



Локусы панели генотипирования секвенированием по технологии AgriSeq в породе маньчский меринос

© 2023. А. Ю. Криворучко^{1, 2}✉, А. А. Лиховид², А. А. Каниболоцкая¹, Т. Ю. Саприкина¹, М. Ю. Кухарук², О. А. Яцык¹

¹ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр», г. Михайловск, Ставропольский край, Российская Федерация

²ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет», г. Ставрополь, Российская Федерация

С использованием генотипирования баранов породы маньчский меринос на базе Illumina BeadChip Ovine 600K были обнаружены локусы, пригодные для генотипирования секвенированием животных этой породы. Выявлены однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) с высокой частотой встречаемости в диапазоне 0,2850-0,3149 гомозигот как диких, так и мутантных вариантов. Гетерозиготные варианты этих замен встречались с частотой 0,379±0,012. Количество соответствующих выбранным критериям полиморфизмов составило 521. Анализ расположения обнаруженных SNP в геноме овец показал их наличие по всей длине генотипируемой области ДНК. Наибольшее количество полиморфизмов находилось на 1, 2, 3, 17 и X хромосомах. Меньше всего полиморфизмов выявлено на 18, 21, 24 и 25 хромосомах. Полученный набор замен позволит эффективно решать задачи подтверждения достоверности происхождения овец породы маньчский меринос, точно идентифицировать животных в процессе селекционной работы, проводить учет инбридинга в популяции. Предложенный нами набор SNP рекомендуется как для использования в генотипировании секвенированием нового поколения, так и для кастомизации SNP-биочипов.

Ключевые слова: овца, SNP, AgriSeq, NGS, селекция, генотип

Благодарности: работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, соглашение № 22-26-20009 от 03.21.2022.

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Криворучко А. Ю., Лиховид А. А., Каниболоцкая А. А., Саприкина Т. Ю., Кухарук М. Ю., Яцык О. А. Локусы панели генотипирования секвенированием по технологии AgriSeq в породе маньчский меринос. Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2023;24(5):849-857. DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2023.24.5.849-857>

Поступила: 05.04.2023

Принята к публикации: 04.09.2023

Опубликована онлайн: 30.10.2023

Loci of the genotyping panel by sequencing using AgriSeq technology in the Manych Merino breed

© 2023. Alexander Yu. Krivoruchko^{1, 2}✉, Andrey A. Likhovid², Anastasia A. Kanibolotskaya¹, Tatyana Yu. Saprikina¹, Maxim Yu. Kuharuk², Olesya A. Yatsyk¹

¹North Caucasus Federal Agrarian Research Centre, Mikhailovsk, Stavropol Territory, Russian Federation

²North Caucasus Federal University, Stavropol, Russian Federation

Using the genotyping of sheep of the Manych Merino breed on the basis of Illumina BeadChip Ovine 600K, loci suitable for genotyping by sequencing animals of this breed were found. Single nucleotide polymorphisms with a high frequency of occurrence in the range of 0.2850-0.3149 homozygotes of both wild and mutant variants were identified. Heterozygous variants of these substitutions occurred with a frequency of 0.379±0.012. The number of polymorphisms corresponding to the selected criteria was 521. Analysis of the location of the detected SNPs in the sheep genome showed their presence along the entire length of the genotyped DNA region. The largest number of polymorphisms were found on chromosomes 1, 2, 3, 17 and X. The least polymorphisms were detected on chromosomes 18, 21, 24 and 25. The resulting set of substitutions will effectively solve the problems of confirming the authenticity of the origin of sheep of the Manych Merino breed, accurately identify animals in the process of breeding work, and account for inbreeding in the population. The proposed set of SNPs is recommended both for use in genotyping by sequencing of a new generation, and for customization of SNP biochips.

Keywords: sheep, SNP, AgriSeq, NGS, breeding, genotype

Acknowledgements: the work was carried out under the support of the Russian Science Foundation, Agreement No. 22-26-20009 dated 03.21.2022.

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work.

Conflict of interest: the authors stated that there was no conflict of interest.

For citation: Krivoruchko A. Yu., Likhovid A. A., Kanibolotskaya A. A., Saprikina T. Yu., Kuharuk M. Yu., Yatsyk O. A. Loci of the genotyping panel by sequencing using AgriSeq technology in the Manych Merino breed. *Agrarnaya nauka Euro-Severo-Vostoka* = Agricultural Science Euro-North-East. 2023;24(5):849-857. (In Russ.).
DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2023.24.5.849-857>

Received: 05.04.2023

Accepted for publication: 04.09.2023

Published online: 30.10.2023

Генотипирование секвенированием с использованием технологии секвенирования нового поколения представляет собой важный инструмент селекционной работы в животноводстве. С его помощью можно решать широкий круг задач, связанных как с изучением генетической структуры популяций, так и с выявлением отдельных локусов, влияющих на развитие у животных фенотипических признаков. Последние могут определять породную принадлежность, параметры продуктивности или быть связанными с наследственной патологией [1]. Применение технологий геномной оценки привело к существенным успехам в повышении продуктивности у овец, крупного рогатого скота, свиней [2, 3, 4, 5].

