

ПРИМЕНЕНИЕ SNP-ПАНЕЛЕЙ ДЛЯ ЦЕЛЕВОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ ПРИ ГЕНОТИПИРОВАНИИ МОЛОДНЯКА ОВЕЦ ПОРОДЫ РОССИЙСКИЙ МЯСНОЙ МЕРИНОС

^{1,2}А.Ю. Криворучко, ¹С.Н. Шумаенко, ¹А.А. Каниболоцкая, ¹А.В. Скокова, ^{1,2}Е.Ю. Сафарян, ¹О.А. Яцык

¹Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр, Михайловск Ставропольского края, Россия

²Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия

E-mail: dorohin.2012@inbox.ru

Для цитирования: Применение SNP-панелей для целевого секвенирования при генотипировании молодняк овец породы российский мясной меринос / А.Ю. Криворучко, С.Н. Шумаенко, А.А. Каниболоцкая, А.В. Скокова, Е.Ю. Сафарян, О.А. Яцык // Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). – 2025. – № 3 (76). – С. 249–260. – DOI: 10.31677/2072-6724-2025-76-3-249-260.

Ключевые слова: овцы, панель локусов, генотипирование, AgriSeq, SNP.

Реферат. Таргетное секвенирование является перспективным методом для генетических исследований в сельском хозяйстве. Он отличается высокой точностью, масштабируемостью и экономичностью и благодаря этим характеристикам становится важным инструментом для селекции, контроля качества и генетического анализа животных. Создание специализированных панелей локусов, таких как AgriSeq, позволяет фокусироваться на конкретных участках генома, таких как SNP, связанных с хозяйственно ценными признаками (например, мясная продуктивность), позволяющих селекционерам целенаправленно отбирать животных с желаемыми характеристиками. Это исключает случайность традиционных методов селекции, ускоряет процесс и повышает его точность за счет прямого воздействия на целевые гены. Панели разрабатываются с использованием биоинформационных инструментов, которые анализируют геномные данные и выбирают наиболее информативные SNP. Цель исследования заключается в изучении эффективности выявления и распространенности локусов из ранее предложенного набора SNP при обследовании новых поколений овец породы российский мясной меринос. Объектом исследования являлись бараны породы российский мясной меринос 2021 и 2022 гг. рождения в возрасте 12 мес. ($n = 110$). Разработанная нами панель локусов по технологии AgriSeq содержит 544 SNP, пригодных для оценки родства овец и 295 SNP, связанных с мясной продуктивностью животных. После корректировки первичного перечня локусов для генотипирования секвенированием у овец породы российский мясной меринос установили, что выбранные полиморфизмы могут быть информативны в течение достаточно длительного времени. Анализ результатов показал, что после модификации набора локусов панель для генотипирования секвенированием у баранчиков показала высокую эффективность выявления всех вариантов генотипов. Предложенная панель SNP-локусов соответствует требованиям российского законодательства для определения достоверности происхождения в племенных хозяйствах и позволяет обеспечить прозрачность и надежность генетической информации, что важно для сертификации племенных животных.

APPLICATION OF SNP-PANELS FOR TARGETED SEQUENCING IN GENOTYPING YOUNG SHEEP OF THE RUSSIAN MEAT MERINO BREED

^{1,2}A.Yu. Krivoruchko, ¹S.N. Shumaenko, ¹A.A. Kanibolotskaya, ¹A.V. Skokova, ^{1,2}E.Yu. Safaryan, ¹O.A. Yatsyk

¹North Caucasus Federal Scientific Center, Mikhailovsk, Stavropol Krai, Russia

²North Caucasus Federal University, Stavropol, Russia

E-mail: dorohin.2012@inbox.ru

Keywords: sheep, locus panel, genotyping, AgriSeq, SNP.

Abstract. Targeted sequencing is a promising method for genetic research in agriculture. It is highly accurate, scalable and cost-effective, and these characteristics make it an important tool for animal breeding, quality control and genetic analysis. The creation of specialized panels of loci, such as AgriSeq, allows focusing on specific regions of the genome, such as SNPs associated with economically valuable traits (e.g., meat production), allowing breeders to specifically select animals with desired characteristics. This eliminates the randomness of traditional breeding methods, speeds up the process and increases its accuracy due to direct action on target genes. Panels are developed using bioinformatics tools that analyze genomic data and select the most informative

SNPs. The aim of the study is to investigate the efficiency of detection and prevalence of loci from the proposed set of SNPs in the survey of new generations of Russian meat merino sheep breed. The object of the study was rams of the Russian meat merino breed born in 2021 and 2022 at the age of 12 months ($n = 110$). The developed panel of loci using AgriSeq technology contains 544 SNPs suitable for estimation of sheep parentage and 295 SNPs related to meat productivity of animals. After adjusting the list of loci for genotyping by sequencing in Russian meat merino sheep, it was found that the selected polymorphisms can be informative for a sufficiently long time. Analysis of the results showed that after modification of the set of loci, the panel for genotyping by sequencing in lambs showed high efficiency of detection of all variants of genotypes. The proposed panel of SNP loci meets the minimum requirements of the Russian legislation for determining the reliability of origin in breeding farms and will provide transparency and reliability of genetic information, which is important for certification of breeding animals. It is easy to use and can be implemented in breeding programs at the level of breeding farms and large farms.

В зарубежной практике овцеводства анализ однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) с использованием чипов различной плотности широко используются в различных программах геномной селекции из-за высокой точности [1] и коммерческой доступности [2]. Наиболее популярны для генотипирования овец чипы Illumina Ovine 50K BeadChip и Ovine 600K Beadchip [3], которые были разработаны с использованием геномных данных европейских и австралийских пород овец. Получаемые результаты с использованием чипов используются также для анализа генетического разнообразия, популяционной генетики и при полногеномном анализе ассоциаций (GWAS). Также данные о геноме животных, полученные с использованием микрочипов, могут быть использованы при разработке панелей для генотипирования и иметь широкое практическое применение в сельском хозяйстве [4]. Недостатком этой технологии является необходимость в дорогостоящем узкоспециализированном оборудовании, что ограничивает широкое использование в большинстве лабораторий молекулярно-генетической экспертизы.

