контрольные измерения живой массы овцематок южной мясной породы проводились в ходе дополнительной бонитировки с точностью до 1 кг в возрасте 24 месяца и старше (ГОСТ 25955–83). Контрольные измерения живой массы овец волгоградской породы проводились с точностью до 1 кг в возрасте 12 месяцев. Были собраны данные о типе ягнения (количество ягнят в помете) с первого по четвертое ягнение для волгоградской породы и с первого по пятое ягнение для южной мясной. Для изучения наследования селекционно-значимых признаков использовались индивидуальные номера родителей овцематок.

Для последующего генотипирования были получены ушные выщипы животных. Хранение биологических образцов осуществлялось в индивидуальных стерильных эппендорфах, снабженных этикетками с информацией о происхождении образца, при температуре -20°C .

Предметом исследования были данные о живой массе овец и репродуктивные показатели маток, а также полиморфизмы в геноме изучаемых пород овец, определенные на основании исследования SNP-маркеров с помощью чипов средней плотности.

2.2 Методы исследований

2.2.1 Измерение фенотипических показателей овец и их статистическая обработка

Первый этап исследований включал в себя сбор и систематизацию данных о живой массе овцематок, которые были получены в ходе бонитировки на племенных заводах и в генофондных хозяйствах, где содержались животные (Приказ Министерства сельского хозяйства РФ N860 от 21.12.2021, ГОСТ 25955–83), и типе их ягнения за период исследований 4-5 лет.

Были проанализированы продуктивные показатели овцематок – репродуктивные особенности, живая масса, материнские качества (живая масса при рождении и отъеме, а также выживаемость их ягнят).

Живая масса животных относится к ростовым показателям сельскохозяйственных животных и, как правило, изучается в динамике. Показатель основан на фиксации живой массы животных в определенные периоды времени, обычно в определенный период жизни (например, живая масса при отъеме). Ниже приведены характеристики измерений, которые учитывались при выполнении данной работы.

Живая масса при рождении – в кг, в идеальном случае при рождении, до начала кормления (для ягнят волгоградской и южной мясной пород).

Живая масса при отъеме – измеряется в кг, между 66 и 120 днями, сразу после отъема ягненка от матки (для ягнят южной мясной породы). Показатель используется для характеристики материнских показателей матки.

Живая масса в возрасте 9 месяцев – в кг.

Живая масса взрослого животного – взрослые животные взвешиваются ежегодно перед осеменением, кг.

Для изучения наследования плодовитости и живой массы были сопоставлены данные по овцам волгоградской и южной мясной пород на основании их

происхождения. Были построены диаграммы распределения плодовитости и живой массы овцематок для каждого из производителей, наиболее часто использовавшихся в разведении. Рассчитана корреляция между живой массой и плодовитостью, как для всей популяции (отдельно для волгоградской и южной мясной пород), так и для дочерей лучших производителей.

Для изучения показателей фертильности овцематок южной мясной породы репродуктивные показатели всех маток вне зависимости от года их рождения рассматривались по годам – от первого ягнения до пятого. Каждое было проанализировано по следующим показателям: 1) тип ягнения – одинцовый, двойня, тройня; 2) средняя живая масса ягнят при отъеме вне зависимости от пола, а также масса ярочек (♀) и баранчиков (♂) при отъеме отдельно. Мертворожденные и ягнята, не дожившие до отъема, в данном анализе не учитывались. Рассчитан процент многоплодных ягнений, как отношение случаев определенного типа ягнения к общему числу маток, осемененных в рассматриваемый год. Посчитан ежегодный процент ягнят с живой массой при отъеме, в соответствии с минимальными требованиями к Порядку и условиям проведения бонитировки племенных овец тонкорунных, полутонкорунных пород и пород мясного направления продуктивности для классов I и элита (ярки ≥ 24 кг, баранчики ≥ 28 кг), как отношение суммы ягнят классов I и элита к общему количеству ягнят за год (Приказ Министерства сельского хозяйства №335 от 05.10.2010).

Затем для отбора лучших производительниц рассматривались индивидуальные показатели каждой из маток по двум параметрам – абсолютное количество ягнят от каждой матки за 5 лет, в том числе, мертворожденные и недожившие до отъема и живая масса ярочек и баранчиков при отъеме.

Статистическая обработка данных зоотехнического учета, расчет корреляции и построение диаграмм проводились с помощью программных пакетов MathCAD 14 и MATLAB R2021.

Для оценки плодовитости и живой массы исследуемых овцематок были построены столбчатые диаграммы распределения исследуемых параметров.

2.2.2 Отбор образцов для генотипирования, выделение ДНК

На следующем этапе были отобраны по 48 образцов от представителей каждой из пород для генотипирования. Критериями отбора были – исключение сибсов из исследования, полнота данных о типе ягнения не менее, чем за 4 года для волгоградской породы и не менее 5 лет для южной мясной.

Выделение ДНК проводилось на колонках «К-СОРБ-50» (Синтол) в соответствии с инструкцией производителя.

Качественная и количественная характеристика выделенных препаратов ДНК проводилась путем измерения концентрации двухцепочечной ДНК (дцДНК) с помощью флуориметра Qubit™ (Invitrogen, Life Technologies, Waltham, MA, USA, www.invitrogen.com/qubit) и определением отношения степени поглощения света с длиной волны 260 и 280 нм (OD260/280) на приборе NanoDrop 1000 (Thermo Fisher Scientific Inc., Массачусетс, США).

2.2.3 Полногеномное генотипирование овец на чипах средней плотности (Illumina, США)

Генотипирование и предварительная обработка, включающая анализ кластеров и рекластеризацию аллелей, была выполнена в Центре геномной селекции АПХ Мираторг на оборудовании компании Illumina на чипах средней плотности OvineSNP50 Genotyping BeadChip (GeneSeek / Illumina Inc., США), включающих свыше 50 тыс. SNPs, и специализированном программном обеспечении GenomeStudio разработки компании Illumina, поставляемом вместе с оборудованием. Результаты генотипирования были представлены для последующего исследования в виде FinalReport, в формате .txt, содержащем информацию о качестве генотипирования каждого из 53516 локусов для южной мясной породы и 51135 для волгоградской породы.

2.2.4 Фильтрация данных, полученных в ходе генотипирования

Фильтрация SNPs для последующего поиска значимых ДНК-полиморфизмов была проведена по методике, рекомендуемой рядом авторов (Marees et al., 2018; FAO 2021. Draft., 2021), проведена фильтрация результатов генотипирования с использованием общедоступных программных продуктов Rstudio2023.03.0 (<https://posit.co/download/rstudio-desktop/>) и plink1.9 (Purcell et al., 2007).

Здесь важно подчеркнуть, что обе выборки были отфильтрованы независимо друг от друга и последующие расчеты индексов генетической дифференциации проводились также отдельно для каждой из пород.

На первом этапе фильтрации удалены полиморфизмы, которые отсутствуют у значительной части исследованных образцов. По умолчанию в plink отфильтровываются SNPs, которые неудачно генотипированы более, чем в 10% образцов. Такие ошибки могут быть вызваны, например, конструкцией конкретного зонда.

Затем проводится фильтрация образцов. Если в образце значительная часть полиморфизмов не прошла генотипирование, он отсеивается, как неинформативный. Причиной, как правило, является низкое качество ДНК образца (деградировавшая или контаминированная). Фильтрацию прошли образцы с показателем количества обнаруженных SNPs (Call Rate) более 0,95.

Для последующего анализа были оставлены только полиморфизмы, локализованные на аутосомах (с 1 по 26), полиморфизмы X хромосомы и митохондриальной ДНК были удалены фильтрацией. Т.к. были генотипированы только овцематки, не было необходимости исключать полиморфизмы Y-хромосомы.

Следующий шаг фильтрации – задание границ частоты минорного аллеля (MAF – minor allele frequency). MAF (частота минорного аллеля) для двуаллельного SNP — это частота более редкого аллеля в данном локусе, следовательно, MAF должен быть <0.5 . SNPs с MAF значительно меньше 0.5 (несколько знаков после запятой) могут представлять как истинные низкочастотные варианты, так и быть

результатом ошибок генотипирования. По этой причине для популяционных исследований сохраняют SNPs с $MAF \geq 0.05$. В то же время SNPs с низким MAF не могут быть использованы для выявления ассоциаций полиморфизм-фенотип по причине редкой встречаемости. Обычно в качестве порогового значения MAF используются значения 0.01 и 0.05. В данной работе значение MAF было выбрано 0.05.

Далее были удалены маркеры, отклоняющиеся от равновесия Харди-Вайнберга (HWE). Значительное отклонение от HWE для отдельных SNPs может быть вызвано наличием рецессивных летальных мутаций, отбора, неслучайного скрещивания, инбридинга и ошибок генотипирования. При работе с крупными популяциями или для проведения GWAS такие отклонения рассматриваются как ошибки генотипирования и соответствующие SNPs элиминируются из анализа. Соответствие равновесию Харди-Вайнберга может быть проверено так называемым прямым тестом, который оценивает p -значение достоверности отклонения от HWE и достаточно устойчив к отклонениям от теоретических допущений. В случае поиска ассоциаций с бинарными признаками, обычно используются пороговые значения $p < 10^{-10}$). При оценке количественных признаков используются пороговые значения 10^{-6} . В представленной работе было выбрано значение $p < 10^{-6}$.

Расчет гетерозиготности (ожидаемой и наблюдаемой) позволяет исключить из выборки особей с высоким уровнем инбридинга. В данной работе таких особей выявлено не было.

Заключительным этапом фильтрации было удаление полиморфизмов, находящихся в неравновесии по сцеплению. Неравновесие по сцеплению (LD) – это показатель неслучайной ассоциации между аллелями в разных локусах одной и той же хромосомы в данной популяции. SNPs находятся в LD, когда частота ассоциации их аллелей выше, чем ожидалось при случайном подборе. Поиск полиморфизмов, находящихся в неравновесии по сцеплению проведен со следующими параметрами indep-pairwise 50_5_0.8, где 50 Мегабаз – ширина окна

поиска в нуклеотидах, 5 Мегабаз (10% от ширины окна) – шаг сдвига окна в нуклеотидах (variants) и 0.8 – коэффициент корреляции между локусами. На каждом шаге удаляется по одному из каждой пары SNP, у которых LD превышает заданный порог. Эта процедура удаляет избыточные SNP, выбирая только те, которые являются репрезентативными. Применение более консервативных пороговых значений LD позволяет удалить наиболее сильно коррелированные локусы при сохранении умеренно коррелированных SNPs.

2.2.5 Расчет индекса генетической дифференциации F_{ST}

Поиск значимых полиморфизмов был проведен с помощью метода расчета F_{ST} . Принцип метода состоит в попарном сравнении частот аллелей каждого локуса в двух исследуемых выборках.

F_{ST} - это доля общей генетической дисперсии в субпопуляции или группе (индекс s), по отношению к общей генетической дисперсии всей популяции (индекс t). Значения могут варьировать от 0 до 1. Высокий уровень F_{ST} подразумевает значительную степень дифференциации между популяциями. То есть, близкая к 0 величина F_{ST} говорит о сходстве частот аллелей в двух популяциях, а чем она ближе к 1, тем более различны генетически сравниваемые популяции. Индекс фиксации F_{ST} является одним из индексов F -статистики Райта (Weir B. S., 2002), разработанной для изучения эволюционных процессов и изменения генетической структуры популяций, их генетической дифференциации. Расчет F_{ST} позволяет идентифицировать области генома, находящиеся под давлением отбора (Holsinger, Weir, 2009).

Описательная статистика Райта часто используется в популяционной и эволюционной генетике, а расчет F_{ST} важен при исследовании ассоциаций генетических вариантов с различными признаками или болезнями и в криминалистике. Преимущество метода F_{ST} по сравнению с методом GWAS

состоит в возможности поиска связи “фенотип/полиморфизм” даже при работе с малыми выборками (Toghiani et al., 2016).

При работе с данными генотипирования даже на чипе средней плотности, такие расчеты вручную затруднены, а потому проводились программными средствами plink1.9.

Согласно Алтухову (2003) метод расчета F_{ST} может применяться с рядом ограничений:

- 1) Число анализируемых локусов должно быть достаточно велико – в случае генотипирования на чипе Illumina средней плотности, количество анализируемых локусов составляет около 50.000 SNPs.
- 2) Частота более редкого аллеля в исследуемом локусе не должна быть меньше 5%, что в нашем случае обеспечивается фильтрацией по частоте минорного аллеля (MAF).
- 3) Распределение F_{ST} исследуемых локусов необходимо подвергать логарифмической трансформации – это требование обеспечивается встроенными операторами *ggplot2* в Rstudio.

Таким образом, расчет F_{ST} в работе проводился путем выделения в генотипированной популяции двух групп с минимальными (контрольная группа) и максимальными (опытная группа) значениями показателя живой массы и сравнения частот аллелей всех ДНК-полиморфизмов, прошедших фильтрацию.

Овцематки южной мясной породы были ранжированы по признаку живой массы и отобраны крайние варианты (максимальные и минимальные) для расчета индексов генетической дифференциации (на основании сравнения 45179 полиморфизмов): контрольная группа включала животных с живой массой 55-59 кг (7 голов), опытная была представлена овцематками с живой массой, превышающей 80 кг (9 голов). В ходе фильтрации одна из овцематок, отнесенная по живой массе к контрольной группе (55-59 кг), была отсеяна по причине низкого уровня генотипирования по большинству SNPs, что привело к сокращению группы до 6 голов.

Овцы волгоградской породы были ранжированы по живой массе (на основании сравнения 37245 полиморфизмов). Для расчета индекса генетической дифференциации из выборки были отсеяны животные с промежуточными значениями исследуемого показателя, животные с крайними значениями живой массы: контрольная группа была представлена овцами с живой массой менее 37 кг (6 голов), опытную составили животные с массой 45 кг и выше (8 голов). При этом различия в живой массе между представителями двух групп составили 8-15 кг.

Методом расчета индексов генетической дифференциации (F_{ST}) сравнили ДНК-полиморфизмы овец из двух групп. Значимыми полиморфизмами считали те, у которых значения F_{ST} превысили уровень квантиля 0.999 (0.1% выбросов). Расчет F_{ST} проводился с помощью программного пакета plink1.9.

Манхэттен-графики распределения по аутосомам значимых ДНК-полиморфизмов были построены с помощью пакета ggplot2 в Rstudio. Горизонтальная граница (genomewideline), отсекает значимые полиморфизмы, преодолевшие $F_{ST}=0.55$ (Meszaros, 2021; Pallerla, 2022).

Полученный в ходе расчета в plink1.9 и фильтрации в Rstudio список ДНК-полиморфизмов, связанных с показателем живой массы, использовался для аннотирования с помощью онлайн базы данных Ensembl.

2.2.6 Определение локализации значимых генетических вариантов

Полученный в ходе расчета индекса генетической дифференциации список ДНК-полиморфизмов, ассоциированных с показателем живой массы, был аннотирован с помощью инструмента VEP (variant effect predictor), встроенного в онлайн базу данных Ensembl. Версия сборки генома овцы (*Ovis aries*) Oar_rambouillet_v1.0. По умолчанию VEP (variant effect predictor) позволяет находить гены, связанные с интересующим исследователя ДНК-полиморфизмом в диапазоне ± 5 т.п.н. (тысяч пар нуклеотидов) от его локализации, в таблицах 1, 2 приложения эти ДНК-полиморфизмы выделены жирным шрифтом (диапазон

поиска 5 т.п.н.). Если же ДНК-полиморфизм не обнаруживался в заданном по умолчанию регионе, диапазон расширялся вручную. Поиск ограничивался ± 1000 т.п.н.

2.2.7 Оценка влияния локализованных ДНК-полиморфизмов на живую массу овец

Для анализа влияния ДНК-полиморфизма на показатель живой массы были отобраны те полиморфизмы, у которых значение F_{ST} превысило 0.55 (Meszaros, 2021; Pallerla, 2022) и которые оказались локализованы в пределах известных ранее генов для последующего функционального аннотирования. Генетические варианты рассматривали полиморфными при частоте минорного генотипа >0.5 . По трем генотипам каждого из отобранных для последующего анализа гена-кандидата рассчитаны средняя живая масса и стандартное отклонение, а также определена достоверность различий между средними (p) путем попарного сравнения масс у представителей разных генотипов. Для каждого из рассматриваемых ДНК-полиморфизмов была построена блочная диаграмма распределения живой массы по трем генотипам. Желательным считался генотип, носители которого демонстрируют большую среднюю живую массу.

2.2.8 Функциональное аннотирование генов-кандидатов живой массы овец

Функциональное аннотирование генов-кандидатов массы тела и построение белок-белковых взаимодействий продуктов генов-кандидатов было выполнено в онлайн-базах открытого доступа KEGG, Panther db и STRING.

2.2.9 Оценка влияния локализованных ДНК-маркеров живой массы овец на их плодовитость

Для овец южной мясной породы были рассмотрены данные за 5 последовательных ягнений и сопоставлены с известными генотипами генов-кандидатов. Овца, исключенная из анализа результатов генотипирования в ходе фильтрации, на данном этапе не рассматривалась. Овцематки были ранжированы по количеству двоен за 5 лет хозяйственного использования. Высоким показателем плодовитости считались 3-4 случая двоен за означенный период (опытная группа), случаи троен при этом не рассматривались, т.к. у 47 генотипированных овцематок за пять последовательных ягнений было всего 5 случаев троен, три из которых наблюдались в менее плодovитой (контрольной) группе. В опытную группу овцематок попали 16 животных, среди них было две с четырьмя двойнями, соответственно, контрольная группа, с преимущественно одинаковыми ягнениями, в количестве 31 головы превысила опытную в два раза, т.е. численное соотношение овцематок в группах *опыт: контроль* составило 1:2.

Данные по ягнениям волгоградских овец за 4 года были сопоставлены с генотипами генов-кандидатов живой массы. Высокоплодовитыми (опытная группа) считались при этом животные, имевшие за этот период не менее двух двоен (12 овцематок), контрольная группа (менее плодovитая) включала в себя 36 животных, т.е. численное соотношение овцематок в группах *опыт: контроль* составило 1:3. Единственный случай тройневого ягнения в анализе не рассматривался. Достоверность результатов оценивалась с помощью критерия Хи-квадрат.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

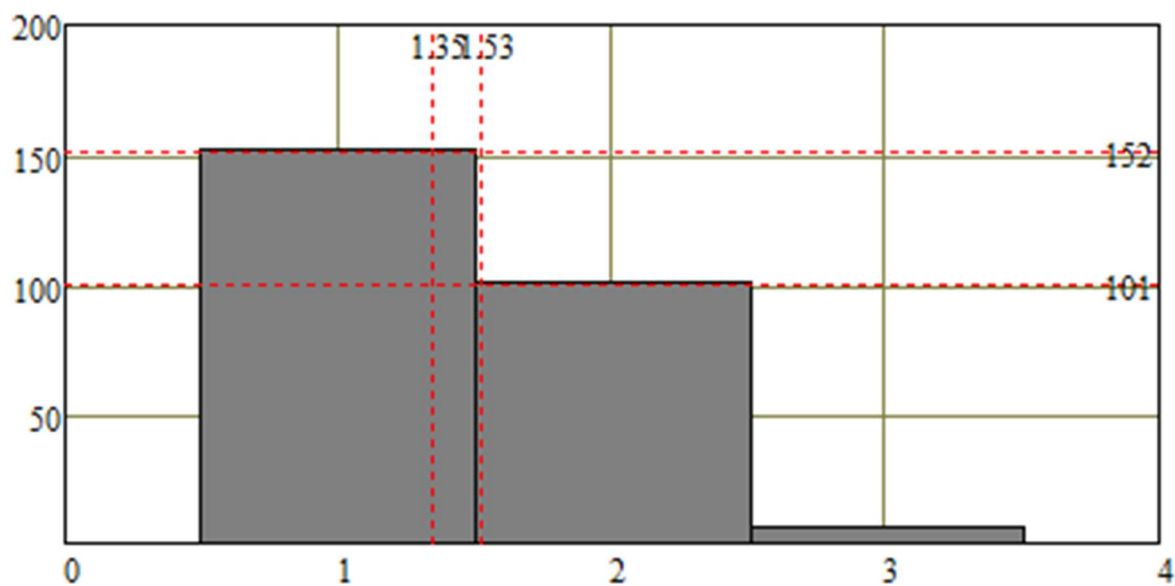
3.1 Анализ плодовитости и живой массы овец южной мясной и волгоградской пород

Для оценки плодовитости и живой массы исследуемых овцематок были построены столбчатые диаграммы распределения исследуемых параметров. На рисунке 4 в виде столбчатой диаграммы представлено количество тройневых, двойневых и одинцовых ягнений по всей выборке за весь период наблюдений.

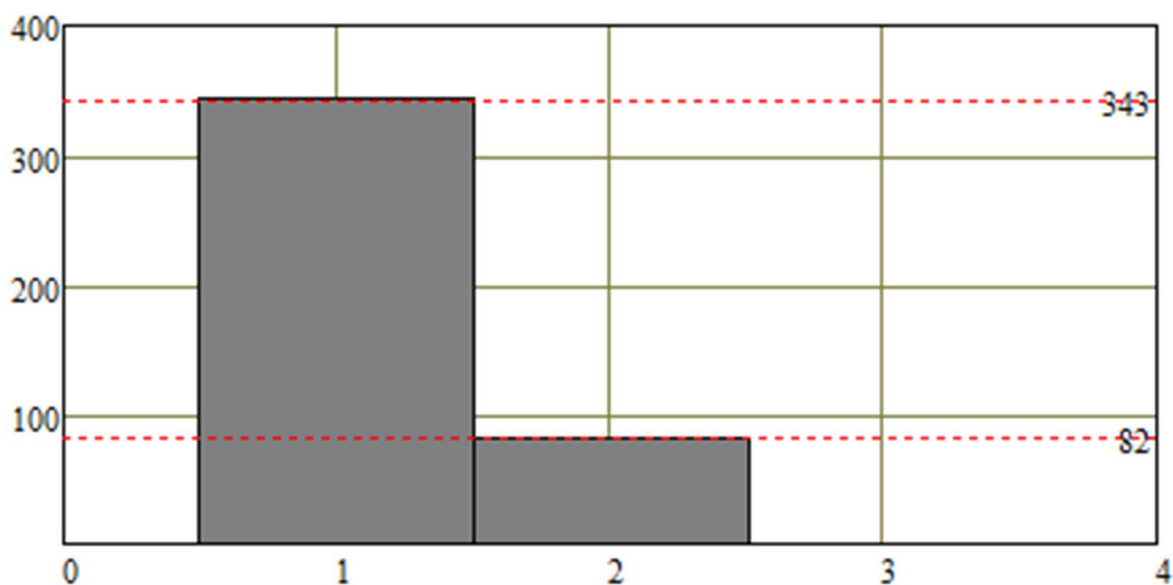
Как видно из диаграммы 4а, у представителей южной мясной породы количество двоен составило 101 (39 %), одинцов – 152 (58.7 %), число троен – 6 (2.3 %). Для волгоградской породы (4б) количество двоен составило 82 (19.25 %), одинцов – 343 (80.5 %), число троен – 1 (0.25 %). Т.е. отношение многоплодных ягнений к одинцовым у овцематок южной мясной породы значительно выше такового у маток волгоградской породы (Шевцова и др., 2022).

Из диаграмм рисунка 5 видно, что у овцематок южной мясной породы живая масса варьирует в пределах 55-90 кг, однако наибольшее количество животных имеет массу около 70 кг, среднее значение живой массы – 68.37 кг. Среднее значение живой массы маток волгоградской породы 40.18 кг, живая масса варьирует в пределах 32-50 кг.

Интересно отметить положительную корреляцию между живой массой и плодовитостью овцематок (Рисунок 6). Коэффициент корреляции для овец южной мясной породы составил - 0.63, волгоградской породы - 0.148 (доверительная вероятность $P=0.95$).



а)



б)

Рисунок 4 – Распределение двойневых, одинаковых и тройневых ягнений: а) южная мясная порода, б) волгоградская порода.

По оси абсцисс – количество ягнят за одно ягнение (1, 2 или 3), по оси ординат – общее количество проанализированных ягнений

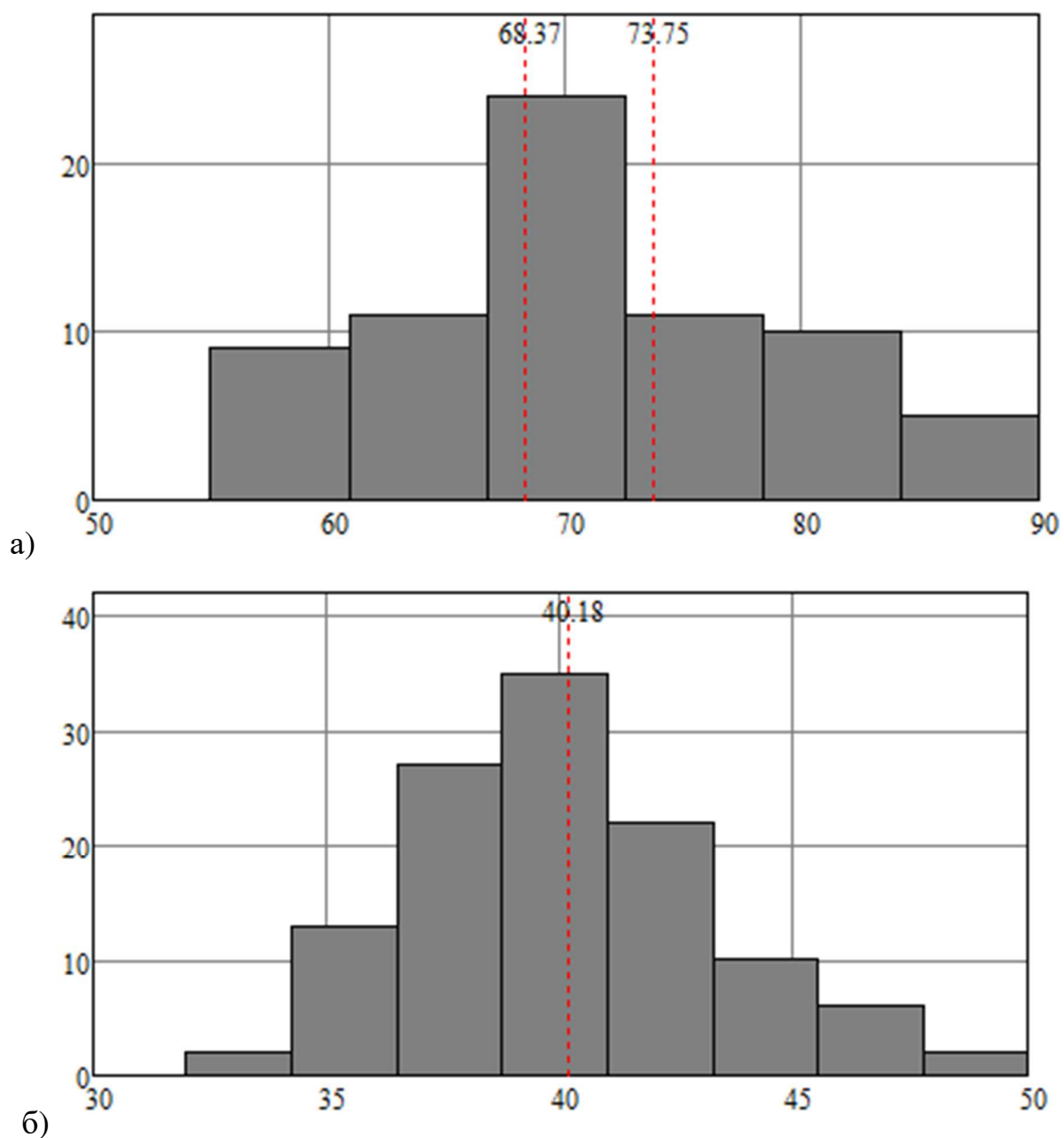


Рисунок 5 – Распределение овцематок по живой массе: а) южная мясная порода, б) волгоградская порода.