Одним из наиболее распространенных направлений использования достижений молекулярной генетики в животноводстве является оценка родственных связей между животными. Чаще всего, это определение достоверности происхождения по генетическим параметрам матери, отца и потомка. Это также является подтверждением племенных качеств животных, так как доказывает происхождение от племенных родителей. Для решения этой задачи наиболее часто используют метод фрагментного анализа для оценки аллельного спектра микросателлитных маркеров. Метод является удобным, быстрым и точным [6]. При этом у него имеются и некоторые недостатки, связанные с ограниченным числом аллелей, определяемых за один запуск генетического анализатора. Также микросателлитные маркеры не связаны с какими-либо хозяйственно ценными признаками и, по сути, достаточно косвенно характеризуют геном.

Более современным методом определения достоверности происхождения является выявление однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), которые могут быть как неспецифическими маркерами, так и мутациями, влияющими на продуктивные качества животных. Для одновременного выявления небольшого количества SNP можно использовать то же оборудование, что и для фрагментного анализа – генетический секвенатор на основе капиллярного электрофореза [6]. Но, когда необходимо оценить сотни и тысячи SNP этот метод

становится малоприменимым. Более перспективно выполнять анализ такого количества полиморфизмов методом таргетного секвенирования на основе технологии нового поколения (NGS) [7, 8]. Она дает возможность определения большого числа полиморфизмов сразу для нескольких сотен образцов, что ограничивается только емкостью используемого чипа [9, 10]. Соответственно, с количеством одновременно исследуемых образцов прогрессивно снижается себестоимость исследования, что очень важно при массовом генотипировании [11]. На основе этой технологии были успешно генотипированы различные породы свиней, коров и овец [5, 12, 13].

Использование генотипирования нового поколения существенно облегчилось с появлением удобных инструментов для формирования наборов подготовки библиотек ДНК, таких как сервис AgriSeq. Они позволяют достаточно просто создать запрос на изготовление набора праймеров мультиплексной ПЦР и, при необходимости, менять спектр выявляемых полиморфизмов [11]. Однако для подготовки списка локусов таргетного секвенирования необходимо провести ряд предварительных исследований. Они включают в себя полногеномный поиск полиморфизмов, имеющих достаточную частоту встречаемости в исследуемой породе, чтобы исключить из таргетного секвенирования редко встречающиеся замены. Выполнить такой поиск можно с помощью полногеномного секвенирования, но более экономичным является подход с использованием ДНК-биочипов высокой плотности, оценивающих геном по сотням тысяч локусов [14].

Цель исследований – применить генотипирование на ДНК-биочипах компании Illumina, выдающих информацию о 600 000 локусах, для подготовки списка полиморфизмов у овец породы маньчский меринос с целью дальнейшего использования генотипирования секвенированием в селекции этой породы.

Научная новизна – проведено исследование овец породы маньчский меринос с использованием Illumina BeadChip Ovine 600K. На основании полученных результатов впервые предложен набор локусов для генотипирования секвенированием нового поколения с использованием технологии AgriSeq.

Материал и методы. Оценка фенотипа. Объектом исследования служили баранчики породы маньчжунский меринос в возрасте 12 месяцев из племенных хозяйств Ставропольского края (Российская Федерация). Всего для генотипирования было отобрано 50 особей с наиболее выраженными породными признаками, к которым относятся длина, плотность и тонина шерсти, качество жиропота, параметры экстерьера, живая масса. Параметры шерсти оценивали согласно рекомендациям Холман и Малау-Адули (Holman and Malau-Aduli) [15], экстерьер – по промерам с помощью измерительной ленты и тазомера. Взвешивание выполняли с использованием весов с точностью до 10 г. Живой вес составлял $72,1 \pm 0,8$ кг, высота в холке – $73,1 \pm 0,7$ см. Все животные были клинически здоровы, содержались в оптимальных условиях и получали сбалансированный рацион питания.

Генотипирование. Геномную ДНК выделяли из образцов цельной крови, взятой в асептических условиях из яремной вены, с помощью набора Pure Link Genomic DNA MiniKit (Invitrogen Life Technologies, США) в соответствии с протоколом производителя. Генотипирование животных проводили с использованием Ovine Infinium HD BeadChip 600K (Illumina Inc. CA, США) в соответствии с протоколом производителя. Первичную обработку результатов генотипирования проводили с помощью программы Genome Studio 2.0 (Illumina Inc. CA, США).

Контроль качества генотипирования. Контроль качества генотипирования проводили с использованием программного обеспечения PLINK V.1.07 [16]. В обработку данных были включены образцы с показателем количества выявленных однонуклеотидных полиморфизмов больше 0,95 (Call Rate). Из анализа исключили однонуклеотидные полиморфизмы, не имеющие хромосомной или физической локализации, с частотой минорных аллелей (MAF – Minor Allele Frequency) меньше 0,01, частотой потерянных генотипов (missing genotype) больше 0,1. В качестве порогового значения по критерию Харди-Вайнберга (Hardy-Weinberg equilibrium) использовалось значение $p = 0,0001$. С положительным результатом контроль качества генотипирования прошли 50 образцов.