Технология изучения генома, называемая генотипированием с помощью целевого (таргетного) секвенирования, получила широкое распространение в растениеводстве и животноводстве, в частности в скотоводстве, однако в овцеводстве только предпринимаются первые попытки создания наборов и внедрения этой технологии в практику [5]. Ранее проведенными исследованиями с использованием чипов высокой плотности и полногеномного анализа нами были выявлены локусы, связанные с различными хозяйственно ценными характеристиками у овец [6]. Полученные данные о частоте и распределении SNP и связи их с фенотипом являются основой для отбора маркеров при конструировании библиотек таргетного секвенирования. Большинство изученных характеристик ассоциированы

с экономически значимыми признаками, такими как мясность, качество шерсти или количество молока. Некоторые выявленные участки генома связаны с фенотипическими изменениями, вызванными одомашниванием, например, наличие рогов, количество позвонков, тип питания, иммунитет и другие важные признаки [5, 7, 8]. Немаловажным во время дизайна чипа является отбор SNP, позволяющих уточнить достоверность происхождения и половую идентификацию. Однако каждая порода имеет уникальные геномные характеристики, отличающиеся от остальных пород, в том числе отечественных, которые могут быть связаны с продуктивностью, адаптацией к окружающей среде и другими специфичными для породы признаками [4, 5, 9, 10].

В отечественной практике уже разработаны панели локусов генотипирования для отдельных пород овец, таких как джалгинский меринос, однако, учитывая породные особенности, есть необходимость целостного подхода и разработки наборов для всех пород, что могут позволить инновационные разработки в области генетики. Эта технология позволяет создавать и модифицировать специализированные панели для анализа генетических локусов, адаптированные под конкретные виды животных и даже породы, что делает её особенно востребованной в сельском хозяйстве [11–13]. Для таргетного секвенирования используются праймеры, специфичные к интересующим участкам генома. Это позволяет амплифицировать только те локусы, которые содержат необходимые SNP. После амплификации целевые участки секвенируются с использованием технологий NGS, таких как Illumina, Ion Torrent или Oxford Nanopore. Высокая точность и глубина покрытия позволяют надежно идентифицировать SNP. Полученные данные секвенирования обрабатываются с использованием специализированных программных комплексов для выявления SNP. Далее проводится непосредственный анализ

частоты встречаемости и другие исследования, позволяющие, в конечном итоге, разрабатывать панель для генотипирования [14, 15].

В целях разработки панели локусов для генотипирования секвенированием с использованием платформы AgriSeq на первом этапе исследований проводится отбор локусов, пригодных для оценки достоверности происхождения и хозяйственно полезных признаков у овец породы российский мясной меринос на основе данных, полученных с помощью ДНК-биочипов высокой плотности. Далее набор локусов подвергается коррекции в соответствии с требованиями к панелям [14, 18].

Цель настоящего исследования заключается в изучении эффективности выявления и распространённости локусов из предложенного набора SNP при обследовании новых поколений овец породы российский мясной меринос.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводились на базе лабораторий молекулярно-генетической экспертизы ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет», ВНИИОК – филиала ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр».

Объектом исследования являлись бараны 2021 и 2022 гг. рождения в возрасте 12 мес. породы российский мясной меринос ($n = 110$). Животные содержались в одинаковых хозяйственных условиях СПК «ПЛЕМЗАВОД ВТОРАЯ ПЯТИЛЕТКА» Ипатовского района Ставропольского края, они были клинически здоровы и получали смешанный рацион [13].

Генотипирование секвенированием осуществлялось в два этапа:

I этап. Проведение генотипирования особей, рожденных в 2021 г., с использованием исходной панели SNP-маркеров и последующий анализ полученных данных.

II этап. Генотипирование животных 2022 г. рождения на основе модифицированной панели, включающей откорректированный набор локусов. На этом этапе исключались SNP с низкой частотой встречаемости, а оставшиеся маркеры были отобраны с учетом их приближения к средней частоте аллелей $\sim 0,3$ [13, 16, 17].

Подготовку образцов ДНК и генотипирование секвенированием нового поколения с последующими критериями анализа и отбора локусов проводили по ранее описанной методике [13, 16, 17].

Генетический и статистический анализ проводили с использованием электронных таблиц Excel 2021 (Microsoft, США). Для картирования и номенклатурного наименования SNP использовали сборку генома Ovis_Aries_3.1 [13].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Используемый для оценки набор локусов включал в себя 295 замен, влияющих на продуктивные качества у породы российский мясной меринос и 544 полиморфизмов, пригодных для подтверждения достоверности происхождения.

В результате анализа генотипирования, проведенного по полиморфизмам, используемым для установления достоверности происхождения, установили, что средний показатель частоты встречаемости диких гомозиготных аллелей оказался ниже рекомендуемого уровня 0,3 (табл. 1).

Таблица 1

Параметры SNP для подтверждения достоверности происхождения у баранов породы российский мясной меринос с использованием биочипов
SNP parameters for confirming the authenticity of the origin of Russian Merino sheep using biochips

Показатель	Среднее	Ошибка среднего	Минимальное значение	Максимальное значение
Частота встречаемости диких гомозигот	0,256	0,024	0,212	0,391
Частота встречаемости гетерозигот	0,383	0,028	0,274	0,510
Частота встречаемости мутантных гомозигот	0,294	0,026	0,189	0,431
Частота дикого аллеля	0,553	0,091	0,36	0,69
Частота мутантного аллеля	0,447	0,073	0,31	0,64

Встречаемость диких гомозиготных аллелей в среднем составила 0,256. При этом частота встречаемости имела достаточно большой разброс

показателей: от 0,21 до 0,39. Важно отметить, что наибольшее количество замен имели частоту встречаемости около 0,21 и 0,33 (рис. 1).

