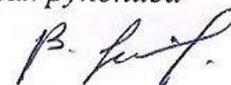


Федеральное государственное автономное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Южный федеральный университет»

*На правах рукописи*



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)

Автореферат  
диссертации на соискание учёной степени  
кандидата биологических наук

Ростов-на-Дону - 2023

Работа выполнена на кафедре генетики Академии биологии и биотехнологии имени Д.И. Ивановского Южного федерального университета.

**Научный руководитель:** **Усатов Александр Вячеславович**  
доктор биологических наук, профессор,  
Федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение высшего образования  
“Южный федеральный университет” Академия  
биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского,  
кафедра генетики, профессор

**Официальные оппоненты:** **Столповский Юрий Анатольевич** – доктор  
биологических наук, профессор, лаборатория  
сравнительной генетики животных, ФГБУН  
Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН,  
заместитель директора, заведующий лабораторией

**Ковалюк Наталья Викторовна** - доктор  
биологических наук, профессор, лаборатория  
биотехнологии ФГБНУ Краснодарский научный  
центр по зоотехнии и ветеринарии, заведующая  
лабораторией

Защита состоится «24» ноября 2023 года на заседании диссертационного совета ЮФУ801.01.07 по биологическим наукам на базе Академии биологии и биотехнологии им. Д.И. Ивановского Южного федерального университета по адресу: 344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки 194/1, к. 712.

С диссертацией можно ознакомиться в Зональной научной библиотеке им. Ю.А. Жданова Южного федерального университета по адресу: г. Ростов-на-Дону, ул. Зорге, д. 21-Ж, 2 этаж и на сайте Южного федерального университета <https://hub.sfedu.ru/diss/show/1310736/>

Автореферат разослан « \_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2023 г.

Отзыв на автореферат в 2-х экз. (с указанием даты, полностью ФИО, учёной степени со специальностью, звания, организации, подразделения, должности, адреса, телефона, e-mail), заверенный печатью организации, просим направлять по адресу: 344090, г. Ростов-на-Дону, пр. Стачки, 194/1, к. 106, ученому секретарю диссертационного совета ЮФУ801.01.07 Бутенко Е.В., а также в формате .pdf на e-mail: [evbutenko@sfedu.ru](mailto:evbutenko@sfedu.ru).

Ученый секретарь  
диссертационного совета

Бутенко Елена Викторовна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

*Актуальность.* Последние годы продемонстрировали резкое увеличение продуктивности сельскохозяйственных животных. В значительной мере это обусловлено широким распространением нескольких высокопродуктивных, но узкоспециализированных пород крупного и мелкого рогатого скота, большинство из которых было создано в Европе. В овцеводстве наиболее распространенными стали мерининовые породы. Однако широкое внедрение высокопродуктивных пород привело к ряду негативных последствий. Одной из причин этого является сочетание в узкоспециализированных породах с низким уровнем генетического разнообразия высокой продуктивности и рецессивных мутаций, понижающих их жизнеспособность. Впервые эта проблема была детально изучена у крупного рогатого скота, что позволило выявить ряд гаплотипов фертильности. На сегодняшний день аналогичные гаплотипы фертильности начали исследовать и в овцеводстве (Ben Braiek et al., 2021).

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.

Ключевыми факторами продуктивности мясного овцеводства являются живая масса и плодовитость овцематок. Однако эти признаки носят полигенный характер и применение классических методов селекции для их улучшения требует значительных временных и финансовых ресурсов. Внедрение современных методов маркерной селекции (Wang et al., 2017; Sousa-Junior et al., 2022) и, в особенности, полногеномного генотипирования (Al-Mamun et al., 2015; Xu S. S. et al., 2018; Xu et al., 2018) повышает эффективность селекции и рентабельность овцеводства.

Метод полногеномного генотипирования позволил установить, что большинство селекционно значимых признаков носят породоспецифичный характер (Gholizadeh et al., 2015; Ma et al., 2019).

**Цель работы** – 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 и теоретическая значимость работы.** Впервые на основе полногеномного генотипирования и последующего анализа результатов изучено наследование показателя живой массы овец двух отечественных пород (волгоградской и южной мясной), обладающих высокой адаптивностью к условиям Южного Федерального округа. Идентифицирован ряд ДНК-полиморфизмов, ассоциированных с показателем живой массы. Показано, что локализованные ДНК-полиморфизмы не оказывают негативного влияния на плодовитость овцематок и, следовательно, могут быть использованы для селекционно-племенной работы.

**Практическая значимость и внедрение результатов.** Новые данные о формировании показателя живой массы, полученные в ходе исследования, могут быть использованы в селекционных мероприятиях для улучшения продуктивных показателей овец южной мясной и волгоградской пород.

Банк генотипов, полученный в ходе генотипирования овец на чипах средней плотности, и база данных, созданная на основе собранных фенотипических данных, рекомендуются к использованию в дальнейших исследованиях селекционно-значимых показателей овец южной мясной и волгоградской пород.

Полученные результаты являются базой для разработки тест-системы на основе ДНК-маркеров, что позволит более эффективно вести селекцию и повысит продуктивность отечественных пород овец.

***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. Локализованные ДНК-полиморфизмы, ассоциированные с живой массой волгоградской и южной мясной пород овец, не оказывают негативного влияния на плодовитость овцематок и могут быть рекомендованы в качестве маркеров мясной продуктивности.

***Апробация работы.*** 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.

**Структура и объем 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. Шкурят 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.