Генетический и статистический анализ. Анализ результатов генотипирования, исследование частоты встречаемости полиморфизмов, оценку распределения SNP по регионам генома проводили с использованием программного обеспечения Genome Studio 2.0 software

(Illumina Inc. CA, USA). Описательную статистику для дистанций между SNP рассчитывали в Excel для Windows (Microsoft, USA). Для картирования SNP использовали сборку генома Ovis_Aries_3.1.

Результаты и их обсуждение. У баранов породы маньчжунский меринос мы изучили результаты генотипирования с использованием Ovine Infinium HD BeadChip 600K для выбора не менее 400 однонуклеотидных полиморфизмов, пригодных по своим параметрам для генотипирования секвенированием. В качестве основного параметра, определяющего возможность использования SNP в составе панели для генотипирования, мы использовали частоту встречаемости в исследованной выборке животных. Так как в результате исследования на ДНК-биочипах мы получили информацию более, чем о 606 000 полиморфизмах, для целей генотипирования выбирались те, которые имели наибольшую частоту встречаемости в выборке как для «диких», так и мутантных гомозиготных вариантов. В качестве среднего опорного значения частоты встречаемости было выбрано 0,3, вокруг которого определялся интервал частот встречаемости, в который попадали выбираемые полиморфизмы. Для более точного выбора окончательного списка замен мы тестировали несколько интервалов различного диапазона частот встречаемости, чтобы в итоге количество полиморфизмов составляло от 400 до 600.

Результаты анализа количества SNP, соответствующих разным диапазонам выбранной частоты встречаемости представлены в таблице 1. Мы начинали тестирование с больших диапазонов, постепенно сужая выбираемый интервал. Как показали результаты, диапазоны больше 0,2800-0,3299 включали слишком большое количество замен. Для наших исследований это было избыточно, так как список в этом случае включал более 10 тысяч соответствующих поставленным критериям полиморфизмов. При выборе слишком узких диапазонов, менее 0,2900-0,3139, подходящих для наших условий, оказывалось слишком малое количество замен. Оптимальным результатом в 522 замены выбрали интервал 0,2850-0,3149. Несмотря на то, что это количество большее, чем требуемое для составления панели (мы рассчитывали на 400 полиморфизмов), оно позволило в дальнейшем уточнить список за счет исключения тех замен, которые либо были расположены слишком близко друг

к другу, либо имели технические трудности в подборе праймеров или при проведении амплификации. В выбранной нами группе средняя частота встречаемости гетерозиготных вариантов замен составляла около 0,379. При анализе расположения выбранных полиморфизмов на хромосомах оказалось, что один

из них не имеет физической локализации, или находится на хромосоме 0 по классификации Illumina. Эта замена, s60578.1, была исключена из перечня для подготовки панели секвенирования и итоговое количество полиморфизмов на этом этапе исследования составило 521 единицу.

Таблица 1 – Количество SNP в различных диапазонах частоты встречаемости у баранов породы манычский меринос /

Table 1 – The number of SNPs in different frequency ranges in rams of the Manych Merino breed

№ выборки / Sample No.	Частота встречаемости ДГ (min-max) / Frequency of occurrence of WG (min-max)	Количество ДГ SNP (n) / Number of WG SNP (n)	Частота встречаемости МГ (min-max) / Frequency of occurrence of MG (min-max)	Количество ДГ+МГ SNP (n) / Amount of WG+MG SNP (n)	Частота встречаемости гетерозигот (M±m) / Frequency of occurrence of heterozygotes (M±m)
1	0,2950-0,3049	606	0,2950-0,3049	66	0,381±0,011
2	0,2950-0,3099	11042	0,2950-0,3099	129	0,378±0,032
3	0,2930-0,3129	12649	0,2930-0,3129	225	0,384±0,010
4	0,2900-0,3139	15903	0,2900-0,3139	316	0,431±0,014
5	0,2850-0,3149	22431	0,2850-0,3149	522	0,379±0,012
6	0,2800-0,3299	41916	0,2800-0,3299	1132	0,382±0,011
7	0,2500-0,3549	87884	0,2500-0,3549	11083	0,384±0,009

Примечания: ДГ – «дикий» гомозиготный генотип; МГ – мутантный гомозиготный генотип /
Notes: WG is a "wild" homozygous genotype; MG is a mutant homozygous genotype

