

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Сравнительные особенности геномного разнообразия кур *Gallus gallus domesticus* с декоративным фенотипом оперения «баки и борода»

Н.В. Дементьева, Ю.С. Щербаков, А.Е. Рябова, А.Б. Вахрамеев, А.В. Макарова, О.А. Николаева, А.П. Дысин, А.И. Азовцева, Н.Р. Рейнбах, О.В. Митрофанова

Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал Федерального исследовательского центра животноводства – ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста, пос. Тярлево, Санкт-Петербург, Россия
mo1969@mail.ru

Аннотация. На протяжении истории взаимодействия с домашними животными человек стремился усилить не только их продуктивные качества, но и различные декоративные особенности. У кур ряда пород сформировались пучки удлиненных перьев, выступающих сбоку и снизу от клюва, образуя фенотип, описываемый как «баки и борода» (англ. muffs and beard). Это неполный аутомно-доминантный фенотип, кодируемый локусом Mb, локализованным на хромосоме GGA27. Цель нашей работы – проанализировать генетическое разнообразие пород кур, определенное с помощью полногеномного генотипирования с использованием чипов Chicken 60K BeadChip. Всего в анализе учитывалось 53 313 однонуклеотидных полиморфных замен (SNP). ДНК получена от пород, обладающих маркерным признаком «баки и борода»: фавероль ($n = 20$), украинская ушанка ($n = 18$), орловская ($n = 20$), новопавловская белая ($n = 20$) и новопавловская цветная ($n = 15$). В качестве альтернативной породы, не имеющей фенотипа «баки и борода», использовалась русская белая ($n = 20$). Птица содержалась в ЦКП «Генетическая коллекция редких и исчезающих пород кур» (г. Санкт-Петербург, Пушкин), входящем в состав Сетевой биоресурсной коллекции животных и птиц. Методом многомерного шкалирования установлено, что отдельную группировку образовали популяции новопавловская белая и новопавловская цветная. В самостоятельную группу объединились породы украинская ушанка и орловская. С помощью кластерного анализа с учетом ошибки кросс-валидации и наиболее вероятным числом кластеров $K = 4$ орловская порода выделена в отдельную группу. Украинская ушанка в этом случае продемонстрировала значительное сходство с орловской породой. При $K = 5$ разделились новопавловская белая и новопавловская цветная популяции. И только при $K = 6$ явный отдельный кластер образовала украинская ушанка. У кур русской белой породы отмечено наибольшее количество коротких (1–2 Мб) гомозиготных районов. В месте расположения гена *HOXB8* в регионе 3.402–3.404 Мб на хромосоме GGA27 у представителей пород с фенотипом «баки и борода» гомозиготные районы встречаются редко. Сканирование генома кур с использованием чипа Chicken 60K BeadChip позволяет получить достаточно информации о генетическом разнообразии пород кур для понимания особенностей формирования у них декоративного фенотипа «баки и борода». Ключевые слова: полногеномное генотипирование; SNP-маркер; фенотип; генотип; генетическое разнообразие; полиморфизм; гетерозиготность; ДНК; породы кур.

Для цитирования: Дементьева Н.В., Щербаков Ю.С., Рябова А.Е., Вахрамеев А.Б., Макарова А.В., Николаева О.А., Дысин А.П., Азовцева А.И., Рейнбах Н.Р., Митрофанова О.В. Сравнительные особенности геномного разнообразия кур *Gallus gallus domesticus* с декоративным фенотипом оперения «баки и борода». Вавиловский журнал генетики и селекции. 2024;28(1):108-116. DOI 10.18699/vjgb-24-13

Comparative peculiarities of genomic diversity in *Gallus gallus domesticus* chickens with decorative plumage: the muffs and beard phenotype

N.V. Dementieva, Y.S. Shcherbakov, A.E. Ryabova, A.B. Vakhrameev, A.V. Makarova, O.A. Nikolaeva, A.P. Dysin, A.I. Azovtseva, N.R. Reinbah, O.V. Mitrofanova

Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding – Branch of the L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, Tyarlevo, St. Petersburg, Russia
mo1969@mail.ru

Abstract. Throughout history, humans have been attempting to develop the ornamental features of domestic animals in addition to their productive qualities. Many chicken breeds have developed tufts of elongated feathers that jut out from the sides and bottom of the beak, leading to the phenotype known as muffs and beard. It is an incomplete autosomal dominant phenotype determined by the Mb locus localised on chromosome GGA27. This project aimed to analyse the genetic diversity of chicken breeds using full genomic genotyping with the Chicken 60K BeadChip. A total of 53,313 Single Nucleotide Polymorphisms were analysed. DNA was obtained from breeds with the muffs and beard as a

marker phenotype: Faverolles ($n = 20$), Ukrainian Muffed ($n = 18$), Orloff ($n = 20$), Novopavlov White ($n = 20$), and Novopavlov Coloured ($n = 15$). The Russian White ($n = 20$) was selected as an alternative breed without the muffs and beard phenotype. The chickens are owned by the Centre of Collective Use "Genetic Collection of Rare and Endangered Breeds of Chickens" (St. Petersburg region, Pushkin), and are also included in the Core Shared Research Facility (CSRF) and/or Large-Scale Research Facility (LSRF). Multidimensional scaling revealed that the Novopavlov White and the Novopavlov Coloured populations formed a separate group. The Ukrainian Muffed and the Orloff have also been combined into a separate group. Based on cluster analysis, with the cross-validation error and the most probable number of clusters $K = 4$ taken into account, the Orloff was singled out as a separate group. The Ukrainian Muffed exhibited a notable similarity with the Orloff under the same conditions. At $K = 5$, the populations of the Novopavlov White and the Novopavlov Coloured diverged. Only at $K = 6$, a distinct and separate cluster was formed by the Ukrainian Muffed. The Russian White had the greatest number of short (1–2 Mb) homozygous regions. If the *HOXB8* gene is located between 3.402 and 3.404 Mb on chromosome GGA27, homozygous regions are rarely found in the chickens with the muffs and beard phenotype. Scanning the chicken genome with the Chicken 60K BeadChip provided enough information about the genetic diversity of the chicken breeds for the peculiarities of the development of the ornamental muffs and beard phenotypes in them to be understood. For example, Phoenix bantams, whose tail feathers grow throughout their lives, require greater consideration of husbandry conditions.

Key words: whole-genome genotyping; SNP marker; phenotype; genotype; genetic diversity; polymorphism; heterozygosity; DNA; chicken breeds.