**Финансовая 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 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 освоить методики фильтрации и обработки результатов генотипирования, используемые в представленной работе.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ**

В главе представлен проведенный анализ отечественной и зарубежной литературы по теме диссертационной работы, который представлен в четырех подглавах. В первой подглаве описано состояние генетического разнообразия сельскохозяйственных животных в мире; во второй подглаве дана характеристика молекулярно-генетических методов исследования генетики животных; в третьей подглаве представлен обзор исследования продуктивных качеств овец и других сельскохозяйственных животных. В заключительной подглаве подробно рассмотрено состояние отрасли овцеводства в РФ.

### **ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Объектом исследования служили овцы южной мясной (n=73) и волгоградской пород (n=127).

Живую массу овец измеряли в ходе бонитировки (Приказ Министерства сельского хозяйства РФ N860 от 21.12.2021, ГОСТ 25955–83) на племенном заводе Волгоградской области и в генофондном хозяйстве ФГУП «Рассвет – Кубань». Для исследования были отобраны овцематки класса элита, типичные для своих пород. Были проанализированы данные о типе ягнения овец волгоградской (период наблюдений 4 года) и южной мясной пород (период наблюдений 5 лет) - плодовитость, живая масса, живая масса при рождении и отъеме. Статистическую обработку фенотипических данных, расчет корреляции и построение диаграмм проводили с помощью программных пакетов MathCAD 14 и MATLAB R2021.

Для генотипирования животных были отобраны по 48 образцов (ушные выщипы) у каждой из двух исследованных пород.

ДНК выделяли на колонках «К-СОРБ-50» (Синтол) в соответствии с инструкцией производителя. Качественные и количественные показатели выделенной ДНК определяли с помощью флуориметра Qubit (Invitrogen, Life Technologies, Waltham, MA, USA, [www.invitrogen.com/qubit](http://www.invitrogen.com/qubit)) и на приборе NanoDrop 1000 (Thermo Fisher Scientific Inc., Массачусетс, США) в соответствии с инструкциями производителей.

Генотипирование и предварительную обработку результатов выполняли в Центре геномной селекции АПХ Мираторг (г. Домодедово) на чипах средней плотности OvineSNP50 Genotyping BeadChip (GeneSeek / Illumina Inc., США),

включающих свыше 50 тыс. SNPs, с помощью специализированного программного обеспечения GenomeStudio (Illumina, США).

Фильтрацию результатов генотипирования проводили по общепринятой методике (Marees et al., 2018; FAO 2021. Draft., 2021), с использованием программных продуктов Rstudio2023.03.0 (<https://posit.co/download/rstudio-desktop/>) и *plink 1.9* (Purcell et al., 2007) отдельно для каждой из пород.

На этапе фильтрации были удалены полиморфизмы, точность генотипирования которых была менее 90 %; полиморфизмы X хромосомы и митохондриальной ДНК; полиморфизмы с частотой минорного аллеля ниже  $MAF < 0.05$ ; полиморфизмы, отклоняющиеся от равновесия Харди-Вайнберга, а также полиморфизмы, находящиеся в неравновесии по сцеплению.

Фильтрацию прошли 45179 полиморфизмов у южной мясной породы и 37245 - у волгоградской породы. Версия сборки генома овцы (*Ovis aries*) Oar\_rambouillet\_v1.0 (2017).

Значимые полиморфизмы рассчитывали отдельно для каждой из пород с помощью вычисления индекса генетической дифференциации  $F_{ST}$  по формуле Вейра, Коккерхэма (Weir B. S., Cockerham C. S., 1984), который позволяет определять частоты аллелей, различающихся в крайних значениях фенотипов (живой массы) (метод реализован в *plink1.9*). Значимыми ДНК-полиморфизмами считали те, у которых величина  $F_{ST}$  превысила уровень квантиля 0.999 (0.001 % выбросов).

Овцематки южной мясной породы были ранжированы по признаку живой массы и отобраны крайние значения этого показателя для расчета  $F_{ST}$ : первая группа (контрольная) включала животных с живой массой 55-59 кг, вторая группа (опытная) - 80 кг и более.

У овец волгоградской породы также были выделены две группы – живая масса животных контрольной группы составила 37 кг и менее, опытной 45 кг и более.

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

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. Поиск ограничивался диапазоном  $\pm 1000$  т.п.н. от значимого полиморфизма.

Для количественного определения влияния ДНК-полиморфизмов на показатель живой массы были отобраны полиморфизмы, имеющие максимальную степень связи с исследуемым показателем ( $F_{ST} > 0.55$ ) и локализованные в пределах аннотированных генов. Генетические варианты рассматривали полиморфными при частоте минорного генотипа  $> 0.5$ . Рассчитаны средние живые массы у различных генотипов и достоверность различий между средними (пакет ggplot2 в Rstudio). Желательными генотипами рассматривали те, носители которых демонстрировали большую среднюю живую массу.

Функциональное аннотирование генов-кандидатов живой массы и построение белок-белковых взаимодействий продуктов генов-кандидатов было выполнено с помощью онлайн-баз открытого доступа KEGG, Panther db и STRING.

Для оценки влияния локализованных ДНК-полиморфизмов на плодовитость овец был использован критерий соответствия хи-квадрат. Овцематки южной мясной породы были ранжированы по количеству ягнят за 5 лет наблюдений. Животные контрольной группы за этот период имели не более двух двойневых ягнений, опытной – 3-4 двойни. Численное соотношение контрольной и опытной групп составило 1:2. Овцематки волгоградской породы также были ранжированы по типу ягнения. Животные контрольной группы имели не более одной двойни, контрольной – не менее двух двойневых ягнений за период наблюдений 4 года. Численное соотношение овцематок в опытной и контрольной группах составило 1:3.