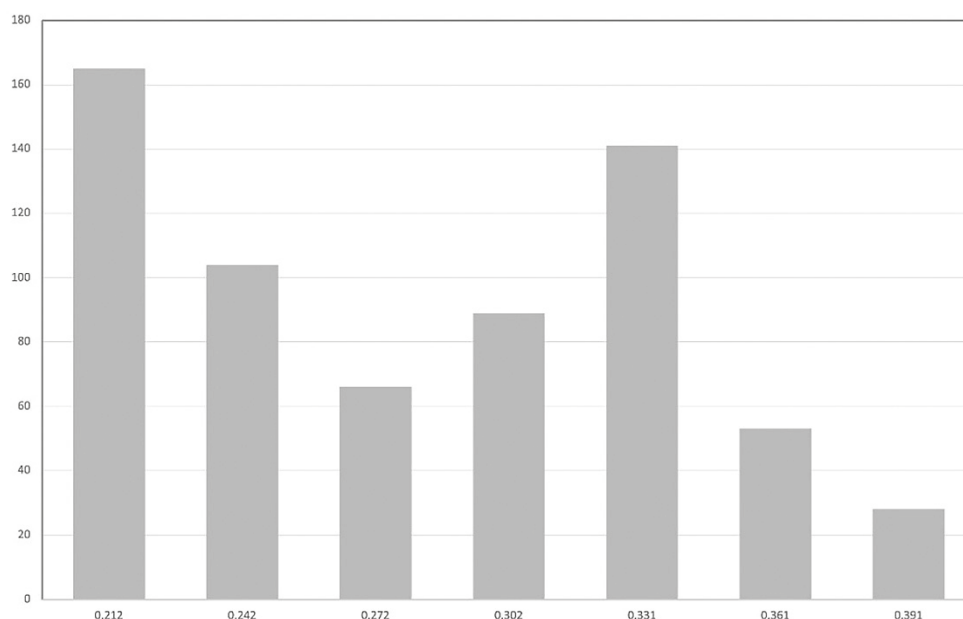


Рис. 1. Количество SNP с разной частотой встречаемости у баранов породы российский мясной меринос.

Дикие гомозиготные генотипы (ось x – частота встречаемости, ось y – количество полиморфизмов)

Number of SNPs with different frequencies of occurrence in Russian Meat Merino rams. Wild homozygous genotypes (x-axis – frequency of occurrence, y-axis – number of polymorphisms)

Минимальное количество полиморфизмов наблюдалось вблизи максимума, частоты 0,39. Гетерозиготные варианты полиморфизмов имели слишком высокую частоту встречаемости, около 0,38 (рис. 2). Также этот вариант генотипа показал большую вариабельность частоты встре-

чаемости. Минимальная частота составила 0,27, а максимальная превышала 0,5. Стоит отметить, что наибольшее количество замен имели частоту встречаемости около 0,39. Наименьшее количество полиморфизмов было зафиксировано при частотах 0,31 и 0,47 (см. рис. 2).

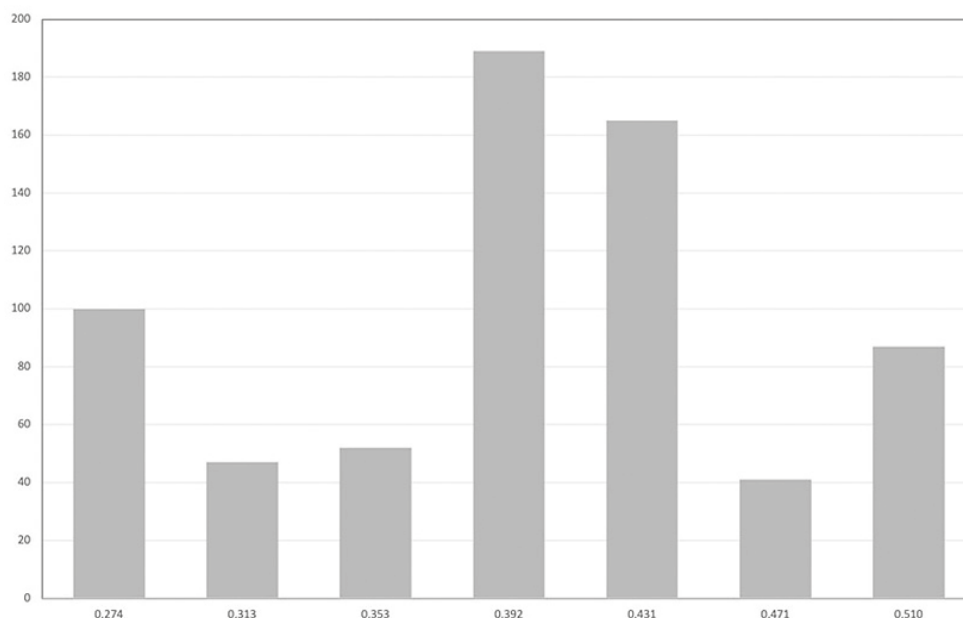


Рис. 2. Количество SNP с разной частотой встречаемости у баранов породы российский мясной меринос.

Гетерозиготные генотипы (ось x – частота встречаемости, ось y – количество полиморфизмов)

Number of SNPs with different frequencies of occurrence in Russian Meat Merino rams. Heterozygous genotypes (x-axis – frequency of occurrence, y-axis – number of polymorphisms)

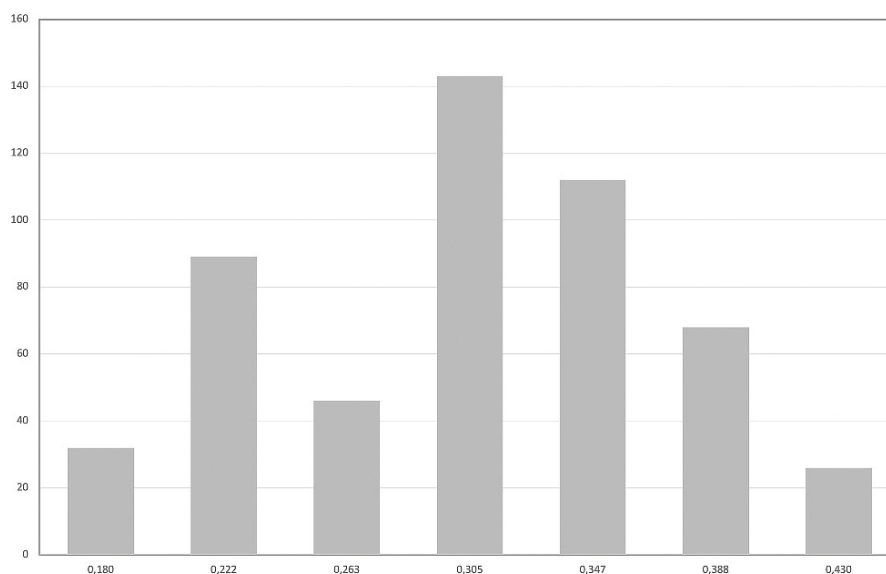


Рис. 3. Количество SNP с разной частотой встречаемости у баранов породы российский мясной меринос. Мутантные гомозиготные генотипы (ось x – частота встречаемости, ось y – количество полиморфизмов)
Number of SNPs with different frequencies of occurrence in Russian Meat Merino rams. Mutant homozygous genotypes (x -axis – frequency of occurrence, y -axis – number of polymorphisms)