For citation: Dementieva N.V., Shcherbakov Y.S., Ryabova A.E., Vakhrameev A.B., Makarova A.V., Nikolaeva O.A., Dysin A.P., Azovtseva A.I., Reinbah N.R., Mitrofanova O.V. Comparative peculiarities of genomic diversity in *Gallus gallus domesticus* chickens with decorative plumage: the muffs and beard phenotype. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2024;28(1):108-116. DOI 10.18699/vjgb-24-13

Введение

Домашняя курица (*Gallus gallus domesticus*) – один из наиболее широко распространенных в мире видов домашних животных. Он играет ключевую роль в человеческом обществе не только как крупнейший источник животного белка, но и как важный фактор социально-культурного развития (Lawal, Nanotte, 2021). С момента одомашнивания куры были распространены по разным странам и континентам, в результате чего сегодня мы имеем возможность наблюдать множество пород кур.

Генетическая изменчивость является ключевой частью изучения эволюции, развития и дифференциации живых организмов. У домашних животных породы представляют собой особую систему, которая живет и развивается в соответствии с задачами, поставленными человеком. В итоге встречаются поразительные фенотипы, которые отличают животных, разводимых в домашних условиях, от их диких предков.

На протяжении исторического развития и взаимодействия с животными человек стремился усиливать и развивать у них не только продуктивные качества, но и различные декоративные особенности. Такие признаки могут в определенной степени ухудшить существование особей с выраженным их проявлением. Например, петухи породы феникс, у которых хвостовое оперение растет на протяжении всей жизни, требуют повышенного внимания к условиям содержания. Но значительная часть декоративных признаков, характерных для разных пород кур, не оказывает негативного влияния на животных. К таким особенностям можно отнести наличие у кур пучков удлиненных перьев, выступающих сбоку и снизу от клюва, образуя фенотип, описываемый как «баки и борода» (англ. muffs and beard). Это неполный аутосомно-доминантный фенотип, кодируемый локусом Mb.

Перья, расположенные в районе бороды и баков у кур, обладают сильной изменчивостью по форме и длине. У некоторых пород баки – это пышное перьевое украшение от уха и до уха (новопавловская, гудан, крив кер и др.), у

других они имеют слабую выраженность. В ряде случаев, например у кур породы антверпенский бородастый карлик, главным образом развиты баки, а горловая часть бороды почти не проявлена.

При изучении особенностей генома кур, обладающих фенотипическим признаком «баки и борода», было высказано предположение, что аллель Mb локализован на GGA27, формируя сложную структурную вариацию в геноме, ведущую к измененной экспрессии гена *HOXB8* (Guo Y. et al., 2016). Другими исследователями с помощью полногеномного анализа на GGA1, GGA2 и GGA27 также обнаружены участки, участвующие в формировании этого признака. Проведенный ими анализ семейства генов *HOXB8* выявил эволюционные различия у разных животных, а именно у птиц, пресмыкающихся, земноводных и млекопитающих, за исключением рыбы, чей белок *HOXB8* утратил мотив 10, что объясняет его потенциальную роль в эволюции сложных структур кожи, таких как ороговевшие придатки. Авторы указывают на сложные межбелковые взаимодействия продуктов генов семейства *HOXB* у кур, которые предположительно лежат в основе понимания механизмов развития и дифференциации фенотипа «баки и борода» (Yang et al., 2020).

К настоящему времени информация о регуляции образования перьев на голове у кур является неполной в силу фенотипического разнообразия признака «баки и борода». Вызывает особый интерес использование генофондных пород в качестве модельного объекта для поиска новых кандидатных генов, например, связанных с ростом волос у человека и животных. В силу другой селекционной нагрузки, без жесткого отбора по продуктивным признакам, генофондные породы кур имеют высокое генетическое разнообразие по сравнению с промышленными популяциями. Поэтому изучение их геномов может дать новую информацию о структурных преобразованиях в генах, накоплении гомозиготных районов и других генетических особенностях.

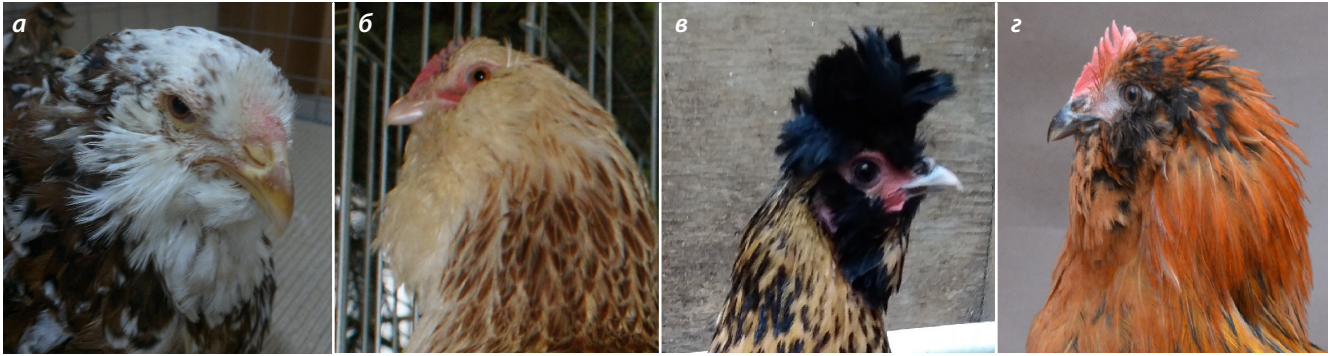


Рис. 1. Проявление фенотипа «баки и борода» у кур различных пород: а – орловская; б – фавероль; в – новопавловская; з – украинская ушанка.

В коллекции ЦКП «Генетическая коллекция редких и исчезающих пород кур» (<https://vniigen.ru/ckp-geneticheskaya-kolleksiya-redkix-i-ischezayushhix-porod-kur/>), входящей в состав Сетевой биоресурсной коллекции животных и птиц, содержится несколько пород, обладающих этим признаком: фавероль, ушанка, орловская и новопавловская (Паронян и др., 2016). Орловская ситцевая является старинной русской породой кур с оригинальными экстерьерными признаками и выраженным признаком бороды и бак. Украинская ушанка относится к местным историческим породам южных регионов Украины и России, обладает разнообразной окраской оперения. Фавероль – старинная французская порода, отличающаяся высокими вкусовыми качествами мяса. Она также имеет декоративную пышную бороду и баки. Новопавловская – это фенотипически восстановленная старинная декоративная павловская порода кур, тоже характеризуется наличием бороды и бак (рис. 1). Кроме того, в ЦПК содержатся породы, не имеющие в геноме аллеля Mb.

Целью нашей работы было проанализировать генетическое разнообразие пород кур, обладающих маркерным признаком «баки и борода», определенное с помощью полногеномного генотипирования с использованием чипов Chicken 60K BeadChip, для получения новой информации о структурных преобразованиях в геномах, накоплении гомозиготных районов и других генетических особенностях.