## ГЛАВА 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 использовали методы описательной статистики, на основании которых построены столбчатые диаграммы распределения исследуемых параметров. У овцематок южной мясной породы ( $n=73$ ) за 5 лет наблюдений количество двоен составило 101 (39 %), единцов – 152 (58.7 %), троен – 6 (2.3 %). Для волгоградской породы ( $n=120$ ) эти показатели составили: двоен 82 (19.25 %), единцов – 343 (80.5 %), троен – 1

(0.25 %). Таким образом, отношение многоплодных ягнений к одиночным у овцематок южной мясной породы значительно выше такового у маток волгоградской породы.

Расчет корреляции между живой массой и плодовитостью овцематки показал отсутствие таковой у волгоградской породы. У овец южной мясной породы установлена положительная корреляция между этими показателями (коэффициент корреляции 0.63, доверительная вероятность  $P=0.95$ ).

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

Результаты расчета индекса генетической дифференциации позволили выявить 55 полиморфизмов, связанных с показателем живой массы овец южной мясной породы, распределенные по геному следующим образом: 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 в OAR7, OAR8 OAR13, OAR15, OAR20, OAR21, OAR23 и OAR24 (Рисунки 1, 2).

У овец волгоградской породы было идентифицировано 38 полиморфизмов, связанных с показателем живой массы. При этом наибольшее количество значимых SNPs локализовано в OAR1 и OAR3 – по 7 SNPs; OAR2 – 4 SNPs; OAR10 и OAR22 по 3 SNPs; OAR5, OAR7 и OAR15 – по 2 SNPs; по одному SNP в OAR8, OAR11, OAR14, OAR17, OAR18, OAR25 и OAR26 (Рисунки 3, 4).

Важно отметить, что совпадений локализованных ДНК-полиморфизмов в обеих породах не обнаружено.

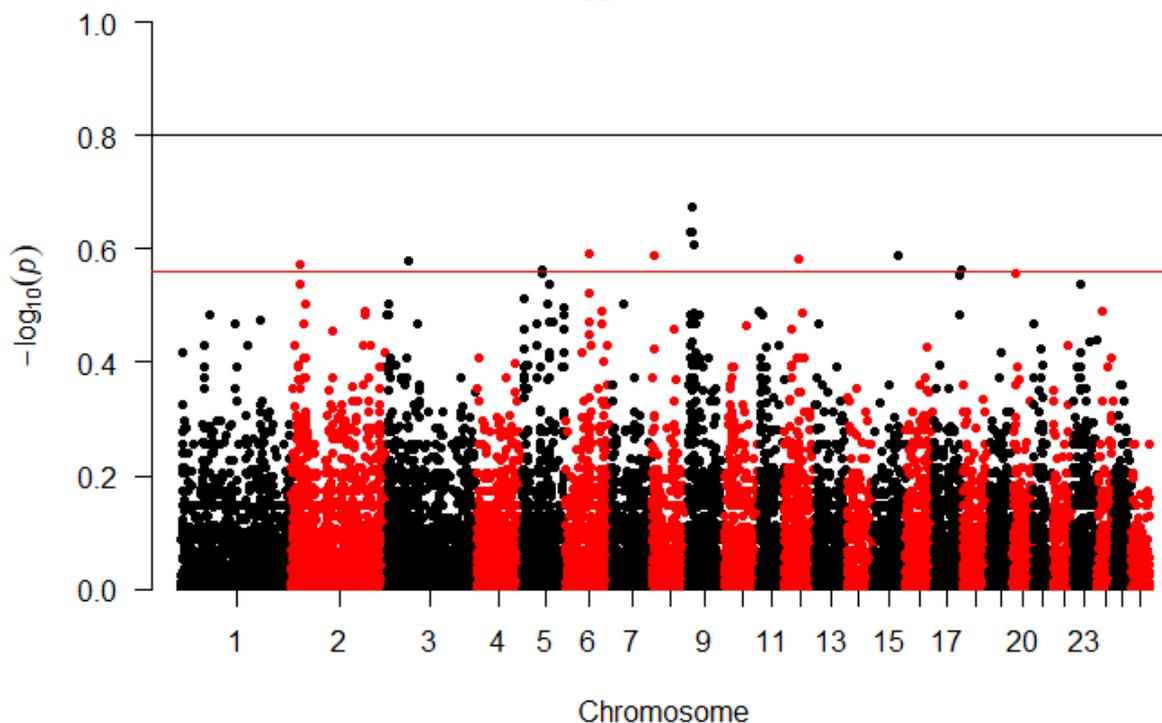


Рисунок 1 – Манхэттенский график связи ДНК-полиморфизмов с живой массой овец южной мясной породы. По оси абсцисс – номер хромосомы, по оси ординат – логарифм вероятности ассоциации полиморфизмов с показателем живой массы.