По оси абсцисс – живая масса овцематки, по оси ординат – количество овец

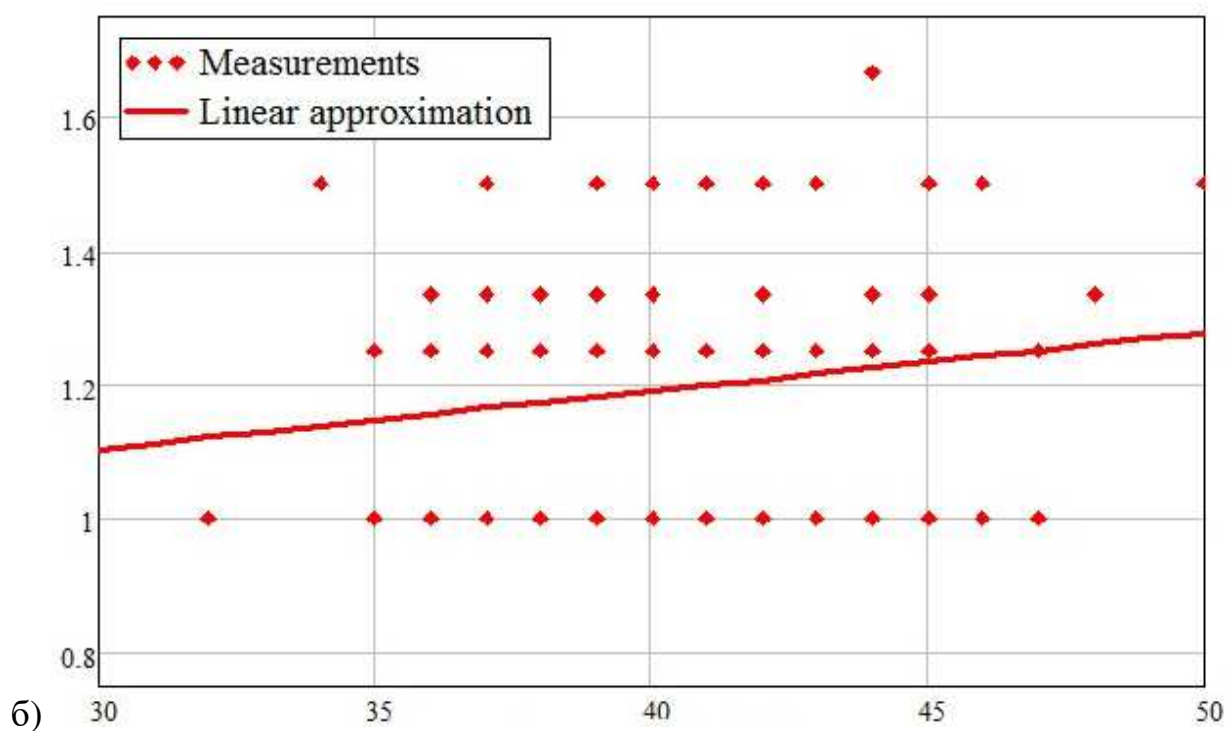
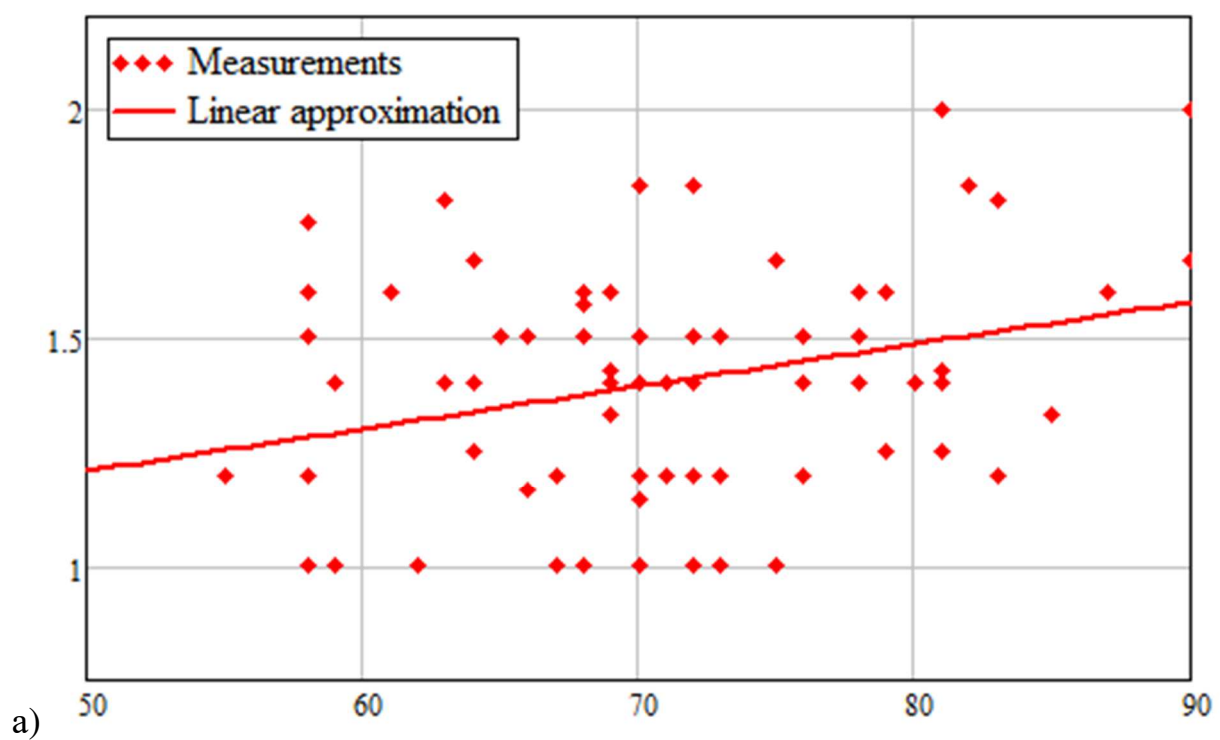


Рисунок 6 – Корреляция между живой массой и средней плодовитостью за исследуемый период по всей популяции: а) южная мясная порода, б) волгоградская.

По оси абсцисс – живая масса овцематок, кг; по оси ординат – среднее количество ягнят за ягнение

Далее для изучения особенностей наследования плодовитости и живой массы в двух породах был проведен анализ по потомству баранов-производителей - отцов изучаемых овцематок.

Для южной мясной породы оценивались бараны, у которых было более 11 дочерей в рассматриваемой выборке. Учитывались плодовитость дочерей (количество ягнят за весь рассматриваемый период) и их живая масса. Всего было отобрано 8 баранов, имеющих от 12 (баран №2721) до 43 (баран №932) дочерей. Из графика видно (Рисунок 7а), что потомство баранов №2113 и №3227 южной мясной породы превосходит не только потомство отобранных производителей, но и находится на верхней границе доверительного интервала, т.е. их дочери способны в большей степени наращивать живую массу при прочих равных условиях. Потомки производителей под номерами 932, 2303 и 2649 находятся в пределах или на границе доверительного интервала, тогда как дочери производителей №2681, 3215 и 2721 имеют более низкие, по сравнению с популяционными, показатели живой массы. Важно отметить, что бараны №932, 2303 и 2649, имеющие самое многочисленное потомство (43, 31 и 25 дочерей, соответственно), демонстрируют стабильную передачу дочерям исследуемого показателя.

При анализе происхождения овцематок волгоградской породы было выявлено 9 баранов, наиболее часто использовавшихся в разведении. Сравнивались бараны, у которых было от 18 (баран №80163) до 34 (баран №1493) дочерей. Продуктивные показатели их дочерей были сопоставлены с таковыми для всей исследованной выборки. На рисунке 7б представлено распределение дочерей основных производителей по живой массе. Потомки производителей №№1493, 90742, 90886, 90956 и 90972 превосходят по исследуемому показателю не только потомков остальных рассматриваемых производителей, но и всю выборку в целом. При этом бараны 90886 и 90956 могут быть выбраны, как более перспективные производители, т.к. имеют самое многочисленное потомство, демонстрирующее стабильное наследование высоких показателей исследуемого признака.

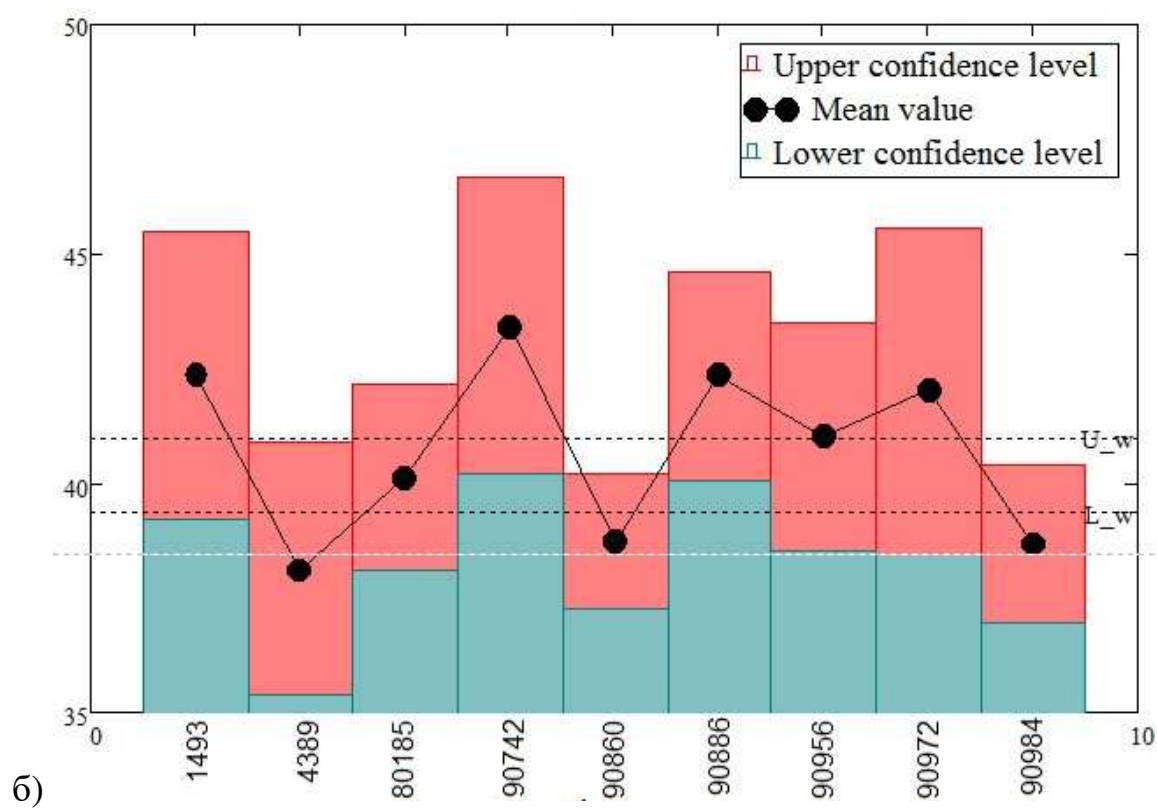
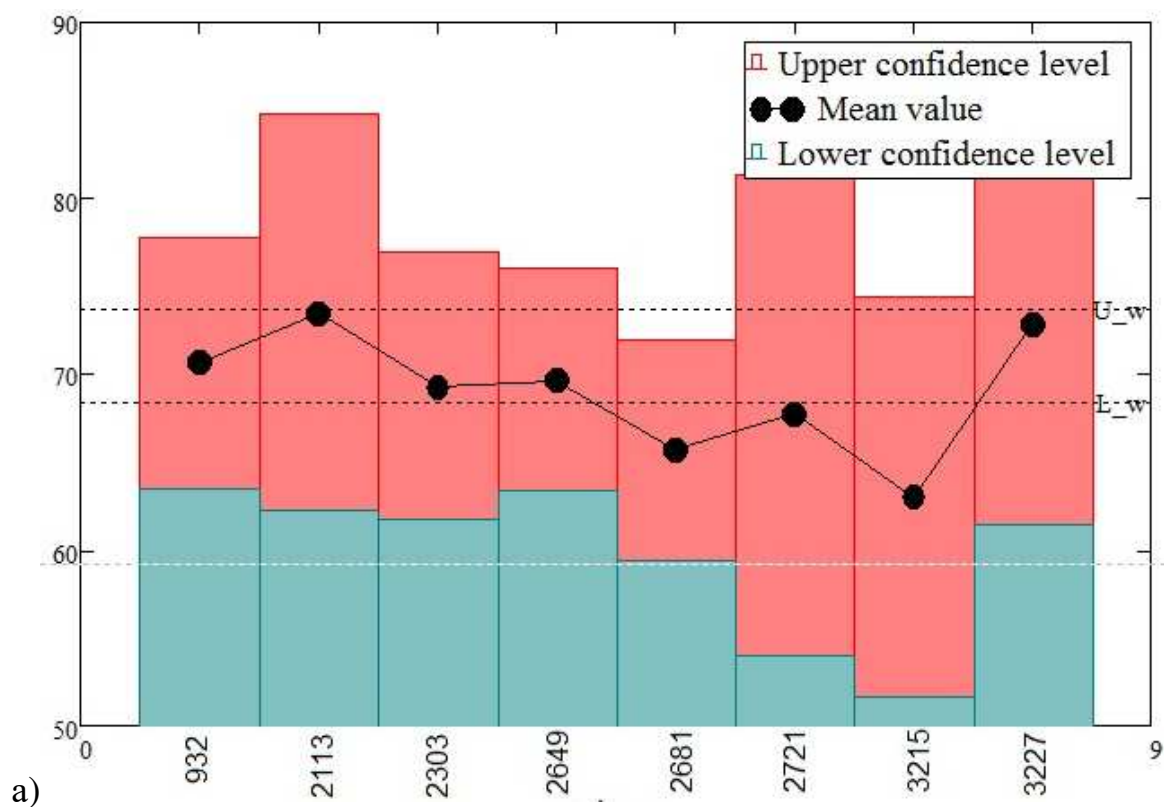


Рисунок 7 – Распределение по живой массе дочерей баранов-производителей а) южной мясной породы и б) волгоградской.

По оси абсцисс – номера баранов-производителей, по оси ординат – живая масса их дочерей, кг

Важно отметить, что овцематки южной мясной породы - дочери баранов №2113 и 3227 демонстрируют также высокую плодовитость, находящуюся на верхней границе доверительного интервала (Рисунок 8а). На рисунке 8 красный столбик соответствует доверительному интервалу для плодовитости дочерей каждого из производителей с вероятностью 99 %. Точками показаны средние значения плодовитости дочерей каждого производителя. Дочери баранов №932, 2303, 2649 демонстрируют хорошие показатели плодовитости, лежащие в пределах границ доверительных интервалов. Дочери производителя № 2681 имеют самую высокую плодовитость по результатам анализа диаграммы. В то же время они не имеют высоких показателей живой массы. Что, скорее всего, является исключением, т.к. наблюдается положительная корреляция между живой массой овцематки и ее плодовитостью, как среди потомков рассматриваемых производителей (Рисунок 9), так и по всей популяции (Рисунок 6). Коэффициент корреляции между живой массой маток–дочерей основных производителей южной мясной породы и их плодовитостью составил 0.63, что может свидетельствовать о положительной взаимосвязи этих показателей (доверительная вероятность $P=0.95$).

На рисунке 8б представлена гистограмма плодовитости овцематок волгоградской породы. Как видно из графика, плодовитость дочерей 8 из 9 производителей находится в пределах доверительного интервала, лишь дочери барана №90972 менее плодовиты, в то же время дочери баранов №1493, 80185, 90860, 90886 и 90984 более плодовиты, чем основная выборка (средние значения лежат на верхней границе доверительного интервала или выходят за его пределы).

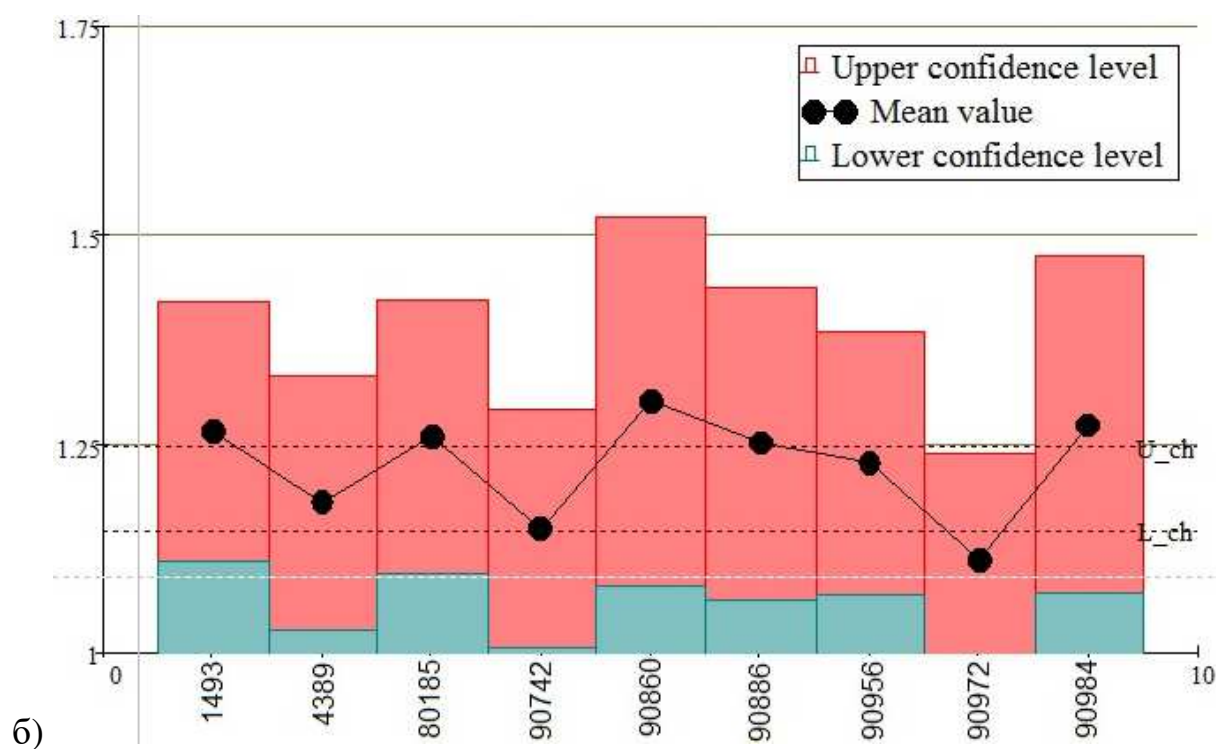
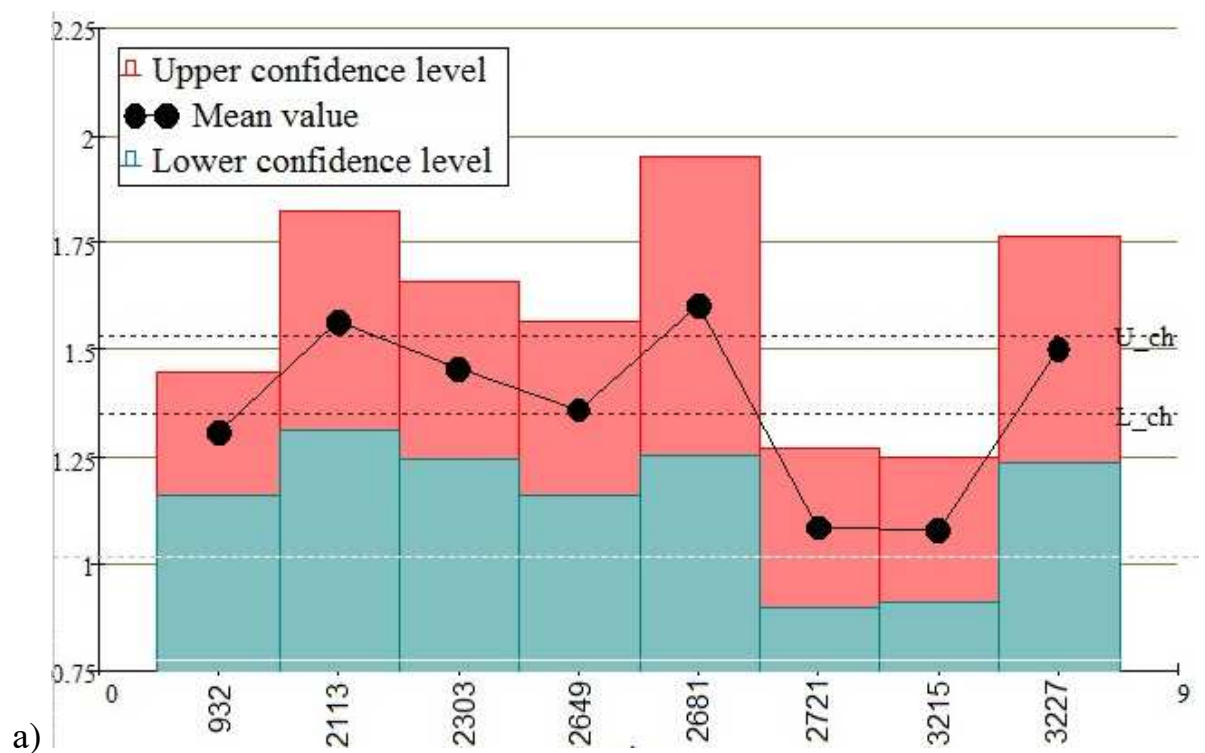


Рисунок 8 – Распределение по плодовитости дочерей баранов-производителей а) южной мясной породы (ягнение за 5-7 лет), б) волгоградской породы (ягнение за 4 года).

По оси абсцисс – индивидуальный номер барана-производителя, по оси ординат – средняя плодовитость (среднее количество ягнят), рассчитанная по всем ягнениям

Важно отметить, что ширина доверительного интервала здесь зависит как от количества потомков – чем больше дочерей обнаружено, тем уже интервал, так и от количества данных по каждой овцематке (так, например, баран №932 имеет 43 дочери и данные по их ягнениям наиболее полные, поэтому доверительный интервал для плодовитости его дочерей самый узкий).

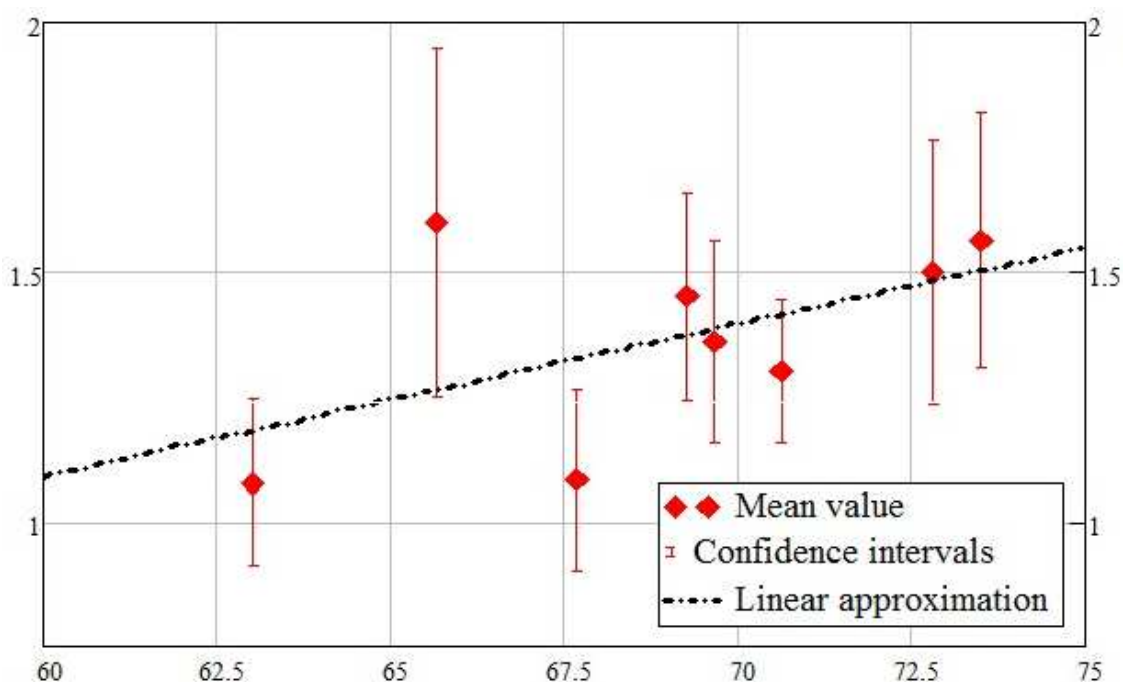


Рисунок 9 – Корреляция между живой массой и плодовитостью дочерей баранов-производителей южной мясной породы.

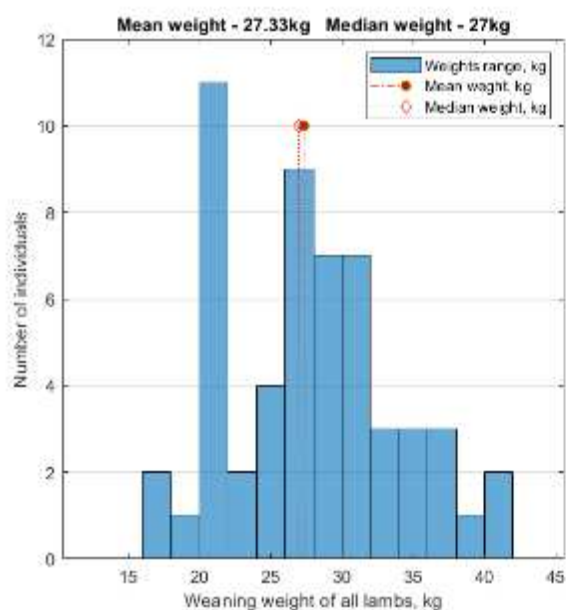
По оси абсцисс – живая масса маток, кг; по оси ординат – средняя плодовитость за ягнение

Для исследуемой выборки дочерей основных производителей волгоградской породы не удалось получить надежной корреляционной зависимости «живая масса-плодовитость», что может свидетельствовать как о недостаточном объеме выборки, так и, вероятно, об отсутствии такой связи. Однако, к такому выводу следует относиться с большой осторожностью в связи с невозможностью подтвердить тождественность условий содержания обоих исследуемых пород. Тем не менее, с учетом важности этой характеристики для массового разведения различных пород овец, необходимо проведение детального генетического анализа, что является следующим этапом представленного исследования.

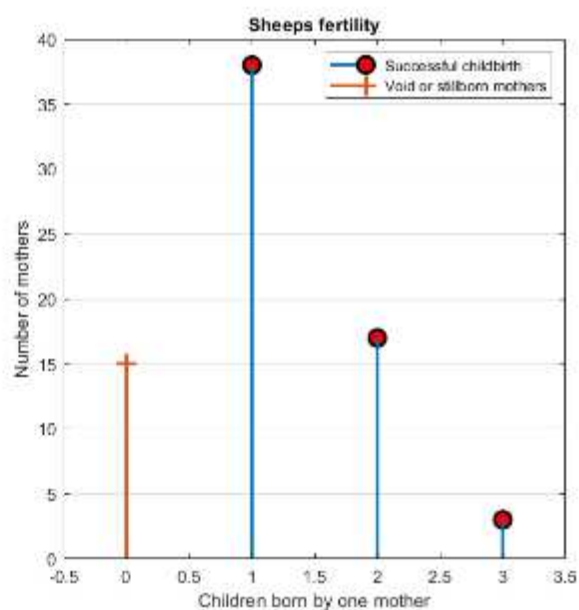
Для характеристики плодовитости всей совокупности овцематок были построены графики, характеризующие тип ягнения - одиночное, двойня, тройня (графики в виде вертикальных линий с точкой на вершине). Матки, оставшиеся яловыми (неоплодотворенными) в рассматриваемый год, а также случаи мертворожденности просуммированы (на графике обозначены красной вертикальной линией с горизонтальной чертой на вершине). Для изучения продуктивных качеств овцематок были построены гистограммы распределения живой массы при отъеме всех родившихся в рассматриваемый год ягнят, а также живая масса ярочек и баранчиков при отъеме отдельно. На гистограммах распределения живой массы показаны также медианное и среднее значения.

Первое ягнение для 73 овцематок: 38 одиночных ягнений (52 %), 20 – двоен (27.4 %), 3- тройни (4 %), 11 маток остались яловыми, зарегистрировано 5 случаев мертворожденности, из которых одна двойня (Рисунок 10б). Соотношение одиночных и двойневых ягнений близко к 2:1. Значения живой массы ягнят при отъеме варьируют от 16 до 41 кг (Рисунок 10а). Среднее значение живой массы – 27.33кг. Гистограмма распределения живой массы ярочек (Рисунок 11а) демонстрирует диапазон значений 20-38 кг, средняя масса – 26.54кг. Живая масса баранчиков (Рисунок 11б) находится в более широком диапазоне 16-41 кг, средняя масса – 28.7 кг.

По показателям живой массы к классам I и элита можно отнести 25 ярок и 11 баранчиков, что при общем количестве ягнят при отъеме 55 голов, составляет 65.5 %.