Среди всех изученных генотипов только мутантные гомозиготы демонстрировали среднюю частоту встречаемости, приближенную к оптимальному значению 0,29. При этом вариативность частоты была значительной: минимальные значения наблюдались при 0,19, а максимальные – при 0,43. Наибольшее количество замен было выявлено при частоте 0,305 (рис. 3). Наименьшее

число полиморфизмов отмечалось на границах диапазона: 0,18 и 0,43.

Исследование данных генотипирования методом секвенирования у овец породы российский мясной меринос по локусам, ассоциированным с мясной продуктивностью, показало, что средняя частота встречаемости диких гомозиготных аллелей не достигала требуемого уровня и составила 0,26 (табл. 2).

Таблица 2

Параметры генотипируемых SNP для оценки мясной продуктивности у баранов породы российский мясной меринос
Parameters of genotyped SNPs for assessing meat productivity in Russian Meat Merino rams

Показатель	Среднее	Ошибка среднего	Минимальное значение	Максимальное значение
Частота встречаемости диких гомозигот	0,258	0,018	0,124	0,501
Частота встречаемости гетерозигот	0,297	0,016	0,152	0,491
Частота встречаемости мутантных гомозигот	0,461	0,022	0,061	0,714
Частота дикого аллеля	0,465	0,06	0,19	0,71
Частота мутантного аллеля	0,535	0,07	0,29	0,81

Также для диких гомозигот был показан большой интервал разброса частоты встречаемости полиморфизмов: от 0,12 до 0,5. Наибольшее коли-

чество полиморфизмов было отмечено с частотой встречаемости около 0,12 и 0,38 (рис. 4).

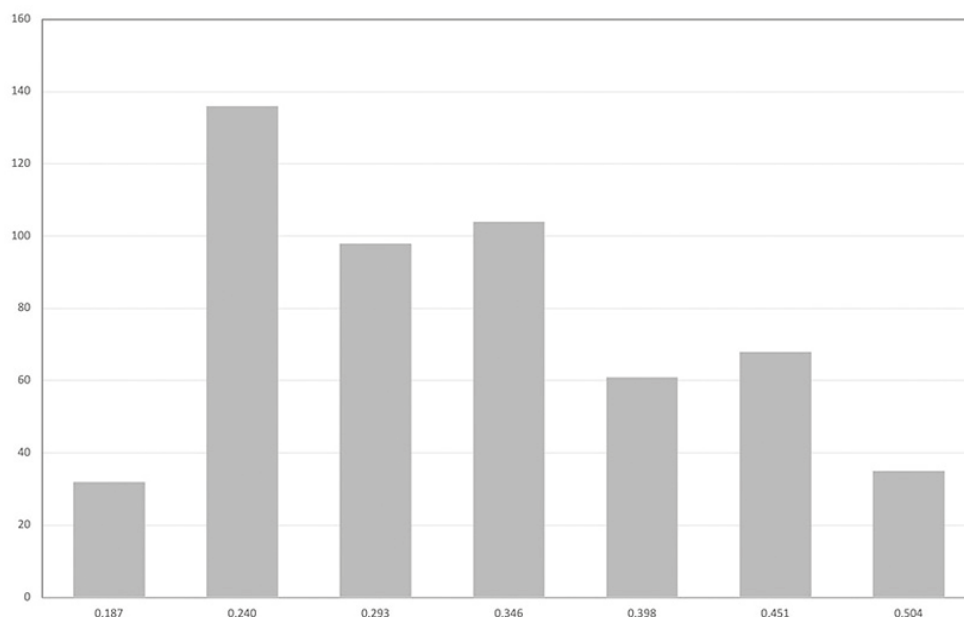


Рис. 4. Количество связанных с мясной продуктивностью SNP с разной частотой встречаемости у баранов породы российский мясной меринос. Дикие гомозиготные генотипы (ось x – частота встречаемости, ось y – количество полиморфизмов)

Number of SNPs associated with meat productivity with different frequencies of occurrence in Russian Meat Merino rams. Wild homozygous genotypes (x-axis – frequency of occurrence, y-axis – number of polymorphisms)

Меньше всего замен показали частоту встречаемости около 0,5. Гетерозиготные варианты исследуемых локусов российского мясного мериноса имели среднюю частоту встречаемости, близкую к оптимальной – 0,297. При этом разброс

частоты для отдельных локусов был достаточно большим: от 0,15 до 0,49. Пики количества полиморфизмов были отмечены для частоты встречаемости 0,265 и 0,378 (рис. 5)