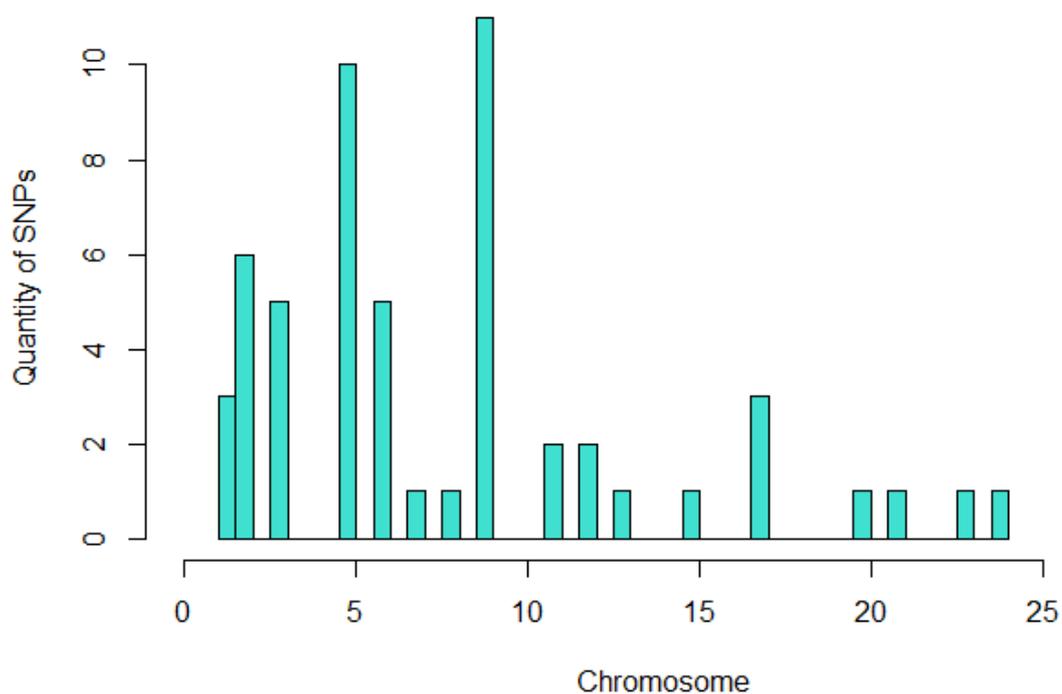


Рисунок 2 – Гистограмма распределения по геному значимых ДНК-полиморфизмов, ассоциированных с живой массой овец южной мясной породы. По оси абсцисс номер хромосомы, по оси ординат – количество выявленных на каждой хромосоме SNPs.

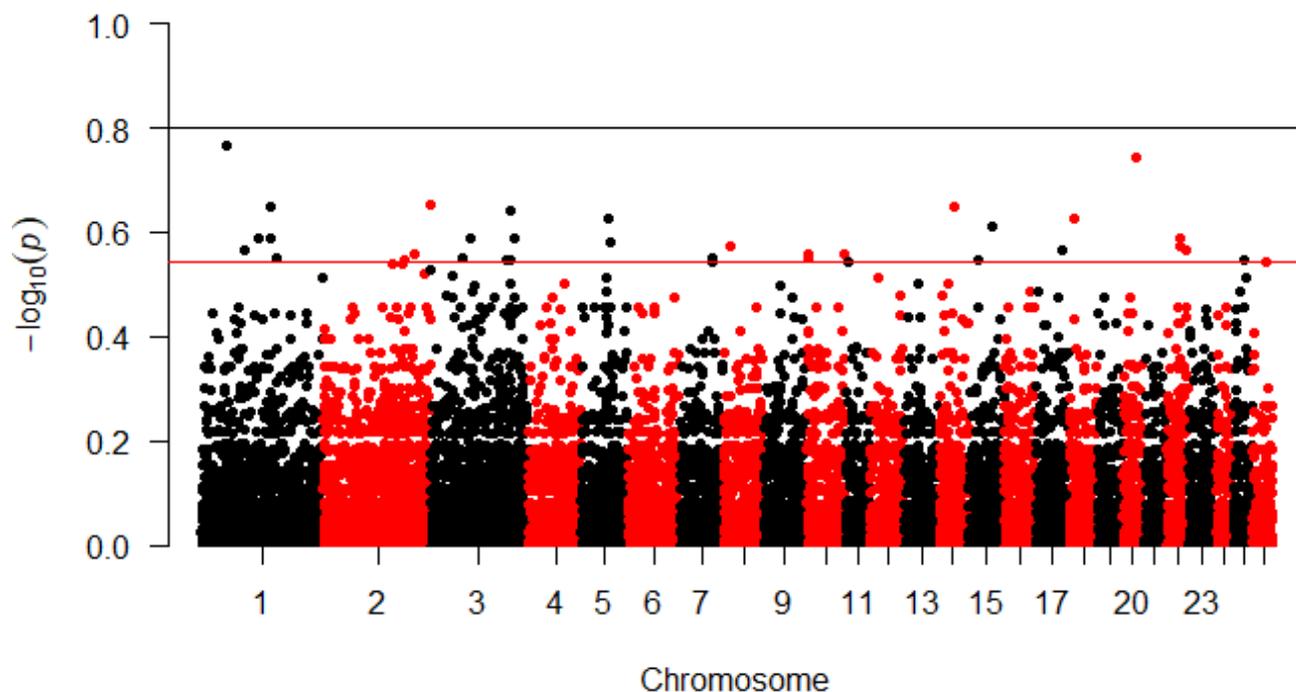


Рисунок 3 – Манхэттенский график связи ДНК-полиморфизмов с живой массой овец волгоградской породы. По оси абсцисс – номер хромосомы, по оси ординат – логарифм вероятности ассоциации полиморфизмов с показателем живой массы.