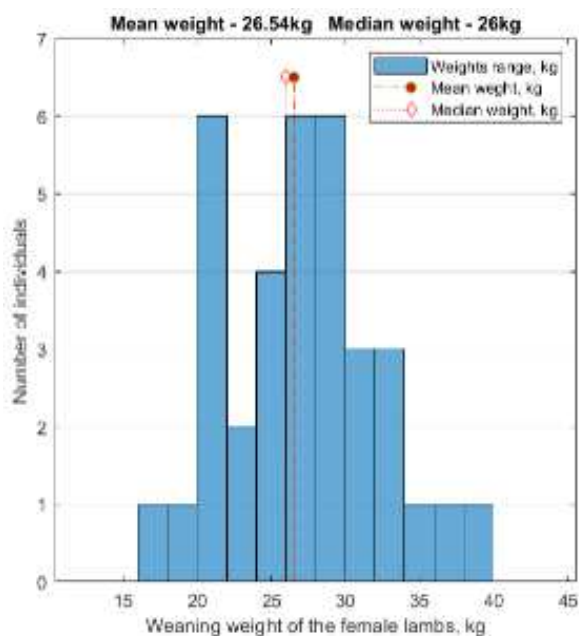


а)

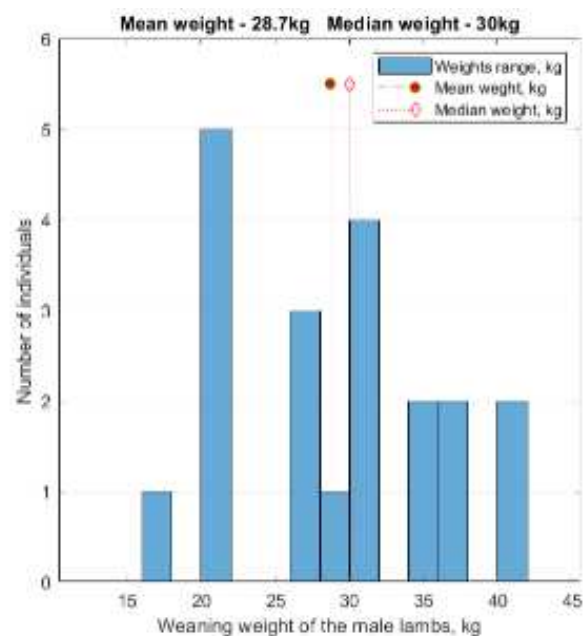


б)

Рисунок 10 – Первое ягнение: а) средняя живая масса ягнят при отъеме (по оси абсцисс живая масса ягнят при отъеме, кг; по оси ординат – количество ягнят); б) Количество двойневых, тройневых и одинаковых ягнений (по оси абсцисс тип ягнения – одинаковое, двойня, тройня, по оси ординат – количество маток).



а)

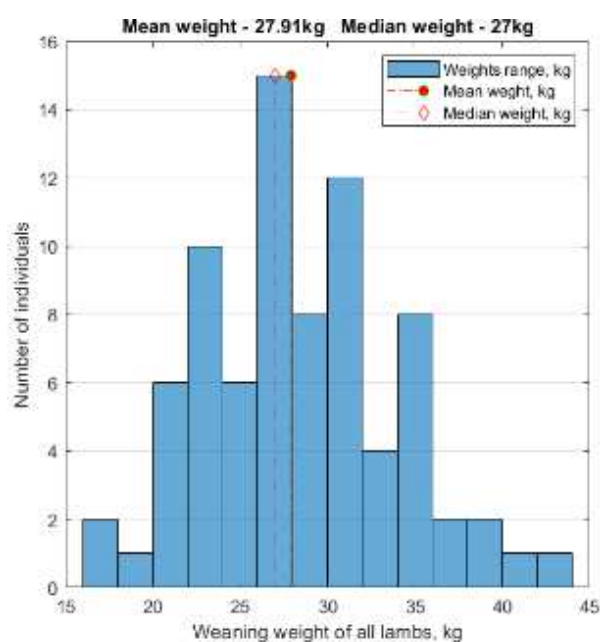


б)

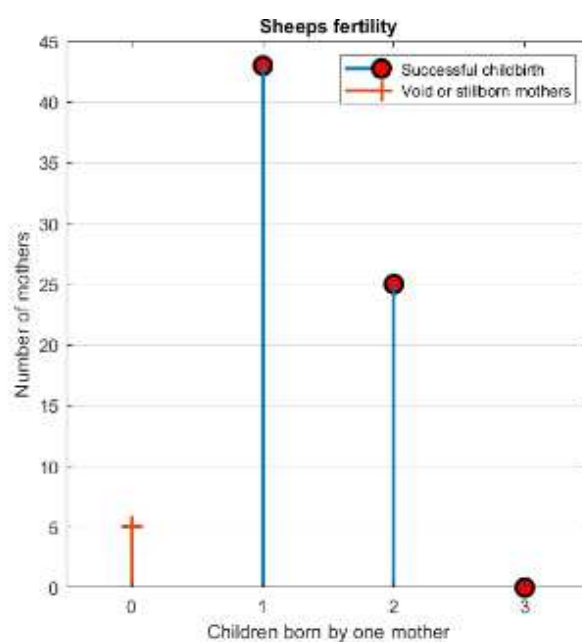
Рисунок 11 – Первое ягнение: средняя живая масса ярок (а) и баранчиков (б) при отъеме. По оси абсцисс живая масса ягнят, кг; по оси ординат – количество ягнят.

Во второй год ягнения троен не выявлено, количество единцовых ягнений – 43 (58.9 %), двоен – 25 (34 %), мертворожденных не зарегистрировано (Рисунок 12б). Процент двоен повысился, одновременно снизилось количество яловых маток (5 голов). Наблюдается смещение живой массы ягнят при отъеме в сторону более высоких значений – среднее значение составило 27.91 кг (Рисунок 12а). Средняя живая масса ярок при отъеме – 26.12 кг (Рисунок 13а), баранчиков – 29.22 кг (Рисунок 13б).

По итогам взвешивания при отъеме ягнят второго ягнения к классам I и элита можно отнести 20 ярок и 25 баранчиков, что при общем количестве ягнят 79 голов, составляет 56.9 %.



а)



б)

Рисунок 12 – Второе ягнение: а) средняя живая масса ягнят при отъеме (по оси абсцисс живая масса ягнят при отъеме, кг; ординат – количество ягнят); б) количество двойневых, тройневых и единцовых ягнений (по оси абсцисс тип ягнения – единцовое, двойня, тройня, по оси ординат – количество маток).

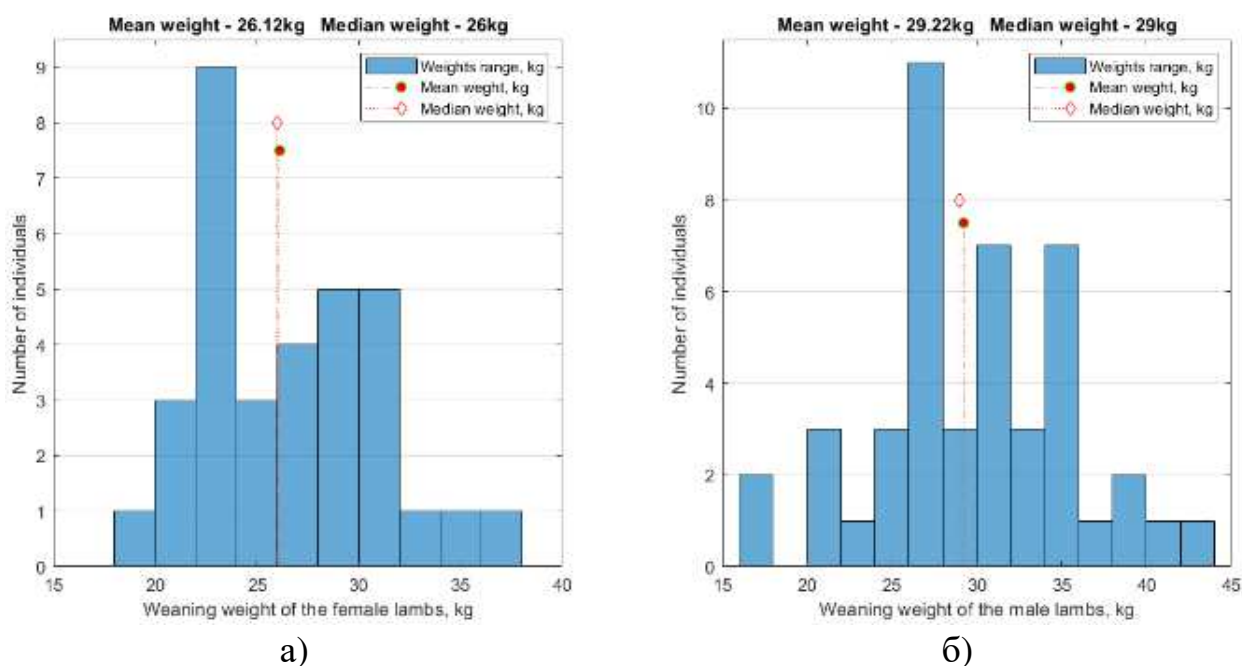
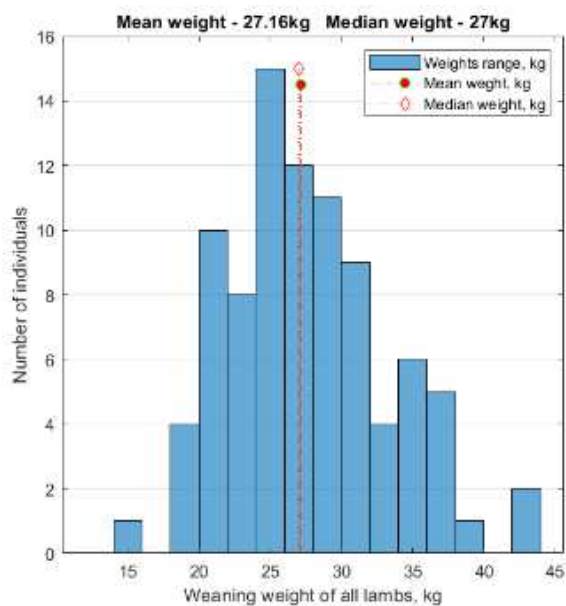


Рисунок 13 – Второе ягнение: средняя живая масса ярок (а) и баранчиков (б) при отъеме.

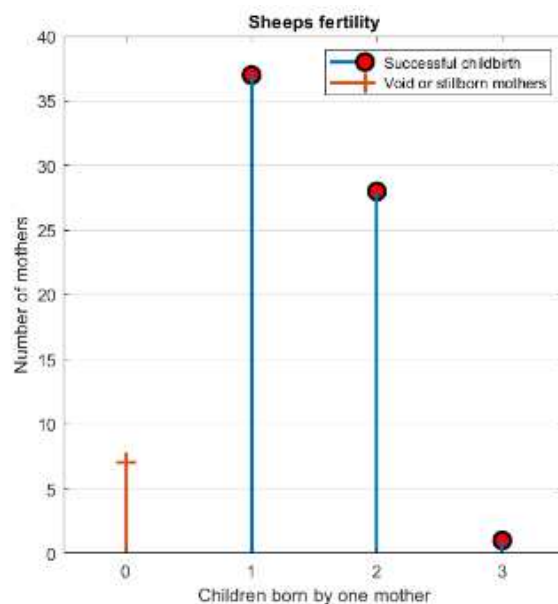
По оси абсцисс живая масса ягнят при отъеме, кг; по оси ординат – количество ягнят

Третий год ягнения характеризуется значительным увеличением количества двоен – 27 (36.9 %), одиночные ягнения – 38 (52 %), тройня одна (1.4 %), 7 яловых овцематок, мертворожденных не было (Рисунок 14б). Средняя живая масса ягнят при отъеме составляет 27.16 кг (Рисунок 14а). Средняя живая масса ярок снизилась до 25.91 кг, баранчиков – до 27.91 кг (Рисунок 15). Снижение средней живой массы ягнят при отъеме может быть объяснено как изменениями рационов, так и меньшим массой ягнят из двойневых окотов, процент которых повысился.

По показателям живой массы к классам I и элита можно отнести 22 ярки и 27 баранчиков, что при общем количестве ягнят при отъеме 88 голов, составляет 55.7 %.

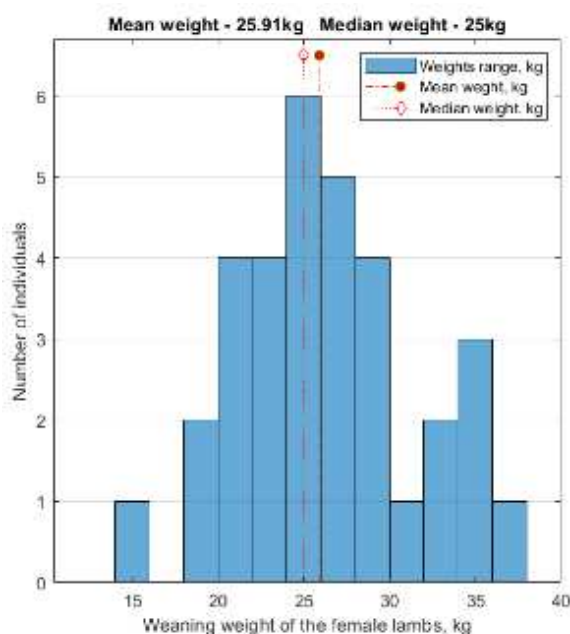


а)

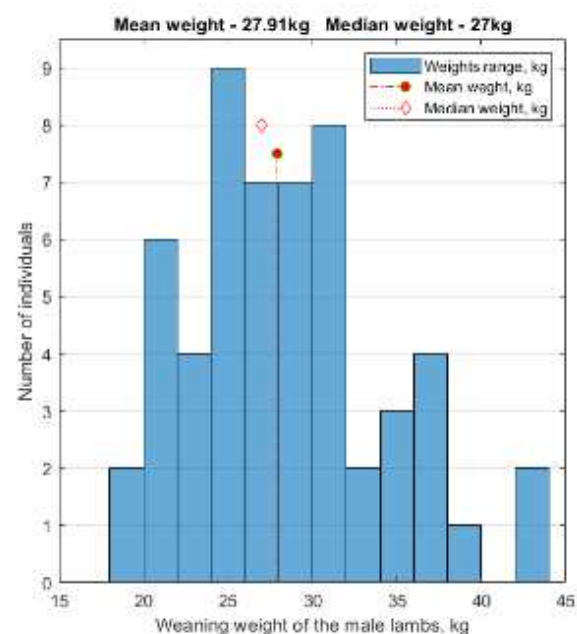


б)

Рисунок 14 – Третье ягнение: а) средняя живая масса ягнят при отъеме (по оси абсцисс живая масса ягнят при отъеме, кг; по оси ординат – количество ягнят); б) количество двойневых, тройневых и одинцовых ягнений (по оси абсцисс тип ягнения – одинцовое, двойня, тройня, по оси ординат – количество маток).



а)



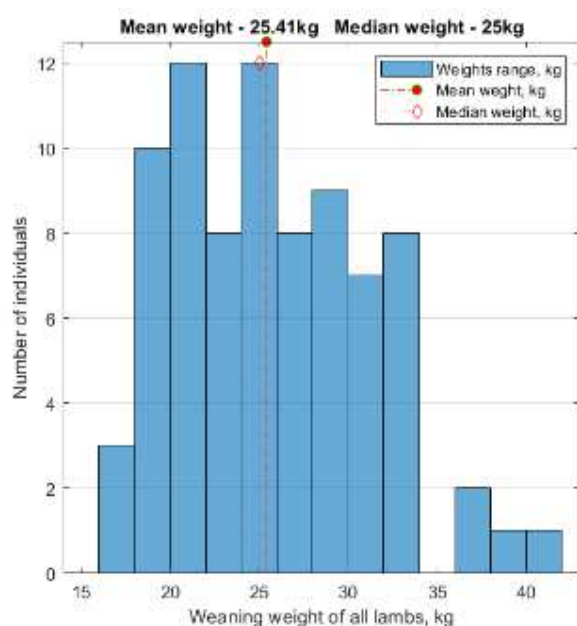
б)

Рисунок 15 – Третье ягнение: средняя живая масса ярочек (а) и баранчиков (б) при отъеме.

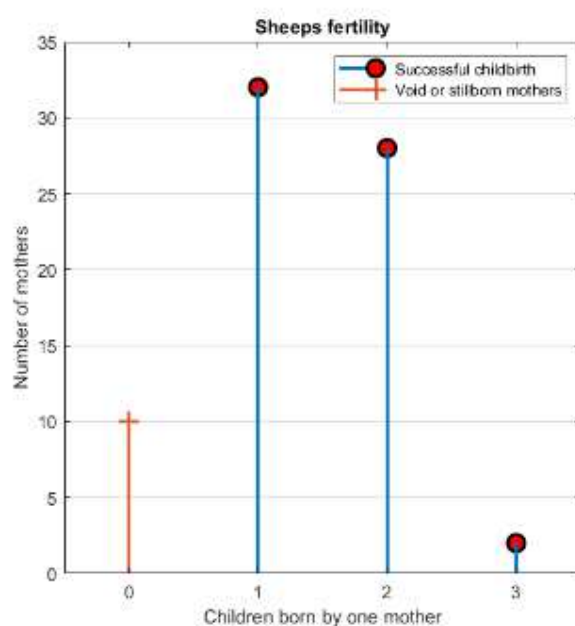
По оси абсцисс живая масса ягнят при отъеме, кг; по оси ординат – количество ягнят

На четвертый год ягнения количество двойневых и одинаковых ягнений практически сравнялось - одинаковые ягнения 33 (45.2 %), двойни 28 (38.4 %), 2 тройни (2.7 %), 10 яловых овцематок (Рисунок 16б), случаев мертворожденности не выявлено. Диапазон живой массы ягнят не изменился, средняя живая масса составила 25.41 кг (Рисунок 16а). Средняя живая масса ярок составила 24.95 кг (Рисунок 17а), баранчиков – 25.95 кг (Рисунок 17б).

Таким образом, четвертый окот характеризуется повышением плодовитости овцематок, но наблюдается тенденция снижения живой массы ягнят при отъеме. Что подтверждается также процентным количеством ягнят, которых по результатам взвешивания при отъеме можно отнести к I классу и классу элита – 23 ярки и 16 баранчиков из общего количества (81 голова), и составляет 48 %.



а)



б)

Рисунок 16 – Четвертое ягнение: а) средняя живая масса ягнят при отъеме (по оси абсцисс живая масса ягнят при отъеме, кг; по оси ординат – количество ягнят); б) количество двойневых, тройневых и одинаковых ягнений (по оси абсцисс тип ягнения – одинаковое, двойня, тройня, по оси ординат – количество маток).

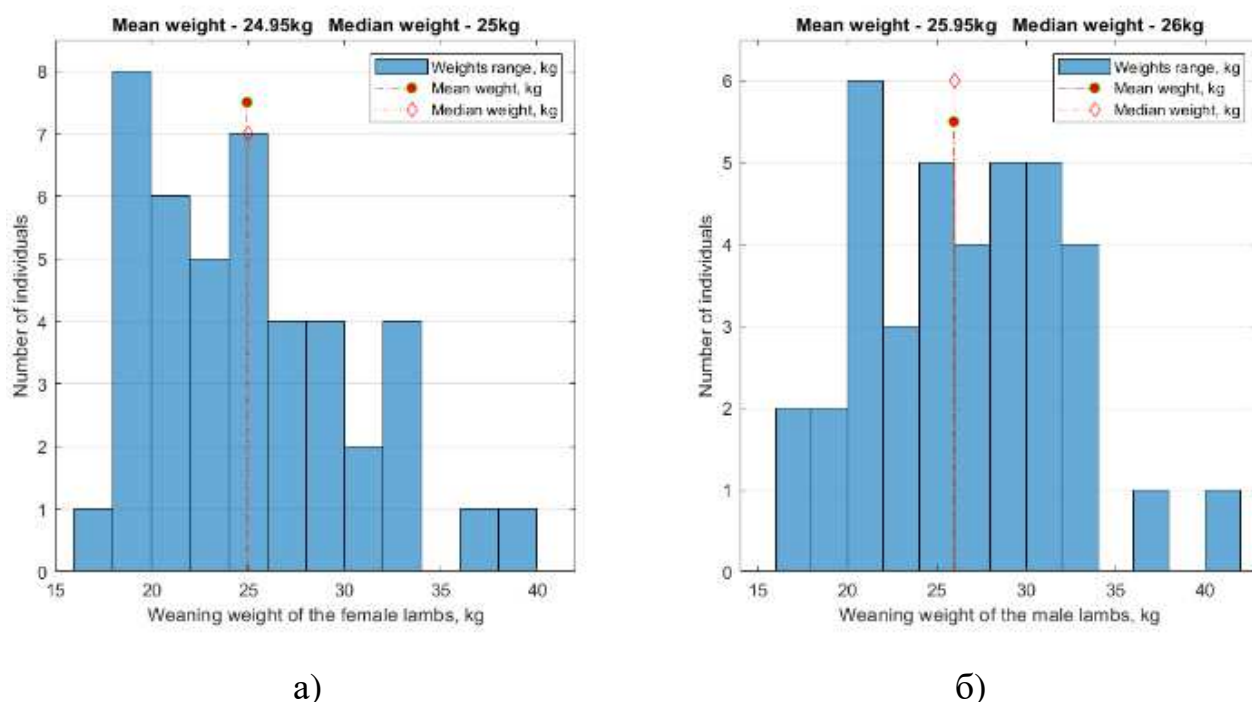
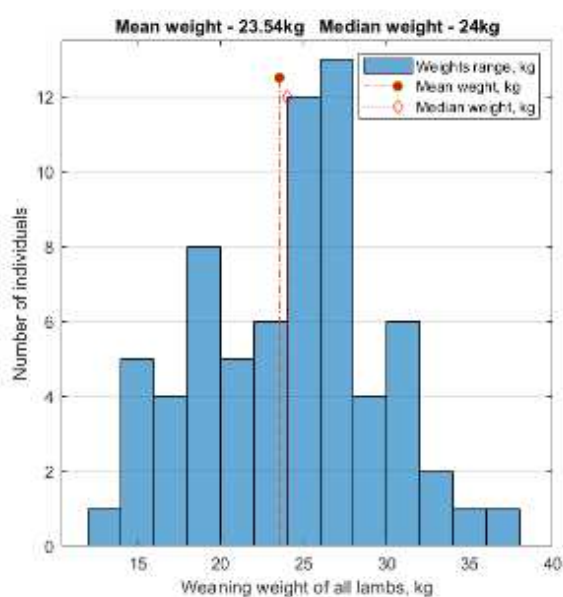


Рисунок 17 – Четвертое ягнение: средняя живая масса ярок (а) и баранчиков (б) при отъеме.

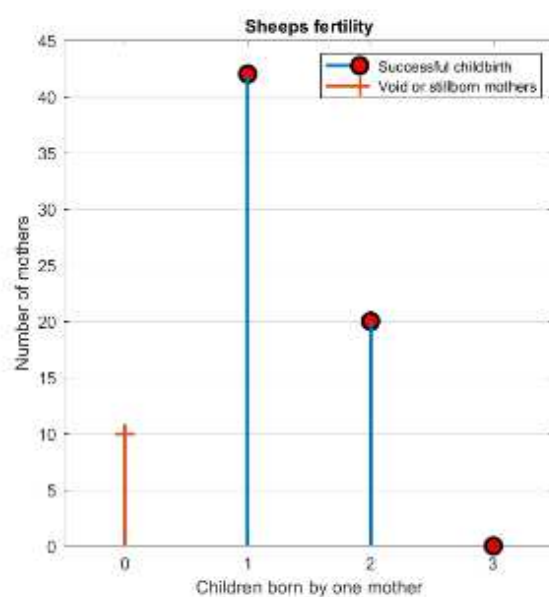
По оси абсцисс живая масса ягнят при отъеме, кг; ординат – количество ягнят

К пятому году хозяйственного использования соотношение одиночных и двойневых ягнений снова приблизилось к таковому первого ягнения (2:1) – одиночные 38 (56.7 %), двойни 20 (29.8 %), тройни отсутствуют, что может объясняться угасанием репродуктивных показателей овцематок с возрастом (Рисунок 18б). Яловых маток 9, 1 случай мертворожденности, отсутствуют данные для 6 животных, возможно, выбывших из стада по тем или иным причинам. Средняя живая масса ягнят при отъеме составила 23.54 кг (Рисунок 18а). Средняя живая масса ярок составила 22.53 кг (Рисунок 19а), баранчиков – 24.69 кг (Рисунок 19б). Диапазон значений живой массы сместился в сторону меньших значений и составил для ярок 12-30 кг, для баранчиков 14-34 кг.

По показателям живой массы к классам I и элита можно отнести 18 ярок и 9 баранчиков, что при общем количестве ягнят при отъеме 68 голов, составляет 39.7 %.

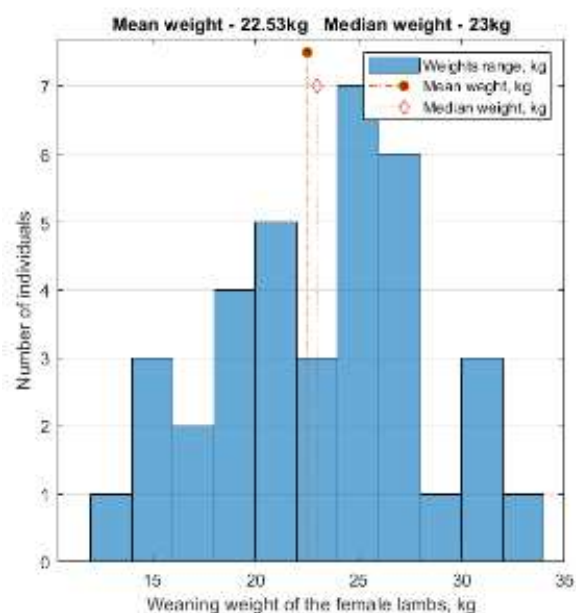


а)

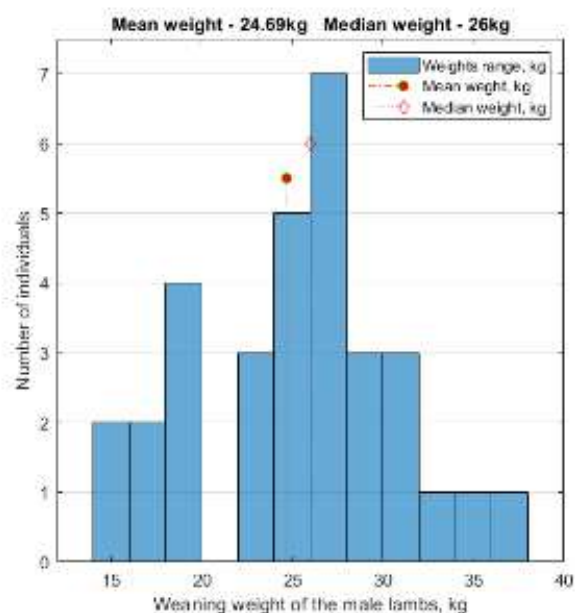


б)

Рисунок 18 – Пятое ягнение: а) средняя живая масса ягнят при отъеме (по оси абсцисс живая масса ягнят при отъеме, кг; по оси ординат – количество ягнят); б) количество двойневых, тройневых и одинцовых ягнений (по оси абсцисс тип ягнения – одинцовое, двойня, тройня, по оси ординат – количество маток)



а)



б)

Рисунок 19 – Пятое ягнение. Средняя живая масса ярочек (а) и баранчиков (б) при отъеме.

По оси абсцисс живая масса ягнят при отъеме, кг; по оси ординат – количество ягнят

Таким образом, в ходе исследования была выявлена четкая тенденция постепенного роста плодовитости с 1-го по четвертое ягнение и последующее ее снижение к первоначальным показателям на пятый год хозяйственного использования. Кроме того, наблюдается тренд снижения живой массы ягнят при отъеме, что может быть объяснено как внешними факторами (изменением рационов кормления), так и физиологическими причинами (увеличением многоплодия овцематок, в результате которого масса новорожденных ягнят снижается). Однако, необходимо помнить, что требования по набору веса для ягнят из многоплодных ягнений снижаются (15 % для двойневых ягнят).

Далее рассматривались индивидуальные показатели каждой из маток для отбора лучших. Оценивались два параметра – общее количество ягнят за 5 лет и их живая масса при отъеме (Рисунок 20).

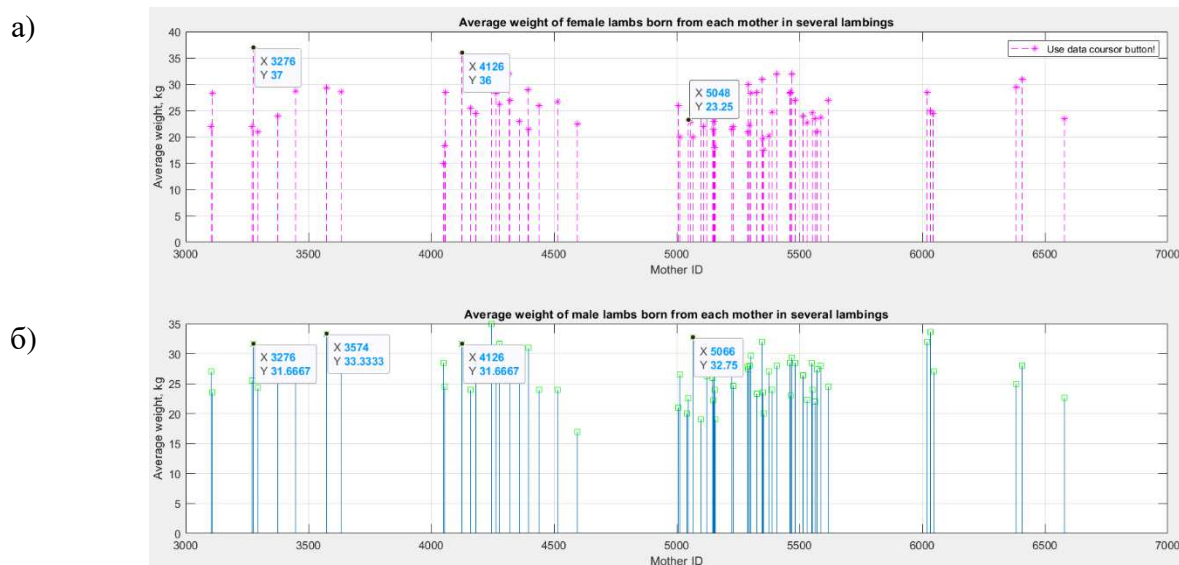


Рисунок 20 – Средняя живая масса ягнят при отъеме: а) живая масса ярочек; б) живая масса баранчиков.