Материалы и методы

Материалом исследования послужила геномная ДНК кур, содержащихся в биоресурсной коллекции Всероссийского НИИ генетики и разведения сельскохозяйственных животных «Генетическая коллекция редких и исчезающих пород кур» (г. Санкт-Петербург, Пушкин), входящей в состав Сетевой биоресурсной коллекции.

В исследование были взяты породы кур, имеющие маркерный признак «баки и борода» (muffs and beard). Это фавероль ($n = 20$), украинская ушанка ($n = 18$), орловская ($n = 20$) и новопавловская, среди представителей которой сформировано две группы – новопавловская белая ($n = 20$) и новопавловская цветная ($n = 15$). В качестве альтернативной породы, не имеющей фенотипа “muffs and beard”, взята порода русская белая ($n = 20$).

Кровь кур брали из подкрыльцовой вены в микропробирки, содержащиеся в качестве антикоагулянта 30 мкл

0.5 М ЭДТА. Выделение геномной ДНК производилось методом фенол-хлороформной экстракции.

Качество выделенной ДНК оценивали посредством определения степени поглощения 260 и 280 нм ($OD_{260/280}$) с использованием прибора NanoDrop 2000 (Thermo Fisher Scientific, Уолтем, Массачусетс, США) в соответствии с рекомендациями производителя. Для проведения полногеномного генотипирования были отобраны образцы ДНК со значением $OD_{260/280}$ в пределах 1.6–2.0.

При полногеномном генотипировании использовали ДНК-чипы средней плотности Chicken 60K BeadChip (Illumina, США), которые содержат ~50 тыс. SNP. Полученные полногеномные данные послужили материалом, на основе которого оценивали генетическое разнообразие последовательности ДНК. Всего в анализ было взято 53 313 SNP.

Контроль качества и фильтрацию данных генотипирования каждого SNP и каждого образца выполняли в программном пакете PLINK 1.9 (<http://zzz.bwh.harvard.edu/plink/>), используя следующие фильтры (в скобках даны соответствующие команды в программе PLINK): доля генотипированных SNP от общего количества SNP на ДНК-чипе (оценка качества генотипирования образца) по всем исследуемым SNP для индивидуального образца не ниже 90 %; качество генотипирования каждого из исследованных SNP по всем генотипированным образцам не ниже 90 %; частота встречаемости минорных аллелей более 1 %; отклонение SNP генотипов от распределения Харди–Вайнберга в совокупности протестированных образцов со статистической значимостью p -value < 10^{-6} .

Генетическое разнообразие оценивали с помощью R пакета diveRsity (Keenan et al., 2013), рассчитывая следующие показатели: H_O – наблюдаемая гетерозиготность; H_E – ожидаемая гетерозиготность; F – коэффициент инбридинга; F_{min} и F_{max} – соответственно минимальный и максимальный обнаруженные коэффициенты инбридинга.

При оценке геномной архитектуры пород использовали ряд методов: метод анализа количества и средней длины протяженных гомозиготных участков (runs of homozygosity, ROH); метод многомерного шкалирования (multidimensional scaling, MDS) на основе матрицы дистанций идентичности по состоянию (identity-by-state, IBS); метод F_{ST} -анализа генетической дивергенции популяций.

ROH определяли, применяя метод последовательной детекции SNP, реализованный в R пакете detectRUNS (Biscarini et al., 2018). Чтобы исключить недооценку числа

РОН длиной более 8 Мб, было допущено наличие одного SNP с отсутствующим генотипом и не более одного возможного гетерозиготного генотипа (Ferenčaković et al., 2013). Чтобы исключить общие РОН, установлен порог минимальной длины для одного РОН на уровне 1 Мб.

Для минимизации ложноположительных результатов рассчитано минимальное число SNP (Purfield et al., 2012):

$$l = \frac{\log_e \frac{\alpha}{n_s \cdot n_i}}{\log_e (1 - \overline{het})}$$

где l – минимальное количество SNP, составляющее РОН; n_s – число генотипированных SNP на индивидуума; n_i – количество генотипированных индивидуумов; α – процентное содержание ложноположительных РОН (в нашем исследовании установлено на уровне 0.05); \overline{het} – средняя гетерозиготность, рассчитанная по всем SNP. В нашем случае минимальное число SNP составило 23.

Первоначально были определены число и длина РОН для каждого индивидуума, а затем рассчитаны их средние значения внутри каждой из пород. Дополнительно рассчитан коэффициент геномного инбридинга на основе РОН ($F_{\text{РОН}}$) как отношение суммы длины всех РОН в расчете на животное к общей длине аутосомального генома. Затем определено число РОН в геноме изучаемых пород по классам длины: (1, 2), (2, 4), (4, 8), (8, 16) и >16 Мб. Долю генома, покрытую различными сегментами РОН, находили, рассчитывая сумму РОН для классов с различной минимальной длиной (>1, >2, >4, >8 и >16 Мб).

MDS выполняли в программе PLINK 1.9 (Anderson et al., 2010) с последующим построением графика в R пакете ggplot2. Расчет индекса фиксации F_{ST} проводили с использованием пакета EIGENSOFT 6.1.4 (Price et al., 2006)

с графическим представлением с помощью программного обеспечения SplitsTree (Huson, Bryant, 2006).

Генетическую структуру изучаемых пород оценивали в программе Admixture 1.3 (Alexander et al., 2009) с графическим представлением с помощью R пакета pophelper (Francis, 2017). Наиболее вероятное число предковых кластеров определяли как оптимальное число кластеров (K), рассчитывая значения ошибки кросс-валидации (CV error) в программе Admixture 1.3.

Филогенетическое дерево исследуемых популяций кур на основе попарных генетических дистанций F_{ST} было построено по методу «сети соседей» (Neighbor-Net) (Bryant, Moulton, 2004) в сервисе iTOL (Letunic, Bork, 2021).

Для оценки попарных генетических дистанций F_{ST} использовалась библиотека R StaMPP (Pembleton et al., 2013). На основе анализа 100 пермутаций была рассчитана значимость полученных результатов (P).

Результаты

Показатели генетического разнообразия в исследуемых породах представлены в табл. 1.

Попарные генетические дистанции F_{ST} (табл. 2) находились в пределах от 0.037 (между новопавловской цветной и новопавловской белой) до 0.220 (между русской белой и фавероль). Внутри выявленного кластера между украинской ушанкой и орловской значение F_{ST} составило 0.075. Визуализация генетических дистанций F_{ST} представлена на рис. 2.