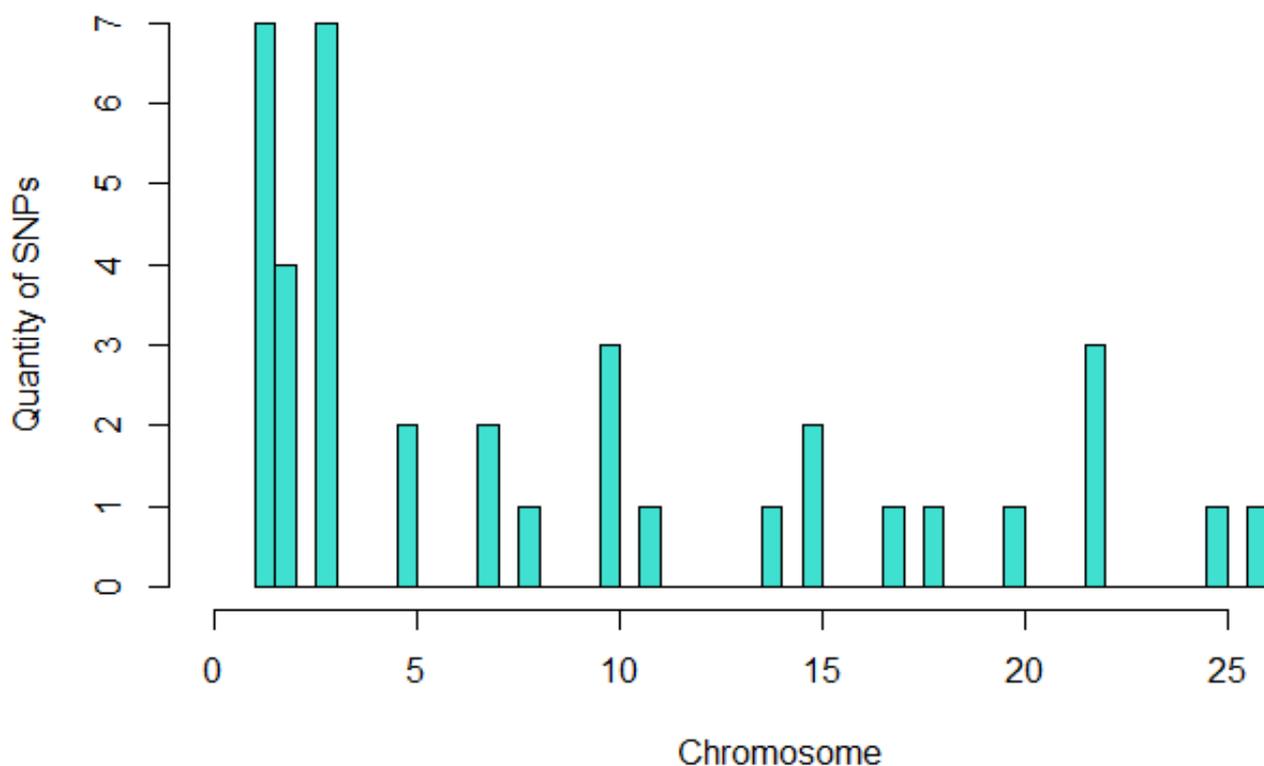


Рисунок 4 – Гистограмма распределения по геному значимых ДНК-полиморфизмов, ассоциированных с живой массой овец волгоградской породы. По оси абсцисс номер хромосомы, по оси ординат – количество выявленных на каждой хромосоме SNPs.

Аннотирование 55 ДНК-полиморфизмов у южной мясной и 38 у волгоградской породы, идентифицированных расчетом индекса генетической дифференциации, проведено в геномном браузере Ensembl. На рисунке 5 представлена локализация ДНК-полиморфизмов, ассоциированных с живой массой. Интересно отметить практически одинаковое процентное соотношение полиморфизмов, локализованных в интронах и межгенных участках у обеих пород - около 30 % всех полиморфизмов локализованы в интронах генов; доля межгенных вариантов составила 5 % у волгоградской и 7 % у южной мясной породы. Тогда как количество полиморфизмов в регуляторных участках значительно различается - в вышележащих областях генов локализовано 16 % полиморфизмов у волгоградской породы и 36 % - у южной мясной, в нижележащих – 21 % у волгоградской и 13 % у южной мясной.

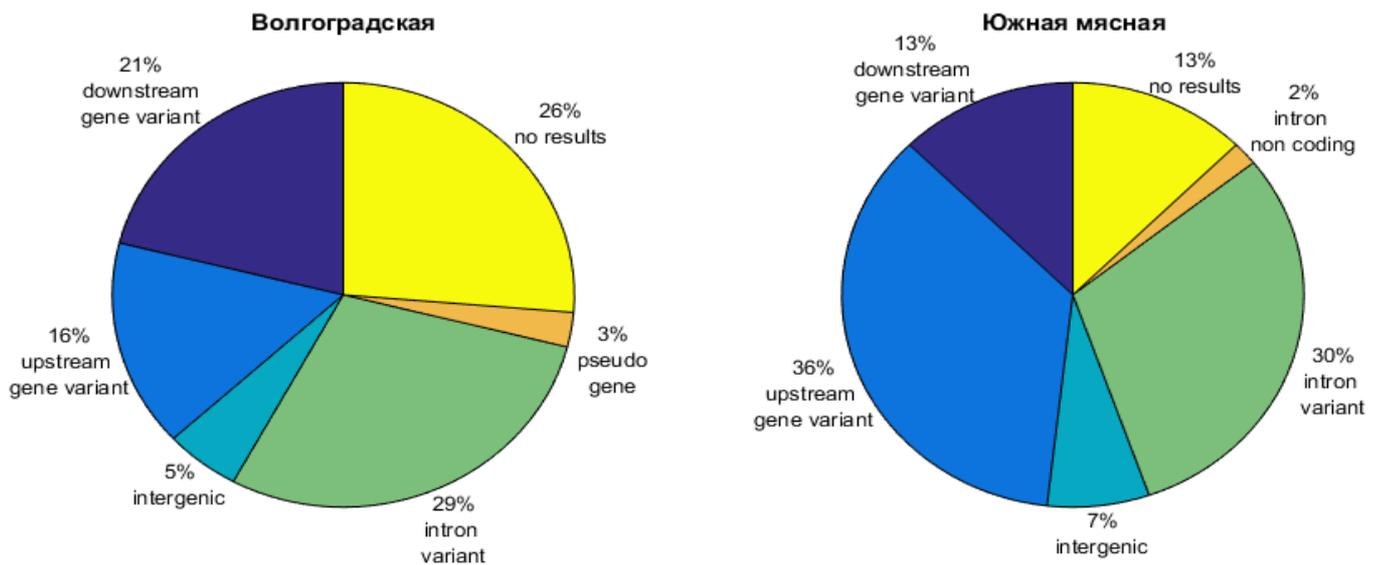


Рисунок 5 – Локализация ДНК-полиморфизмов, ассоциированных с показателем живой массы овец волгоградской и южной мясной пород.