По оси абсцисс – номера овцематок, по оси ординат – средняя живая масса ягнят, кг

На графиках показана средняя живая масса потомков каждой из овцематок. Ось абсцисс – номера овцематок (с 3104 по 6580), ось ординат – живая масса ягнят. Каждая вертикальная линия – средняя живая масса ярочек (розовые линии) или

баранчиков (голубые линии) определенной овцематки. Таким образом, можно проследить потомство каждой матки – например, матка с номером 3276 отмечена на верхнем и нижнем графиках. Средняя живая масса ее дочерей составила 37 кг, сыновей – 31.6667 кг.

Анализ графика позволил выявить маток с наилучшими показателями живой массы их потомства. За ориентир была принята живая масса при отъеме для баранчиков 31 кг и более (класс элита), для ярок 28 кг и более (класс элита).

Далее были рассмотрены показатели фертильности овцематок. На рисунке 21 представлено количество ягнят, рожденных за период 5 лет каждой из овцематок.

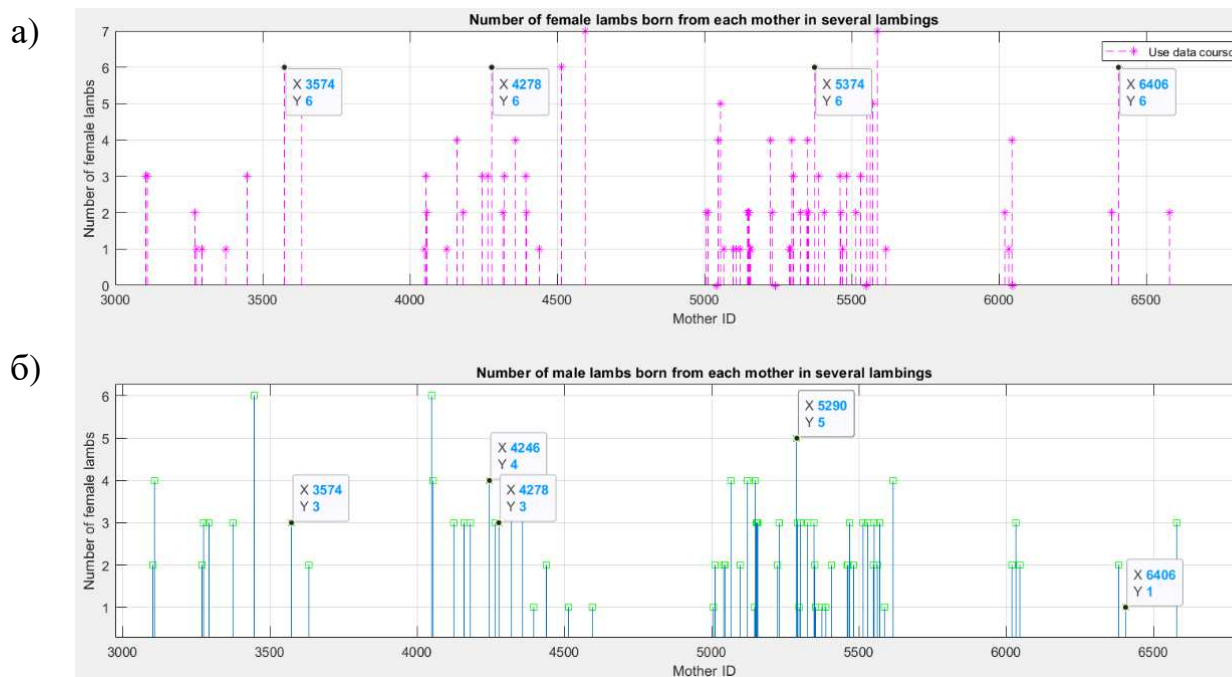


Рисунок 21 – Абсолютное количество ягнят каждой из овцематок южной мясной породы: а) количество ярок, б) количество баранчиков

По оси абсцисс – номера овцематок, по оси ординат – количество ягнят

По оси абсцисс – индивидуальные номера животных, по оси ординат – общее количество ягнят за анализируемый период (верхний график - количество ярок, нижний – баранчиков).

Анализ графиков на рисунках 20, 21 позволил выявить самых перспективных для разведения овец по двум параметрам – абсолютное количество рожденных

ягнят за исследуемый период, включая мертворожденных и недоживших по разным причинам до отъема; показатели живой массы потомства при отъеме (Таблица 1). Рекордсменами по плодовитости оказались овцематки под номерами 3574, 3448, 4278, 4596, 5552, 5570, 5588 с количеством ягнят 8-10 гол. за 5 ягнений. Важно отметить, что критерием отбора матки, как выдающейся производительницы, было сочетание двух факторов – высокая фертильность и высокая живая масса потомства. При оценке средней живой массы баранчиков и ярок от одной овцематки выбирался лучший результат, т.к. в некоторых случаях разница в массе между полами была значительной. Матки, имевшие высокие показатели только по одному из параметров, не учитывались.

Таблица 1 – Лучшие овцематки по плодовитости и живой массе ягнят при отъеме за 5 лет хозяйственного использования

№	Индивидуальный номер овцематки	Количество ярок (♀), гол.	Количество баранчиков (♂), гол.	Всего ягнят, гол.	Количество двоен	Средняя живая масса ягнят при отъеме, кг	Лучшие показатели живой массы потомства, кг
1	3574	5	3	8	3	33.33 (♂)	42 (♂) 29, 32, 38 (♀)
2	3448	2	7	9	4	28.6667(♀), 29.6667(♂)	34, 34, 39 (♂) 30(♀)
3	4278	7	3	10	3+тройня	26.1667 (♀)	32, 36 (♀) 31, 36 (♂)
4	4596	7	2	9	4	22.43 (♀) 22(♂)	29(♀)
5	5552	5	3	8	3	24.6 (♀) 24 (♂)	32 (♀)
6	5570	5	3	9	2+тройня	27.33 (♂)	31 (♂)
7	5588	7	1	8	3	28 (♂)	28, 29 (♀)

Из представленных в таблице 1 овцематок номера 3574 и 3448 при высокой плодовитости и неоднократных двойневых ягнениях демонстрируют высокие

показатели живой массы ягнят при отъеме; как средние, так и абсолютные ее значения.

Овцематки под номерами 4596 и 5552 отличаются меньшей средней живой массой ягнят при отъеме, однако имеют высокую плодовитость (4 и 3 двойни за 5 лет соответственно) Кроме того, отдельные их потомки имеют живую массу, соответствующую требованиям для класса элита. Дочери матки №5552 могут быть отнесены к I классу, а сыновья - ко II. Матки №№4278 и 5570 заслуживают пристального внимания, т.к. для них известны не только неоднократные двойневые ягнения, но и тройни. Средняя живая масса их ягнят несколько ниже требований, предъявляемых к классу элита, но они могут быть отнесены к I или II классу. При этом №4278 имеет ряд потомков с массой, превышающей требования к классу элита. Потомство матки №5588, давшей три двойневых ягнения, представлено, в основном, ярочками, живая масса которых соответствует требованиям к классу элита.

Таким образом в рассматриваемой выборке выявлены наиболее перспективные матки, отличающиеся высокой плодовитостью и, в то же время, имеющие потомство с более высокими показателями живой массы при отъеме.

3.2 Локализация ДНК-полиморфизмов, ассоциированных с показателем живой массы овец южной мясной и волгоградской пород

По результатам генотипирования овцематок южной мясной породы было выявлено 53516 полиморфизмов, один образец не прошел контроль качества генотипирования и был отсеян, общий уровень успешно генотипированных SNPs до фильтрации составил 0.988693. После фильтрации результатов генотипирования: частота минорных аллелей MAF <5%, генотипированные образцы с частотами по популяции <10% (51680), равновесие Харди-Вайнберга 0.001 и оценки неравновесия по сцеплению с параметрами indep-pairwise 50_5_0.8

были отобраны для исследования 45179 полиморфизмов (уровень успешно генотипированных точек 0.99812).

Для волгоградской породы были успешно генотипированы 51135 полиморфизмов и все 48 образцов, общий уровень успешно генотипированных SNPs до фильтрации - 0.995869. После фильтрации на равновесие Харди-Вайнберга (0.000001), MAF (0.05), удаления из анализа SNPs, локализованных на X хромосоме и в мтДНК, проверки на неравновесие по сцеплению (indep-pairwise 50 5 0.8) для анализа остались 37245 SNPs (уровень успешно генотипированных точек 0.999361).

Позиции полиморфизмов предварительно были обновлены до версии сборки генома *Oar_rambouillet_v1.0*. (2017). Разница в количестве отсеянных в ходе фильтрации SNPs у представителей двух пород может объясняться тем, что волгоградская порода была генотипирована раньше на чипе, созданном для более раннего варианта сборки генома *Ovis aries* (*Oar_v3.1*, 2012), в результате обновления позиций SNPs до более поздней сборки генома ряд точек был утерян.

Результаты расчета индексов генетической дифференциации позволили выявить 55 полиморфизмов, связанных с показателем живой массы овец южной мясной породы (Рисунок 22). Горизонтальная граница (genomewideline), отсекает значимые полиморфизмы, преодолевшие границу $F_{ST}=0.55$.

На гистограмме (Рисунок 23) показано распределение выявленных в ходе расчетов ДНК-полиморфизмов по аутосомам у овец южной мясной породы: OAR9 – 11 SNPs; OAR5 – 10 SNPs; OAR2 – 6 SNPs; OAR3 и OAR6 по 5 SNPs; OAR1 и OAR17 по 3 SNPs; OAR11, OAR12 - по 2 SNPs; по одному SNP на OAR7, OAR8 OAR13, OAR15, OAR20, OAR21, OAR23 и OAR24.

Результаты расчета индексов генетической дифференциации позволили выявить 38 полиморфизмов, связанных с показателем живой массы овец волгоградской породы (Рисунок 24). Горизонтальная граница (genomewideline), отсекает значимые полиморфизмы, преодолевшие границу $F_{ST}=0.55$.

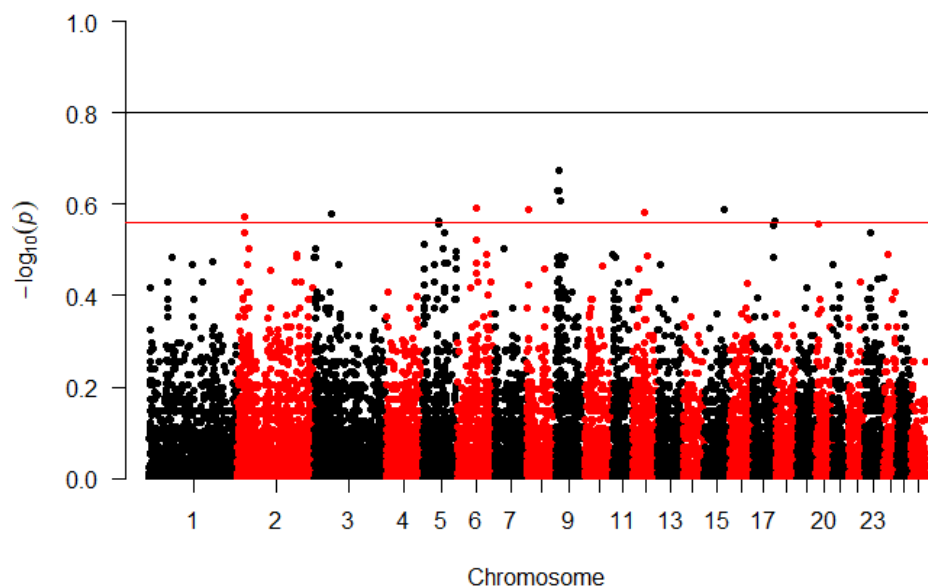


Рисунок 22 – Манхэттенский график связи ДНК-полиморфизмов с живой массой овец южной мясной породы.

По оси абсцисс – номер хромосомы, по оси ординат – логарифм вероятности ассоциации полиморфизмов с показателем живой массы

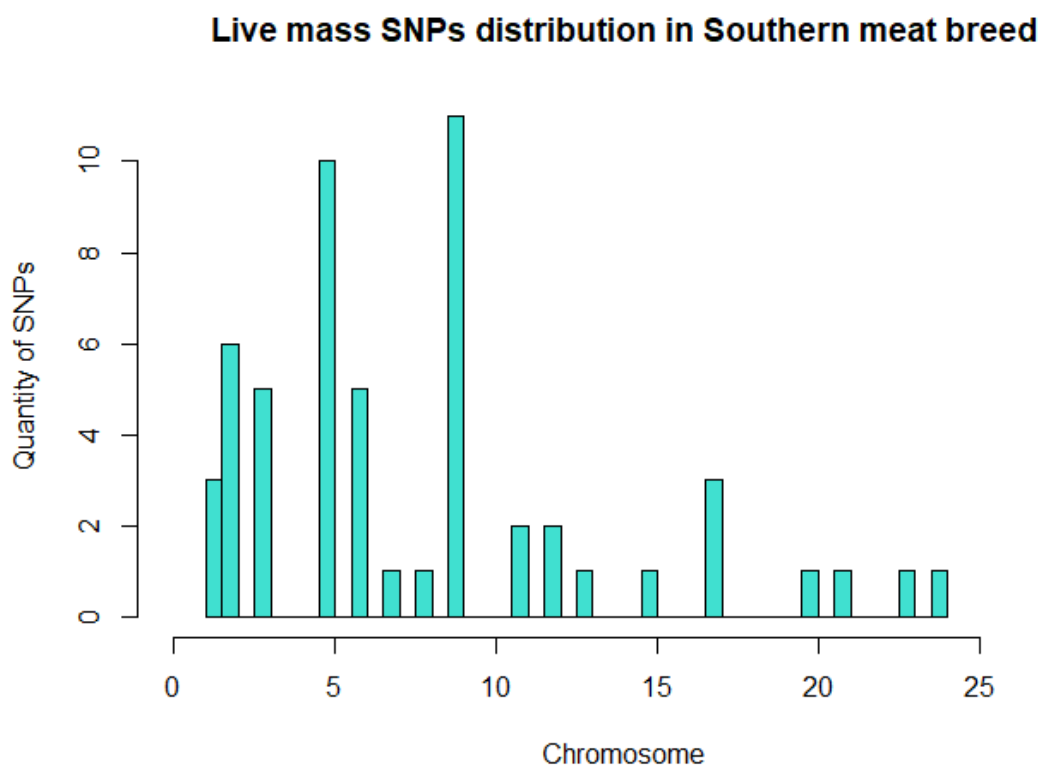


Рисунок 23 – Гистограмма распределения по геному значимых ДНК-полиморфизмов, ассоциированных с живой массой овец южной мясной породы.

По оси абсцисс номер хромосомы, по оси ординат – количество выявленных на каждой хромосоме SNPs

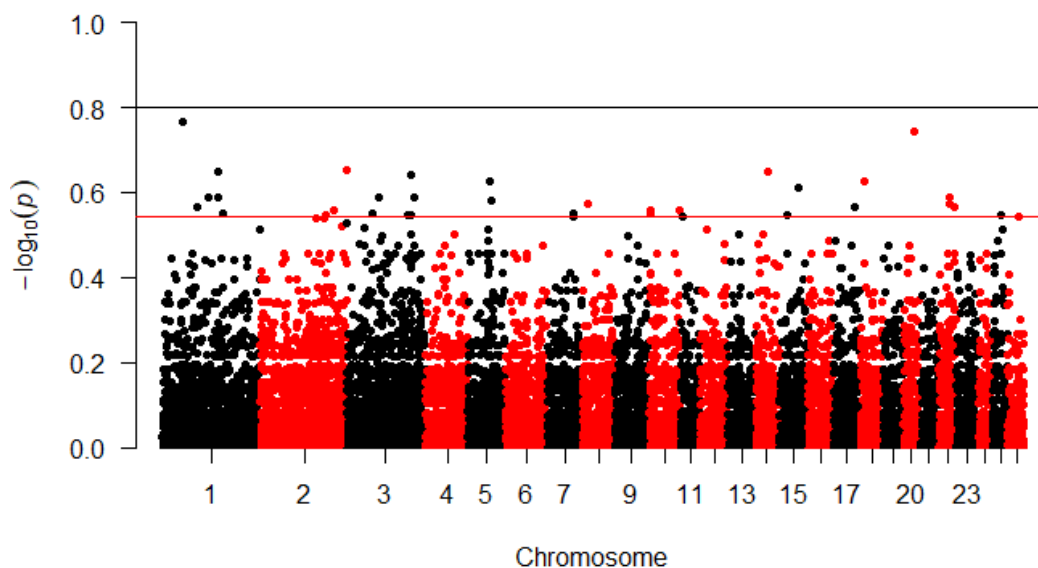


Рисунок 24 – Манхэттенский график связи ДНК-полиморфизмов с живой массой овец волгоградской породы.
По оси абсцисс – номер хромосомы, по оси ординат – логарифм вероятности ассоциации полиморфизмов с показателем живой массы

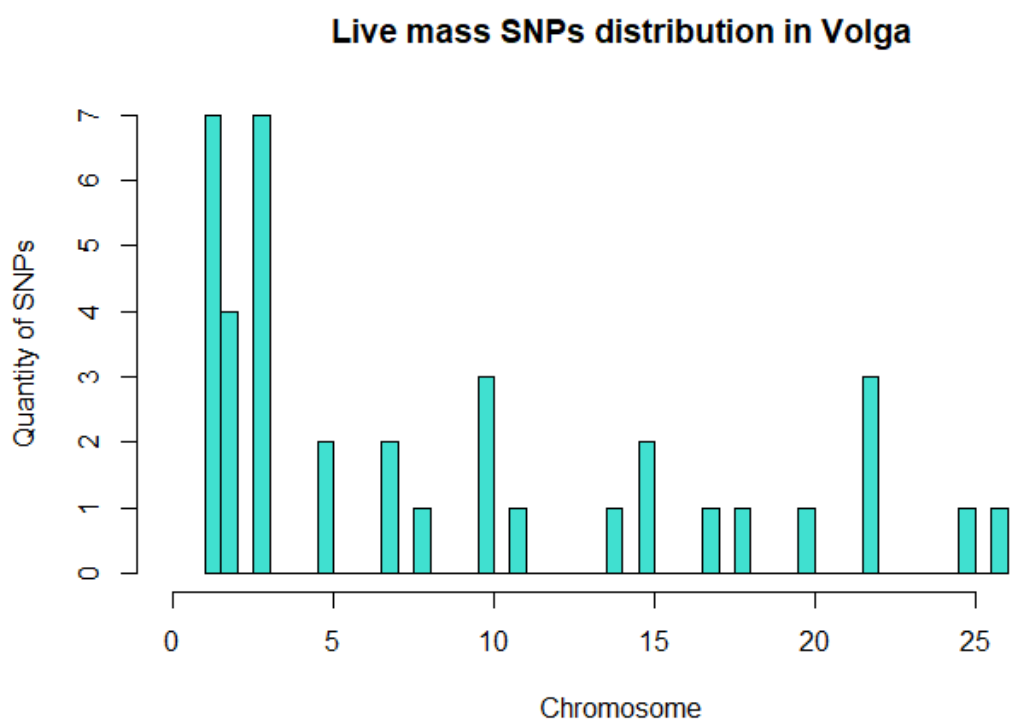


Рисунок 25 – Гистограмма распределения по геному значимых ДНК-полиморфизмов, ассоциированных с живой массой овец волгоградской породы.
По оси абсцисс номер хромосомы, по оси ординат – количество выявленных на каждой хромосоме SNPs

На рисунке 25 представлено распределение по геному значимых ДНК-полиморфизмов для волгоградской породы. Наибольшее количество значимых ДНК-полиморфизмов расположено на OAR1 и OAR3 - по 7 SNPs, 4 SNPs на OAR2, по 3 SNPs на OAR10 и OAR22, по 2 на OAR5, OAR7 и OAR15.

Метод расчета индексов генетической дифференциации позволил выявить значимые ДНК-полиморфизмы, связанные с показателем живой массы овец волгоградской (38 SNPs) и южной мясной породы (55 SNPs). При этом паттерны распределения значимых полиморфизмов у представителей двух пород различаются. Наибольшее количество значимых SNPs у южной мясной породы выявлено на 5, 9, 2, 3 и 6 хромосомах; у волгоградской – на 1, 2, 3, 10 и 22 хромосомах. Важно отметить, что даже при подробном рассмотрении генетических вариантов, расположенных на одних и тех же хромосомах у представителей двух пород, полных совпадений не обнаружено. Интересно отметить ген *EBF1*, в котором как для волгоградской, так и для южной мясной породы были детектированы различные значимые ДНК-полиморфизмы.

Такое распределение ДНК-полиморфизмов, ассоциированных с живой массой, отличается от опубликованных ранее литературных данных, что подтверждает полигенность признака живой массы и его породоспецифичность, показанную рядом авторов. А также говорит о разном происхождении двух исследуемых пород и различных направлениях селекции, обусловленных разным направлением хозяйственного использования.

Дальнейший анализ выявленных ДНК-полиморфизмов был проведен с помощью встроенного инструмента VEP в геномном браузере Ensembl. Были установлены гены-кандидаты и положение в них значимых ДНК-полиморфизмов (Рисунок 26). Значительная часть SNPs попала в интроны ряда генов (29-30 %) у представителей обеих пород, 5-7% при заданных параметрах поиска составили межгенные участки, для 26 % полиморфизмов у волгоградской и 13% у южной мясной не обнаружено информации в базе данных Ensembl, в 3'-область генов (downstream_gene_variant) попали 21 % SNPs у волгоградской породы и 13 % у

южной мясной; в 5'-область генов (upstream_gene_variant) – 16 % и 36 % соответственно; кроме того, для волгоградской обнаружен один псевдоген, а для южной мясной - SNPs в составе длинной некодирующей РНК (lncRNA - intron non_coding).

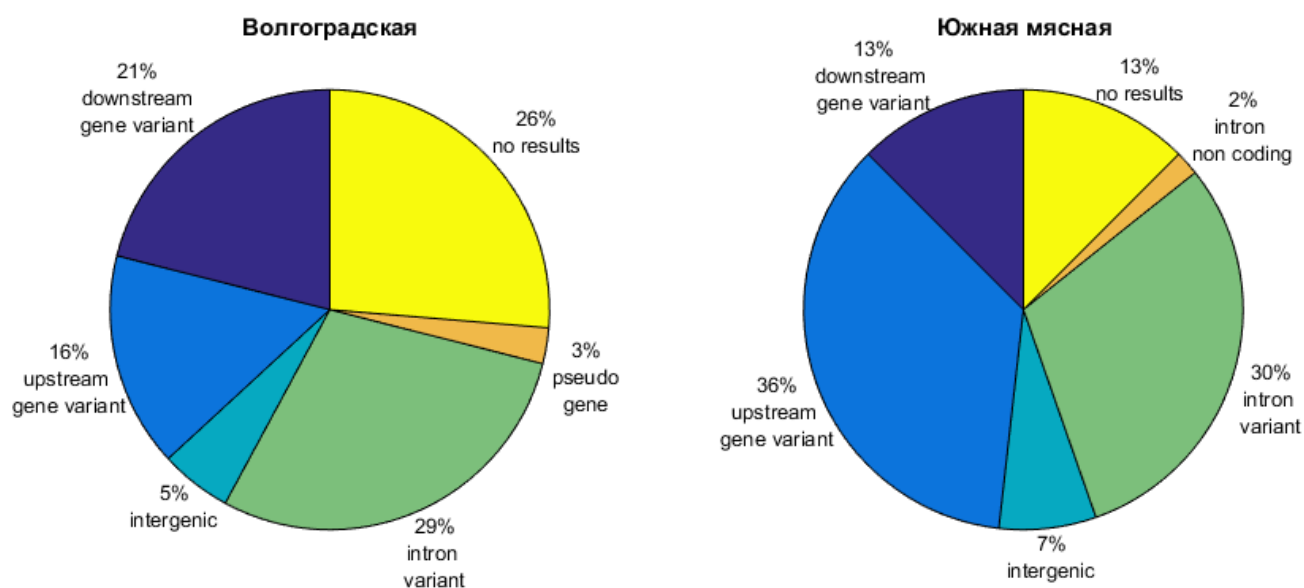


Рисунок 26 – Локализация значимых ДНК-полиморфизмов, связанных с показателем живой массы овец волгоградской и южной мясной пород

Полный список выявленных в ходе работы ДНК-полиморфизмов представлен в приложениях 1, 2.

Для количественной оценки влияния выявленных генетических вариантов на показатель живой массы были отобраны 16 полиморфизмов для волгоградской породы и 12 для южной мясной. Условиями отбора ДНК-полиморфизмов были значение индекса генетической дифференциации для полиморфизма $F_{ST} > 0.55$ и локализация в пределах определенного гена (Таблицы 2, 3).

Таблица 2 – ДНК-полиморфизмы, ассоциированные с живой массой овец южной мясной породы ($F_{ST} > 0.55$)

№	Ген-кандидат	rs	Локализация	F_{ST}
1	<i>ENSOARG00020003076</i>	rs426840638	9:10685424-10685424	0.674342
2	<i>LY6D</i>	rs407154944	9:15865246-15865246	0.608748
3	<i>FAM114A1</i>	rs407769071	6:63727641-63727641	0.591313
4	<i>ENSOARG00020017606</i>	rs429729756	15:72511124-72511124	0.589168
5	<i>LOC101104591</i>	rs427293175	12:41990115-41990115	0.580975
6	<i>ENSOARG00020014128</i>	rs406557611	8:4582871-4582871	0.589168
7	<i>ENSOARG00020002577</i>	rs421723790	3:59435548-59435548	0.579631
8	<i>U6</i>	rs422788100	17:78225556-78225556	0.564185
9	<i>NDFIP1</i>	rs402782448	5:55461542-55461542	0.564185
10	<i>SEZ6L</i>	rs403475114	17:75075353-75075353	0.554674
11	<i>NDFIP1</i>	rs405818026	5:55482859-55482859	0.555556
12	<i>LRRC1</i>	rs422829400	20:8258762-8258762	0.555556

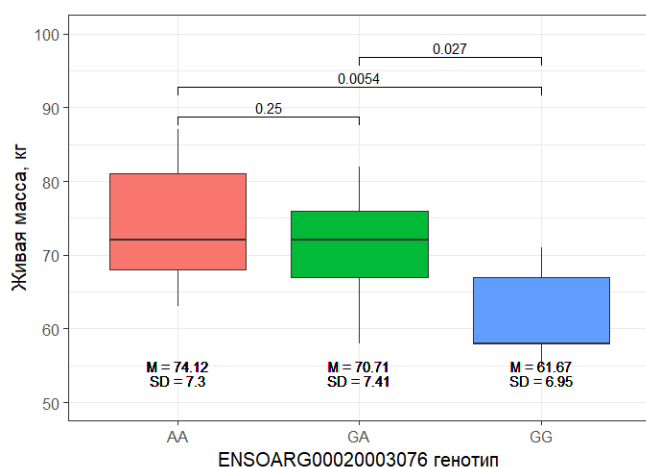
Таблица 3 – ДНК-полиморфизмы, ассоциированные с живой массой овец волгоградской породы ($F_{ST} > 0.55$)

№	Ген-кандидат	rs	Локализация	F_{ST}
1	<i>ENSOARG00020020128</i>	rs428265762	1:60261739-60261739	0.765372
2	<i>CDH11</i>	rs427081759	14:35636406-35636406	0.649985
3	<i>SYT10</i>	rs422227725	3:194334398-194334398	0.642464
4	<i>RGMA</i>	rs427713228	18:13641484-13641484	0.625753
5	<i>RPS3</i>	rs404936227	15:57695103-57695103	0.611138
6	<i>ENSOARG00020013730</i>	rs400089301	22:33461310-33461310	0.590212
7	<i>JAM2</i>	rs425735568	1:139401958-139401958	0.590212
8	<i>MRPL39</i>	rs402968882	1:139453823-139453823	0.590212
9	<i>CYP26B1</i>	rs423639066	3:100186328-100186328	0.590212
10	<i>ST8SIA1</i>	rs401057182	3:206942717-206942717	0.589249
11	<i>NCOA7</i>	rs402326102	8:14173804-14173804	0.573620
12	<i>pseudogene</i>	rs55628366	22:51172958-51172958	0.567339
13	<i>ENSOARG00020018856</i>	rs415446020	1:108018290-108018290	0.565104
14	<i>RPE</i>	rs416983510	2:225966508-225966508	0.560120
15	<i>DIAPH3</i>	rs406184091	10:3678456-3678456	0.560120
16	<i>CBLB</i>	rs419005261	1:187374489-187374489	0.550908

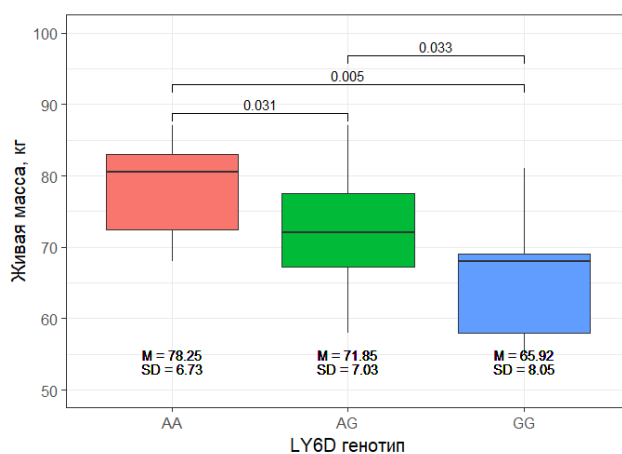
3.3 Влияние идентифицированных ДНК-полиморфизмов на живую массу овец

Влияние каждого из 12 ДНК-полиморфизмов, локализованных в пределах известных генов и отобранных на основании значения индекса генетической дифференциации ($F_{ST} > 0.55$), на показатель живой массы овец южной мясной породы был подробно исследован по всей выборке ($n=48$). На рисунке 27

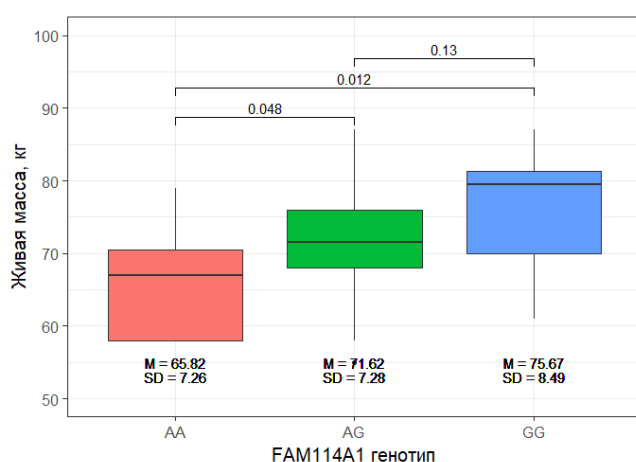
представлены блочные диаграммы для 10 ДНК-полиморфизмов. В некоторых случаях из-за малой представленности носителей того или иного генотипов построить блочные диаграммы не удалось. Возможно, увеличение объема выборки, позволило бы решить эту проблему. Также для каждого полиморфизма приведено, под соответствующей ему диаграммой, количественное соотношение наблюдаемых в выборке генотипов. Блочные диаграммы расположены в порядке уменьшения значений индекса генетической дифференциации соответствующего ДНК-полиморфизма.