Результаты визуализации данных с помощью анализа MDS приведены на рис. 3. Данный подход позволяет проанализировать и наглядно представить точки, соответствующие изучаемым объектам, так, чтобы минимизиро-

Таблица 1. Генетическое разнообразие в исследуемых породах

Порода	n	H_O	H_E	F	F_{max}	F_{min}
RB	20	0.285 ± 0.001	0.296 ± 0.001	0.037 ± 0.003	0.191	-0.096
F	20	0.321 ± 0.006	0.338 ± 0.001	0.051 ± 0.017	0.202	-0.087
UU	18	0.365 ± 0.005	0.364 ± 0.001	-0.002 ± 0.013	0.136	-0.082
O	20	0.355 ± 0.006	0.344 ± 0.001	-0.031 ± 0.017	0.215	-0.128
PB	20	0.344 ± 0.003	0.338 ± 0.001	-0.016 ± 0.009	0.057	-0.104
P	15	0.344 ± 0.007	0.342 ± 0.001	-0.007 ± 0.020	0.184	-0.084

Примечание. n – количество особей в анализе; H_O – наблюдаемая гетерозиготность; H_E – ожидаемая гетерозиготность; F – коэффициент инбридинга; F_{max} – максимальный обнаруженный коэффициент инбридинга; F_{min} – минимальный обнаруженный коэффициент инбридинга. При уровне значимости $\alpha = 0.05$ различия статистически не значимы.

Здесь и в табл. 2 и 3: RB – русская белая, F – фавероль, UU – украинская ушанка, O – орловская, PB – новопавловская (белая популяция), P – новопавловская (цветная популяция).

Таблица 2. Попарные генетические дистанции F_{ST} между исследуемыми породами кур

Показатель	RB	F	UU	O	PB
F	0.220	0			
UU	0.136	0.133	0		
O	0.176	0.180	0.075	0	
PB	0.198	0.214	0.137	0.174	0
P	0.187	0.206	0.128	0.165	0.037

Примечание. Статистическая значимость по всем парам сравнения – $p < 0.0001$.

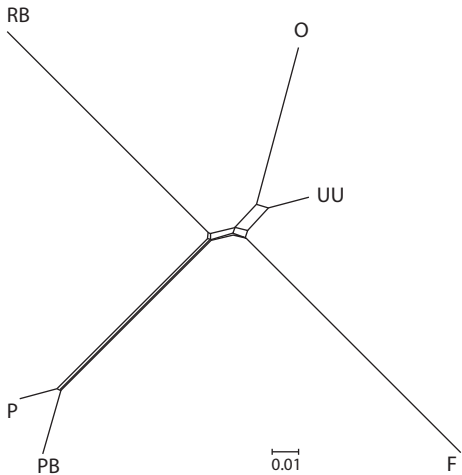


Рис. 2. Филогенетическое дерево исследуемых популяций кур на основе попарных генетических дистанций F_{ST} , построенное по методу «сети соседей» (Neighbor-Net).

Здесь и на рис. 3–6: RB – русская белая, F – фавероль, UU – украинская ушанка, O – орловская, PB – новопавловская (белая популяция), P – новопавловская (цветная популяция).

вать расстояние между ними. На диаграмме каждый объект располагается в пространстве в зависимости от выбранной системы главных компонент. Во всех случаях MDS анализ показал, что популяции новопавловская белая и новопавловская цветная образовали отдельный кластер. Еще один кластер объединил украинскую ушанку и орловскую породы кур. Кластеризация не изменялась при использовании в сравнении разных компонент.

При расчете CV egor в кластерном анализе Admixture наиболее вероятное число кластеров (K) в нашей выборке равнялось четырем. В этом случае ошибка кросс-валидации была наименьшей (CV egor = 0.54930). При K = 4 орловская порода формирует отдельный кластер (рис. 4). Украинская ушанка представляет собой популяцию фенотипически и генетически идентичных между собой индивидуумов, которые демонстрируют наибольшее сходство с орловской породой. При K = 5 произошло разделение новопавловской белой и цветной популяций. При K = 6 отчетливый отдельный кластер образовала порода украинская ушанка, в которой встречаются особи, обладающие структурами в геноме, схожими с генетическими структурами орловской породы кур.

Анализ распределения гомозиготных районов по длине показал, что наибольшее количество коротких гомозиготных

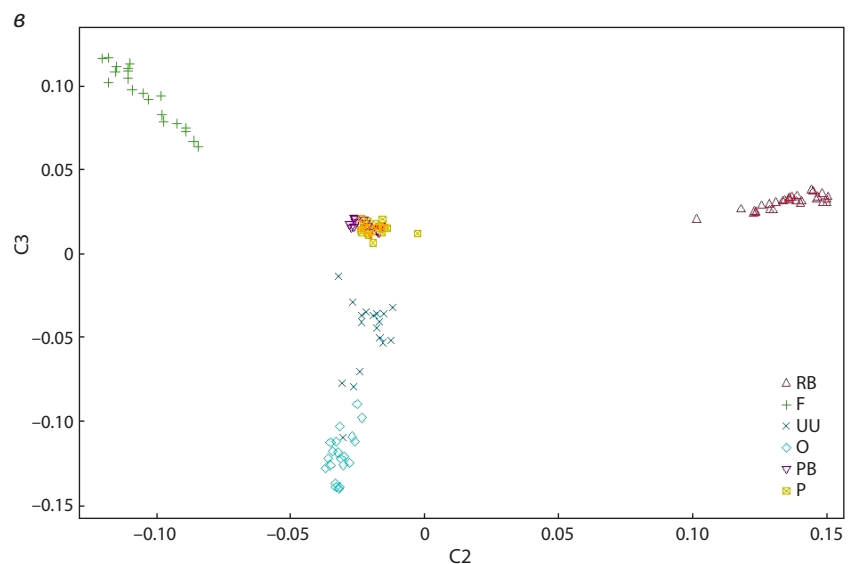
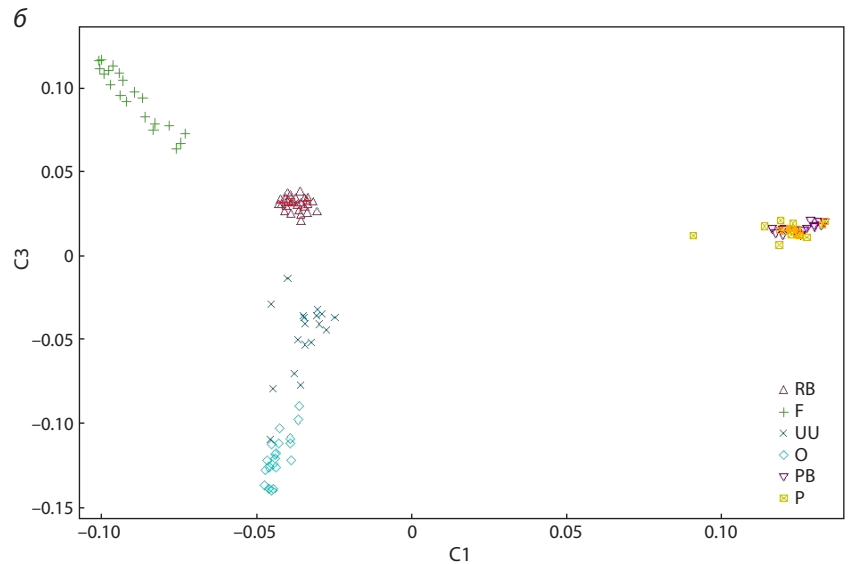
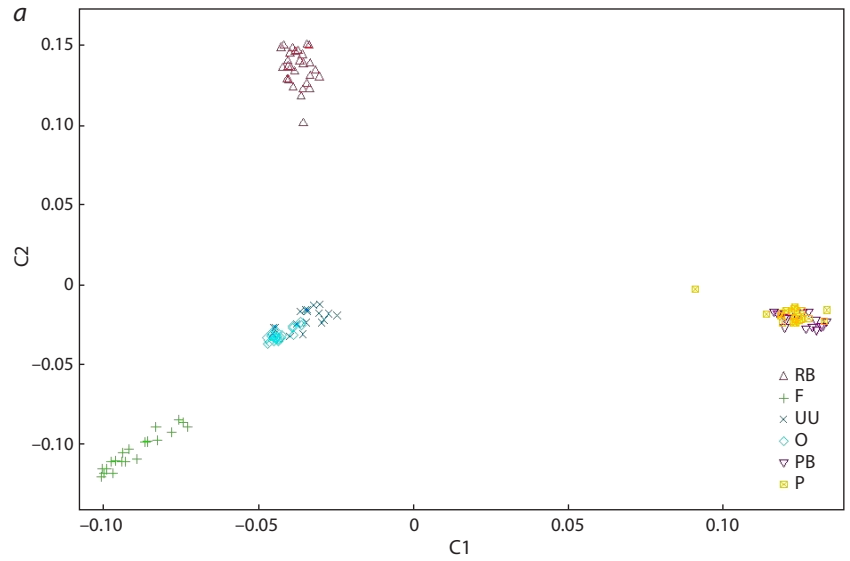