После определения значимых ДНК-полиморфизмов, ассоциированных с живой массой, была проведена количественная оценка их влияния на исследуемый показатель. Были отобраны 16 ДНК-полиморфизмов у волгоградской породы и 12 у южной мясной породы (Таблица 1, 2). Условиями отбора ДНК-полиморфизмов были значение индекса генетической дифференциации для полиморфизма  $F_{ST} > 0.55$  и локализация в пределах определенного гена

Таблица 1 – 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

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>SEZ6L</i>	rs403475114	17:75075353-75075353	0.554674
10	<i>NDFIP1</i>	rs402782448	5:55461542-55461542	0.564185
11	<i>NDFIP1*</i>	rs405818026	5:55482859-55482859	0.555556
12	<i>LRRC1</i>	rs422829400	20:8258762-8258762	0.555556

\* обозначен второй значимый полиморфизм в гене *NDFIP1*

ДНК-полиморфизмы в таблицах 1 и 2 ранжированы по величине  $F_{ST}$ , отражающей степень их ассоциации с показателем живой массы.

### 3.3 Влияние генотипов идентифицированных ДНК-полиморфизмов на живую массу овец

Для количественной оценки влияния ДНК-полиморфизмов на живую массу овец по каждому полиморфизму были построены блочные диаграммы средней живой массы носителей каждого генотипа и рассчитаны достоверности различия средних. В случаях, когда один из генотипов рассматриваемого полиморфизма не был представлен в рассматриваемой выборке или был представлен лишь одним или двумя носителями, расчет средних и построение достоверных блочных диаграмм было невозможно. Для наглядности, на рисунках 6 и 7 показаны блочные

диаграммы средней живой массы овец различных генотипов по полиморфизмам в гене *LY6D* у южной мясной породы и в гене *CBLB* у овец волгоградской породы.

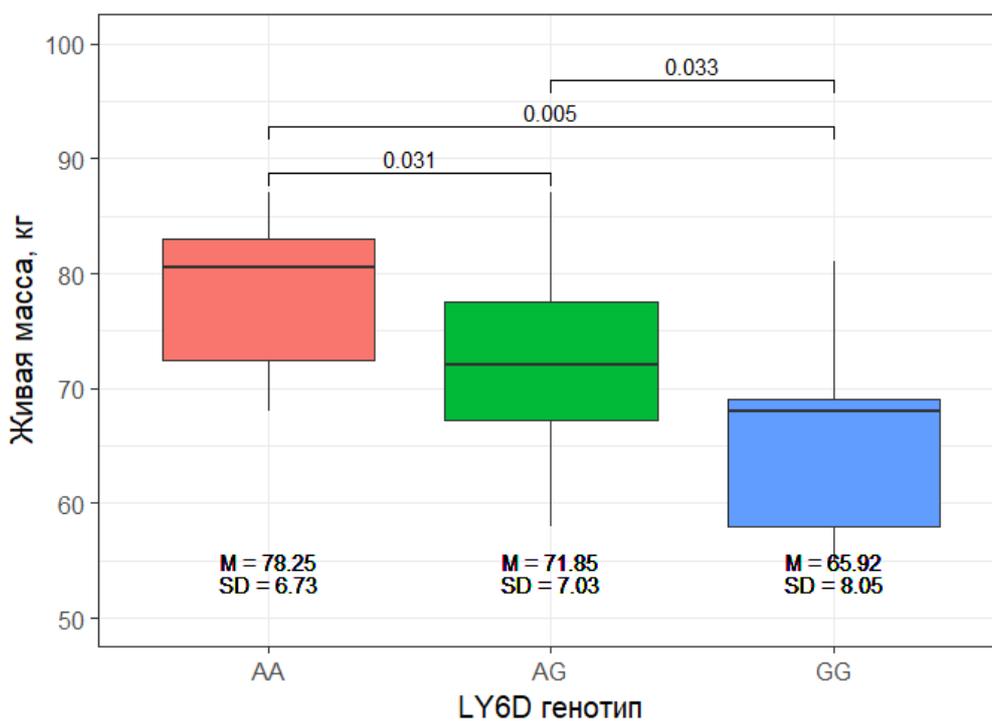


Рисунок 6 – Живая масса овцематок южной мясной породы различных генотипов по гену *LY6D*.