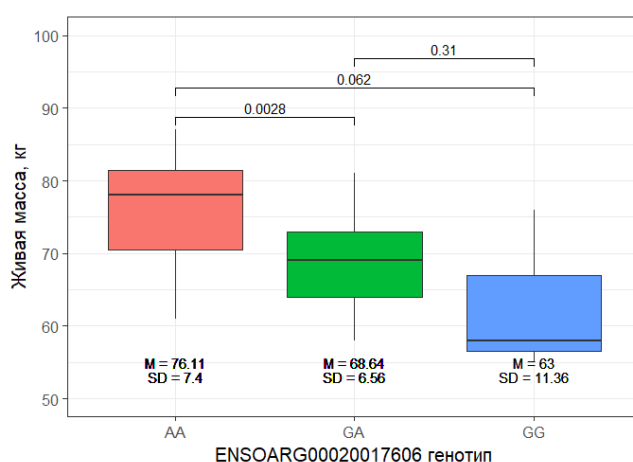
AA(24) GA(17) GG (6)



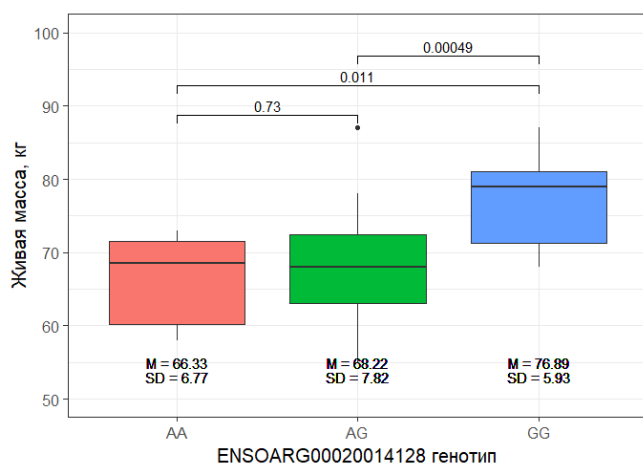
AA(8) AG(26) GG(13)



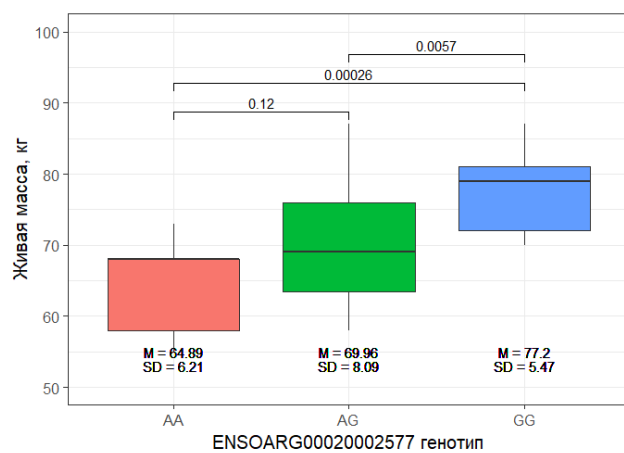
AA(11) AG(24) GG(12)



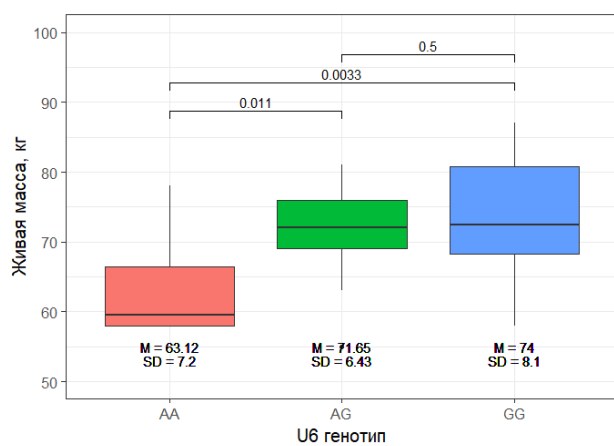
AA(19) GA(25) GG(3)



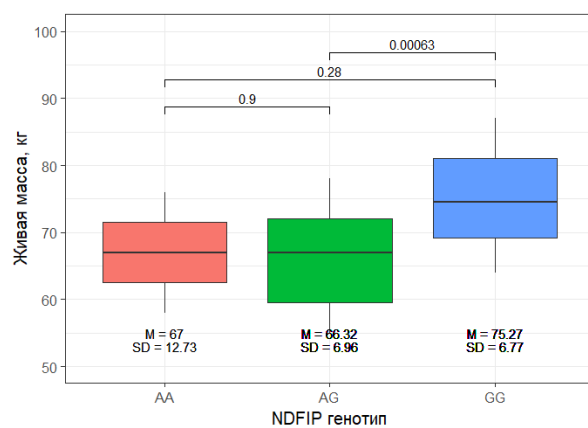
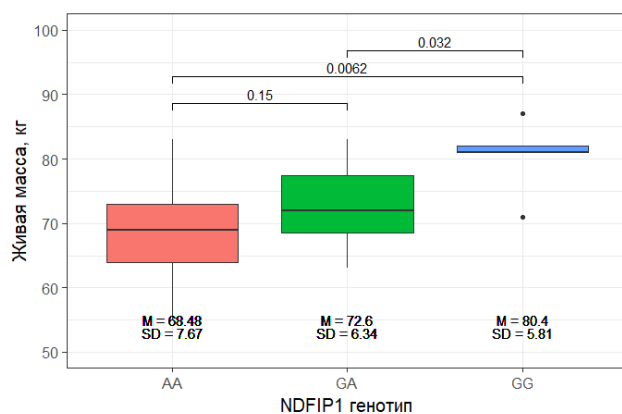
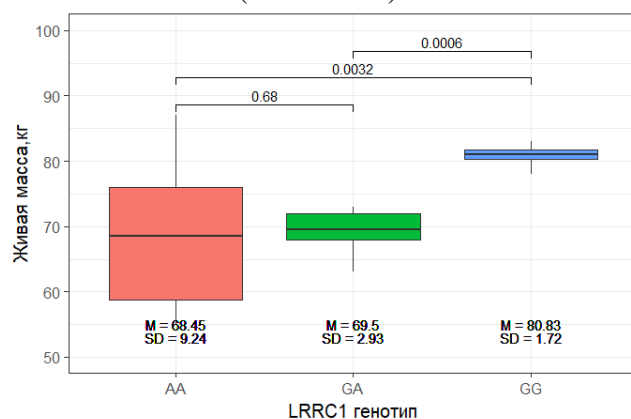
AA(6) AG(23) GG(18)



AA(9) AG(23) GG(15)



AA(8) AG(17) GG(22)

AA(2) AG(19) GG(26)
(rs402782448)AA(6) GA(18) GG(23)
(NDFIP1)

AA(5) GA(20) GG(22)

Рисунок 27 – Живая масса овцематок южной мясной породы различных генотипов по 10 ДНК-полиморфизмам.

М-среднее значение живой массы, SD – стандартное отклонение, достоверность различий средних (p) для каждой пары генотипов показаны в верхней части диаграмм

Для удобства анализа блочных диаграмм результаты расчетов были сведены в Таблицу 4. Желательным считался генотип, носители которого демонстрируют бóльшую среднюю живую массу.

Как следует из блочных диаграмм (Рисунок 27) и сводной Таблицы 4, все отобранные ДНК-полиморфизмы демонстрируют влияние на исследуемый показатель живой массы. Несколько меньший уровень достоверности различий между средними значениями живой массы демонстрирует ДНК-полиморфизм в гене *FAM114A1* ($p=0.012$), однако и он находится в диапазоне достоверных различий $p<0.05$.

Таблица 4 – Живая масса овец южной мясной породы различных генотипов

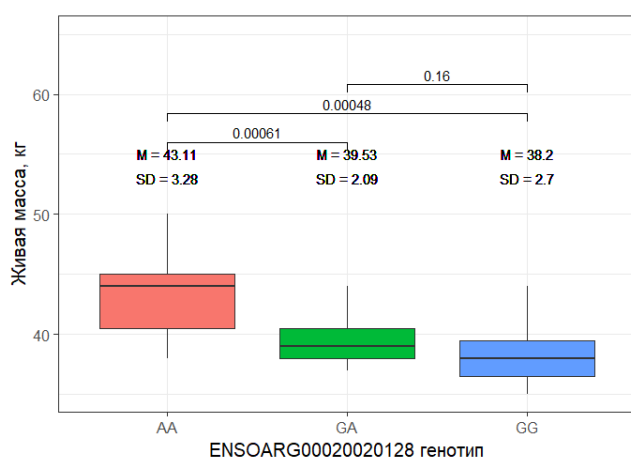
Ген	Желательный генотип	Генотип сравнения (при $\max p$)	Превышение средней живой массы носителей желательного генотипа (при $\max p$), кг	Достоверность различий средних, p
<i>ENSOARG00020003076</i>	AA	GG	74.12-61.67=12.45	0.0054
<i>LY6D</i>	AA	GG	78.25-65.92=12.33	0.005
<i>FAM114A1</i>	GG	AA	75.67-65.82=9.85	0.012
<i>ENSOARG00020017606</i>	AA	GA	76.11-68.64=7.47	0.0028
<i>ENSOARG00020014128</i>	GG	AG	76.89-68.22=8.67	0.00049
<i>ENSOARG00020002577</i>	GG	AA	77.2-64.89=12.31	0.00026
<i>U6</i>	GG	AA	74-63.12=10.88	0.0033
<i>NDFIP1</i>	GG	AA	80.4-68.48=11.92	0.0062
<i>NDFIP1</i>	GG	AG	75.27-66.32=8.95	0.00063
<i>LRRC1</i>	GG	GA	80.83-69.5=11.33	0.0006

Таким образом, желательными генотипами, дающими носителям преимущество в живой массе 7.47-12.5кг, по ДНК-полиморфизмам в генах *ENSOARG00020003076*, *LY6D* и *ENSOARG00020017606* являются гомозиготы AA. По ДНК-полиморфизмам в генах *FAM114A1*, *ENSOARG00020014128*, *ENSOARG00020002577*, *U6*, *NDFIP1* (два полиморфизма) и *LRRC* носители генотипов GG имеют среднюю живую массу больше на 8.67-12.31 кг по сравнению с остальными генотипами.

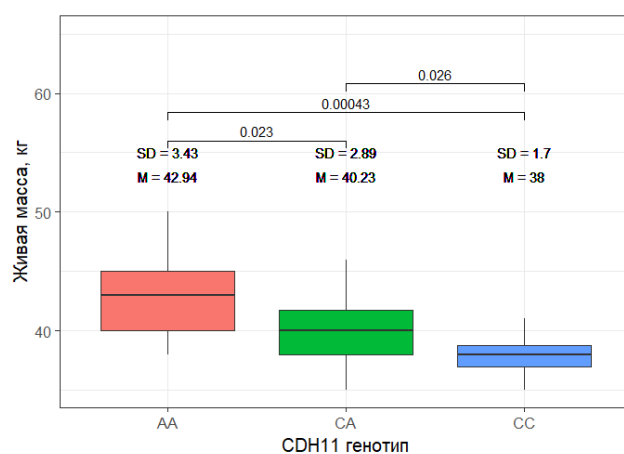
Генотипы GG по ДНК-полиморфизмам в генах *ENSOARG00020003076*, *LY6D* демонстрируют максимальное превышение средней живой массы у их носителей (более чем на 12 кг), что согласуется с высоким значением индекса генетической дифференциации F_{ST} , рассчитанным для них.

Интересно отметить ген *NDFIP1*, в котором обнаружено два генетических варианта, в разной степени связанных с живой массой и обуславливающих различие на ≈ 12 и на ≈ 8 кг.

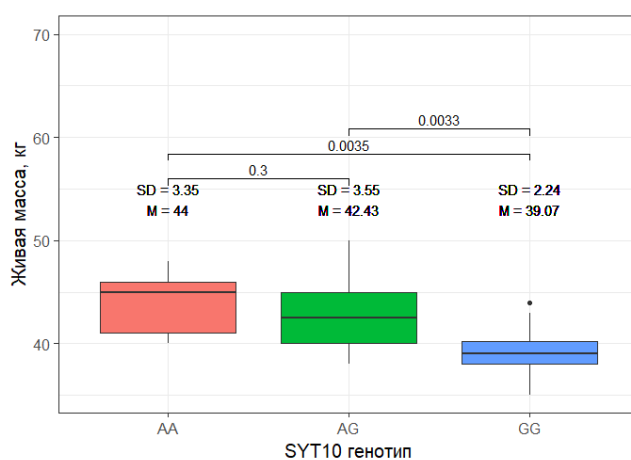
Ниже представлены наиболее информативные блочные диаграммы для ДНК-полиморфизмов, ассоциированных с живой массой овец волгоградской породы (Рисунок 28).



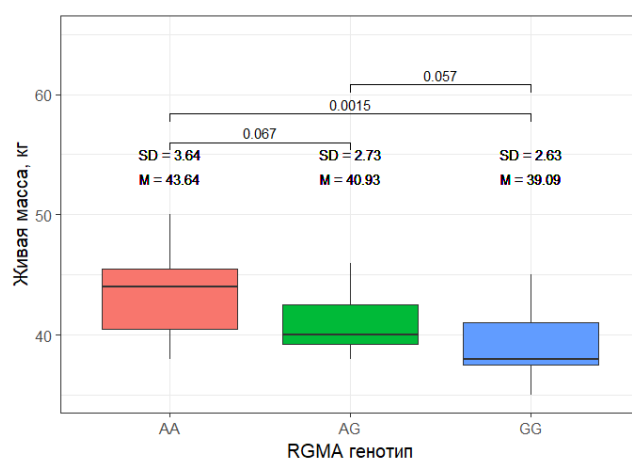
AA(19) GA(19) GG(10)



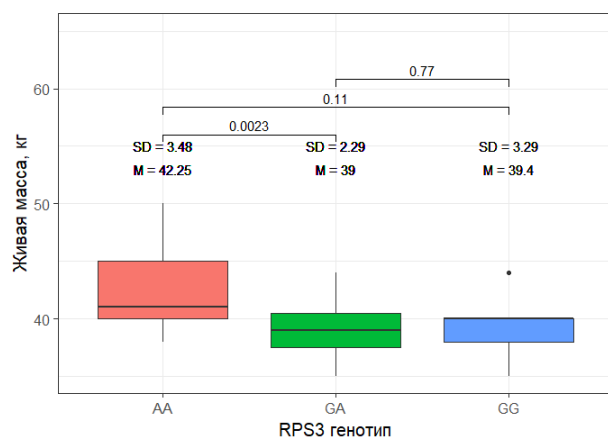
AA(16) CA(22) CC(10)



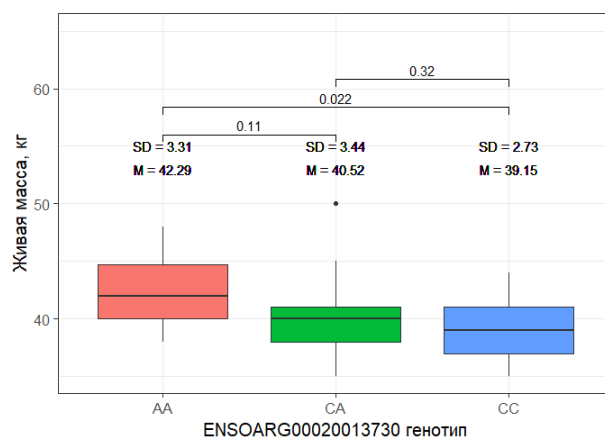
AA(6) AG(14) GG(28)



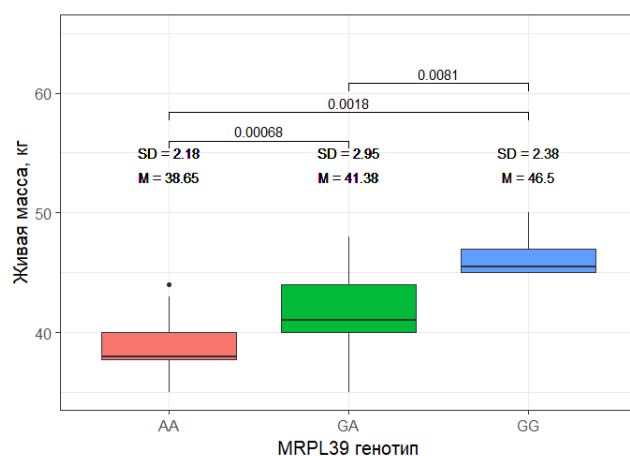
AA(11) AG(14) GG(23)



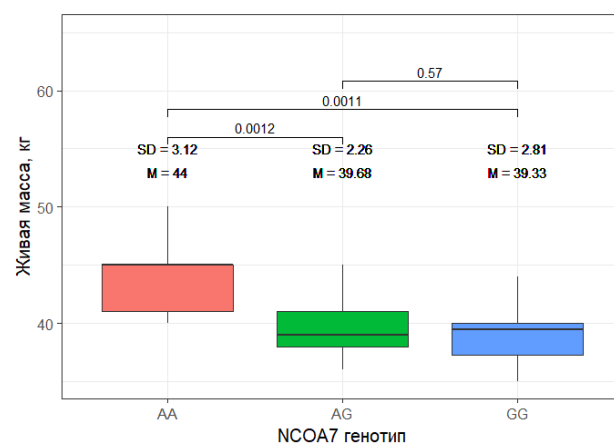
AA(24) GA(19) GG(5)



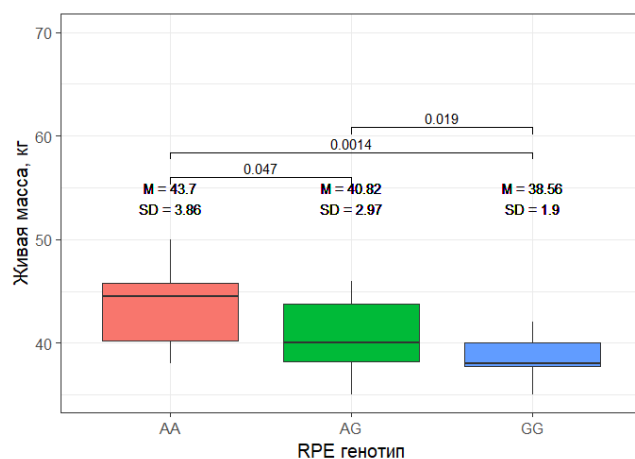
AA(14) CA(21) CC(13)



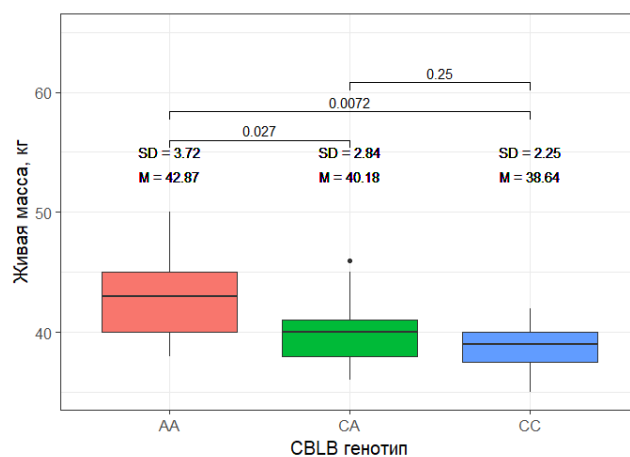
AA(20) GA(24) GG(4)



AA(9) AG(20) GG(19)



AA(10) AG(22) GG(16)



AA(15) CA(22) CC(11)

Рисунок 28 – Живая масса овцематок волгоградской породы различных генотипов по 10 ДНК-полиморфизмам.

М-среднее значение живой массы, SD – стандартное отклонение, достоверность различий средних (p) для каждой пары генотипов показана в верхней части диаграмм

Гены, в которых один из генотипов был представлен 1-3 носителями из анализа исключались, т.к. для них невозможно было получить достоверные расчеты средней живой массы. Для каждого полиморфизма под соответствующей ему диаграммой приведено количественное соотношение наблюдаемых в выборке генотипов. Блочные диаграммы расположены в порядке уменьшения значений индекса генетической дифференциации соответствующего ДНК-полиморфизма.

Сводные данные по блочным диаграммам представлены в Таблице 5. Желательным считался генотип, носители которого демонстрируют большую среднюю живую массу.

Таблица 5 – Живая масса овец волгоградской породы различных генотипов

Ген	Желательный генотип	Генотип сравнения (при $\max p$)	Превышение средней живой массы носителей желательного генотипа (при $\max p$), кг	Достоверность различий средних, p
<i>ENSOARG00020020128</i>	AA	GG	43.11-38.2=4,91	0.00048
<i>CDH11</i>	AA	CC	42.94-38=4,94	0.00043
<i>SYT10</i>	AA	GG	44-39.07=4,93	0.0035
<i>RGMA</i>	AA	GG	43.64-39.09=4,55	0.0015
<i>RPS3</i>	AA	GA	42.25-39=3,25	0.0023
<i>ENSOARG00020013730</i>	AA	CC	42.29-39.15=3,14	0.022
<i>MRPL39</i>	GG	AA	46.5-38.65=7,85	0.0018
<i>NCOA7</i>	AA	GG	44-39.33=4,67	0.0011
<i>RPE</i>	AA	GG	43.7-38.56=5,14	0.0014
<i>CBLB</i>	AA	CC	42.87-38.64=4,23	0.0072

Блочные диаграммы (Рисунок 28) и сводная Таблица 5 для волгоградской породы показывают, что все отобранные ДНК-полиморфизмы влияют на показатель живой массы (уровень статистической значимости $p < 0.05$). Максимальное значение различия средних, в 7.85 кг (при $p = 0.0018$), наблюдается по генотипам в ДНК-полиморфизме гена *MRPL39*, а минимальное в 3.14 кг для генотипов в ДНК-полиморфизме гена *ENSOARG00020013730* (при этом $p = 0.022$). Влияние гена *MRPL39* требует дальнейшего внимательного изучения. С одной

стороны, обнаружен один “выброс” для генотипа AA, отсутствие которого еще более увеличило бы различие по массе между генотипами AA и GG. В то же время, генотип GG представлен лишь 4 животными.

В целом, диапазон различий средних значений живой массы между генотипами генов-кандидатов у овец волгоградской породы составляет 3.14-7.85 кг. Желательными генотипами, дающими носителям преимущество в живой массе, по 10 ДНК-полиморфизмам являются гомозиготы AA, только для полиморфизма в гене *MRPL39* гомозиготы GG превосходят по исследуемому показателю других животных.

ДНК-полиморфизмы в генах *ENSOARG00020020128*, *CDH11*, *SYT10*, имеющие максимальные значения индекса генетической дифференциации F_{ST} , обуславливают стабильное превышение живой массы у гомозигот AA на ≈ 5 кг. Значение F_{ST} для полиморфизма в гене *RPS3* не очень согласуется с различием средних, однако на блочной диаграмме видно, что животных с генотипом GG по этому гену выявлено только 5 голов, при этом в той же группе наблюдается “выброс”.

Для представителей двух пород овец – южной мясной и волгоградской выявлены ДНК-полиморфизмы, связанные с показателем живой массы. Для подробного анализа влияния полиморфизмов на исследуемый показатель, отобраны варианты, имеющие наибольшее значение индекса генетической дифференциации. Построены и проанализированы блочные диаграммы.

Интересно отметить большее разнообразие генотипов у волгоградской породы, для которой лишь по генам *RPS3* и *MRPL39* генотип GG наблюдался в 5 и 4 случаях соответственно. В основном соотношение числа особей с одним из трех генотипов было приблизительно одинаковым. По причине малого числа выявленных носителей определенных генотипов из анализа были исключены некоторые ДНК-полиморфизмы, однако расширение выборки, вероятно, позволило бы оценить их влияние на живую массу.

У южной мясной на блочных диаграммах представлены ДНК-полиморфизмы генов *ENSOARG00020017606*, *NDFIP*, *LRRC1*, для которых выявлено соответственно 3 овцы с GG генотипом, 2 – с AA генотипом и 5 - с AA. В частности, для гена LOC101104591 с единственной гомозиготой AA, имеющего высокое значение F_{ST} и демонстрирующего высокий уровень достоверности различий средних живых масс, блочная диаграмма не представлена.

На основании анализа блочных диаграмм средней живой массы носителей различных генотипов ДНК-полиморфизмов и сводных таблиц можно сделать вывод о том, что все ДНК-полиморфизмы, выявленные методом расчета индексов генетической дифференциации, в большей или меньшей степени связаны с исследуемым показателем живой массы овец. Для демонстрации отобраны по 10 ДНК-полиморфизмов для каждой породы, по которым удалось построить наиболее наглядные блочные диаграммы.

Необходимо отметить, что разница в живой массе представителей двух пород не показательна, т.к. с одной стороны, волгоградская и южная мясная породы имеют разное направление хозяйственного использования, с другой, животные содержались в разных условиях, с различными рационами питания.

Функции и метаболические процессы, в которых участвуют гены-кандидаты живой массы, в которых локализованы значимые ДНК-полиморфизмы, выявленные в ходе исследования, были изучены с помощью баз данных открытого доступа – NCBI, Ensembl, String DB и Gene Cards (для случаев, когда искомый ген был описан только у человека или модельных организмов). Для белков, вовлеченных в сложные метаболические процессы, представлены соответствующие рисунки, выполненные в БД String.

Ниже представлены данные по белковым продуктам генов, в которых локализованы значимые ДНК-полиморфизмы, ассоциированные с живой массой у южной мясной породы овец.

U6 мяРНК – (*U6 snRNA* - spliceosomal tri-snRNP complex assembly) малая не кодирующая ядерная РНК – образует рибонуклеопротеидный комплекс, который

взаимодействует с другими мРНК, белками и немодифицированной пре-мРНК, образуя сплайсосому – структуру, обеспечивающую вырезание интронов из пре-мРНК. *U6* мРНК является самой консервативной из семейства пяти мРНК, участвующих в образовании сплайсосомы, поэтому считается наиболее важной ее структурой. В геноме позвоночных обнаружено множество копий гена *U6* мРНК, что говорит о ее важности для выживания организма. Образуя комплекс трех рибонуклеопротеидов и пре-мРНК, *U6* мРНК выполняет задачу приведения каталитического сайта к участку сплайсинга.

LRRC1 (*Leucine rich repeat containing 1*) – белковый продукт гена вовлечен в ряд биологических процессов: формирование и поддержание полярности эпителиальных клеток, внутриклеточный транспорт белков, транспорт нейротрансмиттеров к плазматической мембране (Рисунок 29). Локализован в цитозоле, в основном, обнаруживается в синапсах нейронов. Высокий уровень экспрессии в прямой кишке и щитовидной железе. Третичная структура неизвестна.

