

ПОЛНОГЕНОМНЫЙ ПОИСК АССОЦИАЦИЙ (GWAS) ПРОДУКТИВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ОВЕЦ ЭДИЛЬБАЕВСКОЙ ПОРОДЫ

Б. Б. ТРАЙСОВ, А. М. ДАВЛЕТОВА

*Западно-Казахстанский научно-технический университет имени Жангир хана,
г. Уральск, Республика Казахстан, 010000*

Г. К. ЕСЕЕВА, М. С. ОМАРОВ

*Костанайский инженерно-экономический университет имени М. Дулатова,
г. Костанай, Республика Казахстан, 110000*

И. М. БРЕЛЬ-КИСЕЛЕВА

*Костанайский региональный университет имени А. Байтурсынова,
г. Костанай, Республика Казахстан, 110000*

(Поступила в редакцию 18.04.2023)

Наиболее перспективным направлением отечественного животноводства Республики Казахстан является развитие мясо-сального направления овцеводства. Рациональное использование генетических особенностей овец, успешно сочетающих в себе высокий уровень мясной и сальной продуктивности, при современных условиях рыночной экономики решает ряд таких стратегических задач, как обеспечение потребности страны в мясе, а также еще специфических видах сырья. Западный Казахстан обладает большими возможностями для роста численности овец и увеличения всех видов продукции. Мясо-сальное овцеводство Западно-Казахстанской области представлено эдильбаевской породой, которая была выведена методом народной селекции. Из всего поголовья овец в области 95 % представлены грубошерстными эдильбаевскими мясо-сальными.

Цель проекта – улучшить качество продуктивных показателей грубошерстных курдючных овец эдильбаевской породы специализированного мясо-сального направления, разводимых в условиях Западного региона Казахстана на основе изучения их генома методом SNP-генотипирования.

Полученные результаты расширяют теоретические и практические аспекты совершенствования селекционной работы в овцеводческих хозяйствах за счет использования нового подхода к исследованию генетической структуры эдильбаевской породы. Также полученные данные, послужат ценным ресурсом для исследователей.

Применимость и/или коммерциализуемость полученных научных результатов. По результатам научного проекта будут разработаны научно-обоснованные рекомендации для селекционных программ с целью увеличения генетического биоразнообразия и получение данных для воспроизводства овец эдильбаевской породы.

Ожидаемый научный и социально-экономический эффект. Впервые в условиях Западного региона Казахстана будет теоретически обоснована и практически доказана возможность эффективного использования генотипов мясо-сальных овец отечественной селекции. Ожидаемые результаты исследований внесут определенный вклад в животноводческую науку и практику при совершенствовании отечественной мясо-сальной породы овец и могут служить решением ряда пробелов по производству высококачественного мяса, что в свою очередь повышает эффективность ведения отрасли в условиях рыночной экономики.

Ключевые слова: генетические особенности эдильбайской породы, продуктивные показатели.

The most promising direction of domestic animal husbandry of the Republic of Kazakhstan is meat and tallow sheep breeding. The rational use of the genetic characteristics of sheep, successfully combining a high level of meat and lard productivity, under modern conditions of a market economy, solves a number of strategic tasks, such as meeting the country's demand for meat, as well as specific types of raw materials. Western Kazakhstan has great potential, both for the growth of the number of sheep and the increase in all types of products. Meat and tallow sheep breeding of the West Kazakhstan region is represented by the Edelbai breed, which was bred by the method of folk selection. Of the total number of sheep in the region, 95% are represented by coarse-wooled Edelbai meat and tallow sheep.

The purpose of the project is to improve the quality of productive indicators of coarse-haired fat-tailed sheep of the Edelbai breed of a specialized meat and tallow direction, bred in the conditions of the Western region of Kazakhstan based on the study of their genome by SNP genotyping.

The results obtained will expand the theoretical and practical aspects of improving breeding work in sheep farms through the use of a new approach to the study of the genetic structure of the Edelbai breed. Also, the obtained data will serve as a valuable resource for researchers.