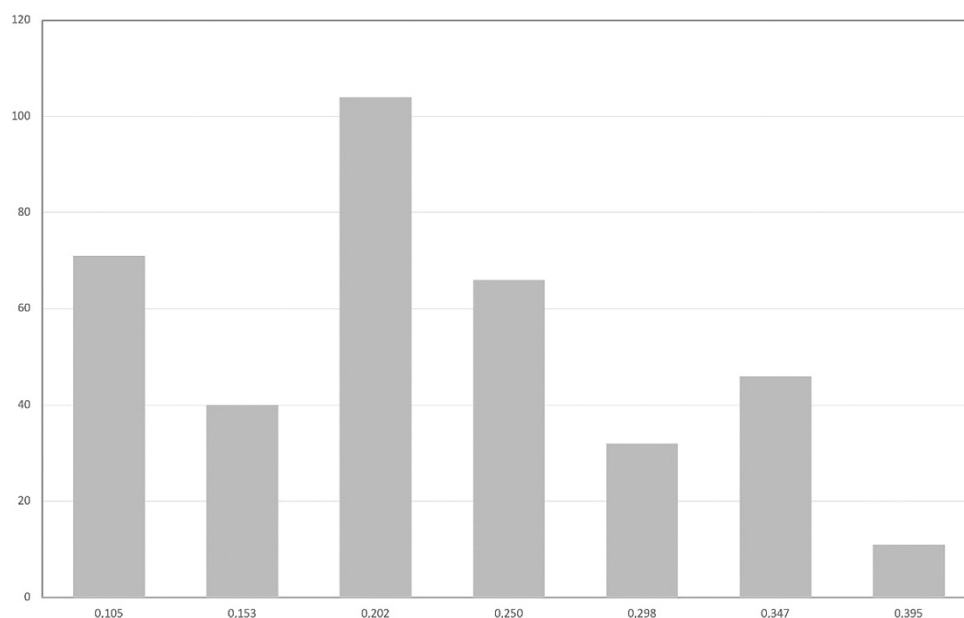


Рис. 5. Количество связанных с мясной продуктивностью SNP с разной частотой встречаемости у баранов породы российский мясной меринос. Гетерозиготные генотипы (ось x – частота встречаемости, ось y – количество полиморфизмов)

Number of SNPs associated with meat productivity with different frequencies of occurrence in Russian Meat Merino rams. Heterozygous genotypes (x-axis – frequency of occurrence, y-axis – number of polymorphisms)

Наименьшее количество замен было обнаружено при частотах 0,15 и 0,49. Средний показатель частоты встречаемости мутантных гомозигот оказался в 1,5 раза выше рекомендуемого значения. Для данного генотипа также наблюдался наибольший разброс частот встречаемо-

сти отдельных локусов, варьирующийся от 0,06 до 0,71. Наибольшее число полиморфизмов мы обнаружили при частотах 0,28 и 0,38 (рис. 6). Минимум количества полиморфизмов находился на частотах встречаемости около 0,06.

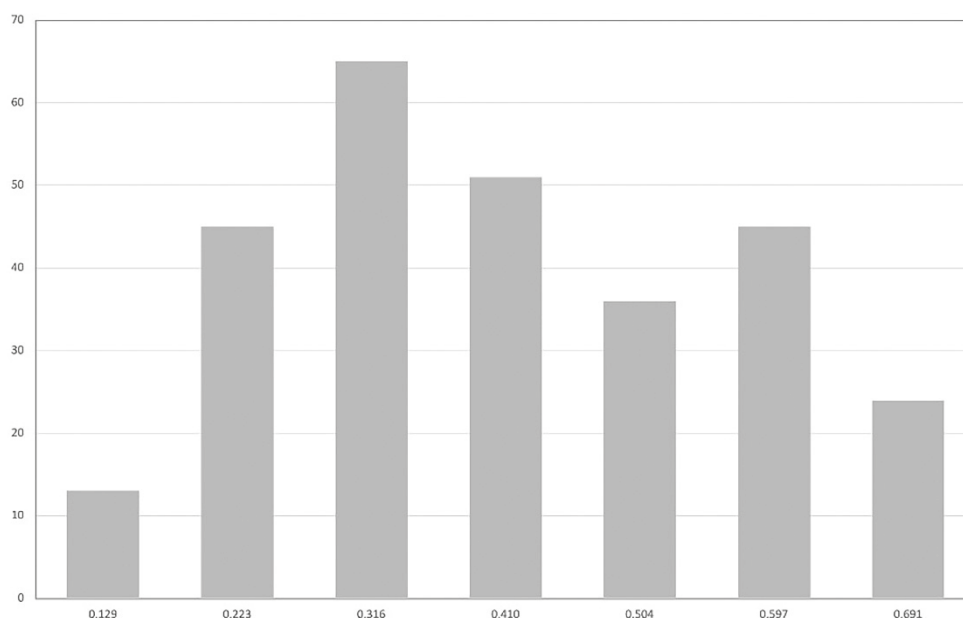


Рис. 6. Количество связанных с мясной продуктивностью SNP с разной частотой встречаемости у баранов породы российский мясной меринос. Мутантные гомозиготные генотипы (ось x – частота встречаемости, ось y – количество полиморфизмов)

Number of SNPs associated with meat productivity with different frequencies of occurrence in Russian Meat Merino rams. Mutant homozygous genotypes (x-axis – frequency of occurrence, y-axis – number of polymorphisms)

Оценка изменения частоты встречаемости отдельных полиморфизмов у баранов, генотипированных секвенированием, по сравнению с результатами предыдущих исследований с помощью

ДНК-биочипов и первичного отбора маркеров [18] показала, что средний показатель для диких гомозигот составил 14 % (табл. 3).

Таблица 3

Изменение частоты встречаемости SNP у баранов породы российский мясной меринос по сравнению с данными генотипирования на ДНК-биочипах, %
Change in the frequency of SNP occurrence in Russian Merino rams compared to genotyping data on DNA biochips, %

Показатель	Среднее	Ошибка среднего	Минимальное значение	Максимальное значение
Изменение частоты встречаемости диких гомозигот	14,331	0,91	0,132	27,275
Изменение частоты встречаемости гетерозигот	13,241	1,22	0,021	26,825
Изменение частоты встречаемости мутантных гомозигот	16,423	1,78	0,049	49,187

При этом минимальное изменение составляло 0,13 %, а максимальное – 27,3 %. Примерно такое же изменение частоты встречаемости в среднем показали и гетерозиготные варианты исследуемых

генотипов. Минимальное изменение частоты встречаемости в этой группе составило 0,02 %, что соответствует практически полному отсутствию изменений. Самое большое изменение в

частоте встречаемости было около 27 %, такое же, как и у диких гомозигот. Мутантные гомозиготные генотипы в среднем показали примерно такое же изменение частоты встречаемости, в среднем составившее 16,4 %. Но для этого варианта генотипов зафиксирован максимальный разброс в индивидуальных показателях изменения частоты встречаемости. Минимально он был 0,05 % (практически частота не изменилась), а максимум составил почти 50 %, что, конечно, является очень существенным изменением) (см. табл. 3). В целом модифицированный набор локусов можно считать достаточно эффективным для использования при генотипировании секвенированием овец породы российский мясной меринос.