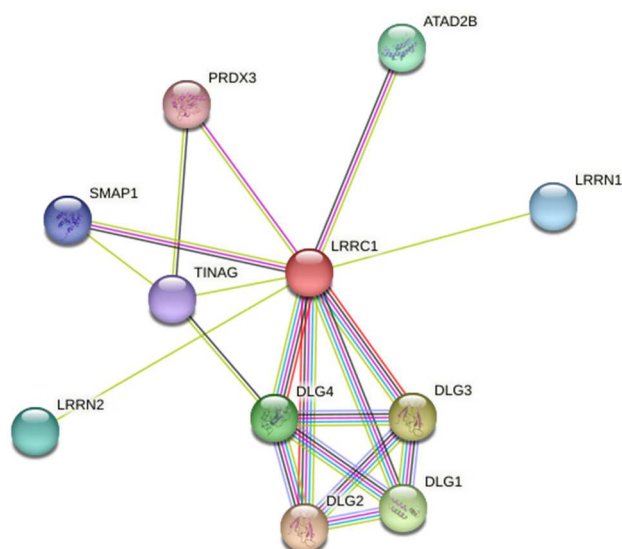


Рисунок 29 – Белок-белковые взаимодействия продукта гена *LRRC1* (обозначен красным шаром)

Линии: роз – экспериментально выявленное взаимодействие, гол – из анализа баз данных, черн – коэкспрессия, желт- из опубликованных данных, красн.-слияние генов

FAM114A1 (Family with sequence similarity 114, member A1) – белок, кодируемый геном, принадлежит к семейству FAM114. Может играть важную роль в развитии нейронов. Обнаружен в цитозоле, аппарате Гольджи и нуклеоплазме. Участвует в формировании калиевых каналов. Для него известен альтернативный сплайсинг и ряд транскриптов. Третичная структура неизвестна.

SEZ6L (Seizure related 6 homolog (mouse)-like) – участие в развитии нервной системы и регуляции передачи сигналов. Локализуется и функционирует в ЭПР нейронов.

LY6D (Lymphocyte antigen 6 complex, locus D) – участвует в дифференцировке лимфоцитов, активации лимфоцитов и лейкоцитов, гематopoэтических процессах и развитии лимфоидной системы, участвует в реакции на химические стимулы. Являясь трансмембранным белком, активен на поверхности клетки. Маркирует самый ранний этап дифференциации В-лимфоцитов. Среди связанных с ним путей - метаболизм белков и посттрансляционная модификация, в частности синтез GPI-белков – гликолипидов, играющих роль рецепторов на поверхности клетки.

LOC101104591 (FMO6P - Flavin containing monooxygenase 6 pseudogene) – белок, кодируемый геном, имеет несколько синонимичных названий (Рисунок 30).

Участвует в окислительно-восстановительных процессах и связывании НАДФ и нуклеозидфосфатов, в синтезе стероидных гормонов и метаболизме линолевой кислоты, обладает N-N-диметиланилин монооксигеназной активностью. Компонент мембраны ЭПР. Третичная структура неизвестна.

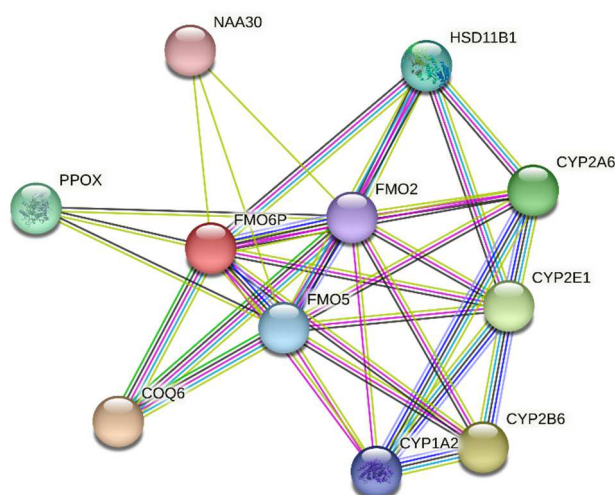


Рисунок 30 – Белок-белковые взаимодействия продукта гена *FMO6P* (*LOC101104591*) (обозначен красным шаром).

Линии: роз – экспериментально выявленное взаимодействие, гол – из баз данных, черн – коэкспрессия, желт- из опубликованных данных, красн.-слияние генов

NDFIP1 (*NEDD4 family-interacting protein 1*) – белок, кодируемый этим геном, принадлежит к малой группе эволюционно консервативных белков с тремя трансмембранными доменами (Рисунок 31). Является мишенью для убиквитинирования белками семейства *NEDD4*. *NDFIP1* считается частью семейства интегральных белков мембраны аппарата Гольджи. Регулирует иммунный ответ 2 типа, экспрессию генов, продукцию интерлейкина-4, дифференцировку лимфоцитов, транспорт белков, подавляет развитие воспалительной реакции и калиевых каналов.

Участвует во множестве сигнальных реакций с участием цитокинов, играет важную роль в катаболизме белков. Регулирует толерантность периферических Т-лимфоцитов к своим и чужим антигенам. Защищает кортикальные нейроны от токсичности кобальта и железа, важен для нормального развития дендритов и их отростков в коре головного мозга. Способствует гибели бета-клеток поджелудочной железы, что приводит к снижению секреции инсулина. Третичная структура неизвестна.

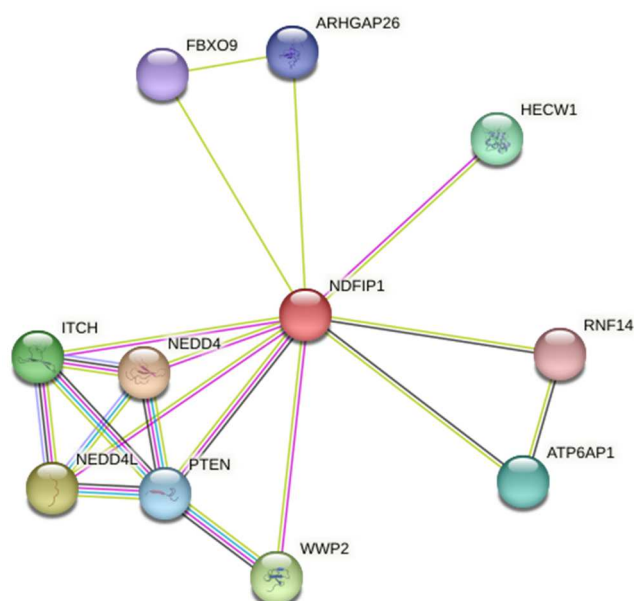


Рисунок 31 – Белок-белковые взаимодействия продукта гена *NDFIP1* (обозначен красным шаром).

Линии: роз – экспериментально выявленное взаимодействие, гол – из баз данных, черн – коэкспрессия, желт- из опубликованных данных, красн.-слияние генов

Далее рассмотрены функции белковых продуктов генов, в которых локализованы значимые ДНК-полиморфизмы, ассоциированные с живой массой овец волгоградской породы.

CDH11 (*Cadherin 11*) - этот ген кодирует классический кадгерин II типа из суперсемейства кадгеринов, интегральных мембранных белков, осуществляющих межклеточную адгезию (Рисунок 32). Другие функции - связывание ионов кальция и других катионов, участие в морфогенезе клеток. Повышенная экспрессия *CDH11* в линиях остеобластов позволяют предположить его участие в развитии костей.

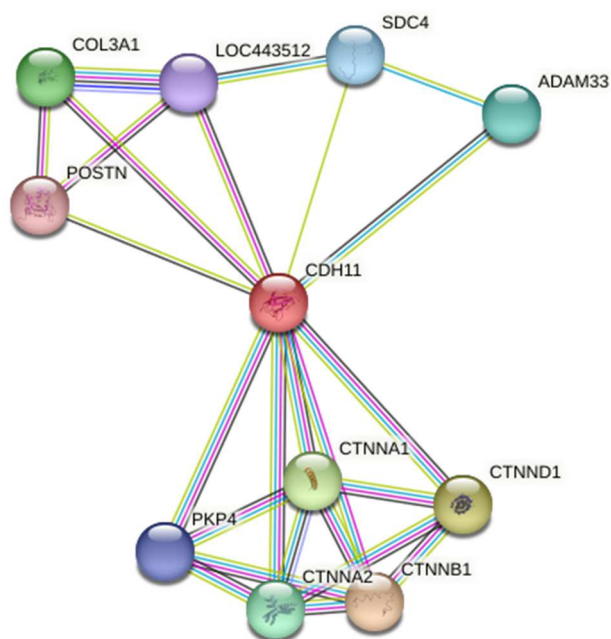


Рисунок 32 – Белок-белковые взаимодействия продукта гена *CDH11* (обозначен красным шаром).

Линии: роз – экспериментально выявленное взаимодействие, гол – из баз данных, черн – коэкспрессия, желт- из опубликованных данных, красн.-слияние генов

SYT10 (*Synaptotagmin 10*) – мембранный белок, кодируемый этим геном, обеспечивает выполнение нескольких функций, включая связывание фосфолипидов, ионов кальция, димеризацию белков и связывание синтаксина (Рисунок 33). Предположительно участвует в регуляции клеточной секреции (экзоцитоз) и сенсорном восприятии запахов.

RGMA (*Repulsive Guidance Molecule BMP Co-Receptor A*) - ген кодирует мембранный белок из семейства молекул-ориентировщиков (Рисунок 34). Кодируемый белок представляет собой гликозилфосфатидилинозитол, направляющий аксоны в развивающейся и зрелой центральной нервной системе. Может также функционировать как супрессор некоторых видов раковых опухолей. Регулирует закрытие головной нервной трубки. Также функционирует как корецептор BMP (bone morphogenetic protein). Участвует в клеточной

коммуникации и передаче сигналов, задействован формировании клеточного ответа на стресс и факторы роста.

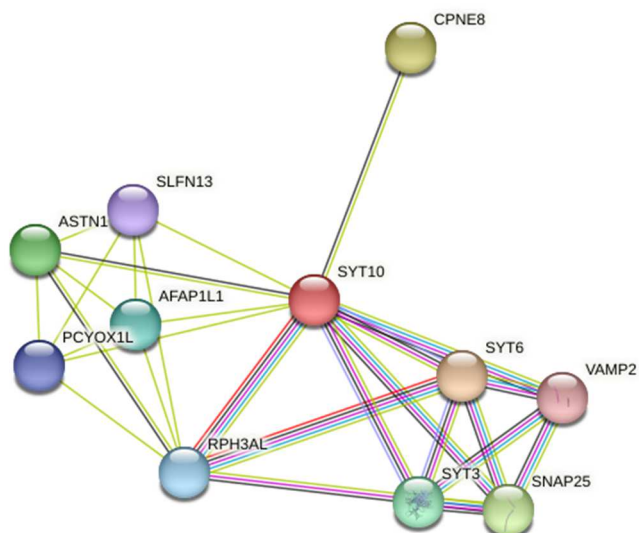


Рисунок 33 – Белок-белковые взаимодействия продукта гена *SYT10* (обозначен красным шаром).

Линии: роз – экспериментально выявленное взаимодействие, гол – из баз данных, черн – коэкспрессия, желт- из опубликованных данных, красн.-слияние генов

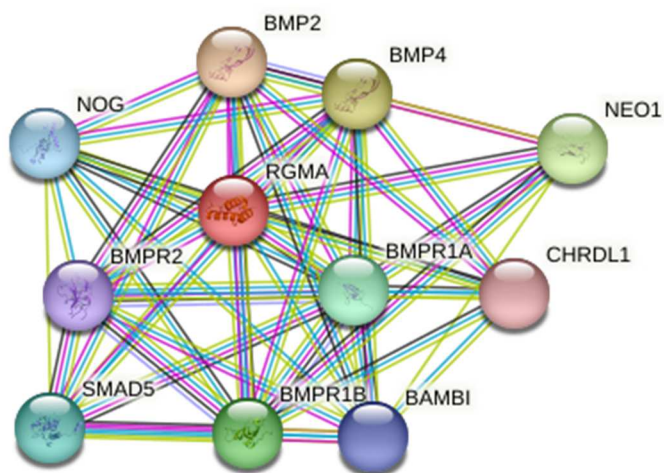


Рисунок 34 – Белок-белковые взаимодействия продукта гена *RGMA* (обозначен красным шаром).

Линии: роз – экспериментально выявленное взаимодействие, гол – из баз данных, черн – коэкспрессия, желт- из опубликованных данных, красн.-слияние генов

RPS3 (Ribosomal Protein S3) - ген кодирует рибосомальный белок, который является компонентом субъединицы 40S, где образует часть домена инициации трансляции (Рисунок 35). Исследования показали, что белок играет экстрарибосомальную роль в качестве эндонуклеазы, участвующей в восстановлении повреждений ДНК, вызванных ультрафиолетовым излучением (расщепляет фосфодиэфирные связи ДНК, содержащих измененные основания). Белок, локализуется в цитоплазме и ядре, но не в ядрышке. Участвует в трансляции в качестве компонента 40S малой субъединицы рибосомы, участвует в индукции апоптоза, активируя CASP8, индуцирует апоптоз нейронов, взаимодействуя с фактором транскрипции E2F1.

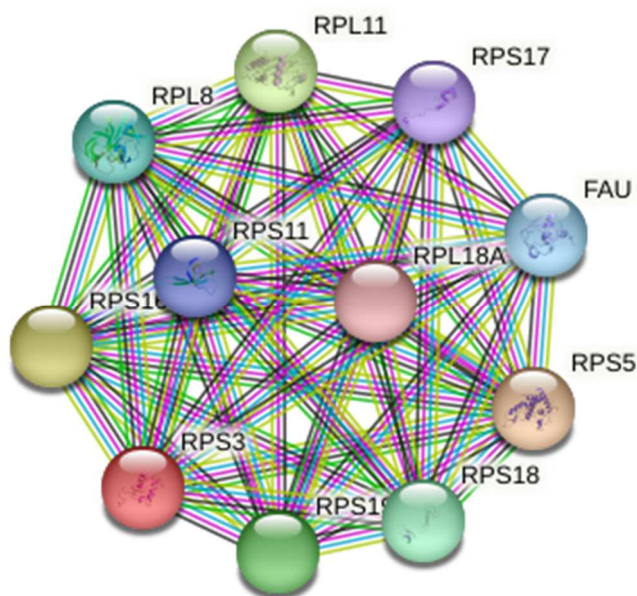


Рисунок 35 – Белок-белковые взаимодействия продукта гена *RPS3* (обозначен красным шаром).

Линии: роз – экспериментально выявленное взаимодействие, гол – из баз данных, черн – коэкспрессия, желт- из опубликованных данных, красн.-слияние генов

MRPL39 (Mitochondrial Large Ribosomal Subunit Protein ML39) – ген кодирует 39S-субъединицу белка митохондриальной рибосомы (Рисунок 36). Функции – участие в синтезе белка в митохондриях, т.е. связывание РНК и нуклеотидов.

NCOA7 (Nuclear Receptor Coactivator 7) – белок, кодируемый геном, обеспечивает активацию ядерных рецепторов (Рисунок 37). Участвует в положительной регуляции транскрипции РНК-полимеразой II. Усиливает транскрипционную активность нескольких ядерных рецепторов. Участвует в коактивации ряда ядерных рецепторов, таких как ESR1, THRB, PPARG и RARA. Ответ на окислительный стресс, регуляция процессов синтеза макромолекул и экспрессии некоторых генов, связывание факторов транскрипции. Третичная структура неизвестна.

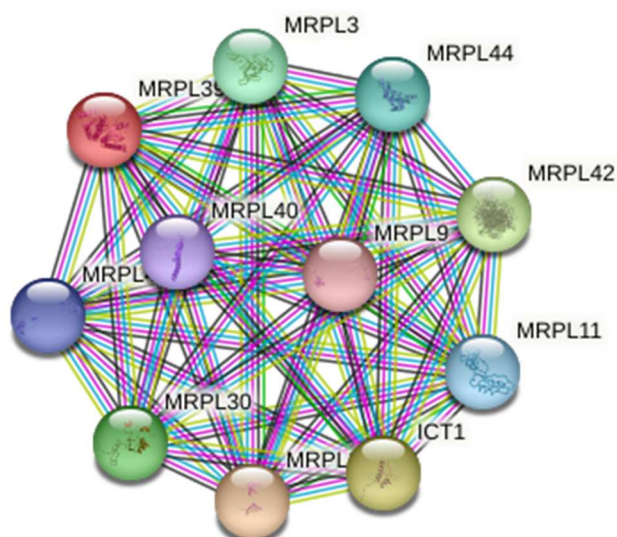


Рисунок 36 – Белок-белковые взаимодействия продукта гена *MRPL39* (обозначен красным шаром).

Линии: роз – экспериментально выявленное взаимодействие, гол – из баз данных, черн – коэкспрессия, желт- из опубликованных данных, красн.-слияние генов

RPE – (Ribulose-5-Phosphate-3-Epimerase) – белок участвует в связывании ионов металлов, гомодимеризации белков и регуляции активности рибулозофосфат-3-эпимеразы и рацемазы, восстановлении НАДФН (Рисунок 38). Является важным участником углеводного обмена и пентозофосфатного пути. Содержится во внеклеточной экзосоме.

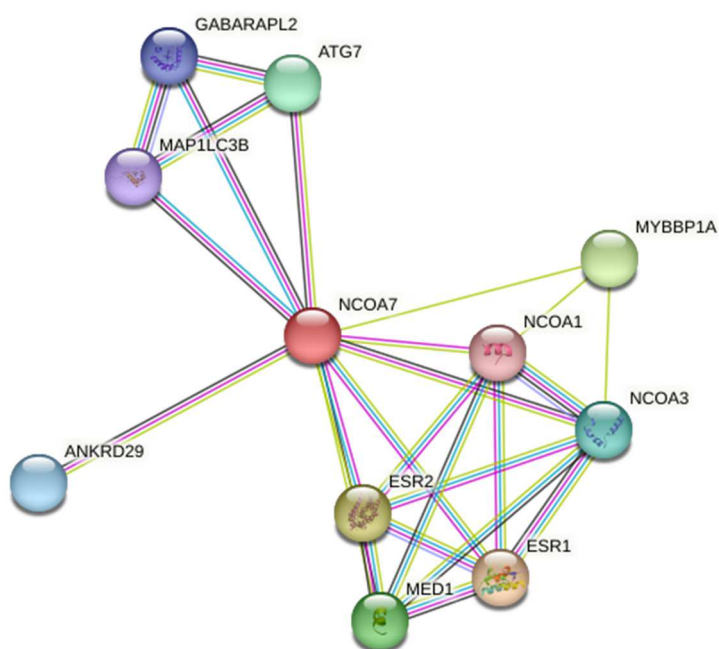


Рисунок 37 – Белок-белковые взаимодействия продукта гена *NCOA7* (обозначен красным шаром).

Линии: роз – экспериментально выявленное взаимодействие, гол – из баз данных, черн – коэкспрессия, желт- из опубликованных данных, красн.-слияние генов

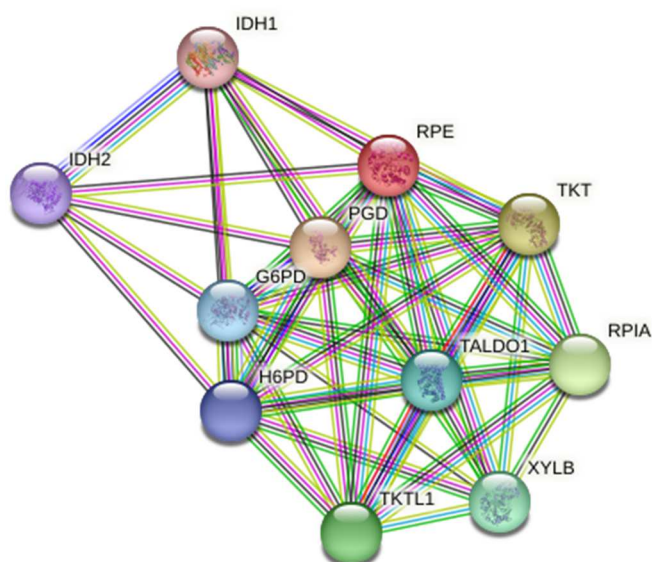


Рисунок 38 – Белок-белковые взаимодействия продукта гена *RPE* (обозначен красным шаром).

Линии: роз – экспериментально выявленное взаимодействие, гол – из баз данных, черн – коэкспрессия, желт- из опубликованных данных, красн.-слияние генов

CBLB (Cbl Proto-Oncogene B) - ген кодирует убиквитин-белковую лигазу E3, которая способствует опосредованной протеасомами деградации белка (Рисунок 39). Кодированный белок участвует в регуляции иммунного ответа путем ограничения рецепторов Т-клеток, В-клеток и высокоаффинного эpsilon-рецептора иммуноглобулина. Исследования на мышах показали участие белка CBLB в противогрибковой защите организма-хозяина. Более подробное исследование и, возможно, воздействие на уровень экспрессии гена *CBLB* может быть полезным при проведении иммунотерапии аутоиммунных заболеваний некоторых видов рака, аллергий и инфекций. Помимо убиквитин-протеин трансферазной активности известно участие CBLB в связывании ионов кальция.

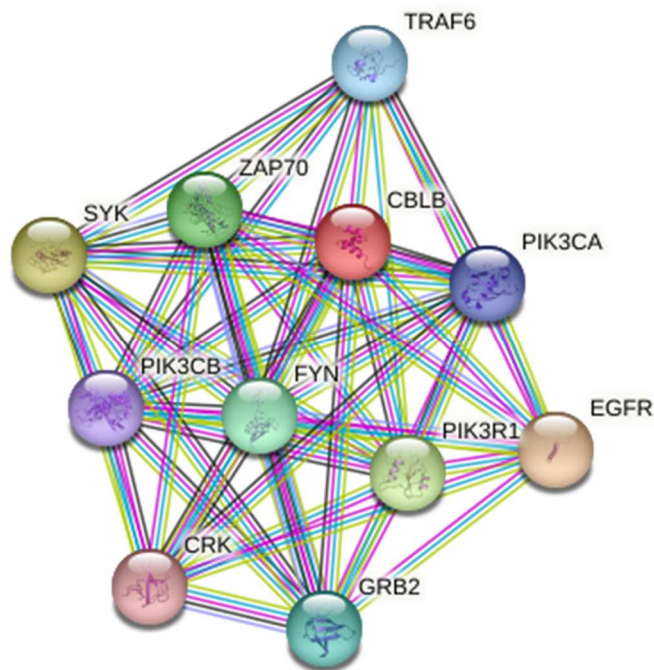


Рисунок 39 – Белок-белковые взаимодействия продукта гена *CBLB* (обозначен красным шаром).

Линии: роз – экспериментально выявленное взаимодействие, гол – из баз данных, черн – коэкспрессия, желт- из опубликованных данных, красн.-слияние генов

Исследование функций белковых продуктов позволяет сделать некоторые обобщения. Интересно отметить, что для всех продуктов генов-кандидатов у южной мясной породы неизвестна третичная структура и они не образуют столь сложно разветвленных взаимодействий, как некоторые из продуктов генов-кандидатов у волгоградской породы.

В общем, белковые продукты генов-кандидатов живой массы овец южной мясной породы можно разделить по функциям на следующие группы: участвующие в развитии и функционировании нервной системы (LRRC1, SEZ6L, FAM114A1), так или иначе задействованные в формировании и функционировании иммунитета (LY6D, NDFIP1), участие в окислительно-восстановительных реакциях (LOC101104591) и участие в сплайсинге (мяРНК U6). Локализация в клетке напрямую зависит от выполняемых функций: LRRC1 и FAM114A1 обнаружены в цитоплазме клетки, SEZ6L и LOC101104591 – в мембранах ЭПР, LY6D и NDFIP1 являются трансмембранными белками.

Функции белковых продуктов генов-кандидатов живой массы, выявленных у волгоградской породы, значительно более разнообразны, но, в основном связаны с процессами синтеза и обмена. Так RPS3 и MRPL39 – являются структурными компонентами малых субъединиц рибосом цитоплазмы и митохондрий соответственно, а белок NCOA7, локализованный в ядре, участвует в регуляции транскрипции. CBLB помимо участия в формировании иммунного ответа, задействован в протеолизе и вместе с белком межклеточной адгезии CDH11 и еще одним мембранным белком SYT10 осуществляет транспорт ионов кальция. RPE – ключевой участник пентозофосфатного пути, и RGMA – рецептор факторов роста, также являются белками плазматической мембраны. За исключением SYT10 и NCOA7, третичная структура рассмотренных белков известна.

Белковые продукты генов типа *ENSOARG* малоизучены, поэтому информация о них в публичных базах данных отсутствует.

В ходе картирования значимых ДНК-полиморфизмов, проведенного с помощью VEP Ensembl было установлено, что у представителей обеих пород

полиморфизмы с высокими значениями F_{ST} оказались в пределах гена *EBF1* (Таблица 6). Несмотря на то, что у южной мясной породы значение индекса генетической дифференциации не преодолело установленный порог в 0.55, оно достаточно велико. В связи с этим, влияние обнаруженных значимых ДНК-полиморфизмов и функции гена *EBF1* были рассмотрены более подробно.

Таблица 6 – Значимые ДНК-полиморфизмы в гене *EBF1*

Порода	SNPs	Значение F_{ST}	Локализация	rs
Волгоградская	OAR5_74249563.1	0.579542	downstream_gene_variant	rs404567493
Южная мясная	OAR5_74606882.1	0.537658	intron_variant	rs427770093

У овец волгоградской породы по ДНК-полиморфизму OAR5_74249563.1 обнаружены 2 гомозиготы AA, 15 гетерозигот AG и 31 гомозигота GG. Согласно блочной диаграмме (Рисунок 40) желательным генотипом является AA. Однако малое количество его носителей и их одинаковая живая масса (45 кг) не дают возможности сделать обоснованные выводы о его влиянии на исследуемый показатель. Более значимо различие по живой массе (на 3.55 кг больше) гетерозигот AG и гомозигот GG ($p=0.0035$).

У овец южной мясной породы по ДНК-полиморфизму OAR5_74606882.1, расположенному в интроне гена *EBF1*, обнаружено 8 гомозигот AA, 26 гетерозигот AG и 13 гомозигот GG (Рисунок 41). Желательным считался генотип AA, т.к. его носители демонстрировали среднюю живую массу на 12.79 кг больше ($p=0.0045$) по сравнению с животными генотипа GG.

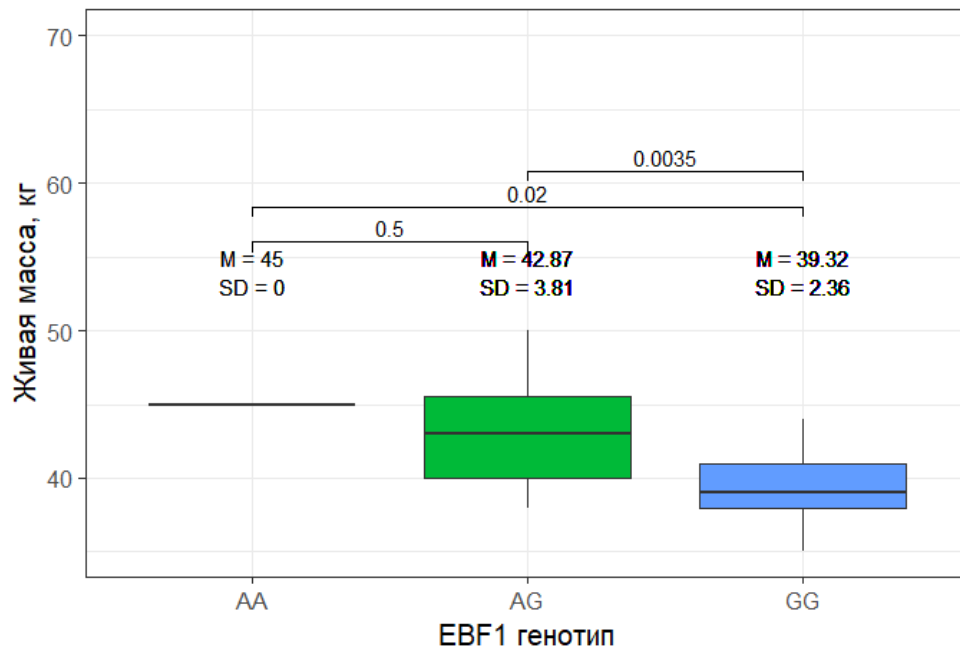


Рисунок 40 – Живая масса овец волгоградской породы различных генотипов по rs404567493. М-среднее значение живой массы, SD – стандартное отклонение, достоверность различий средних (p) для каждой пары генотипов показана в верхней части диаграмм

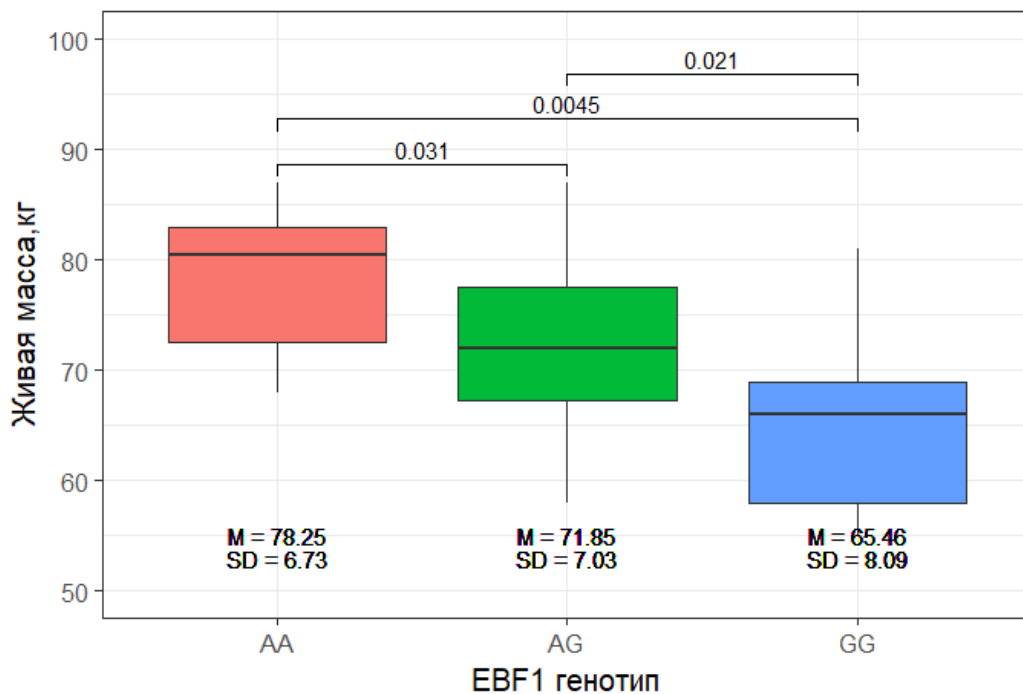


Рисунок 41 – Живая масса овцематок южной мясной породы различных генотипов по rs427770093.