Рис. 3. Графики многомерного шкалирования с помощью анализа MDS в координатах главных компонент C1–C3.

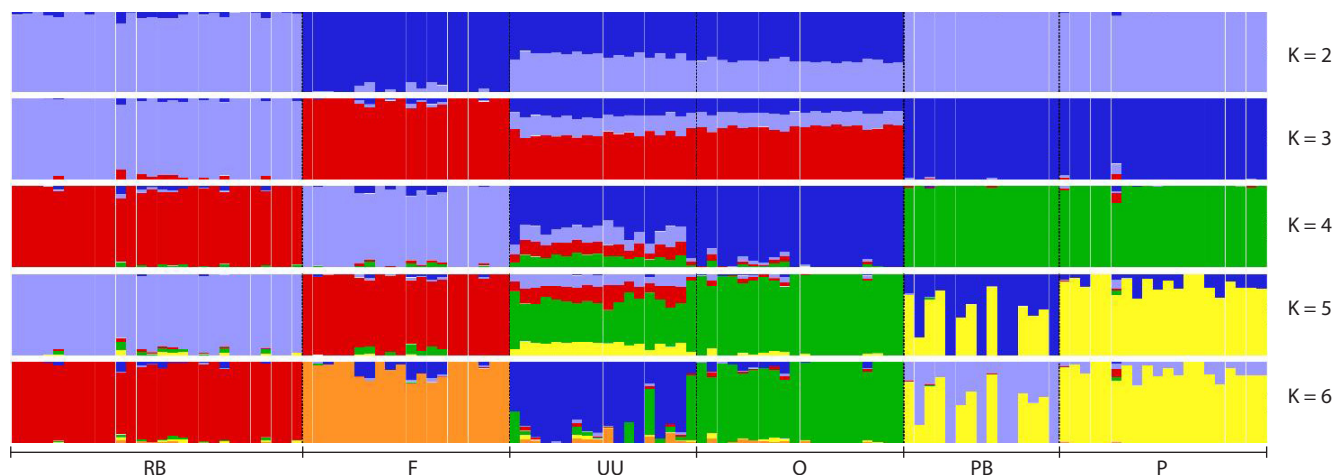


Рис. 4. Кластерный анализ Admixture, проведенный для шести пород кур на основе полногеномного SNP-генотипирования.

Таблица 3. Описательная статистика пробегов гомозиготности, определенных на основании SNP генотипов в изучаемых породах кур

Популяция	n	Длина ROH, Мб			Число ROH		
		X ± SE	Min	Max	X ± SE	Min	Max
RB	38	177.15 ± 5.29	126.12	234.06	143.71 ± 2.71	115	168
F	20	231.55 ± 11.51 ¹	142.65	313.17	155.50 ± 6.50 ²	109	206
UU	18	91.29 ± 9.20	48.20	200.17	78.11 ± 4.50	51	125
O	20	139.55 ± 10.01	89.60	291.26	105.00 ± 4.80	80	177
PB	15	224.42 ± 12.22 ²	166.15	341.79	153.07 ± 4.35 ²	133	192
P	20	184.90 ± 4.98	152.03	248.75	136.95 ± 2.60	108	153

^{1,2} Различия статистически не достоверны. В остальных случаях различия достоверны при уровне значимости $\alpha = 0.05$.

районов (1–2 Мб) отмечено у породы русская белая, а наименьшее – у породы фавероль (рис. 5). Гомозиготных районов класса 16+ было больше всего у новопавловской породы цветной популяции, а меньше всего – у русской белой.

Описательная статистика гомозиготных районов представлена в табл. 3. Среднее число и средняя длина протяженных гомозиготных участков были минимальными у исследованных образцов породы украинская ушанка. У породы фавероль отмечены наивысшие показатели средней длины и среднего числа ROH.

В связи с тем, что фенотип «баки и борода» ассоциирован с геном *HOM8*, который расположен на хромосоме GGA27, мы отдельно проанализировали гомозиготные районы в этой части генома кур (рис. 6). В регионе 3.402–3.404 Мб на GGA27 у представителей пород с фенотипом «баки и борода» ROH-фрагменты встречаются редко (см. рис. 6).

Обсуждение

Современные методы изучения полиморфизма геномной ДНК позволяют получить большое количество информации, которая может быть использована для понимания полногеномной архитектуры популяций. Генотипирование с помощью чипов различной плотности дает возмож-

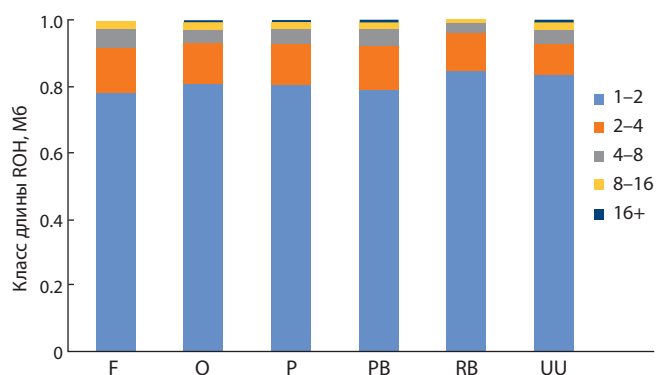


Рис. 5. Распределение числа пробегов гомозиготности (ROH) в зависимости от их средней длины в исследованных группах кур.