Applicability and/or commercializability of the obtained scientific results. Based on the results of the scientific project, scientifically-based recommendations will be developed for breeding programs in order to increase genetic biodiversity and obtain data for the reproduction of sheep of the Edelbai breed.

Expected scientific and socio-economic effect. For the first time in the conditions of the Western region of Kazakhstan, the possibility of effective use of the genotypes of meat-fat sheep of domestic selection will be theoretically substantiated and practically proved. The expected results of the research will make a certain contribution to animal science and practice in improving the domestic meat and tallow breed of sheep and can serve as a solution to a number of gaps in the production of high-quality meat, which in turn increases the efficiency of the industry in a market economy.

Key words: genetic features of the Edelbai breed, productive indicators.

Введение

Идея проекта заключается в том, чтобы на основе анализа ДНК методом SNP-генотипирования с широким покрытием генома произвести поиск генов-кандидатов, чьи полиморфизмы могут быть использованы в качестве перспективных генетических маркеров, ассоциированных с хозяйственно полезными признаками овец эдильбаевской породы. Практическое применение молекулярно-генетических технологий в селекции овцеводства позволяет более достоверно оценивать генетический потенциал пород, типов и заводских линий, контролировать селекционные процессы, повышая продуктивно-племенные качества.

Цель – генетическое маркирование продуктивных показателей грубошерстных курдючных овец эдилбайской породы специализированного мясо-сального направления, разводимых в условиях Западного региона Казахстана на основе изучения их генома методом SNP-генотипирования для повышения продуктивности.

Задачи:

1. Сформировать группу животных и отбор биоматериала эдильбаевской породы:

1.1. Изучение воспроизводительной способности маток и жизнеспособности молодняка.

1.2. Изучение изменчивости живой массы и скорости роста, экстерьерных промеров и индексов телосложения.

1.3. Изучение продуктивно-племенных качеств эдильбаевской породы.

1.4. Отбор биологического материала для проведения исследований.

2. SNP-генотипирование с широким покрытием генома овец эдильбаевской породы разных популяций Западного Казахстана:

2.1. Выделение геномной ДНК из отобранного биоматериала.

2.2. На основе данных SNP-генотипирования с широким покрытием генома определить генетическую структуру овец эдильбаевской породы.

2.3. Провести филогенетический анализ и сравнить генетическую структуру популяций овец эдильбаевской породы.

2.4. Изучить ассоциацию выявленных SNP с хозяйственно полезными признаками в исследуемой выборке эдильбаевской породы.

2.5. Разработать научно обоснованные рекомендации для селекционных программ с целью увеличения генетического биоразнообразия и получение данных для воспроизводства овец эдильбаевской породы.

Основная часть

Предпосылкой к разработке данного проекта явились зарубежные научные исследования по разработке способов геномной оценки животных. Геномная селекция является современным способом оценки племенных качеств, основанная на установлении точной взаимосвязи между ДНК и продуктивными показателями животного. Наиболее важными факторами повышения эффективности разведения в овцеводстве являются оценка генетической ценности и повышение эффективности контроля происхождения племенных животных, так как генетический анализ овец является обязательной процедурой племенной регистрации и идентификации животных во многих странах [1]. Использование в селекции овец геномной оценки дает возможность повысить темп селекционного прогресса и рентабельность хозяйства [2]. Применение современных генетических методов исследования для оценки продуктивных качеств после рождения овец, позволит увеличить эффективность селекционной работы в овцеводстве [3].