М-среднее значение живой массы, SD – стандартное отклонение, достоверность различий средних для каждой пары генотипов показана в верхней части диаграмм

Ген *EBF1* (*EBF transcription factor 1*) локализован на 5 хромосоме (OAR5) в геноме овец. Его белковый продукт участвует в ряде биологических процессов: связывание ионов металлов, регуляция биосинтеза и метаболизма макромолекул, развитие многоклеточных организмов и т.д. (Рисунок 42). Однако все эти функции обусловлены его ключевой ролью. Являясь регулятором транскрипционной активности, EBF1 модулирует транскрипцию ряда генов путем селективного нековалентного связывания со специфической двухцепочечной последовательностью ДНК в пределах цис-регуляторной области (промотор или энхансеры). По данным из NCBI у овец наибольшая экспрессия гена *EBF1* наблюдается в большом сальнике.

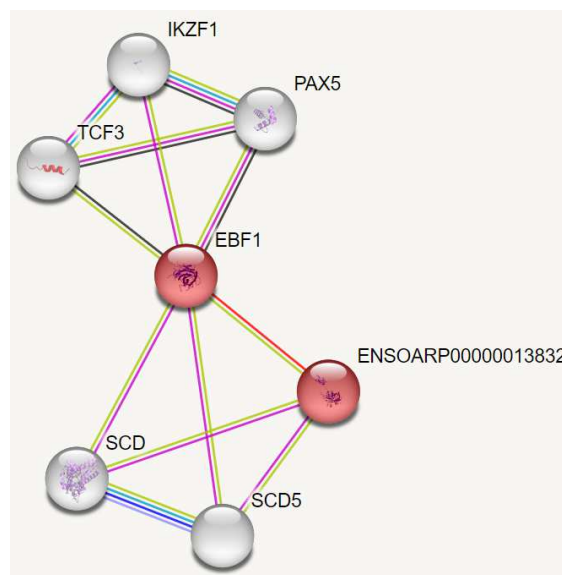


Рисунок 42 – Белок-белковые взаимодействия продукта гена *EBF1* (обозначен красным шаром).

Линии: роз – экспериментально выявленное взаимодействие, гол – из баз данных, черн – коэкспрессия, желт- из опубликованных данных, красн.-слияние генов

Проведенный анализ средней живой массы овец различных генотипов по двум ДНК-полиморфизмам, локализованным в гене *EBF1*, демонстрирует влияние гена на исследуемый признак. Обнаружены значимые различия по средней живой массе по полиморфизму OAR5_74249563.1 между овцами волгоградской породы с генотипами AG и GG, при этом гетерозиготы превосходили по этому показателю

на 3.55 кг. Генотип AA по полиморфизму OAR5_74606882.1 у южной мясной породы обуславливает его преимущество по сравнению с овцами генотипа GG на 12.79 кг.

Ген *EBF1* является перспективным маркером продуктивности овец, в связи с чем представляет интерес его дальнейшее исследование как у представителей других пород, так и на больших выборках южной мясной и волгоградской пород.

3.4. Влияние идентифицированных ДНК-полиморфизмов, ассоциированных с живой массой овец южной мясной и волгоградской пород, на их плодовитость

Не менее важным признаком, чем живая масса, в мясном овцеводстве является плодовитость овцематок. Так как плодовитость также является полигенным признаком, с еще более низким коэффициентом наследуемости, чем ростовые показатели, необходимо исследовать влияние генов-кандидатов живой массы на плодовитость, чтобы в разведении исключить их негативное влияние на рост численности стада.

Для овец южной мясной породы были рассмотрены данные за 5 последовательных ягнений и сопоставлены с известными генотипами генов-кандидатов. Результаты исследования влияния генотипов генов-кандидатов живой массы на плодовитость в контрольной и опытной группах представлены в Таблице 7.

Таблица 7 – Влияние локализованных ДНК-полиморфизмов на плодовитость овцематок южной мясной породы

Ген	Желательный генотип	Одинцовые ягнения овцематок	Двойневые ягнения овцематок
<i>ENSOARG00020003076</i>	AA	14	10
<i>LY6D</i>	AA	5	3
<i>FAM114A1</i>	GG	8	4
<i>ENSOARG00020017606</i>	AA	11	8
<i>ENSOARG00020014128</i>	GG	11	7
<i>ENSOARG00020002577</i>	GG	10	6
<i>U6</i>	GG	14	8
<i>NDFIP1</i>	GG	13	13
<i>NDFIP1*</i>	GG	11	12
<i>LRRC1</i>	GG	17	8

Из данных Таблицы 7 следует, что нет никакой закономерности в распределении желательных генотипов по выявленным ДНК-полиморфизмам в генах-кандидатах живой массы у плодовитых и менее плодовитых овцематок. Т.е. нет ни подавления фертильности со стороны исследованных ДНК-полиморфизмов, ни их положительного влияния на этот показатель – соотношение генотипов в опытной и контрольной группах близко к 1:2, что согласуется с численным соотношением животных в контрольной и опытной группах. Исключение составляют ДНК-полиморфизмы, локализованные в гене *NDFIP1*, численность желательного генотипа которых равна в двух группах. Это свидетельствует о положительном влиянии гена *NDFIP1* не только на живую массу овец, но и на их плодовитость. Различия достоверны: для первого полиморфизма $\chi^2=1.23$ (доверительная вероятность - 0.95, число степеней свободы - 1) и для полиморфизма *NDFIP1** $\chi^2=1.39$ (доверительная вероятность - 0.95, число степеней свободы - 1). Вышесказанное делает подробное исследование гена *NDFIP1* представляющим особый интерес.

Данные о типах ягнения волгоградских овец за 4 года были сопоставлены с генотипами генов-кандидатов живой массы (Таблица 8). Матки, имевшие за этот период лишь одинцовые или одно двойневое ягнение, были отнесены к

контрольной группе. Опытная группа была представлена 12 овцематками с двумя двойнями за 4 года наблюдений.

Таблица 8 – Влияние локализованных ДНК-полиморфизмов на плодовитость овцематок волгоградской породы

Ген	Желательный генотип	Одинцовые ягнения овцематок	Двойневые ягнения овцематок
<i>ENSOARG00020020128</i>	AA	13	6
<i>CDH11</i>	AA	10	6
<i>SYT10</i>	AA	4	2
<i>RGMA</i>	AA	8	3
<i>RPS3</i>	AA	16	8
<i>ENSOARG00020013730</i>	AA	6	8
<i>MRPL39</i>	GG	2	2
<i>NCOA7</i>	AA	4	5
<i>RPE</i>	AA	7	3
<i>CBLB</i>	AA	11	4

Анализ влияния 10 рассмотренных ДНК-полиморфизмов, ассоциированных с живой массой на плодовитость овец волгоградской породы, не позволяет сделать обоснованных выводов об их влиянии на второй показатель. Соотношение по количеству особей с желательным генотипом в двух группах выглядит случайным, варьирует от 1:1 (по гену *MRPL39*) до 1:3 (по гену *CBLB*). Перспективным выглядит изучение ДНК-полиморфизмов в генах *ENSOARG00020013730* ($\chi^2=1.125$, доверительная вероятность - 0.95, число степеней свободы - 1) и *NCOA7* ($\chi^2=2$, доверительная вероятность - 0.95, число степеней свободы - 1), количество особей с желательным генотипом по которым в опытной группе, достоверно превышает таковое в контрольной группе.

Также было рассмотрено влияние полиморфизмов гена *EBF1* на плодовитость исследуемых пород овец (Таблица 9). По SNP OAR5_74606882.1 у овцематок южной мясной породы численное соотношение по генотипам AA и AG было близко к 1:2 в контрольной и опытной группах, однако по генотипу GG количество овцематок с одинцовыми ягнениями (9 гол.) в три раза превосходило овцематок того же генотипа с двойнями (3 гол.). Что может говорить о негативном

влиянии генотипа GG как на живую массу, так и, косвенно, на плодовитость его носителей.

Таблица 9 – Влияние ДНК-полиморфизмов гена *EBF1* на плодовитость овцематок волгоградской и южной мясной пород

Порода	Полиморфизм	Генотип	Одинцовые ягнения овцематок	Двойневые ягнения овцематок
Волгоградская	OAR5_74249563.1	AA	1	1
		AG	10	5
		GG	20	6
Южная мясная	OAR5_74606882.1	AA	5	3
		AG	16	10
		GG	9	3

У овец волгоградской породы по генотипу GG SNP OAR5_74249563.1 наблюдалось соотношение 1:3, согласующееся с количественным соотношением овцематок в двух группах. В обе группы попало по одному животному с генотипом AA. По генотипу AG преимущество было у овцематок из опытной группы, соотношение сместилось к 1:2. Вероятно косвенное положительное влияние гетерозиготного генотипа на плодовитость.

В ходе анализа влияния генов-кандидатов живой массы на показатели плодовитости у овец подавления плодовитости у овец с высокой живой массой не выявлено. Особого внимания и дальнейшего изучения на бóльших выборках заслуживают гены *NDFIP1* у южной мясной и *ENSOARG00020013730* и *NCOA7* у волгоградской породы, а также ген *EBF1* у представителей обеих пород.

Интересно рассмотреть подробнее генотипы наиболее перспективных по плодовитости и живой массе ягнят при отъеме овцематок южной мясной породы, представленных в Таблице 1. Сводная таблица генотипов генов-кандидатов у овцематок южной мясной породы приведена в Таблице 10. Овцематка №4596 не была генотипирована, поэтому сравнение генотипов генов-кандидатов было проведено по 6 животным. Важно отметить, что из 6 проанализированных овец, только одна при расчете индекса генетической дифференциации была отнесена к

опытной группе по живой массе (№3574 - 81 кг), однако в контрольную группу не попало ни одно из 6 животных, живая масса их находилась в диапазоне 63-78 кг. По гену *LY6D* в рассматриваемой выборке не было обнаружено ни одной овцематки с желательным генотипом AA.

По генам *ENSOARG00020014128* и *ENSOARG00020002577* по две овцематки имеют желательные генотипы GG. Желательные генотипы GG по генам *FAM114A1* и *U6* имели по три овцематки. Наконец по генам *ENSOARG00020003076* и *ENSOARG00020017606* четыре овцематки из шести имели генотипы AA, дающие преимущество по живой массе их носителям. Ген *NDFIP1* можно рассмотреть отдельно, т.к. по одному из его полиморфизмов количество носителей желательного генотипа равно четырем, по второму – трем особям. Генотипы овцематок представлены в Таблице 3 приложения.

Можно сделать вывод о том, что по ряду генов-кандидатов отобранные на этапе обработки фенотипических данных наиболее перспективные для разведения овцематки, в основном, имеют желательные генотипы. Эти генотипы дают им преимущество, как в плане наращивания живой массы (ни одна из овцематок не попала в контрольную с минимальным показателем живой массы), так и в воспроизводительных качествах, о чем говорит их более высокая плодовитость и высокая масса их ягнят при отъеме. Эти результаты подтверждают выявленную в ходе статистической обработки данных о живой массе и типе ягнения (п. 3.1) положительную корреляцию между показателями живой массы и плодовитости у овцематок южной мясной породы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе проведено исследование ключевых для мясного овцеводства ростовых и репродуктивных показателей овцематок южной мясной и волгоградской пород. Актуальность работы продиктована исключительной ценностью этих районированных пород различных направлений хозяйственного использования. Породы являются хорошо адаптированными к природным условиям их создания и зарекомендовали себя высокими показателями продуктивности. Особого внимания требует южная мясная порода по причине ее малой численности. Для сохранения породы и повышения ее продуктивности необходимы детальный учет зоотехнических данных наряду с исследованиями генетических факторов, влияющих на селекционно-значимые показатели. Породоспецифичность ДНК-полиморфизмов, связанных с продуктивными показателями овец, актуализирует поиск новых уникальных генетических вариантов.

Метод полногеномного генотипирования на сегодняшний день является ключевым в поиске ДНК-полиморфизмов, участвующих в формировании полигенных признаков. Метод расчета индекса генетической дифференциации, использованный в работе позволяет даже в малых выборках выявлять значимые генетические варианты, ассоциированные с исследуемыми признаками. Влияние локализованных этим методом ДНК-полиморфизмов подтверждается расчетом различий между средними значениями показателя живой массы у носителей разных генотипов.

В работе были выявлены новые ДНК-полиморфизмы, связанные с показателем живой массы овец волгоградской (38 SNPs) и южной мясной породы (55 SNPs). Паттерны распределения значимых полиморфизмов у представителей двух пород различаются. Количественная оценка влияния выявленных ДНК-полиморфизмов на показатель живой массы овец была проведена для 12 SNPs у овец южной мясной породы и 16 SNPs у овец волгоградской породы. Для

формирования обоснованных выводов были отобраны полиморфизмы с величиной индекса генетической дифференциации >0.55 , т.к. степень влияния полиморфизма на показатель уменьшается пропорционально величине F_{ST} .

Желательные генотипы исследованных ДНК-полиморфизмов обеспечивают превышение средней живой массы овцам южной мясной породы 7.50-12.45 кг; овцам волгоградской породы 3.14-7.85кг.

Было проведено функциональное аннотирование локализованных ДНК-полиморфизмов, связанных с показателем живой массы. Белковые продукты генов-кандидатов живой массы овец южной мясной породы участвуют в развитии и функционировании нервной системы (LRRC1, SEZ6L, FAM114A1), задействованы в формировании и функционировании иммунитета (LY6D, NDFIP1), участвуют в окислительно-восстановительных реакциях (LOC101104591) и сплайсинге (мяРНК U6). Белковые продукты генов-кандидатов живой массы у волгоградской породы связаны с процессами синтеза и обмена (RPS3 и MRPL39 – структурные компоненты малых субъединиц рибосом цитоплазмы и митохондрий соответственно, белок NCOA7 участвует в регуляции транскрипции, CBLB участие в протеолизе, CDH11 и SYT10 - транспорт ионов кальция, RPE – ключевой участник пентозофосфатного пути, RGMA - рецептор факторов роста).

Чтобы исключить негативное влияние выявленных ДНК-полиморфизмов на другие селекционно-значимые показатели было проведено исследование их влияния на плодовитость овцематок. Результаты показали достоверное положительное влияние на формирование двойневых ягнений двух полиморфизмов в генах *ENSOARG00020013730* и *NCOA7* у волгоградской породы и двух полиморфизмов в гене *NDFIP1* у овец южной мясной породы.

Перспективным видится популяционный анализ исследованных в работе пород с целью сравнения их с родительскими породами и поиска, так называемых “подписей селекции” – участков генома, оказавшихся в ходе селекции под давлением отбора.

Интересно также выявить новые ДНК-полиморфизмы, влияющие на формирование ростовых показателей (живой массы) в динамике, то есть на разных этапах развития животных, что потребует строгого учета живой массы в разные периоды жизни овец и вовлечения больших объемов выборок в исследование.

Полученные результаты имеют важное экономическое значение и могут быть эффективно использованы при планировании разведения каждой из исследованных пород овец, что в целом, приведет к улучшению показателей продуктивности животных и повышению рентабельности отрасли мясного овцеводства. Результаты исследования могут быть применены в овцеводстве для разработки молекулярных маркеров селекции, использование которых позволит на ранних этапах развития определять генотип животных и более точно подбирать родительские пары при разведении

Кроме того, результаты исследования, могут быть использованы для разработки программ по сохранению ценного генофонда отечественных пород овец и поддержанию генетического разнообразия.

ВЫВОДЫ

1. Установлена статистически значимая корреляция между живой массой овцематок и их плодовитостью (коэффициент корреляции 0.63, доверительная вероятность $P=0.95$) у овец южной мясной породы. У овцематок волгоградской породы корреляция между этими показателями не обнаружена.
2. Идентифицированы ДНК-полиморфизмы, ассоциированные с живой массой овец: 55 у южной мясной и 38 у волгоградской породы. Показано, что эти ДНК-полиморфизмы уникальны для каждой породы овец.
3. Рассчитано влияние десяти ДНК-полиморфизмов на показатель живой массы у овец волгоградской породы. Максимальный показатель средней живой массы определен у овец с генотипом AA в генах *ENSOARG00020020128* (1:60261739), *CDH11* (14:35636406), *SYT10* (3:194334398), *RGMA* (18:13641484), *RPS3* (15:57695103), *ENSOARG00020013730* (22:33461310), *NCOA7* (8:14173804), *RPE* (2:225966508), *CBLB* (1:187374489) и GG в гене *MRPL39* (1:139453823).
4. Рассчитано влияние десяти ДНК-полиморфизмов на показатель живой массы у овец южной мясной породы. Максимальный показатель средней живой массы определен у овец с генотипом AA в генах *ENSOARG00020003076* (9:10685424), *LY6D* (9:15865246), *ENSOARG00020017606* (15:72511124) и GG в генах *FAM114A1* (6:63727641), *ENSOARG00020014128* (8:4582871), *ENSOARG00020002577* (3:59435548), *U6* (17:78225556), *NDFIP1* (5:55461542), *NDFIP1* (5:55482859), *LRRC1* (20:8258762).
5. Установлено положительное влияние двух ДНК-полиморфизмов на плодовитость овцематок у южной мясной (в гене *NDFIP1* (5:55461542 и 5:55482859)) и двух ДНК-полиморфизмов (в генах *ENSOARG00020013730* (22:33461310) и *NCOA7* (8:14173804)) у волгоградской породы.
6. Выявленные информативные ДНК-полиморфизмы могут быть использованы в качестве маркеров продуктивности для дальнейшей селекции южной мясной и волгоградской пород

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Абдулмуслимов А. М. и др. Анализ полиморфизма генов CAST, GH и GDF9 у овец Дагестанской горной породы //Зоотехния. – 2020. – №. 11. – С. 5-8.
2. Абонеев В. В. и др. Мясная продуктивность овец и факторы её определяющие. – 2011. - 154 с.
3. Алтухов Ю. П. Генетические процессы в популяциях. – Академкнига, 2003.
4. Амерханов Х. А., Колдаева Е. М. Проблемы сохранения породного разнообразия сельскохозяйственных животных в российской федерации //Известия Международной академии аграрного образования. – 2023. – С. 158-161.
5. Бакоев Н. Ф., Гетманцева Л. В. Полиморфизм гена *LEP* и его связь с продуктивными признаками овец //Безопасность и качество сельскохозяйственного сырья и продовольствия. – 2020. – С. 121-124.
6. Вейр Б. Анализ генетических данных. – 1995. – 400 с.
7. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Том 2 «Породы животных» (официальное издание). – М.: ФГБНУ «Росинформагротех». - 2020. – 204 с.
8. ГОСТ 25955–83 Животные племенные сельскохозяйственные. Методы определения параметров продуктивности овец. М.: Ордена «Знак Почета» издательство стандартов, 1984. – 13 с.
9. Данкверт С. А., Холманов А. М., Осадчая О. Ю. Овцеводство стран мира. – 2011. - 550 с.
10. Дейкин А. В. и др. Генетические маркеры в мясном овцеводстве //Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2016. – Т. 20. – №. 5. – С. 576-583.
11. Ежегодник по племенной работе в овцеводстве и козоводстве в хозяйствах Российской Федерации. М.:Издательство ВНИИплем. – 2021. – 320 с.
12. Ерохин А. И. и др. Овцеводство. - 2014. – 450 с.

13. Ерохин А. И., Карасев Е. А., Ерохин С. А. Состояние, динамика и тенденции в развитии овцеводства в мире и в России //Овцы, козы, шерстяное дело. – 2019. – №. 3. – С. 3-6.
14. Зиновьева Н. А. и др. Биотехнологические методы в зоотехнии и ветеринарии. – 2014. – 256 с.
15. Зуев Р. В. и др. Поиск генов-кандидатов, ассоциированных с живой массой у овец северокавказской мясо-шерстной породы //Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). – 2023. – №. 1. – С. 123-129.
16. Итоги Всероссийской сельскохозяйственной переписи 2016 года: в 8 тт. Поголовье сельскохозяйственных животных Книга 1. Поголовье сельскохозяйственных животных. Структура поголовья сельскохозяйственных животных. – М.: ИИЦ «Статистика России». - 2018. – Т. 5. - 451 с.
17. Ковалюк Н.В. и др. Генетическая структура субпопуляции айрширского скота южных регионов России по микросателлитным локусам //Молочное и мясное скотоводство. – 2023. – № 2. – С. 7-9.
18. Колосов Ю. А. и др. Технология овцеводства. – 2016. – 116 с.
19. Колосов Ю. А., Гетманцева Л. В., Широкова Н. В. Полиморфизм гена GDF9 у овец сальской породы //Ветеринарная патология. – 2014. – №. 3-4. – С. 78-81.
20. Кузнецов В. М. Методы Нея для анализа генетических различий между популяциями //Проблемы биологии продуктивных животных. – 2020. – №. 1. – С. 91-110. doi: 10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2020.1.91-110
21. Куликова А. Я. Генеалогия и продуктивность овец южной мясной породы //Овцы, козы, шерстяное дело. – 2021. – №. 1. – С. 3-6.
22. Куликова А.Я. Влияние подбора баранов и маток при воспроизводительном скрещивании полутонкорунных пород мясного направления продуктивности // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2020. – Т. 9. - № 1. – С. 50-54.
23. Куликова А. Я. Скороспелость и мясная продуктивность овец районированных полутонкорунных пород //Сборник научных трудов

- Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2020. – Т. 9. – №. 2. – С. 89-93.
24. Куликова Н.И. Овцеводство и козоводство. Учебно-методическое пособие. - 2017. - 194 с.
25. Лебедько Е. Я. Определение живой массы сельскохозяйственных животных по промерам. – 2006. – 45 с.
26. Лушников В. П. и др. Влияние полиморфизма гена LEP 387 на мясную продуктивность овец эдильбаевской породы //Овцы, козы, шерстяное дело. – 2020. – №. 3. – С. 12-14.
27. Малюченко О. П. и др. Изучение молекулярной изменчивости генов плодовитости BMP15 и GDF9 у романовской породы овец //Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – 2011. – №. 6. – С. 167-169.
28. Мамонтова Т.В., Коваленко Д.В., Губаханов М.А., Айбазов А.-М.М. Система сохранения и рационального использования генетических ресурсов высокоценных генотипов сельскохозяйственных животных. – Ставрополь, 2021. – 243 с.
29. Мирзабеков С.Ш., Ерохин А.И. Овцеводство. - 2005. – 510с.
30. Моисеева И. Г. и др. Генофонды сельскохозяйственных животных. Генетические ресурсы животноводства России. – 2006.
31. Мусаева И. В., Алиева Р. М. Генетические маркеры мясной продуктивности овец //Известия Дагестанского ГАУ. – 2022. – №. 1. – С. 13.
32. Постановление Правительства РФ от 25.08.2017г. № 996 «Об утверждении Федеральной научно-технической программы развития сельского хозяйства на 2017 - 2025 годы». Электронный ресурс. Режим доступа: <http://static.government.ru/media/files/EIQtiyxIORGXoTK7A9i497tyyLAamnIrs.pdf> (дата обращения 10.09.2023)
33. Постановление Правительства РФ от 16 декабря 2021 г. N 2309 “О внесении изменений в некоторые акты Правительства Российской Федерации”. Электронный ресурс. Режим доступа:

<http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202112220031> (дата обращения 10.09.2023).

34. Приказ министерства сельского хозяйства РФ от 21 декабря 2021 г. N 860 «Об утверждении порядков и условий проведения бонитировки племенных овец тонкорунных пород, полутонкорунных пород и пород мясного направления продуктивности». Официальный интернет-портал правовой информации <http://pravo.gov.ru>, 21.04.2022 г.

35. Приказ Министерства сельского хозяйства Российской Федерации №335 от 05.10.2010 Об утверждении Порядков и условий проведения бонитировки племенных овец тонкорунных, полутонкорунных пород и пород мясного направления продуктивности. – 60с.

36. Римиханов Н.И. и др. Методы комплексной оценки сельскохозяйственных и мелких домашних животных. - 2014. – 140 с.

37. Селионова М. И. Из истории Российского овцеводства и его научного сопровождения. – 2017. - 250 с.

38. Селионова М. И. и др. Геномная селекция в овцеводстве //Сельскохозяйственный журнал. – 2017. – Т. 1. – №. 10. – С. 275-280.

39. Скорых Л. Н. и др. Ассоциация однонуклеотидных полиморфизмов в гене соматотропина с показателями мясной продуктивности у мясошерстных овец //Ветеринария и кормление. – 2021. – №. 2. – С. 45-48.

40. Столповский Ю. А., Пискунов А. К., Свищева Г. Р. Геномная селекция. I. Последние тенденции и возможные пути развития //Генетика. – 2020. – Т. 56. – №. 9. – С. 1006-1017.

41. Столповский Ю. А., Свищева Г. Р., Пискунов А. К. Геномная селекция. II. Перспективные направления //Генетика. – 2020. – Т. 56. – №. 10. – С. 1107-1114.

42. Столповский Ю.А. Породы животных: национальное достояние или “разменная монета” эволюции. – М.: Акварель, 2022. – 33 с.

43. Столповский Ю.А., Гостева Е.Р., Солоднева Е.В. Генетические и селекционные аспекты истории развития скотоводства на территории России. – М.: Акварель, 2022. – 87 с.
44. Трухачев В. И. и др. Генетические маркеры мясной продуктивности овец (*Ovis Aries L.*). Сообщение I. миостатин, кальпаин, кальпастантин //Сельскохозяйственная биология. – 2018. – Т. 53. – №. 6. – С. 1107-1119.
45. Тяпугин С.Е. и др. Ежегодник по племенной работе в овцеводстве и козоводстве в хозяйствах Российской Федерации (2020)// М.:Изд ВНИИплем. - 2021.- 320 с.
46. Ульянов А. Н., Куликова А. Я. Селекционно-генетические аспекты повышения продуктивности овец южной мясной породы //Овцы, козы, шерстяное дело. – 2019. – №. 3. – С. 15-17.
47. Ульянов А. Н., Куликова А. Я., Катаманов С. Г. Создание пород овец мясо-шерстного и мясного направления продуктивности //Эффективное животноводство. – 2017. – №. 5. – С. 44-47.
48. Ульянов А. Н., Куликова А. Я. Влияние отбора по скороспелости на продуктивность и воспроизводительные качества овец южной мясной породы //Овцы, козы, шерстяное дело. – 2012. – №. 1. – С. 12-15.
49. Ульянов А. Н., Куликова А. Я., Баша С. Н. Скороспелость, мясная и шерстная продуктивность овец южной мясной породы. – 2011.
50. Холманов А. М. и др. Анализ изменении основных параметров производства мяса в мире //Достижения науки и техники АПК. – 2012. – №. 8. – С. 5-8.
51. Шевцова В. С. и др. Наследование плодовитости и живой массы у овец отечественных пород в зависимости от подбора производителя //Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2022. – Т. 11. – №. 1. – С. 349-355.
52. Юлдашбаев Ю. А. и др. Инновационные технологии содержания мелкого рогатого скота. – 2020.- 80 с.