ность оценить филогенетическую дивергенцию пород животных, а также применить полученные данные для сохранения уникальности генетического разнообразия популяций (Криворучко и др., 2021; Dementieva et al., 2021). Информация об особенностях генетических структур является важным вкладом в знания о генетическом разнообразии, она необходима для исследования исторических процессов, связанных с формированием по-

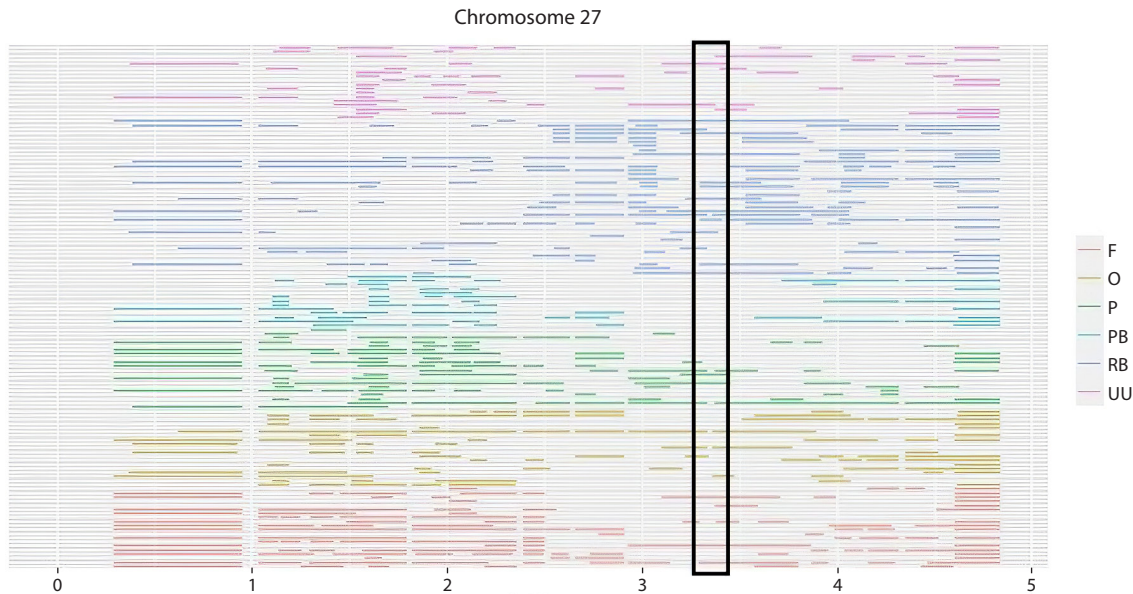


Рис. 6. Расположение пробегов гомозиготности на хромосоме GGA27 у кур. Рамкой выделен регион, аннотированный с аллелем Mb.

пуляций и пониманием путей эволюции популяций как отдельных экосистем, находящихся под влиянием человеческого фактора.

В нашем исследовании с помощью чипа Chicken 60K BeadChip было идентифицировано 53 313 однонуклеотидных полиморфизмов. Используемые ранее методы изучения генетического разнообразия, основанные на анализе мини- и микросателлитных локусов, а также митохондриальной ДНК, имеют значительно более низкое разрешение (Фисинин и др., 2017; Guo H.W. et al., 2017).

Расчитанные по данным полногеномного генотипирования ожидаемая (H_E) и наблюдаемая (H_O) гетерозиготность (см. табл. 1) оказались выше у кур, которые выделились в отдельные кластеры при анализе MDS (см. рис. 3). У первой группы, объединившей популяции новопавловской породы, отмечены значения $H_O = 0.344$, а H_E варьировала от 0.338 ± 0.001 до 0.342 ± 0.001 . У второй группы, куда попали породы украинская ушанка и орловская, H_O менялась от 0.355 ± 0.006 до 0.365 ± 0.005 , а значения H_E колебались от 0.344 ± 0.001 до 0.364 ± 0.001 (см. табл. 1). Эти данные хорошо согласуются с материалами других исследователей (Strillacci et al., 2017; Yuan et al., 2022).

Анализ многомерного шкалирования выявил, что наиболее удаленными друг от друга породами являются русская белая и фавероль. Максимальную генетическую дивергенцию между этими породами можно объяснить историей происхождения: русская белая порода кур формировалась на основе белых леггорнов отечественного происхождения (Деметьева и др., 2017), а фавероль выведена во Франции с использованием местных кур. Генетически схожие породы – орловская ситцевая, украинская ушанка и фавероль. Белая и цветная популяции новопавловской породы образовали один кластер, что показывает их одинаковую генетическую архитектуру. Украинская ушанка имеет сходные фрагменты генома с орловской сит-

цевой. Скорее всего, это связано с интрогрессией геномов между породами, которая могла произойти в период конца XIX–начала XX в., когда обе породы были многочисленны и развивались на общей территории. Использование для анализа различных компонент не приводило к изменению картины расположения популяций в пространстве, что говорит о том, что данный подход отражает реальную картину генетической дивергенции пород.

Оценка генетического разнообразия позволяет глубже понять особенности геномной архитектуры пород и популяций кур (Malomane et al., 2019; Restoux et al., 2022). Визуализация попарных генетических дистанций F_{ST} показала генетическое родство между породами орловская ситцевая, украинская ушанка и фавероль, а также между популяциями новопавловской породы кур (белая и цветная популяции) (см. рис. 2).

На филогенетическом дереве четко отмечена максимальная дивергенция пород кур фавероль и русская белая. Общее происхождение имеет ветвь, включающая в себя породы фавероль, украинская ушанка и орловская ситцевая (см. рис. 2). Каждая из указанных пород формирует в дальнейшем свои ответвления. Орловская ситцевая порода кур находится на удалении от украинской ушанки, при этом значительными различиями и консолидацией характеризуются куры породы фавероль. Популяции новопавловской породы (белая и цветная) практически не дивергировали. Высокий уровень генетической дифференциации между породами в нашей работе сопоставим с литературными данными, описанными ранее при изучении других пород (Dementieva et al., 2020; Fedorova et al., 2022).