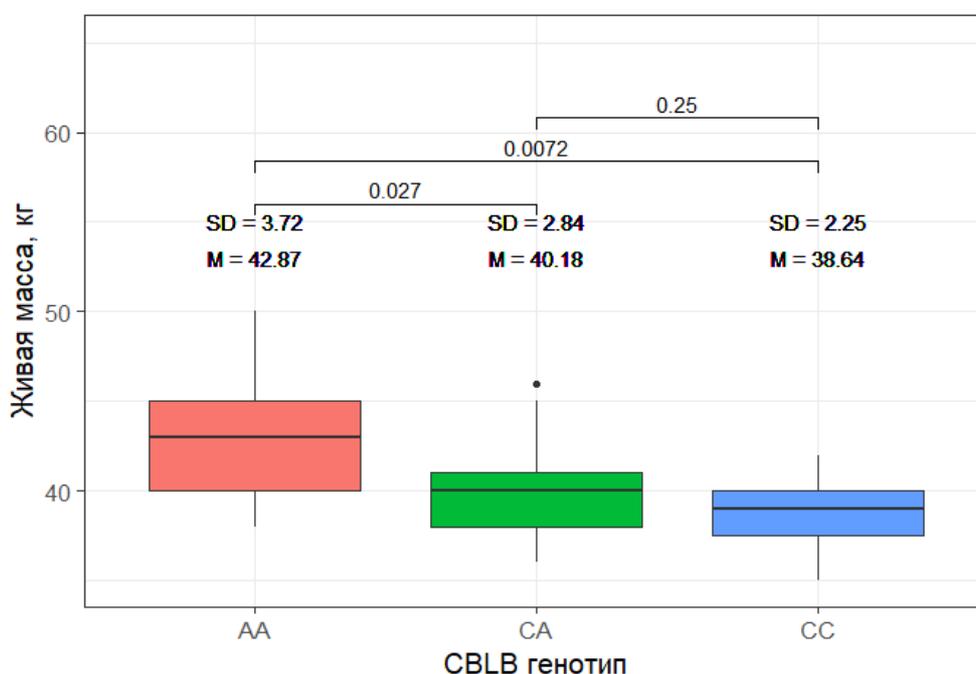


Рисунок 7 – Живая масса овец волгоградской породы различных генотипов по гену *CBLB*.

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

В таблицах 3 и 4 приведены расчеты влияния на живую массу овец южной мясной породы (n=48) и волгоградской породы (n=48) ДНК-полиморфизмов, имеющих максимальное значение индекса генетической дифференциации и представленных достаточным для проведения достоверных расчетов количеством носителей трех генотипов.

Таблица 3 – Живая масса овец различных генотипов южной мясной породы

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	77.20-64.89=12.31	0.00026
<i>U6</i>	GG	AA	74.00-63.12=10.88	0.0033
<i>NDFIP1</i>	GG	AA	80.40-68.48=11.92	0.0062
<i>NDFIP1*</i>	GG	AG	75.27-66.32=8.95	0.00063
<i>LRRC1</i>	GG	GA	80.83-69.50=11.33	0.0006

\* обозначен второй полиморфизм в гене *NDFIP1*

Все приведенные в таблице 3 ДНК-полиморфизмы влияют на показатель живой массы овец южной мясной породы. Интересно отметить ген *NDFIP1*, в котором локализовано два ДНК-полиморфизма, в различной степени ассоциированных с живой массой и обуславливающих различие на  $\approx 12$  и на  $\approx 8$  кг.

Желательными генотипами, носители которых демонстрируют бóльшую живую массу животных на 7.50 -12.50 кг, по генам *ENSOARG00020003076*, *LY6D* и *ENSOARG00020017606*, являются гомозиготы AA. Средняя живая масса овец с генотипом GG в генах *FAM114A1*, *ENSOARG00020014128*, *ENSOARG00020002577*, *U6*, *NDFIP1* (два полиморфизма) и *LRRC* больше на 8.67-12.31 кг по сравнению с другими генотипами.

Овцы с генотипом GG в генах *ENSOARG00020003076*, *LY6D* демонстрируют максимальное превышение средней живой массы (более чем на 12 кг), что

согласуется с высоким значением индекса  $F_{ST}$ , рассчитанным для полиморфизмов в этих генах.

Таблица 4 – Живая масса овец различных генотипов волгоградской породы

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	43.11-38.20=4.91	0.00048
<i>CDH11</i>	AA	CC	42.94-38.00=4.94	0.00043
<i>SYT10</i>	AA	GG	44.00-39.07=4,93	0.0035
<i>RGMA</i>	AA	GG	43.64-39.09=4.55	0.0015
<i>RPS3</i>	AA	GA	42.25-39.00=3.25	0.0023
<i>ENSOARG00020013730</i>	AA	CC	42.29-39.15=3.14	0.022
<i>MRPL39</i>	GG	AA	46.50-38.65=7.85	0.0018
<i>NCOA7</i>	AA	GG	44.00-39.33=4.67	0.0011
<i>RPE</i>	AA	GG	43.70-38.56=5.14	0.0014
<i>CBLB</i>	AA	CC	42.87-38.64=4.23	0.0072

В целом, размах показателей живой массы овец волгоградской породы составил 3.14-7.85 кг. Желательными генотипами, носители которых продемонстрировали максимальные значения средней живой массы, являются гомозиготы AA по генам *ENSOARG00020020128*, *CDH11*, *SYT10*, *RGMA*, *RPS3*, *ENSOARG00020013730*, *NCOA7*, *RPE*, *CBLB* и гомозигота GG по гену *MRPL39*.

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*), иммунитета животных (*LY6D*, *NDFIP1*), в окислительно-восстановительных реакциях (*LOC101104591*) и сплайсинге (мяРНК U6).

Белковые продукты генов-кандидатов живой массы, выявленные у волгоградской породы, выполняют следующие функции: *RPS3* и *MRPL39* являются структурными компонентами малых субъединиц рибосом цитоплазмы и митохондрий соответственно; белок *NCOA7* участвует в регуляции транскрипции; *CBLB* – формирование иммунного ответа, участие в протеолизе; *CBLB*, *CDH11* и *SYT10* осуществляют транспорт ионов кальция; *RPE* является ключевым участником пентозофосфатного пути; *RGMA* – рецептор факторов роста.