53. Ярышкин А. А., Шаталина О.С., Лешонок О.И., Ковалюк Н.В. Влияние полиморфизма гена лептина на хозяйственно полезные признаки крупного рогатого скота //Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2022. – №. 1 (93). – С. 260-264.
54. Яцык О. А., Каниболоцкая А. А., Криворучко А. Ю. Полиморфизм гена транскрипционного фактора MEF2B у мериносовых овец российских пород //Сельскохозяйственный журнал. – 2020. – №. 5 (13). – С. 93-98.
55. Abdoli R. et al. A review on prolificacy genes in sheep //Reproduction in Domestic Animals. – 2016. – Т. 51. – №. 5. – С. 631-637. doi: 10.1111/rda.12733
56. Al-Mamun H. 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. – Т. 47. – №. 1. – С. 1-11. doi 10.1186/s12711-015-0142-4.
57. Barzekar R. A., Salehi A. A. R., Mahjoubi F. Polymorphisms of the ovine leptin gene and its association with growth and carcass traits in three Iranian sheep breeds. – 2009. - Т. 7. - No. 4. - С. 241-246.
58. Beattie L., Howard K. Sheep Reproduction RD&E Impact Assessment. Meat and Livestock Australia Ltd. – 2020. – 141 с.
59. Ben Braiek M. et al. Identification of homozygous haplotypes carrying putative recessive lethal mutations that compromise fertility traits in French Lacaune dairy sheep //Genetics Selection Evolution. – 2021. – Т. 53. – №. 1. – С. 1-13.
60. Boucher D. et al. Detection of polymorphisms in the ovine leptin (*LEP*) gene: Association of a single nucleotide polymorphism with muscle growth and meat quality traits //Canadian journal of animal science. – 2006. – Т. 86. – №. 1. – С. 31-35.
61. Biscarini F., Cozzi P., Orozco-ter Wengel P. Lessons learnt on the analysis of large sequence data in animal genomics //Animal genetics. – 2018. – Т. 49. – №. 3. – С. 147-158. <http://doi.org/10.1111/age.12655>.
62. Bolormaa S. et al. Detailed phenotyping identifies genes with pleiotropic effects on body composition //BMC genomics. – 2016. – Т. 17. – №. 1. – С. 1-21.

63. Brown D. J., Swan A. A. Genetic analysis of adult body weight and condition scores in Merino sheep // 10th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production (Vancouver, Canada). – 2014. – 4 p.
64. Brito L. F. et al. Prediction of genomic breeding values for growth, carcass and meat quality traits in a multi-breed sheep population using a HD SNP chip // BMC genetics. – 2017. – T. 18. – C. 1-17.
65. Bruford M. W. et al. Prospects and challenges for the conservation of farm animal genomic resources, 2015-2025 // Frontiers in genetics. – 2015. – T. 6. – C. 314. <http://doi.org/10.3389/fgene.2015.00314>.
66. Carey J. Rewilding // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2016. – T. 113. – №. 4. – C. 806-808. <http://doi.org/10.1073/pnas.1522151112>
67. Cavanagh C. R. et al. Mapping Quantitative Trait Loci (QTL) in sheep. III. QTL for carcass composition traits derived from CT scans and aligned with a meta-assembly for sheep and cattle carcass QTL // Genetics Selection Evolution. – 2010. – T. 42. – №. 1. – C. 1-14. <http://www.gsejournal.org/content/42/1/36>
68. Chu M. X. et al. Mutations in BMPR-IB and BMP-15 genes are associated with litter size in Small Tailed Han sheep (*Ovis aries*) // Journal of Animal Science. – 2007. – T. 85. – №. 3. – C. 598-603.
69. Cockerham C. C. Analyses of gene frequencies // Genetics. – 1973. – T. 74. – №. 4. – C. 679-700. <https://doi.org/10.1093/genetics/74.4.679>
70. Cockett N. E., Shay T. L., Smit M. Analysis of the sheep genome // Physiological Genomics. – 2001. – T. 7. – №. 2. – C. 69-78.
71. Davenport K. M. et al. An improved ovine reference genome assembly to facilitate in-depth functional annotation of the sheep genome // Gigascience. – 2022. – T. 11. – C. giab096. doi: 10.1093/gigascience/giab096
72. D'Agaro E. Applications in Genetics and Animal Biotechnology // Applied Sciences. – 2022. – T. 12. – №. 18. – C. 9242. doi.org/10.3390/app12189242

73. Declaration I. Global plan of action for animal genetic resources and the Interlaken Declaration //FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture, FAO: Rome, Italy. – 2007. (available at <http://www.fao.org/docrep/010/a1404e/a1404e00.htm>).
74. Deniskova T. E. et al. Validation of the SNP panel for parentage assignment in local Russian sheep breeds //Сельскохозяйственная биология. – 2015. – №. 6 (eng). – С. 746-755. doi: 10.15389/agrobiology.2015.6.746eng
75. Deniskova T. et al. Biodiversity of Russian local sheep breeds based on pattern of runs of homozygosity //Diversity. – 2021. – Т. 13. – №. 8. – С. 360.
76. Eusebi P. G., Martinez A., Cortes O. Genomic tools for effective conservation of livestock breed diversity //Diversity. – 2019. – Т. 12. – №. 1. – С. 8. <http://doi.org/10.3390/d12010008>.
77. Felius M. et al. On the breeds of cattle—historic and current classifications //Diversity. – 2011. – Т. 3. – №. 4. – С. 660-692. <http://dx.doi.org/10.3390/d3040660>
78. Felius M., Theunissen B., Lenstra J. A. Conservation of cattle genetic resources: the role of breeds //The Journal of Agricultural Science. – 2015. – Т. 153. – №. 1. – С. 152-162. <http://doi.org/10.1017/S0021859614000124>.
79. Friedrich J., Wiener P. Selection signatures for high-altitude adaptation in ruminants //Animal Genetics. – 2020. – Т. 51. – №. 2. – С. 157-165. <http://doi.org/10.1111/age.12900>.
80. FAO 2011. Molecular Genetic Characterization of Animal Genetic Resources. (available at <http://www.fao.org/docrep/014/i2413e/i2413e00.pdf>)
81. FAO 2021. Draft practical guide on genomic characterization of animal genetic resources. - 2021. - 142 p. (available at <http://www.fao.org/3/ng883en/ng883en.pdf>)
82. Gao Y. et al. Animal-SNPAtlas: a comprehensive SNP database for multiple animals //Nucleic Acids Research. – 2023. – Т. 51. – №. D1. – С. D816-D826. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac954>
83. Getmantseva L. et al. Effect of the GDF9 gene on the weight of lambs at birth //Bulgarian Journal of Agricultural Science. – 2019. – Т. 25. – №. 1. – С. 153-157.

84. Gholizadeh M., Rahimi-Mianji G., Nejati-Javaremi A. Genomewide association study of body weight traits in Baluchi sheep //Journal of Genetics. – 2015. – T. 94. – C. 143-146.
85. Godber O. F., Wall R. Livestock and food security: vulnerability to population growth and climate change //Global change biology. – 2014. – T. 20. – №. 10. – C. 3092-3102. <http://doi.org/10.1111/gcb.12589>.
86. Gootwine E. Sheep: Reproductive Management/ chapter in monography Husbandry of Dairy Animals //Elsevier Ltd. - 2011. - P. 887-892. doi: 10.1016/B978-0-08-100596-5.21239-0.
87. Groeneveld L. F. et al. Genetic diversity in farm animals—a review //Animal genetics. – 2010. – T. 41. – C. 6-31. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2010.02038.x>.
88. Han J. et al. Myostatin (MSTN) gene haplotypes and their association with growth and carcass traits in New Zealand Romney lambs //Small Ruminant Research. – 2015. – T. 127. – C. 8-19. <http://dx.doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.03.015>
89. Hanrahan J. P. et al. Mutations in the genes for oocyte-derived growth factors GDF9 and BMP15 are associated with both increased ovulation rate and sterility in Cambridge and Belclare sheep (Ovis aries) //Biology of reproduction. – 2004. – T. 70. – №. 4. – C. 900-909.
90. Haslin E. et al. Genome-Wide Association Studies of Live Weight at First Breeding at Eight Months of Age and Pregnancy Status of Ewe Lambs //Genes. – 2023. – T. 14. – №. 4. – C. 805.
91. Hodges J. Conservation of genes and culture: historical and contemporary issues //Poultry science. – 2006. – T. 85. – №. 2. – C. 200-209.
92. Hoffmann I. Climate change and the characterization, breeding and conservation of animal genetic resources //Animal genetics. – 2010. – T. 41. – C. 32-46. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2010.02043.x>
93. Hoffmann I. et al. Animal genetic resources-time to worry //The livestock report. – 2006. – C. 57-74.

94. Holsinger K. E., Weir B. S. Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting F_{ST} //Nature Reviews Genetics. – 2009. – T. 10. – №. 9. – C. 639-650. doi: 10.1038/nrg2611
95. Howard J. T. et al. Invited review: Inbreeding in the genomics era: Inbreeding, inbreeding depression, and management of genomic variability //Journal of dairy science. – 2017. – T. 100. – №. 8. – C. 6009-6024.. <http://doi.org/10.3168/jds.2017-12787>.
96. ICAR Guidelines Section 21 Meat, reproduction and maternal trait recording in sheep and goats / The global standard for livestock data// - 2021. -25p.
97. Igoshin A. V. et al. Copy number variants in genomes of local sheep breeds from Russia //Animal Genetics. – 2022. – T. 53. – №. 1. – C. 119-132.
98. Jiang Y. et al. The sheep genome illuminates biology of the rumen and lipid metabolism //Science. – 2014. – T. 344. – №. 6188. – C. 1168-1173. doi: 10.1126/science.1252806.
99. Johnston S. E. et al. Genome-wide association mapping identifies the genetic basis of discrete and quantitative variation in sexual weaponry in a wild sheep population //Molecular Ecology. – 2011. – T. 20. – №. 12. – C. 2555-2566.
100. Köhler-Rollefson I., Rathore H. S., Mathias E. Local breeds, livelihoods and livestock keepers' rights in South Asia //Tropical animal health and production. – 2009. – T. 41. – №. 7. – C. 1061–1070. <https://doi.org/10.1007/s11250-008-9271-x>.
101. Kolosova M. A. et al. The COXII haplotypes and their association with productive traits in large white breed pigs //OnLine Journal of Biological Sciences. – 2019. – T. 19. – №. 3. – C. 146-151. – doi 10.3844/ojbsci.2019.146.151
102. Krivoruchko A. et al. Genome wide associations study of single nucleotide polymorphisms with productivity parameters in Jalgin merino for identification of new candidate genes //Gene Reports. – 2021. – T. 23. – C. 101065.
103. Liu H. et al. Genome-wide association study and F_{ST} analysis reveal four quantitative trait loci and six candidate genes for meat color in pigs //Frontiers in Genetics. – 2022. – T. 13. – C. 768-710. doi: 10.3389/fgene.2022.768710

104. Liverani M. et al. Understanding and managing zoonotic risk in the new livestock industries //Environmental Health Perspectives. – 2013. – T. 121. – №. 8. – C. 873-877. <http://doi.org/10.1289/ehp.1206001>.
105. Lôbo A. M. B. O. et al. Genetic parameters for growth, reproductive and maternal traits in a multibreed meat sheep population //Genetics and Molecular Biology. – 2009. – T. 32. – C. 761-770.
106. Lotterhos K. E., Whitlock M. C. Evaluation of demographic history and neutral parameterization on the performance of F_{ST} outlier tests //Molecular ecology. – 2014. – T. 23. – №. 9. – C. 2178-2192. doi: 10.1111/mec.12725
107. Ma H. et al. Identification of novel genes associated with litter size of indigenous sheep population in Xinjiang, China using specific-locus amplified fragment sequencing technology //PeerJ. – 2019. – T. 7. – C. e8079. doi: 10.7717/peerj.8079.
108. MacHugh D. E., Larson G., Orlando L. Taming the past: ancient DNA and the study of animal domestication //Annual Review of Animal Biosciences. – 2017. – T. 5. – C. 329-351. <http://doi.org/10.1146/annurev-animal-022516-022747>
109. Marees A. T. et al. A tutorial on conducting genome-wide association studies: Quality control and statistical analysis //International journal of methods in psychiatric research. – 2018. – T. 27. – №. 2. – C. e1608.
110. McHugo G. P., Dover M. J., MacHugh D. E. Unlocking the origins and biology of domestic animals using ancient DNA and paleogenomics //BMC biology. – 2019. – T. 17. – C. 1-20. <http://doi.org/10.1186/s12915-019-0724-7>.
111. Meszaros G. Genomics Boot Camp. F_{ST} with R. 2021. Электронный ресурс. Режим доступа: <https://youtu.be/VoKVmXVmnBw?si=DLFWMijXWmEsFc5k> (дата обращения 17.09.2023).
112. Mirkena T. et al. Genetics of adaptation in domestic farm animals: A review //Livestock Science. – 2010. – T. 132. – №. 1-3. – C. 1-12. <http://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.05.003>.

113. Nicolazzi E. L. et al. Software solutions for the livestock genomics SNP array revolution //Animal genetics. – 2015. – Т. 46. – №. 4. – С. 343-353. <http://doi.org/10.1111/age.12295>.
114. Oddy H. et al. SheepGenomics and the International Sheep Genomics Consortium //Proceedings of the Association for the Advancement of Animal Breeding and Genetics. – 2007. – Т. 17. – С. 411-417. doi: 10.13140/2.1.2937.2806
115. Oldenbroek K., van der Waaij L. Textbook animal breeding: animal breeding and genetics for BSc students. – 2014.
116. Pallerla S. R. Bioinformatics coach. Compute F_{ST} and visualize in Manhattan plot with qqman R package. 2023. Электронный ресурс. Режим доступа: <https://youtu.be/g9ftx6taogA?si=4BrGSYxT36zX2YBX> (дата обращения 17.09.2023).
117. Pantelić V. et al. Heritability and genetic correlation of production and reproduction traits of Simmental cows //African Journal of Biotechnology. – 2011. – Т. 10. – №. 36. – С. 7117-7121.
118. Pasandideh M., Rahimi-Mianji G., Gholizadeh M. A genome scan for quantitative trait loci affecting average daily gain and Kleiber ratio in Baluchi Sheep //Journal of genetics. – 2018. – Т. 97. – С. 493-503. doi: 10.1007/s12041-018-0941-9
119. Petrović M. P. et al. Genetic improvement of fertility in sheep by selection according to physiological parameters //Biotechnology in Animal Husbandry. – 2007. – Т. 23. – №. 5-6-1. – С. 311-321.
120. Purcell S. et al. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses //The American journal of human genetics. – 2007. – Т. 81. – №. 3. – С. 559-575.
121. 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. – Т. 41. – С. 1-17. doi:10.1186/1297-9686-41-34
122. Randhawa I. A. S. et al. A meta-assembly of selection signatures in cattle //PloS one. – 2016. – Т. 11. – №. 4. – С. e0153013. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0153013>.

123. Rischkowsky B., Pilling D. The state of the world's animal genetic resources for food and agriculture. – Food & Agriculture Org., 2007. – 512 p.
124. Rosati A. et al. Genetic parameters of reproductive traits in sheep //Small Ruminant Research. – 2002. – T. 43. – №. 1. – C. 65-74.
125. Shevtsova V. et al. PSX-26 The identification of novel SNPs significant for reproductive abilities in sheep using GWAS //Journal of Animal Science. – 2020. – T. 98. – №. Supplement_4. – C. 452-453.
126. Shumbusho F. et al. Economic evaluation of genomic selection in small ruminants: a sheep meat breeding program //Animal. – 2016. – T. 10. – №. 6. – C. 1033-1041. doi:10.1017/S1751731115002049
127. Silva B. D. M. et al. A new polymorphism in the Growth and Differentiation Factor 9 (GDF9) gene is associated with increased ovulation rate and prolificacy in homozygous sheep //Animal genetics. – 2011. – T. 42. – №. 1. – C. 89-92.
128. Simianer H., Reimer C. COVID-19: a “black swan” and what animal breeding can learn from it //Animal Frontiers. – 2021. – T. 11. – №. 1. – C. 57-59. <https://doi.org/10.1093/af/vfaa046>
129. Simmons P., Ekarius C. Storey's guide to raising sheep. Storey Publishing, LLC. – 2019. – 356 p.
130. Smith J. M., Haigh J. The hitch-hiking effect of a favourable gene //Genetics Research. – 1974. – T. 23. – №. 1. – C. 23-35.
131. Snowden G. D. Genetic improvement of overall reproductive success in sheep: a review //Latin American Archives of Animal Production. – 2008. – T. 16. – №. 1. – C. 32-40.
132. Souza C. J. H. et al. The Booroola (FecB) phenotype is associated with a mutation in the bone morphogenetic receptor type 1 B (BMPRII) gene //Journal of Endocrinology. – 2001. – T. 169. – №. 2. – C. R1.
133. Sousa L. P. B. et al. Polymorphisms in MYOD1, MYOG, MYF5, MYF6, and MSTN genes in Santa Inês sheep //Pesquisa Agropecuária Brasileira. – 2019. – T. 54. <https://doi.org/10.1590/S1678-3921.pab2019.v54.01132>.

134. Sponenberg D. P. et al. Conservation of rare and local breeds of livestock //Rev. Sci. Tech. – 2018. – T. 37. – C. 259-267. <http://doi.org/10.20506/rst.37.1.2756>
135. Sweet-Jones J. et al. Resequencing and signatures of selection scan in two Siberian native sheep breeds point to candidate genetic variants for adaptation and economically important traits //Animal Genetics. – 2021. – T. 52. – №. 1. – C. 126-131.
136. Taberlet P. et al. Are cattle, sheep, and goats endangered species? //Molecular ecology. – 2008. – T. 17. – №. 1. – C. 275-284.
137. Tera A. et al. Estimates of genetic parameters and trends for reproduction traits in Bonga sheep, Ethiopia //Tropical Animal Health and Production. – 2021. – T. 53. – C. 1-8. <https://doi.org/10.1007/s11250-020-02445-w>
138. Toghiani S. et al. 0300 SNP filtering using F_{ST} and implications for genome wide association and phenotype prediction //Journal of Animal Science. – 2016. – T. 94. – №. suppl_5. – C. 143-143. doi: 10.2527/jam2016-0300
139. Trukhachev V. et al. Associations between newly discovered polymorphisms of the MyoD1 gene and body parameters in Stavropol breed rams //Bulgarian Journal of Veterinary Medicine. – 2018. – T. 21. – №. 1.
140. van der Werf J. H. J. Sustainable animal genetic improvement //E3S Web of Conferences. – EDP Sciences, 2022. – T. 335. – C. 00001.
141. VanRaden P. M. et al. Harmful recessive effects on fertility detected by absence of homozygous haplotypes //Journal of dairy science. – 2011. – T. 94. – №. 12. – C. 6153-6161.
142. Wang J. et al. Variation in the ovine MYF5 gene and its effect on carcass lean meat yield in New Zealand Romney sheep //Meat science. – 2017. – T. 131. – C. 146-151. <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.05.012>
143. Weir B. S., Cockerham C. C. Estimating F-statistics for the analysis of population structure //evolution. – 1984. – C. 1358-1370.
144. Weir B. S., Hill W. G. Estimating F-statistics //Annual review of genetics. – 2002. – T. 36. – №. 1. – C. 721-750. doi: 10.1146/annurev.genet.36.050802.093940

145. Xu S. S. et al. Genome-wide association analyses highlight the potential for different genetic mechanisms for litter size among sheep breeds //Frontiers in genetics. – 2018. – T. 9. – C. 118.
146. Yurchenko A. A. et al. High-density genotyping reveals signatures of selection related to acclimation and economically important traits in 15 local sheep breeds from Russia //BMC genomics. – 2019. – T. 20. – C. 1-19.
147. Zinovieva N. A. Haplotypes affecting fertility in Holstein cattle //Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya= Agricultural Biology. – 2016. – T. 51. – №. 4. – C. 423-435.
148. Zhao X. et al. A novel nonsense mutation in the DMP1 gene identified by a genome-wide association study is responsible for inherited rickets in Corriedale sheep //PLoS One. – 2011. – T. 6. – №. 7. – C. e21739.
149. Zhang H. et al. Progress of genome wide association study in domestic animals //Journal of animal science and biotechnology. – 2012. – T. 3. – №. 1. – C. 1-10.
150. Zishiri O. T. Genetic analyses of South African terminal sire sheep breeds: дис. – Stellenbosch: University of Stellenbosch. - 2009. – 115 p.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1

Локализация ДНК-полиморфизмов, связанных с живой массой овец волгоградской породы.

Хромосома	SNP	Значение F_{ST}	Ген- кандидат	Положение в гене	Диапазон поиска, т.п.н.
1	OAR1_58471290.1	0.765372	ENSOARG00020020128	downstream_gene_variant	35
1	s32216.1	0.590212	JAM2	upstream_gene_variant	15
1	OAR1_139735768.1	0.590212	MRPL39	downstream_gene_variant	5
1	OAR1_181982373.1	0.550908	CBLB	intron_variant	5
1	OAR11_694267.1	0.649985	-	no results in ensembl	-
1	OAR1_167804132.1	0.590212	-	no results in ensembl	-
1	s41461.1	0.565104	ENSOARG00020018856	upstream_gene_variant	25
2	OAR2_222903133.1	0.560120	RPE	intron_variant	5
2	OAR2_195458281.1	0.545789	EPB41L5	intron_variant	5
2	OAR2_190733864.1	0.538462	DPP10	intron_variant	5
2	s13380.1	0.654569	-	no results in ensembl	-
3	OAR3_99622529.1	0.590212	CYP26B1	downstream_gene_variant	200
3	OAR3_197722470.1	0.545789	IPO8	downstream_gene_variant	25
3	OAR3_195088663.1	0.642464	SYT10	intron_variant	5
3	s56669.1	0.589249	ST8SIA1	intron_variant	5
3	s11063.1	0.545789	STAB2	intron_variant	5
3	s71636.1	0.526459	-	no results in ensembl	-
3	OAR3_78893934.1	0.550908	ENSOARG00020003028	upstream_gene_variant	200
5	OAR5_74249563.1	0.579542	EBF1	downstream_gene_variant	50
5	s44831.1	0.625753	-	no results in ensembl	-
7	OAR7_81270541.1	0.543190	ENSOARG00020016944	downstream_gene_variant	25
7	OAR7_81312733.1	0.550908	-	no results in ensembl	-
8	OAR8_14068060.1	0.573620	NCOA7	intron_variant	5
10	DU410344_269.1	0.550908	-	intergenic	1000
10	s38460.1	0.560120	DIAPH3	intron_variant	5
10	OAR10_91895029.1	0.560120	-	no results in ensembl	-
11	s31372.1	0.543030	KIF19	intron_variant	5
14	s75503.1	0.649985	CDH11	intron_variant	5
15	OAR15_23708064.1	0.545789	NCAM1	upstream_gene_variant	150
15	s76025.1	0.611138	RPS3	upstream_gene_variant	8.5
17	s52927.1	0.565104	-	no results in ensembl	-
18	OAR18_12665785.1	0.625753	RGMA	upstream_gene_variant	450
20	DU183112_480.1	0.744645	-	no results in ensembl	-
22	OAR22_33602219.1	0.590212	ENSOARG00020013730	downstream_gene_variant	75

22	OAR22_32628613.1	0.573620	-	intergenic	1000
22	DU292797_377.1	0.567339	pseudogene	pseudogene	15
25	OAR25_25639445.1	0.545789	PBLD	downstream_gene_variant	5
26	OAR26_35226927.1	0.543190	-	no results in ensembl	-

Жирным шрифтом выделены ДНК-полиморфизмы, преодолевшие порог $F_{ST} = 0.55$, и рассмотренные подробно в контексте их влияния на живую массу. Гены-кандидаты выявлены с помощью VEP Ensembl).

Приложение 2

Локализация ДНК-полиморфизмов, связанных с живой массой овец южной мясной породы.

Хромосома	SNP	Значение F_{ST}	Ген-кандидат	Положение в гене	Диапазон поиска, т.п.н.
1	OAR1_148943723.1	0.467841	BTG3	intron_variant	5
1	OAR1_79775846.1	0.483341	MIR137	upstream_gene_variant	25
1	OAR1_214417389.1	0.474096	-	no results in ensembl	-
2	OAR2_23837222.1	0.538795	ENSOARG00020003678	upstream_gene_variant	80
2	OAR2_203962300.1	0.490068	MYO1B	intron_variant	5
2	OAR2_25078701.1	0.572159	-	no results in ensembl	-
2	OAR2_37338885.1	0.502903	-	no results in ensembl	-
2	s17459.1	0.483341	-	no results in ensembl	-
2	OAR2_34343913.1	0.467841	-	no results in ensembl	-
3	OAR3_437569.1	0.483341	EHMT1	intron_variant	5
3	OAR3_58735182.1	0.579631	ENSOARG00020002577	upstream_gene_variant	50
3	OAR3_83710165.1	0.467841	SIX2	upstream_gene_variant	150
3	s29503.1	0.502903	VAV2	intron_variant	5
3	s54007.1	0.483341	VAV2	intron_variant	5
5	s22744.1	0.467841	COL23A1	intron_variant	5
5	OAR5_74606882.1	0.537658	EBF1	intron_variant	5
5	s67633.1	0.485189	EFNA5	intron_variant	5
5	s34090.1	0.471436	ENSOARG00020023077	downstream_gene_variant	250
5	OAR5_113877389_X.1	0.497663	lncRNA	intron_variant,non_coding_transcript_variant	5
5	OAR5_54849290.1	0.555556	NDFIP1	upstream_gene_variant	5
5	s11310.1	0.564185	NDFIP1	upstream_gene_variant	25
5	OAR5_6254624.1	0.512812	NWD1	intron_variant	5
5	OAR5_70377547.1	0.502903	U6	downstream_gene_variant	35
5	OAR5_81984985.1	0.471436	-	intergenic	700
6	OAR6_102254026.1	0.490068	BMP2K	intron_variant	5
6	OAR6_102416653.1	0.467841	BMP2K	downstream_gene_variant	150
6	OAR6_64035724.1	0.591313	FAM114A1	downstream_gene_variant	13
6	OAR6_64480440.1	0.471436	KLB	intron_variant	5
6	OAR6_64284257.1	0.522895	WDR19	upstream_gene_variant	5
7	OAR7_32005419.1	0.502903	ENSOARG00020006082	downstream_gene_variant	150
8	OAR8_4654334.1	0.589168	ENSOARG00020014128	upstream_gene_variant	100
9	s50168.1	0.487141	ARC	downstream_gene_variant	25
9	OAR9_23077690.1	0.483341	EFR3A	intron_variant	5
9	OAR9_9998840.1	0.674342	ENSOARG00020003076	upstream_gene_variant	700-950
9	OAR9_8215268.1	0.485189	ENSOARG00020026414	upstream_gene_variant	80
9	s00962.1	0.608748	LY6D	upstream_gene_variant	
9	OAR9_22183589.1	0.467841	TG, SLA	intron_variant	5
9	OAR9_32131604.1	0.485189	U2	upstream_gene_variant	65
9	s03687.1	0.628248	-	intergenic	1000
9	OAR9_6698498.1	0.628248	-	no results in ensembl	-
9	OAR9_8876882.1	0.483341	-	intergenic	700
9	OAR9_8904760.1	0.467841	-	intergenic	700

11	OAR11_1400071.1	0.490068	ENSOARG00020021351	upstream_gene_variant	200
11	s15962.1	0.483341	PRR11	intron_variant	5
12	s27609.1	0.580975	LOC101104591	upstream_gene_variant	5
12	OAR12_49323631.1	0.487141	-	no results in ensembl	-
13	OAR13_8539489.1	0.467841	FLRT3	upstream_gene_variant	200
15	OAR15_70840858.1	0.589168	ENSOARG00020017606	downstream_gene_variant	150
17	OAR17_71258212.1	0.554674	SEZ6L	upstream_gene_variant	50
17	OAR17_74725365.1	0.564185	U6	upstream_gene_variant	40
17	s50212.1	0.485189	WSCD2	upstream_gene_variant	65
20	OAR20_6896923.1	0.555556	LRRC	intron_variant	5
21	OAR21_1349161.1	0.467841	DEUP1	intron_variant	5
21	OAR21_1349161.1	0.467841	SMCO4	upstream_gene_variant	5
23	OAR23_18364441.1	0.538795	ENSOARG00020015262	upstream_gene_variant	80
24	OAR24_15364787.1	0.490068	PDXDC1	intron_variant	5

Жирным шрифтом выделены ДНК-полиморфизмы, преодолевшие порог $F_{ST} = 0.55$, и рассмотренные подробно в контексте их влияния на живую массу. Гены-кандидаты выявлены с помощью VEP Ensembl.

Приложение 3

Влияние ДНК-полиморфизмов в генах-кандидатах живой массы на плодовитость у наиболее перспективных для разведения овцематок южной мясной породы

Номер	ENSOARG 00020003076	LY6D	FAM114A1	ENSOARG 00020017606	ENSOARG 00020014128	ENSOARG 00020002577	U6	NDFIP1	NDFIP1*	LRRC1	Живая масса	Двойни
3574	AA	GG	GG	AA	GG	GG	AG	GG	AA	AG	81	2
5570	AA	AG	GG	GA	AG	AG	GG	AG	AG	GG	63	2
4278	AA	AG	AA	AA	AA	GG	AG	GG	GG	GG	72	3
5552	GA	AG	GG	AA	AG	AG	GG	GG	GG	GG	78	3
5588	GA	GG	AG	AA	GG	AG	GG	GG	GG	GG	69	3
3448	AA	GG	AA	GA	AG	AA	AA	AG	AG	GG	68	4

* Отмечен ДНК-полиморфизм в гене NDFIP1 (OAR5_54849290.1), второй по величине значения F_{ST}

Оранжевым цветом выделены желательные генотипы по каждому гену