Выбранные 515 однонуклеотидных замен были оценены по распределению на основе частоты встречаемости у исследуемой группы баранов породы манычский меринос. Было выявлено, что для «диких» гомозигот значительное количество полиморфизмов имело частоты встречаемости у нижней границы диапазона 0,285 (рис. 1, А). Однако в целом «дикие» гомозиготы относительно равномерно располагались во всех частях выбранного интервала, не имея больше пиков в других частях. Оценка частоты встречаемости «диких» гомозиготных вариантов с разбиением на хромосомы показала, что средние значения частоты встречаемости достаточно сильно варьировали между хромосомами (рис. 1, В). Изменения составляли от 0,292 на хромосоме 2 до 0,305 для хромосом 7, 9 и 10. Минимальные показатели частоты встречаемости для большинства хромосом находились вблизи нижней границы интервала 0,285, однако для хромосомы 23 это значение составило 0,292. Максимальные показатели частоты встречаемости также были близкими среди хромосом, исключение составили

хромосомы 18 и 19, где этот параметр не превышал 0,3.

Среди гетерозиготных типов выбранных замен наибольшее количество имело частоту встречаемости в середине общего диапазона 0,3505-0,4199 (рис. 1, С). По мере приближения к границам интервала выбранных частот встречаемости, количество полиморфизмов прогрессивно снижалось, причем в меньшую сторону интенсивность снижения была существенно выше. Средние значения частоты встречаемости полиморфизмов в виде гетерозиготных вариантов, в зависимости от локализации на хромосомах, имели выраженные отличия от «диких» гомозигот (рис. 1, D). Так, средняя частота полиморфизмов на хромосомах изменялась более интенсивно. Она колебалась от 0,405 на четырех хромосомах до 0,416 на хромосомах 22 и 25. Минимальные показатели имели существенных разброс – от 0,375 до 0,405 на хромосоме 24. Максимальные значения частоты встречаемости были почти одинаковыми у всех хромосом, за исключением хромосомы 9, у которой она снизилась до 0,408.