Результаты анализа многомерного шкалирования подтверждены не только визуализацией попарных генетических дистанций F_{ST} с помощью алгоритма «сети соседей», но и программой Admixture (см. рис. 4). При $K = 4$ украинская ушанка и орловская отделились от остальных

популяций. Как и при оценке F_{ST} , изученная нами популяция украинской ушанки имеет особей, генетически сходных с орловской породой. Предположительно, это связано с интрогрессией геномов между породами. Вероятность незапланированных скрещиваний между популяциями украинской ушанки и орловской породы исторически обусловлена близостью регионов разведения этих пород в прошлом. При $K = 5$ произошло разделение белой и цветной популяций новопавловской породы кур. Данные результаты свидетельствуют об идентичной генетической структуре этих популяций, при этом новопавловская белая была получена отбором белых особей в цветной популяции.

Наибольшее количество коротких гомозиготных районов (1–2 Мб), обнаруженных у пород русская белая и украинская ушанка, говорит о наличии давнего инбридинга (см. рис. 5). Русская белая порода кур была получена с применением жесткого отбора на устойчивость цыплят к холоду. Благодаря разовому скрещиванию в 2005 г. с белым леггорном, популяция русских белых кур не имеет тенденции к росту гомозиготности, что свидетельствует о высоком генетическом разнообразии в популяции. Длинных гомозиготных районов класса 16+ было больше у пород новопавловская (белая и цветная популяции), орловская ситцевая и украинская ушанка, что указывает на недавний инбридинг. У русской белой породы отмечено наименьшее количество длинных гомозиготных районов, что говорит об отсутствии инбридинга внутри популяции благодаря индивидуальному закреплению производителя при разведении (Fedorova et al., 2022; Mulim et al., 2022).

Анализ расположения гомозиготных районов в регионе, где аннотирован ген *HOXB8*, отвечающий за фенотип «баки и борода», выявил отсутствие таких районов у пород с данным фенотипом. Вероятно, это связано с высокой изменчивостью указанного региона. В работе (Guo Y. et al., 2016) было отмечено, что наличие аллеля Mb приводит к появлению эктопической экспрессии гена *HOX8*, являющейся следствием структурной мутации в результате дупликации трех районов на хромосоме 27, что не способствовало селективному накоплению гомозиготных регионов. На хромосоме GGA27 нами обнаружены ROH-регионы в районе 1.5–1.6 Мб, встречающиеся более чем у 60 % представителей исследованных пород, за исключением русской белой, лишенной баков и борода (см. рис. 6). Возможно, накопление гомозиготности в этих регионах характерно не для всех особей в исследуемых породах. Это позволяет нам говорить о том, что данный участок генома с определенной долей вероятности может быть использован как маркер признака «баки и борода».

Заключение

В результате проведенного нами исследования можно сказать, что полногеномное генотипирование с использованием ДНК-чипов средней плотности Chicken 60K BeadChip (Illumina, США) является точным методом анализа генетической дивергенции популяций кур различного исторического происхождения. Разные статистические подходы к интерпретации данных дают сходные результаты, которые объяснимы с точки зрения как исторического развития экосистемы породы, так и особенностей метода

выявления полиморфизмов. Полученные нами данные позволяют глубже понять особенности геномной архитектуры исследуемых пород и популяций кур и применить эту информацию для контроля изменчивости с целью сохранения генетического разнообразия. Собранный информация может быть полезна в дальнейшем для выявления кандидатных генов фенотипа «баки и борода» у кур, а также позволяет рекомендовать генофондные популяции как модельные объекты с высоким уровнем генетического разнообразия.

Список литературы / References

- Дементьева Н.В., Романов М.Н., Кудинов А.А., Митрофанова О.В., Станишевская О.И., Терлецкий В.П., Федорова Е.С., Никиткина Е.В., Племяшов К.В. Изучение структуры генофондной популяции русской белой породы кур методом геномного SNP-сканирования. *С.-х. биология*. 2017;52(6):1166-1174. DOI 10.15389/agrobiology.2017.6.1166rus
[Dementeva N.V., Romanov M.N., Kudinov A.A., Mitrofanova O.V., Stanishevskaya O.I., Terletsky V.P., Fedorova E.S., Nikitkina E.V., Plemyashov K.V. Studying the structure of a gene pool population of the Russian White chicken breed by genome-wide SNP scan. *Selskokhozyaystvennaya Biologiya = Agricultural Biology*. 2017; 52(6):1166-1174. DOI 10.15389/agrobiology.2017.6.1166eng]
- Криворучко А.Ю., Скокова А.В., Яцык О.А., Каниболоцкая А.А. Современные подходы генетической идентификации породной принадлежности сельскохозяйственных животных (обзор). *Аграр. наука Евро-Северо-Востока*. 2021;22(3):317-328. DOI 10.30766/2072-9081.2021.22.3.317-328
[Krivoruchko A.Y., Skokova A.V., Yatsyk O.A., Kanibolotskaya A.A. Modern approaches to the genetic identification of farm animal breeds (review). *Agrarnaya Nauka Euro-Severo-Vostoka = Agricultural Science Euro-North-East*. 2021;22(3):317-328. DOI 10.30766/2072-9081.2021.22.3.317-328 (in Russian)]
- Паронян И.А., Юрченко О.П., Вахрамеев А.Б., Макарова А.В. Разведение малочисленных и редких пород кур. *Генетика и разведение животных*. 2016;4:62-66.
[Paronyan I.A., Jurchenko O.P., Vakhrameev A.B., Makarova A.V. Breeding of indigenous and rare breeds of chickens. *Genetika i Razvedenie Zhivotnyh = Animal Genetics and Breeding*. 2016;4:62-66 (in Russian)]
- Фисинин В.И., Селионова М.И., Шинкаренко Л.А., Щербакова Н.Г., Кононова Л.В. Исследование микросателлитных локусов в породах индеек российской селекции. *С.-х. биология*. 2017;52(4):739-748. DOI 10.15389/agrobiology.2017.4.739rus
[Fisinin V.I., Selionova M.I., Shinkarenko L.A., Shcherbakova N.G. Study of microsatellites in the Russian breeds of turkey. *Selskokhozyaystvennaya Biologiya = Agricultural Biology*. 2017;52(4):739-748. DOI 10.15389/agrobiology.2017.4.739eng]
- Alexander D.H., Novembre J., Lange K. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Res*. 2009;19(9):1655-1664. DOI 10.1101/gr.094052.109
- Anderson C., Pettersson F., Clarke G., Cardon L.R., Morris A.P., Zondervan K.T. Data quality control in genetic case-control association studies. *Nat. Protoc*. 2010;5:1564-1573. DOI 10.1038/nprot.2010.116
- Biscarini F., Cozzi P., Orozco-ter Wengel P. Lessons learnt on the analysis of large sequence data in animal genomics. *Anim. Genet*. 2018;49(3):147-158. DOI 10.1111/age.12655
- Bryant D., Moulton V. Neighbor-net: an agglomerative method for the construction of phylogenetic networks. *Mol. Biol. Evol*. 2004;21(2): 255-265. DOI.10.1093/molbev/msh018
- Dementieva N.V., Kudinov A.A., Larkina T.A., Mitrofanova O.V., Dysin A.P., Terletsky V.P., Tyshchenko V.I., Griffin D.K., Romanov M.N. Genetic variability in local and imported germplasm chicken populations as revealed by analyzing runs of homozygosity. *Animals (Basel)*. 2020;10(10):1887. DOI 10.3390/ani10101887