Эдильбаевская порода овец занимает предпочтительное значение среди курдючных грубошерстных пород овец мясо-сального овцеводства, так как по живой массе и уровню мясо-сальной продуктивности является уникальной [4]. Ценной биологической особенностью эдильбаевских овец является то, что взрослые особи и даже молодняк хорошо используют кормовые и климатические условия пустынных, полупустынных и сухостепных зон в отдельные сезоны года. Основные бараны имеют живую массу в среднем 109,8 кг, овцематки – 71,2 кг, а в возрасте 1,5 лет молодняк достигает 65 и 83 % массы тела их родительских форм. В возрасте 4–4,5 мес. баранчики достигают 37,0 кг, а ярочки – 34,7 кг или 63–65 % массы тела ярок-годовиков и 53,4 % – взрослых маток. Эдилбайские овцы характеризуются типичностью, высоким потенциалом мясо-сальной продуктивности и энергией роста ягнят в молодом возрасте. Живая масса баранов-производителей составляет 95–110 кг, овцематок – 55–60 кг. Молодняк обладает присущим мясо-шерстным овцам телосложением и хорошей скороспелостью. Баранчики при отбивке имеют массу тела 30–35 кг, а ярочки – 27–29 кг. При убое баранчиков в 4–4,5 мес. от различных вариантов подбора с участием генотипа баранов мясного типа получены туши массой в среднем 13–15 кг при 43–47 % убойном выходе.

Научная новизна заключается в том, что по результатам SNP-генотипирования с полным покрытием генома эдильбаевской породы овец будет получена информация о генетическом профиле и произведен поиск племенно-значимых генетических маркеров, ассоциированных с хозяйственно полезными признаками. На основе SNP-генотипирования с полным покрытием генома эдильбаевской породы овец будут получены данные для сравнения с зарубежными породами овец. В рамках предлагаемого проекта будут впервые получены данные о наличии уникальных для эдильбаевской породы овец SNP, ассоциированных с хозяйственно полезными признаками. В 2020 году было исследовано пять пород овец (эдильбаевская, казахская тонкорунная, акжайкская, казахская полугрубошерстная и сарыаркинская). Образцы пяти пород овец были предоставлены 11 хозяйствами Казахстана. Впервые применили технологию Illumina Beadchip с панелью Illumina OvineSNP50 для проведения генотипирования SNP и исследования генетического разнообразия. Также сравнили популяции местных пород в Казахстане с зарубежными данными о разнообразии домашних овец, используя набор данных проекта Sheep HarMap, составленный Международным консорциумом генома овец. Было постановлено, что эдильбаевские овцы являются прямыми потомками исторических предков домашних овец [5]. В связи с вышеизложенным, представляется актуальным и новым исследование полногеномного поиска ассоциаций (GWAS) продуктивных показателей овец эдильбаевской породы, так как ранее исследование была посвящена изучению популяционной структуры эдильбаевской породы. С помощью данного проекта, будут получены наиболее полная картина генетической структуры эдильбаевской породы.

В исследовании, проведенном в 2022 году, была описана генетическая структура байсарской породы овец и его предков с использованием маркеров Ovine SNP50K, а также фенотипических признаков. 247 образцов было отобрано для генотипирования из пяти популяций овец (эдильбаевская, байсарская, афганская курдючная, гиссарская и казахская мясошерстная). Результаты показали, что байсарские овцы генетически дифференцированы, как порода от своих предков. Метод PCA показал, что байсарские овцы имеют хорошие показатели по шести измерениям тела (высота в холке, глубина груди, ширина груди, длина тела, обхват груди и обхват поясницы) [6]. По другому исследованию был произведен поиск геномных вариантов, ассоциированных с живой массой у овец на основе анализа высокоплотных SNP генотипов. Исследования проводили на 95 овцах возвратных кроссов (романовская $\frac{1}{2}$ катадин) $\frac{1}{2}$ романовская из ресурсной (кроссбредной) популяции в 2018–2021 годах. В результате были идентифицированы 38 SNP, достоверно ассоциированных с живой массой и функциональные гены-кандидаты, влияющие на рост скелетных мышц, формирование костного каркаса, липидный и углеводный метаболизм. Полученные данные будут полезны для разработки программ маркерной и геномной селекции в овцеводстве [7]. Следующее исследование посвящено породе овец барки, которая является одной из основных пород овец в Египте и хорошо приспособлена к суровым условиям пустыни Средиземноморья. В этом исследовании путем прямого секвенирования были идентифицированы сегрегирующие однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) в кодирующих областях восьми генов-кандидатов на признаки роста и молока. Впоследствии популяция овец и ягнят барки была проверена на эти SNP, и была оценена связь между генотипами и представляющими интерес признаками. Из генов-кандидатов SNP LEP, STAT5A, PRL и GHRHR были значительно связаны с фенотипами. Это исследование дает первое представление о генетике молока и признаков роста у овец барки. В результате был сделан вывод о том, что LEP, STAT5A, PRL и GHRHR можно рассматривать как гены-кандидаты для улучшения породы египетских овец барки [8].