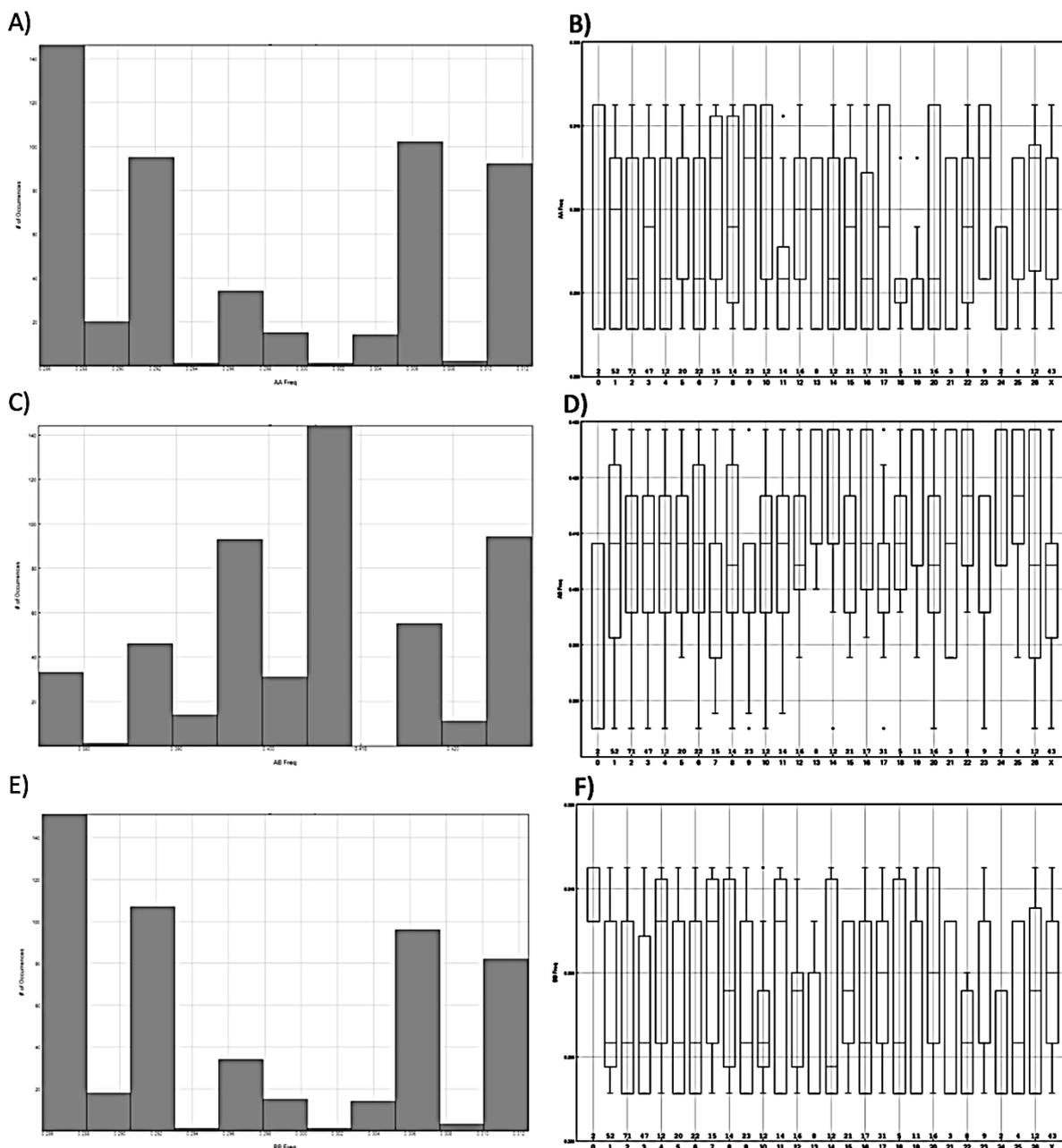


Рис. 1. Количество SNP с разной частотой встречаемости и распределение частоты встречаемости полиморфизмов на отдельных хромосомах у баранов породы маньчский меринос: А, В – «дикие» гомозиготные генотипы; С, D – гетерозиготные генотипы; Е, F – мутантные гомозиготные генотипы /
Fig. 1. The number of SNPs with different frequency of occurrence and the distribution of the frequency of occurrence of polymorphisms on individual chromosomes in rams of the Manych Merino breed: А, В – "wild" homozygous genotypes; С, D – heterozygous genotypes; Е, F – mutant homozygous genotypes

Среди мутантных гомозиготных типов, отобранных нами по критериям частоты встречаемости замен, распределение их по количеству внутри выбранного интервала, в целом, было похоже на «дикие» гомозиготные варианты (рис. 1, Е). Наибольшее количество замен приходилось на нижнюю границу интервала 0,285, а по мере приближения к верхней границе количество замен, соответствующих

этой частоте встречаемости, уменьшалось. В результате анализа распределения замен с разной частотой встречаемости, по отдельным хромосомам также было обнаружено значительное варьирование среднего показателя (рис. 1, F). Среднее значение частоты встречаемости замен на хромосомах колебалось от 0,288 на хромосоме 14 до 0,306 на хромосомах 4, 7 и 11. Минимальные значения почти не

имели различия между хромосомами и находились в пределах 0,285-0,286. Максимальные значения частоты встречаемости на хромо-

сомах также были достаточно стабильны в интервале 0,306-0,312, за исключением хромосомы 24 с показателем 0,298.

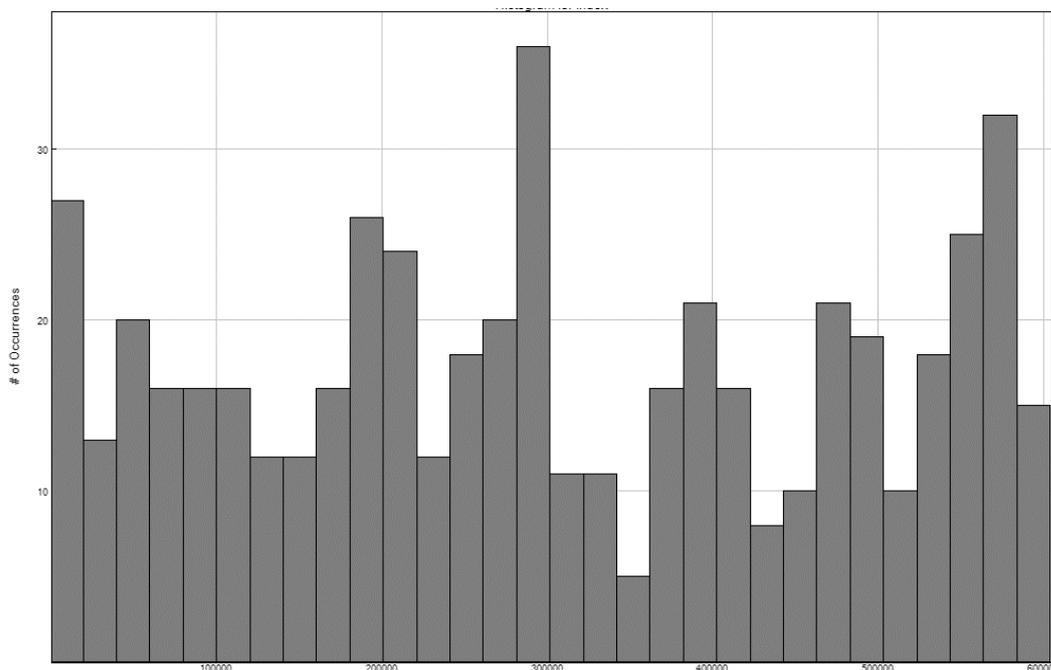


Рис. 2. Распределение выбранных для генотипирования SNP по областям генома в соответствии с индексом Illumina BeadChip Ovine 600K от 1 до 606 000 у баранов породы маньчский меринос /

Fig. 2. Distribution of SNPs selected for genotyping by genome regions according to the Illumina BeadChip Ovine 600K index from 1 to 606,000 in rams of the Manych Merino breed