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

Так как плодовитость является полигенным признаком, интересно исследовать влияние генов-кандидатов живой массы на плодовитость, чтобы при разведении исключить их негативное влияние на рост численности стада.

Для овец южной мясной породы было установлено, что закономерность в распределении желательных генотипов генов-кандидатов в контрольной и опытной группах отсутствует. ДНК-полиморфизмы живой массы нейтральны в отношении плодовитости овцематок южной мясной породы – соотношение генотипов в опытной и контрольной группах близко к 1:2, что согласуется с численным соотношением животных в опытной и контрольной группах. Исключения составляют ДНК-полиморфизмы, локализованные в гене *NDFIP1*, частота встречаемости желательных генотипов по которым достоверно выше в опытной группе. Что свидетельствует о положительном влиянии ДНК-полиморфизмов в гене *NDFIP1* не только на живую массу овец, но и на их плодовитость.

Анализ влияния 10 рассмотренных генов-кандидатов живой массы овец волгоградской породы на их плодовитость, показал нейтральность ДНК-полиморфизмов в отношении показателя плодовитости. Соотношение по количеству особей с желательным генотипом в двух группах, варьирует от 1:1 (по гену *MRPL39*) до 1:3 (по гену *CBLB*), что свидетельствует об отсутствии влияния ДНК-маркеров живой массы на плодовитость овец. Однако по полиморфизмам, локализованным в генах *ENSOARG00020013730* и *NCOA7*, количество особей с желательным генотипом в опытной группе, достоверно превышает таковое в контрольной группе, что свидетельствует о положительном влиянии не только на живую массу овцематок волгоградской породы, но и на их плодовитость.

## 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 из 45179 исследованных полиморфизмов у южной мясной и 38 из 37245 исследованных 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Статьи, опубликованные в журналах, входящих в базы данных международных индексов научного цитирования Web of Science и/или Scopus:

1. В.С. Шевцова и др. Поиск генов-кандидатов живой массы у овец южной мясной породы / В. С. Шевцова, А. Я. Куликова, Л. В. Гетманцева, А. В. Усатов // Генетика. – 2023. – Т. 59, № 11. – С. 1341-1344.

3. Shevtsova V. et al. PSX-26 The identification of novel SNPs significant for reproductive abilities in sheep using GWAS/ V Shevtsova, M Kolosova, S Bakoev [et al.] //Journal of Animal Science. – 2020. – Т. 98. – №. Supplement\_4. – С. 452-453. – DOI 10.1093/jas/skaa278.788

3. Effect of the *GDF9* gene on the weight of lambs at birth/ L. Getmantseva, A. Usatov, V. Shevtsova [et al.] //Bulgarian Journal of Agricultural Science. – 2019. – Т. 25. – №. 1. – С. 153-157.

4. The *COXII* haplotypes and their association with productive traits in large white breed pigs / Kolosova M. A., L. V. Getmantseva, V. S. Shevtsova [et al.] //OnLine Journal of Biological Sciences. – 2019. – Т. 19. – №. 3. – С. 146-151. – DOI 10.3844/ojbsci.2019.146.151

### Статьи, опубликованные в журналах, входящих в перечень рецензируемых научных изданий ВАК:

1. Сопряженность плодовитости овцематок южной мясной породы с их возрастом и другими факторами / Шевцова В. С., Куликова А. Я., Колосов Ю. А., Усатов А. В. // Овцы, козы, шерстяное дело. – 2022. – №3. – С. 15-17. – DOI 10.26897/2074-0840-2022-3-15-17.

### Свидетельства о регистрации баз данных:

1. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2020622531 Российская Федерация. База данных продуктивности и генотипов овец Юга России : № 2020622386: заявл. 25.11.2020 : опубл. 04.12.2020 / Колосов Ю. А., Колосов А. Ю., Гетманцева Л. В., ... , Шевцова В. С.

2. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2019621317 Российская Федерация. База данных нуклеотидных последовательностей гена *COX*

II митохондриальной ДНК свиней: № 2019621219 : заявл. 09.07.2019 : опубл. 18.07.2019 / Колосова М. А., Колосов А. Ю., Гетманцева Л. В., ..., Шевцова В. С.

### **Статьи и тезисы, опубликованные в других изданиях:**

1. Шевцова В. С., Усатов А. В., Гетманцева Л. В. Влияние полиморфизмов гена EBF1 на живую массу у овец // Клеточные и геномные технологии для совершенствования сельскохозяйственных животных. – 2023 г. – С. 51-52.

2. Шевцова В. С. и др. Генетическая обусловленность показателя живой массы у овец южной мясной породы / В. С. Шевцова, А. Я. Куликова, А. В. Усатов [и др.] // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2023. – Т. 12, № 1. – С. 41-44.

3. Наследование плодовитости и живой массы у овец отечественных пород в зависимости от подбора производителя / В. С. Шевцова, А. Я. Куликова, А. В. Усатов [и др.] // Сборник научных трудов Краснодарского научного центра по зоотехнии и ветеринарии. – 2022. – Т. 11, № 1. – С. 349-355. – DOI 10.48612/sbornik-2022-1-88

4. Шевцова В. С. и др. Ген лептина-перспективный маркер продуктивных качеств овец //Генетика-фундаментальная основа инноваций в медицине и селекции. – 2019. – С. 240-241.

### **СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

АПХ – агропромышленный холдинг

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

Т.п.н. – тысяч пар нуклеотидов

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

OAR1-26 – номер аутосомы в геноме *Ovis aries*

QTL – локусы количественных признаков (quantitative trait loci)

SNP – однонуклеотидный полиморфизм (single nucleotide polymorphism)

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