Сведения об основных генах, влияющих на особенности роста и продуктивные качества овец, сравнительно ограничены. Для маркерного отбора немногие из генов предлагают полезную информацию по мясной продуктивности. Поэтому весьма информативным является накопление и расширение знаний о генетической структуре овец отечественных пород для дальнейшего выявления уникальных участков генома и значимых для селекции маркеров, ответственных за хозяйственно полезные признаки [9, 10]. Отбор с помощью маркеров и вовлечение в селекционный процесс животных – носителей маркерных аллелей позволит повысить результативность селекционно-племенной работы.

Полученные данные позволят проводить оценку племенного потенциала эдильбаевской породы овец, исследователям и селекционерам получать уникальный практический и теоретический материал, который приблизит к пониманию развития хозяйственно полезных признаков и позволит повысить точность исследований. Установленные закономерности и практические предложения могут быть востребованы в последующих научных исследованиях, направленных на увеличение эффективности селекционно-племенной работы в овцеводстве. Кроме того, полученные сведения могут быть использованы для подготовки зооветеринарных специалистов, а также в учебном процессе в качестве лекционного материала по генетике, селекции и разведению овец в учебных заведениях зоотехнического, ветеринарного и биологического профиля.

Исследования по проекту будут проводиться в аккредитованной лаборатории биотехнологии и диагностики инфекционных болезней Испытательного центра НАО «Западно-Казахстанский аграрно-технический университет им. Жангир хана». Лаборатория биотехнологии и диагностики инфекционных болезней имеет доступ в Информационную аналитическую базу (ИАС), а также является институциональным членом Международного общества генетики животных (International Society for Animal Genetics (ISAG) ID number is 5144509). Лаборатория имеет разрешение на работу с микроорганизмами и гельминтами II-IV группы патогенности (№ KZ25VMY00001957 от 18.08.2020 г.). Испытательный центр аккредитован в системе аккредитации Республики Казахстан на соответствия требованиям ГОСТ ИСО/МЭК 17025-2019 «Общие требования к компетенции испытательных и калибровочных лабораторий» № KZ.T.09.E0858 от 15 марта 2022 года.

Общая схема научного исследования включает последующие этапы: формирование группы животных; отбор биопроб; выделение геномной ДНК; измерение качества и количества выделенного ДНК; SNP-генотипирование с широким покрытием генома; обработка результатов генотипирования.

Формирование группы животных. Объектом исследования являются овцы эдильбаевской породы (не менее 500 голов), разводимые в районах Западного Казахстана (Жангалинский, Казталовский, Акжайыкский, Каратабинский, Чингирлауский). Отбор групп овец будет проведен в соответствии с инструкциями по бонитировке мясо-сальных и полутонкорунных пород (МСХ РК: Республиканская палата овцеводства, 2017), а также разработанными рекомендациями по ведению селекционно-племенной работы с мясо-сальными овцами (Уральск, 2015, 2016, 2017). Продуктивно-племенные качества и биологические особенности подопытных овец будут изучены по общепринятым методам зоотехнических исследований с применением частных методик ВАСХНИЛ, ВИЖ, ВНИИОК, ЦНИИ шерсти и др. Согласно методике научно-производственного опыта будут сформированы группы овец по принципу пар аналогов [16], которые будут находиться в одной отаре, в исключительно одинаковых паратипических условиях кормления, ухода и содержания.