Нами было изучено распределение выбранных SNP по регионам генома. Для этого использовали индексный параметр полиморфизмов по классификации Illumina Beadchip Ovine 600K (рис. 2). Индекс имел значения от 1 до 606 000 и не всегда его порядок соответствовал порядку нумерации хромосом, однако это не мешало оценивать равномерность покрытия генома. Анализ показал, что выбранные нами полиморфизмы присутствуют во всех регионах генома, представленного на ДНК-биочипе. Имелись участки с наибольшей плотностью выбранных SNP в области индексов 300 000 и пик в области 580 000. Некоторое снижение плотности покрытия полиморфизмами отмечено в регионе около индекса 350 000. Наибольшее количество полиморфизмов находилось на 1, 2, 3, 17 и X хромосомах, меньше всего их выявлено на 18, 21, 24 и 25 хромосомах. Но при этом, мы не выявили регионов, вообще не имеющих покрытия выбранными нами полиморфизмами.

В результате проведенного исследования по полногеномному генотипированию баранов

породы маньчский меринос с использованием консорциумного чипа Illumina Beadchip Ovine 600K нами были получены данные о наличии полиморфизмов в 606 000 локусах генома. Последующий анализ частоты встречаемости диких и мутантных вариантов обнаруженных SNP позволил выбрать из них наиболее подходящие для использования при генотипировании секвенированием – с достаточным количеством как гомозиготных, так и гетерозиготных вариантов в исследуемой популяции. На основании этого, нами выбрана 521 замена, отвечающая установленным критериям. Их можно в дальнейшем использовать при разработке кастомного ДНК-биочипа или для генотипирования секвенированием маньчских мериносов в ходе селекционной работы.

Набор локусов для генотипирования должен соответствовать поставленным селекционерами задачам и условиям. Наиболее распространенной задачей является оценка достоверности происхождения животных. Она также решается с использованием SNP-генотипирования. Количество локусов при этом должно

составлять не менее 100, при увеличении количества исследуемых полиморфизмов растет достоверность исследования, однако и повышается его стоимость [17]. Мы ставили задачу выбрать 400 и более замен с подходящими параметрами, что позволит в дальнейшем либо использовать их все, либо выбрать необходимое количество SNP для генотипирования секвенированием, учитывая экономическую целесообразность использования этого метода в селекции.

В качестве главного критерия была использована частота встречаемости как диких, так и мутантных гомозиготных вариантов замен. С помощью сортировки по этим параметрам в Genome Studio 2,0 исследовали несколько интервалов частоты встречаемости, середина которых приходилась на частоту 0,3. В исследовании Тортеро и др. (Tortereau et al.) частоту 0,3 считали нижним порогом при выборе полиморфизмов, но их целью являлся отбор всего 249 замен [18]. Поэтому мы снизили порог до 0,285. Использование узких интервалов не давало достаточного исходного количества замен, которое, по нашим критериям, должно было превышать 600-700 единиц (для возможности последующего отсева SNP). Более широкий интервал, наоборот, давал список из слишком большого количества замен. В итоге, мы остановились на диапазоне частот встречаемости, дающем 521 локус с близкими частотами и гомо-, и гетерозиготных генотипов в исследуемой популяции. Это близко по количеству, предлагаемому для генотипирования крупного рогатого скота. М. С. МакКлюр (McClure M.C. et al.) рекомендуют для использования список из 800 полиморфизмов [17]. Понятно, что использованный нами подход является индивидуальным для исследуемой породы, однако принцип подбора SNP можно будет применить и при генотипировании других пород овец.

Изучение распределения количества выбранных SNP, в зависимости от частоты встречаемости генотипа, показало, что оно отличалось для гомозиготных и гетерозиготных вариантов. Гомозиготы в большем количестве встречались около нижней и верхних границ выбранного интервала частот. Это свидетельствует о том, что расширение интервала выбора возможно как в сторону более высокой частоты, так и в сторону меньшей частоты встречае-

мости. Изучение распределения частоты встречаемости выбранных замен по хромосомам также показало отсутствие резких колебаний средних значений. Это указывает на достаточно равномерное распределение замен по хромосомам и подтверждает целесообразность использованного подхода в выборе SNP. В целом, учитывая также наибольшее количество гетерозиготных вариантов замен со средними значениями по их интервалу, мы считаем подобранный интервал частоты встречаемости достаточно оптимальным для выбора, необходимого для массового генотипирования секвенированием количества SNP.

Для оценки эффективности покрытия генома выбранными нами заменами было использовано распределение по их индивидуальному индексу на чипе Illumina Beadchip Ovine 600K. Несмотря на то, что не все хромосомы в нем индексированы по порядку, индивидуальные индексы SNP характеризовали расположение замен на цепи ДНК в количестве 606 000 локусов. Распределение по индексам позволило сделать заключение, что выбранный нами набор замен достаточно полно характеризует все области, представленные на чипе. В исследованиях И. Хюльсегге и др. (Hulsegge I. et al.) также отмечена неравномерность распределения подходящих для генотипирования SNP по хромосомам. Имеющиеся регионы с небольшим количеством SNP, конечно, менее информативны в плане генотипирования. Однако, как отметили авторы, для подтверждения достоверности происхождения и идентификации животных это снижение информативности не критично [19].