Модификация SNP-панели для генотипирования овец породы российский мясной меринос: отбор маркеров и проверка эффективности на животных 2022 г. рождения.

Редактирование набора локусов в составе панели генотипирования секвенированием для

российского мясного мериноса затронуло только замены, используемые для оценки достоверности происхождения. В результате формирования панели для генотипирования секвенированием у овец породы российский мясной меринос и валидации новой панели у поколения 2022 г. рождения из нее был исключен комплекс из 84 локусов. Отбор проводили по принципу, описанному в работе Tortereau F. (2017). Исключались полиморфизмы с частотой встречаемости диких или мутантных гомозигот $< 0,2$, так как они обладают низкой информативностью для анализа родства и селекции. Оптимальной считалась частота аллелей $\sim 0,3$, обеспечивающая баланс между полиморфизмом и стабильностью маркера в популяции. Удалялись SNP, у которых изменение частоты встречаемости между поколениями 2021 и 2022 гг. превышало 15–20 %, что указывает на их нестабильность в геноме породы. Таким образом, дальнейшему анализу подверглись 460 замен.

Таблица 4

Параметры генотипируемых для подтверждения достоверности происхождения SNP у баранов породы российский мясной меринос 2022 года рождения
Parameters genotyped to confirm the authenticity of the origin of SNP in rams of the Russian meat merino breed born in 2022

Показатель	Среднее	Ошибка среднего	Минимальное значение	Максимальное значение
Частота встречаемости диких гомозигот	0,279	0,029	0,256	0,372
Частота встречаемости гетерозигот	0,361	0,036	0,281	0,468
Частота встречаемости мутантных гомозигот	0,307	0,022	0,249	0,386
Частота дикого аллеля	0,52	0,091	0,38	0,64
Частота мутантного аллеля	0,48	0,073	0,36	0,62

При генотипировании баранов породы российский мясной меринос для полиморфизмов, используемых с целью оценки достоверности происхождения, средняя частота встречаемости диких гомозиготных вариантов составляла около 0,28 (табл. 4). Минимальный показатель частоты встречаемости для такого варианта генотипа составил 0,26, а максимум был зафиксирован на уровне 0,37. Такие параметры указывают на хорошую информативность генотипирования по выбранным локусам, так как средний показатель стремится к 0,3. Средняя частота встречаемости гетерозиготных генотипов по исследуемым заменам составила 0,37 при минимальном показателе 0,28 и максимуме 0,47. Разброс параметров для гетерозигот был относительно велик, но то, что среднее по группе находится в допустимых пре-

делах для такого варианта генотипа, позволяет сделать заключение о хорошем результате выбора замен для генотипирования. Мутантные гомозиготные варианты замен у российского мясного мериноса показали оптимальную среднюю частоту встречаемости, составившую 0,3. Разброс индивидуальных показателей частоты был почти таким же, как у диких гомозигот и составил диапазон от 0,25 до 0,39.

Результаты анализа генотипирования по полиморфизмам, ассоциированным с мясной продуктивностью у овец породы российский мясной меринос 2022 года рождения, продемонстрировали (табл. 5), что средняя частота встречаемости диких гомозиготных аллелей достигла 0,28, что на 8 % превышает аналогичные показатели у животных 2021 года рождения.

Таблица 5

Параметры генотипируемых SNP для оценки мясной продуктивности баранов породы российский мясной меринос 2022 года рождения
Parameters of genotyped SNPs for assessing meat productivity of Russian Meat Merino rams born in 2022

Показатель	Среднее	Ошибка среднего	Минимальное значение	Максимальное значение
Частота встречаемости диких гомозигот	0,281	0,016	0,186	0,405
Частота встречаемости гетерозигот	0,328	0,024	0,169	0,428
Частота встречаемости мутантных гомозигот	0,379	0,027	0,094	0,582
Частота дикого аллеля	0,48	0,04	0,28	0,69
Частота мутантного аллеля	0,52	0,09	0,31	0,72

Средний показатель частоты встречаемости гетерозиготных генотипов возрос с 0,3 до 0,32. При этом мутантные гомозиготы стали встречаться на 18 % реже в сравнении с данными по животным 2021 года рождения. Средняя частота каждого из аллелей осталась практически неизменной, сохраняясь на уровне около 0,5. Хотя минимальные и максимальные значения частот аллелей несколько изменились, их соотношение осталось близким к результатам предыдущего этапа генотипирования.

Таким образом, результаты генотипирования секвенированием российских мясных мериносов показали, что выбранная панель локусов удовлетворительно справляется с поставленной задачей по выявлению полиморфизмов с достаточной частотой встречаемости.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Секвенирование нового поколения в сочетании с платформой AgriSeq представляет собой инновационный метод анализа генетических данных, который находит широкое применение в сельском хозяйстве, особенно в животноводстве и овцеводстве. Этот подход позволит проводить масштабное генотипирование множества генетических маркеров одновременно, что делает его незаменимым инструментом для селекции, улучшения пород и сохранения генетического разнообразия. Разработанная компанией Thermo Fisher Scientific технология AgriSeq объединяет преимущества NGS и целевого генотипирования. AgriSeq основана на амплификации определённых участков ДНК с последующим их секвенированием. Это дает возможность одновременно анализировать от нескольких сотен до тысячи SNP, что необходимо для выявления генетических маркеров, связанных с достоверностью проис-

хождения, продуктивностью, устойчивостью к болезням и другими ключевыми характеристиками. Внедрение новой технологии в отечественное овцеводство будет способствовать повышению качества шерсти и мясной продукции, идентификации генетических маркеров, связанных с устойчивостью к паразитам и инфекциям, более точно выполнять анализ родства и способствовать оптимизации программ селекции для получения более продуктивных и здоровых животных.

На основании проведенных исследований были выделены замены, не демонстрирующие значимой связи с фенотипическими признаками у баранов породы российский мясной меринос. Данные полиморфизмы применялись для установления степени родства между животными. В отдельную категорию вошли SNP, обладающие необходимой частотой встречаемости и устойчивой связью с параметрами продуктивности, что позволяет использовать их в селекционной работе для улучшения хозяйственно ценных характеристик.