Отбор биопроб. В качестве биологического материала для исследовательских работ будут применены волосяные луковицы.

Выделение геномной ДНК и ее качественный и количественный анализ. ДНК будет выделяться с использованием коммерческих наборов для выделения ДНК с высоким выходом и чистотой согласно инструкции производителя.

SNP-генотипирование с широким покрытием генома и обработка результатов генотипирования. SNP-генотипирование и биоинформатический анализ будет проведен на базе РГП на ПХВ «Институт биологии и биотехнологии растений» КН МНВО РК. SNP-генотипирование будет проводиться на платформе Affymetrix (GeneTitan, Thermo Fisher Scientific) с использованием чипов Axiom™ Ovine Genotyping Array (>50K). Первичная обработка данных будет проводиться с использованием базового программного обеспечения в составе аппаратной платформы. Контроль качества и фильтрация SNP-маркеров будет проводиться на основе следующих статистических показателей: частота пропущенных значений, среднее качество прочтения среди образцов, частоты минорных аллелей (MAF), соответствие равновесию Харди-Вайнберга. Анализ будет проводиться с использованием программы PLINK1.9 [11], а также R/Bioconductor с пакетами adegenet, ape, regas, GWASTools [12, 13, 14] и прочего программного обеспечения.

Популяционно-генетический анализ будет включать определение общих популяционно-генетических параметров (ожидаемая и наблюдаемая гетерозиготность, равновесие Харди-Вайнберга, сцепление), а также многомерный анализ данных генотипирования (анализ главных компонент), вычисление матриц расстояний и деревьев генетического родства. Генетическая структура рассматриваемой выборки также будет проанализирована с использованием программы ADMIXTURE [15]. На основании доступных фенотипических данных будет проведен полногеномный поиск ассоциаций SNP маркеров с соответствующими признаками. Анализ ассоциаций будет проводиться в PLINK1.9 с использованием одномерной регрессии генотипов против фенотипа, а также многомерной регрессии генотипов и нескольких фенотипических параметров. Для увеличения статистической значимости результаты будут скорректированы на множественность сравнений. На основании результатов анализа ассоциаций будут идентифицированы гены участки генома, ассоциированные с рассматриваемыми признаками. Для обработки, аннотации и интерпретации результатов анализа ассоциаций будут использованы R и Bioconductor.

Сформирована группа животных эдильбаевской породы овец и будет произведена зоотехническая оценка, а также отбор биологического материала для исследований. Далее планируется проведение полногеномного SNP-генотипирования, филогенетического анализа и определение генетической структуры популяций. На заключительном этапе планируется осуществить поиск и отбор генетиче-

ских маркеров, ассоциированных с хозяйственно полезными признаками и разработать научно обоснованные рекомендации для селекционных программ с целью увеличения генетического биоразнообразия и получение данных для воспроизводства овец эдилбайской породы.

Заключение:

1. Определена внутренняя структура овец эдилбаевской породы на основе данных SNP-генотипирования с широким покрытием генома. 2. Проведен филогенетический анализ и определена генетическая структура популяций овец эдилбаевской породы. 3. Изучена ассоциация выявленных SNP с хозяйственно полезными признаками в исследуемой выборке эдилбаевской породы. 4. Разработаны рекомендации для селекционных программ с целью сокращения генетического биоразнообразия и получение данных для воспроизводства овец эдилбаевской породы.

Целевыми потребителями результатов проекта являются исследователи овец, овцеводческие предприятия, научно-исследовательские институты, организации, занимающиеся товарным разведением. Исследования позволят выявить продуктивные качества у эдилбаевской породы овец за счет реализации потенциала хозяйственно полезных признаков. За счёт использования геномной селекции, полученные результаты позволят проводить совершенствование селекционно-племенной работы в овцеводстве. Выявленные SNP с хозяйственно полезными признаками в геноме породы в дальнейшем можно применять для оценки хозяйственно полезных признаков на платной основе. Влияние результатов исследований на научно-технический и кадровый потенциал заключается в том, что они могут использоваться учащимися в образовательном процессе и исследователями.