Заключение. С использованием генотипирования баранов породы маньчжский меринос на базе Illumina BeadChip Ovine 600K были обнаружены локусы, пригодные для генотипирования секвенированием животных этой породы. Выявлены однонуклеотидные полиморфизмы с высокой частотой встречаемости в диапазоне 0,2850-0,3149 гомозигот как диких, так и мутантных вариантов. Гетерозиготные варианты этих замен встречались с частотой $0,379 \pm 0,012$. Количество соответствующих выбранным критериям полиморфизмов составило 521. Анализ расположения обнаруженных SNP в геноме овец показал их наличие по всей длине генотипируемой области ДНК. Наибольшее количество полиморфизмов

находилось на 1, 2, 3, 17 и X хромосомах, меньше всего их выявлено на 18, 21, 24 и 25 хромосомах. Полученный набор замен позволяет эффективно решать задачи подтверждения достоверности происхождения овец породы маньчжский меринос, точно идентифицировать

животных в процессе селекционной работы, проводить учет инбридинга в популяции. Предложенный нами набор SNP рекомендуется как для использования в генотипировании секвенированием нового поколения, так и для кастомизации SNP-биочипов.

References

1. De Camargo G. M. F. The role of molecular genetics in livestock production. *Animal Production Science*. 2018;59(2):201-206. DOI: <https://doi.org/10.1071/AN18013>
2. Xu S.-S., Gao L., Shen M., Lyu F. Whole-Genome Selective Scans Detect Genes Associated With Important Phenotypic Traits in Sheep (*Ovis aries*). *Frontiers in Genetics*. 2021;12:738879. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.738879>
3. Mrode R. A., Ojango J. M. K., Okeyo A. M., Mwacharo J. Genomic selection and use of molecular tools in breeding programs for indigenous and crossbred cattle in developing countries: current status and future prospects. *Frontiers in Genetics*. 2019;9:00694. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00694>
4. Braz C. U., Rowan T. N., Schnabel R. D. Genome-wide association analyses identify genotype-by-environment interactions of growth traits in Simmental cattle. *Scientific reports*. 2021;11:13335. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-92455-x>
5. Gao G., Gao N., Li S., Kuang W., Zhu L., Jiang W., Yu W., Guo J., Li Z., Yang C., Zhao Y. Genome-Wide Association Study of Meat Quality Traits in a Three-Way Crossbred Commercial Pig Population. *Frontiers in Genetics*. 2021;12:614087. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.614087>
6. Al-Atiyat Raed M. The power of 28 microsatellite markers for parentage testing in sheep. *Electronic Journal of Biotechnology*. 2015;18(2):116-121. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2015.01.001>
7. Clarke S. M., Henry H. M., Dodds K. G., Jowett T. W. D., Manley T. R. A High Throughput Single Nucleotide Polymorphism Multiplex Assay for Parentage Assignment in New Zealand Sheep. *PLOS ONE*. 2014;9(4):e93392. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093392>
8. Heaton M. P., Leymaster K. A., Kalbfleisch T. S., Kijas J. W., Clarke S. M., McEwan J., Maddox J. F., Basnayake V., Petrik D. T., Simpson B., Smith T. P. L., Chitko-McKown C. G. SNPs for Parentage Testing and Traceability in Globally Diverse Breeds of Sheep. *PLOS ONE*. 2014;9(4):e94851. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094851>
9. De Donato M., Peters S. O., Mitchell S. E., Hussain T., Imumori I. G. Genotyping-by-Sequencing (GBS): A Novel, Efficient and Cost-Effective Genotyping Method for Cattle Using Next-Generation Sequencing. *PLOS ONE*. 2013;8(5):e62137. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062137>
10. Ciani E., Mastrangelo S., Da Silva A., Marroni F., Ferencakovic M., Ajmone-Marsan P. et al. On the origin of European sheep as revealed by the diversity of the Balkan breeds and by optimizing population-genetic analysis tools. *Genetics Selection Evolution*. 2020;52(1):1-14. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12711-020-00545-7>
11. Willis R. C. A., Burrell M., Swimley P., Siddavatam R. Modular automation solution for genotyping by sequencing for animal breeding. *Proc. W. Cong. Gen. App. Livest. Prod.* 2018;11:313.
12. Gebrehiwot N. Z., Strucken E. M., Marshall K. SNP panels for the estimation of dairy breed proportion and parentage assignment in African crossbred dairy cattle. *Genetics Selection Evolution*. 2021;53(1):21. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12711-021-00615-4>
13. Brito L. F., Clarke S. M., McEwan J. C., Miller S. P., Pickering N. K., Bain W. E., Dadds K. G., Sargolzaei M., Schenkel F. S. Prediction of genomic breeding values for growth, carcass and meat quality traits in a multi-breed sheep population using a HD SNP chip. *BMC genetics*. 2017;18:7. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12863-017-0476-8>
14. Rahman M. A., Juyena N. S., Shmsuddin M. M., Bhuiyan M. U. Genomic tools and genetic improvement of crossbred Friesian cattle. *Research in Agriculture Livestock and Fisheries*. 2021;8(1):89-107. DOI: <https://doi.org/10.3329/ralf.v8i1.53271>
15. Holman B. W. B., Malau-Aduli A. E. O. A Review of Sheep Wool Quality Traits. *Annual Review & Research in Biology*. 2012;2(1):1-14.
16. 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., Sham P. C. PLINK: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *The American journal of human genetics*. 2007;81(3):559-575. DOI: <https://doi.org/10.1086/519795>
17. McClure M. C., McCarthy J., Flynn P., McClure J. C., Dair E., O'Connell D. K., Kearney J. F. 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;9:00084. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00084>