Установили, что большинство замен, отобранных для подтверждения достоверности происхождения у баранов первого поколения сохраняют свою информативность и в последующем поколении овец. SNP, показавшие значительное снижение частоты встречаемости отдельных генотипов, исключаются. В результате анализа после удаления из панели 84 локусов с изменившейся частотой обнаружения для дальнейшего анализа использовались 460 замен, что выше минимального значения для достоверной оценки родства, установленного ISAG для овец практически в 5 раз [13]. Наличие избыточных SNP позволит в дальнейшем исключать полиморфизмы утратившим информативность в случае закрепления в породе одного из аллелей.

Панель валидирована на большом количестве образцов, что подтверждает её надёжность. Частота встречаемости полиморфизмов, связанных с признаками фенотипа, характеризующего мясного продуктивность, между группами баранчиков 2021 и 2022 года рождения изменилась незначительно.

ВЫВОДЫ

1. Разработанная панель включает 460 SNP для подтверждения происхождения и 295 SNP для оценки мясной продуктивности.

2. Частота встречаемости диких гомозиготных аллелей составила 0,28, что соответствует требованиям для долгосрочного использования.

3. Панель соответствует законодательным требованиям РФ и применима в селекционных программах.

4. Технология AgriSeq демонстрирует высокую эффективность для генотипирования овец.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, соглашение № 22-26-20009 от 03.12.2022.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Comparing BeadChip and WGS genotyping: non-technical failed calling is attributable to additional variation within the probe target sequence* / M. Gershoni [et al.] // *Genes*. – 2022. – Vol. 13, № 3. – P. 485. – DOI: 10.3390/genes13030485.
2. *Rapid low-cost microarray-based genotyping for genetic screening in primary immunodeficiency* / N. Suratannon [et al.] // *Frontiers in Immunology*. – 2020. – Vol. 11. – P. 614. – DOI: 10.3389/fimmu.2020.00614.
3. *Design and characterization of a high-resolution multiple-SNP capture array by target sequencing for sheep* / Y. Guo [et al.] // *Journal of Animal Science*. – 2023. – Vol. 101. – Art. skac383. – DOI: 10.1093/jas/skac383.
4. *Genome wide association for a dominant pigmentation gene in sheep* / J.W. Kijas [et al.] // *Journal of Animal Breeding and Genetics*. – 2013. – Vol. 130. – P. 468–475. – DOI: 10.1111/jbg.12048.
5. *Whole-genome resequencing of wild and domestic sheep identifies genes associated with morphological and agronomic traits* / X. Li [et al.] // *Nature Communications*. – 2020. – Vol. 11, № 1. – P. 2815. – DOI: 10.1038/s41467-020-16485-1.
6. *Development and application of a target capture sequencing SNP-genotyping platform in rice* / C. Lee [et al.] // *Genes*. – 2022. – Vol. 13, № 5. – P. 794. – DOI: 10.3390/genes13050794.
7. *Whole-genome selective scans detect genes associated with important phenotypic traits in sheep (*Ovis aries*)* / S.S. Xu [et al.] // *Frontiers in Genetics*. – 2021. – Vol. 12. – Art. 738879. – DOI: 10.3389/fgene.2021.738879.
8. *The origin of domestication genes in goats* / Z. Zheng [et al.] // *Science Advances*. – 2020. – Vol. 6, № 21. – Art. eaaz5216. – DOI: 10.1126/sciadv.aaz5216.
9. *Выявление молекулярных маркеров и генов-кандидатов породной принадлежности северокавказских мясошерстных овец методом полногеномного поиска ассоциаций* / А.Ю. Криворучко, А.В. Скокова, О.Я. Яцык [и др.] // *Вестні Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Сер. аграрных навук*. – 2024. – Т. 62, № 1. – С. 57–67. – DOI: 10.29235/1817-7204-2024-62-1-57-67.
10. *Genome-Wide Search for Associations with Meat Production Parameters in Karachaevsky Sheep Breed Using the Illumina BeadChip 600 K* / A. Krivoruchko [et al.] // *Genes*. – 2023. – Vol. 14, № 6. – P. 1288. – DOI: 10.3390/genes14061288.
11. *Refining the genomic profiles of North African sheep breeds through meta-analysis of worldwide genomic SNP data* / I. Baazaoui [et al.] // *Frontiers in Veterinary Science*. – 2024. – Vol. 11. – Art. 1339321. – DOI: 10.3389/fvets.2024.1339321.
12. *Johnsson M. Genomics in animal breeding from the perspectives of matrices and molecules* // *Hereditas*. – 2023. – Vol. 160, № 1. – Art. 20. – DOI: 10.1186/s41065-023-00285-w.
13. *Использование таргетного секвенирования для генотипирования овец породы джалгинский меринос* / А.Ю. Криворучко, А.А. Каниболоцкая, Л.Н. Скорых [и др.] // *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. – 2024. – Т. 25, № 3. – С. 453–464. – DOI: 10.30766/2072-9081.2024.25.3.453-464.
14. *Target-enrichment strategies for next-generation sequencing* / L. Mamanova [et al.] // *Nature Methods*. – 2010. – Vol. 7, № 2. – P. 111–118. – DOI: 10.1038/nmeth.1419.
15. *Goodwin S., McPherson J.D., McCombie W.R. Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies* // *Nature Reviews Genetics*. – 2016. – Vol. 17, № 6. – P. 333–351. – DOI: 10.1038/nrg.2016.49.
16. *Tortereau F., Moreno C.R., Tosser-Klopp G. Development of a SNP panel dedicated to parentage assignment in French sheep populations* // *BMC Genetics*. – 2017. – Vol. 18. – Art. 50. – DOI: 10.1186/s12863-017-0518-2.

17. SNP Data Quality Control in a National Beef and Dairy Cattle System and Highly Accurate SNP Based Parentage Verification and Identification / M.C. McClure [et al.] // *Frontiers in Genetics*. – 2018. – Vol. 9. – Art. 84. – DOI: 10.3389/fgene.2018.00084.
18. Genome-wide search polymorphisms using illumina beadchip in Russian meat Merino sheep for future genotyping by sequencing / A. Krivoruchko [et al.] // *Genetika*. – 2024. – Vol. 56, № 2. – P. 357–368. – DOI: 10.2298/GEN-SR2402357K.