Ожидаемый научный и социально-экономический эффект. Впервые в условиях Западного региона Казахстана будет теоретически обоснована и практически доказана возможность эффективного использования генотипов мясо-сальных овец отечественной селекции. Ожидаемые результаты исследований внесут определенный вклад в животноводческую науку и практику при совершенствовании отечественной мясо-сальной породы овец и могут служить решением ряда пробелов по производству высококачественного мяса, что в свою очередь повышает эффективность ведения отрасли в условиях рыночной экономики. Социальный и экономический эффект определяется тем, что понимание генетической архитектуры отечественной эдилбаевской породы овец позволит улучшить процесс сохранения породы и селекции. Также большое значение имеет формирование высококвалифицированного персонала и повышение интеллектуального потенциала в области агропромышленного комплекса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Селионова, М. И. Перспективы использования геномных технологий в селекции овец (аналитический обзор) / М. И. Селионова, М. М. Айбазов, Т. В. Мамонтова // Сельскохозяйственный журнал. – 2014. – №7.
2. Геномная селекция в овцеводстве / М. И. Селионова [и др.] // Сельскохозяйственный журнал. – 2017. – №10.
3. Хлесткина, Е. К. Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и в селекции / Е. К. Хлесткина // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2013. – Т. 17 – № 4(2). – С. 59–64.
4. Мясо-сальные качества баранчиков эдилбаевской породы / Б. Б. Таисов [и др.] // Известия ОГАУ. – 2016. – №1 (57).
5. Pozharskiy A. et al. SNP genotyping and population analysis of five indigenous Kazakh sheep breeds // Livestock Science. – 2020. – Т. 241. – С. 104252.]
6. Zhumadillayev N. et al. SNP Genotyping Characterizes the Genome Composition of the New Baisary Fat-Tailed Sheep Breed // Animals. – 2022. – Т. 12. – №. 11. – С. 1468.
7. Поиск геномных вариантов, ассоциированных с живой массой у овец, на основе анализа высокоплотных SNP генотипов / Т. Е. Денискова [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2021. – Т. 56. – №. 2. – С. 279–291.
8. Abousoliman I. et al. Analysis of candidate genes for growth and milk performance traits in the Egyptian Barki sheep // Animals. – 2020. – Т. 10. – №. 2. – С. 197.
9. Zhang, L. Genome-wide association studies for growth and meat production traits in sheep / L. Zhang, J. Liu, F. Zhao, H. Ren, L. Xu, J. Lu, L. Du // PloS one. – 2013. – V. 8. – №. 6. – P. e66569.
10. Селионова, М. И. Исследование полиморфизма генов гормона роста, лептина у овец породы советский меринос / М. И. Селионова, Д. А. Ковалев, Л. Н. Скорых, Н. С. Сафонова, Н. И. Ефимова // Вестник АПК Ставрополя. – 2019. – №. 3. – С. 25–29.
11. Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L., Ferreira, M.A.R., Bender, D., Maller, J., Sklar, P., De Bakker, P.I.W., Daly, M.J., et al. (2007). PLINK: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am. J. Hum. Genet.* 81, 559–575.
12. Paradis, E., Claude, J., and Strimmer, K. (2004). APE: Analyses of Phylogenetics and Evolution in R language. *Bioinformatics* 20, 289–290.
13. R Core Team (2019). R: A Language and Environment for Statistical Computing.
14. Huber, W., Carey, V.J., Gentleman, R., Anders, S., Carlson, M., Carvalho, B.S., Bravo, H.C., Davis, S., Gatto, L., Girke, T., et al. (2015). Orchestrating high-throughput genomic analysis with Bioconductor. *Nat. Methods* 12, 115–121.
15. D. H. Alexander, J. Novembre, and K. Lange. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Research*, 19:1655–1664, 2009.
16. Овсянников, А. И. Основы опытного дела в животноводстве / А. И. Овсянникова. – М.: Колос. – 1976. – Т. 304. – С. 52.