18. Tortereau F., Moreno C. R., Tosser-Klopp G. Development of a SNP panel dedicated to parentage assignment in French sheep populations. BMC genetics. 2017;18:50. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12863-017-0518-2>

19. Hulsege I., Schoon M., Windig J., Neuteboom M., Hiemstra S.J., Schurink A. Development of a genetic tool for determining breed purity of cattle. Livestock Science. 2019;223:60-67.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2019.03.002>

Сведения об авторах

✉ **Криворучко Александр Юрьевич**, доктор биол. наук, главный научный сотрудник, ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр», д. 49, ул. Никонова, г. Михайловск, Ставропольский край, Российская Федерация, 356241 e-mail: info@fnac.center; научный сотрудник, ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет», д. 2, корп. 23, просп. Кулакова, г. Ставрополь, Российская Федерация, 355029, e-mail: info@ncfu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4536-1814>, e-mail: rcvm@yandex.ru

Лиховид Андрей Александрович, доктор географ. наук, профессор, ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет», д. 2, корп. 23, просп. Кулакова, г. Ставрополь, Российская Федерация, 355029, e-mail: info@ncfu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2190-301X>

Каниболоцкая Анастасия Александровна, кандидат биол. наук, старший научный сотрудник, ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр», д. 49, ул. Никонова, г. Михайловск, Ставропольский край, Российская Федерация, 356241, e-mail: info@fnac.center, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3003-4175>

Саприкина Татьяна Юрьевна, аспирант, младший научный сотрудник, ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр», 49, ул. Никонова, г. Михайловск, Ставропольский край, Российская Федерация, 356241, e-mail: info@fnac.center, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5306-795X>

Кухарук Максим Юрьевич, кандидат биол. наук, и.о. заведующего кафедрой, ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет», д. 2, корп. 23, просп. Кулакова, г. Ставрополь, Российская Федерация, 355029, e-mail: info@ncfu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4093-5807>

Яцык Олеся Андреевна, кандидат биол. наук, старший научный сотрудник, ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр», д. 49, ул. Никонова, г. Михайловск, Ставропольский край, Российская Федерация, 356241, e-mail: info@fnac.center, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2730-2482>

Information about the authors

✉ **Alexander Yu. Krivoruchko**, DSc in Biology, chief researcher, North Caucasus Federal Agrarian Research Centre, 49, Nikonova Street, Mikhailovsk, Stavropol Territory, Russian Federation, 356241, e-mail: info@fnac.center; Researcher, North Caucasus Federal University, 2, bldg. 23, ave. Kulakova, Stavropol, Russian Federation, 355029, e-mail: info@ncfu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4536-1814>, e-mail: rcvm@yandex.ru

Andrey A. Likhovid, DSc in Geographic, professor, North Caucasus Federal University, 2, bldg. 23, ave, Kulakova, Stavropol, Russian Federation, 355029, e-mail: info@ncfu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2190-301X>

Anastasia A. Kanibolotskaya, PhD in Biology, senior researcher, North Caucasus Federal Agrarian Research Centre, 49, Nikonova Street, Mikhailovsk, Stavropol Territory, Russian Federation, 356241, e-mail: info@fnac.center, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3003-4175>

Tatyana Yu. Saprikina, postgraduate student, junior researcher, North Caucasus Federal Agrarian Research Centre, 49, Nikonova Street, Mikhailovsk, Stavropol Territory, Russian Federation, 356241, e-mail: info@fnac.center, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5306-795X>

Maxim Yu. Kuharuk, PhD in Biology, acting head of the department, North Caucasus Federal University, 2, bldg. 23, ave. Kulakova, Stavropol, Russian Federation, 355029, e-mail: info@ncfu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4093-5807>

Olesya A. Yatsyk, PhD in Biology, senior researcher, North Caucasus Federal Agrarian Research Centre, 49, Nikonova Street, Mikhailovsk, Stavropol Territory, Russian Federation, 356241, e-mail: info@fnac.center, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2730-2482>

✉ – Для контактов / Corresponding author