REFERENCES

1. Gershoni M. et al., Comparing BeadChip and WGS genotyping: non-technical failed calling is attributable to additional variation within the probe target sequence, *Genes*, 2022, Vol. 13, No. 3, pp. 485, DOI: 10.3390/genes13030485.
2. Suratannon N. et al., Rapid low-cost microarray-based genotyping for genetic screening in primary immunodeficiency, *Frontiers in Immunology*, 2020, Vol. 11, pp. 614, DOI: 10.3389/fimmu.2020.00614.
3. Guo Y. et al., Design and characterization of a high-resolution multiple-SNP capture array by target sequencing for sheep, *Journal of Animal Science*, 2023, Vol. 101, Art. skac383, DOI: 10.1093/jas/skac383.
4. Kijas J.W. et al., Genomewide association for a dominant pigmentation gene in sheep, *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 2013, Vol. 130, pp. 468–475, DOI: 10.1111/jbg.12048.
5. Li X. et al., Whole-genome resequencing of wild and domestic sheep identifies genes associated with morphological and agronomic traits, *Nature Communications*, 2020, Vol. 11, No. 1, pp. 2815, DOI: 10.1038/s41467-020-16485-1.
6. Lee C. et al., Development and application of a target capture sequencing SNP-genotyping platform in rice, *Genes*, 2022, Vol. 13, No. 5, pp. 794, DOI: 10.3390/genes13050794.
7. Xu S.S. et al., Whole-genome selective scans detect genes associated with important phenotypic traits in sheep (*Ovis aries*), *Frontiers in Genetics*, 2021, Vol. 12, Art. 738879, DOI: 10.3389/fgene.2021.738879.
8. Zheng Z. et al., The origin of domestication genes in goats, *Science Advances*, 2020, Vol. 6, No. 21, Art. eaaz5216, DOI: 10.1126/sciadv.aaz5216.
9. Krivoruchko A.Yu., Skokova A.V., Yatsyk O.Ya. [i dr.], *Vestsi Natsyyanal'nyay akademii navuk Belarusi. Ser. agrarnykh navuk*, 2024, Vol. 62, No. 1, pp. 57–67, DOI: 10.29235/1817-7204-2024-62-1-57-67. (In Russ.)
10. Krivoruchko A., Likhovid A., Kanibolotskaya A. [et al.], Genome-Wide Search for Associations with Meat Production Parameters in Karachayevsky Sheep Breed Using the Illumina BeadChip 600 K, *Genes*, 2023, Vol. 14, No. 6, pp. 1288, DOI: 10.3390/genes14061288.
11. Baazaoui I. et al., Refining the genomic profiles of North African sheep breeds through meta-analysis of worldwide genomic SNP data, *Frontiers in Veterinary Science*, 2024, Vol. 11, Art. 1339321, DOI: 10.3389/fvets.2024.1339321.
12. Johnsson M., Genomics in animal breeding from the perspectives of matrices and molecules, *Hereditas*, 2023, Vol. 160, No. 1, Art. 20, DOI: 10.1186/s41065-023-00285-w.
13. Krivoruchko A.Yu., Kanibolotskaya A.A., Skorykh L.N. [i dr.], *Agrarian Science of the Euro-North-East*, 2024, Vol. 25, No. 3, pp. 453–464, DOI: 10.30766/2072-9081.2024.25.3.453-464. (In Russ.)
14. Mamanova L. et al., Target-enrichment strategies for next-generation sequencing, *Nature Methods*, 2010, Vol. 7, No. 2, pp. 111–118, DOI: 10.1038/nmeth.1419.
15. Goodwin S., McPherson J.D., McCombie W.R., Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies, *Nature Reviews Genetics*, 2016, Vol. 17, No. 6, pp. 333–351, DOI: 10.1038/nrg.2016.49.
16. Tortereau F., Moreno C.R., Tosser-Klopp G., Development of a SNP panel dedicated to parentage assignment in French sheep populations, *BMC Genetics*, 2017, Vol. 18, Art. 50, DOI: 10.1186/s12863-017-0518-2.
17. McClure M.C. et al., SNP Data Quality Control in a National Beef and Dairy Cattle System and Highly Accurate SNP Based Parentage Verification and Identification, *Frontiers in Genetics*, 2018, Vol. 9, Art. 84, DOI: 10.3389/fgene.2018.00084.
18. Krivoruchko A., Genome-wide search polymorphisms using illumina beadchip in Russian meat Merino sheep for future genotyping by sequencing, *Genetika*, 2024, Vol. 56, No. 2, pp. 357–368, DOI: 10.2298/GENSR2402357K.

Информация об авторах:

А.Ю. Криворучко, главный научный сотрудник лаборатории геномной селекции и репродуктивной криобиологии в животноводстве

С.Н. Шумаенко, зам. директора по научной работе ВНИИОК

А.А. Каниболоцкая, старший научный сотрудник лаборатории геномной селекции и репродуктивной криобиологии в животноводстве

А.В. Скокова, ведущий научный сотрудник лаборатории геномной селекции и репродуктивной криобиологии в животноводстве

Е.Ю. Сафарян, старший научный сотрудник лаборатории геномной селекции и репродуктивной криобиологии в животноводстве

О.А. Яцык, старший научный сотрудник лаборатории геномной селекции и репродуктивной криобиологии в животноводстве

Contribution of the authors:

A.Yu. Krivoruchko, Chief Researcher, Laboratory of Genomic Selection and Reproductive Cryobiology in Animal Husbandry

S.N. Shumaenko, Deputy Director for Research at VNIIC

A.A. Kanibolotskaya, Senior Researcher, Laboratory of Genomic Selection and Reproductive Cryobiology in Animal Husbandry

A.V. Skokova, Leading Researcher, Laboratory of Genomic Selection and Reproductive Cryobiology in Animal Husbandry

E.Yu. Safaryan, Senior Researcher, Laboratory of Genomic Selection and Reproductive Cryobiology in Animal Husbandry

O.A. Yatsyk, Senior Researcher, Laboratory of Genomic Selection and Reproductive Cryobiology in Animal Husbandry

Вклад авторов:

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.