- Dementieva N.V., Mitrofanova O.V., Dysin A.P., Kudinov A.A., Stanishevskaya O.I., Larkina T.A., Plemashov K.V., Griffin D.K., Romanov M.N., Smaragdov M.G. Assessing the effects of rare alleles and linkage disequilibrium on estimates of genetic diversity in the chicken populations. *Animal*. 2021;15(3):100171. DOI 10.1016/j.animal.2021.100171
- Fedorova E.S., Dementieva N.V., Shcherbakov Y.S., Stanishevskaya O.I. Identification of key candidate genes in runs of homozygosity of the genome of two chicken breeds, associated with cold adaptation. *Biology (Basel)*. 2022;11(4):547. DOI 10.3390/biology11040547
- Ferenčaković M., Sölkner J., Curik I. Estimating autozygosity from high-throughput information: effects of SNP density and genotyping errors. *Genet. Sel. Evol.* 2013;45:42. DOI 10.1186/1297-9686-45-42
- Francis R.M. Pophelper: an R package and web app to analyse and visualize population structure. *Mol. Ecol. Resour.* 2017;17(1):27-32. DOI 10.1111/1755-0998.12509
- Guo H.W., Li C., Wang X.N., Li Z.J., Sun G.R., Li G.X., Liu X.J., Kang X.T., Han R.L. Genetic diversity of mtDNA D-loop sequences in four native Chinese chicken breeds. *Br. Poult. Sci.* 2017;58(5):490-497. DOI 10.1080/00071668.2017.1332403
- Guo Y., Gu X., Sheng Z., Wang Y., Luo C., Liu R., Qu H., Shu D., Wen J., Crooijmans R.P., Carlborg Ö., Zhao Y., Hu X., Li N. A complex structural variation on chromosome 27 leads to the ectopic expression of *HOXB8* and the muffs and beard phenotype in chickens. *PLoS Genet.* 2016;12(6):e1006071. DOI 10.1371/journal.pgen.1006071
- Huson D., Bryant D. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Mol. Biol. Evol.* 2006;23(2):254-267. DOI 10.1093/molbev/msj030
- Keenan K., McGinnity P., Cross T.F., Crozier W.W., Prodöhl P.A. diveRsite: an R package for the estimation and exploration of population genetics parameters and their associated errors. *Methods Ecol. Evol.* 2013;4(8):782-788. DOI 10.1111/2041-210X.12067
- Lawal R.A., Hanotte O. Domestic chicken diversity: origin, distribution, and adaptation. *Anim. Genet.* 2021;52(4):385-394. DOI 10.1111/age.13091
- Letunic I., Bork P. Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic Acids Res.* 2021;49(W1):W293-W296. DOI 10.1093/nar/gkab301
- Malomane D.K., Simianer H., Weigend A., Reimer C., Schmitt A.O., Weigend S. The SYNBREED chicken diversity panel: a global resource to assess chicken diversity at high genomic resolution. *BMC Genomics.* 2019;20(1):345. DOI 10.1186/s12864-019-5727-9
- Mulim H.A., Brito L.F., Pinto L.F.B., Ferraz J.B.S., Grigoletto L., Silva M.R., Pedrosa V.B. Characterization of runs of homozygosity, heterozygosity-enriched regions, and population structure in cattle populations selected for different breeding goals. *BMC Genomics.* 2022;23(1):209. DOI 10.1186/s12864-022-08384-0
- Pembleton L.W., Cogan N.O., Forster J.W. StAMPP: an R package for calculation of genetic differentiation and structure of mixed-ploidy level populations. *Mol. Ecol. Resour.* 2013;13(5):946-952. DOI 10.1111/1755-0998.12129
- Price A.L., Patterson N.J., Plenge R.M., Weinblatt M.E., Shadick N.A., Reich D. Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nat. Genet.* 2006;38(8):904-909. DOI 10.1038/ng1847
- Purfield D.C., Berry D.P., McParland S., Bradley D.G. Runs of homozygosity and population history in cattle. *BMC Genet.* 2012;13:70. DOI 10.1186/1471-2156-13-70
- Restoux G., Rognon X., Vieaud A., Guemene D., Petitjean F., Rouger R., Brard-Fudulea S., Lubac-Paye S., Chiron G., Tixier-Boichard M. Managing genetic diversity in breeding programs of small populations: the case of French local chicken breeds. *Genet. Sel. Evol.* 2022;54:56. DOI 10.1186/s12711-022-00746-2
- Strillacci G., Cozzi M.C., Gorla E., Mosca F., Schiavini F., Román-Ponce S.I., Ruiz López F.J., Schiavone A., Marzoni M., Cerolini S., Bagnato A. Genomic and genetic variability of six chicken populations using single nucleotide polymorphism and copy number variants as markers. *Animal.* 2017;11(5):737-745. DOI 10.1017/S1751731116002135
- Yang K.X., Zhou H., Ding J.M., He C., Niu Q., Gu C.J., Zhou Z.X., Meng H., Huang Q.Z. Copy number variation in *HOXB7* and *HOXB8* involves in the formation of beard trait in chickens. *Anim. Genet.* 2020;51(6):958-963. DOI 10.1111/age.13011
- Yuan J., Li S., Sheng Z., Zhang M., Liu X., Yuan Z., Yang N., Chen J. Genome-wide run of homozygosity analysis reveals candidate genomic regions associated with environmental adaptations of Tibetan native chickens. *BMC Genomics.* 2022;23(1):91. DOI 10.1186/s12864-021-08280-z

ORCID

N.V. Dementieva orcid.org/0000-0003-0210-9344
Y.S. Shcherbakov orcid.org/0000-0001-6434-6287
A.E. Ryabova orcid.org/0000-0003-2362-2892
A.B. Vakhrameev orcid.org/0000-0001-5166-979X
A.V. Makarova orcid.org/0000-0002-3281-4581

O.A. Nikolaeva orcid.org/0000-0003-3828-1111
A.P. Dysin orcid.org/0000-0002-4468-0365
A.I. Azovtseva orcid.org/0000-0002-2963-378X
N.R. Reinbah orcid.org/0000-0001-6193-5617
O.V. Mitrofanova orcid.org/0000-0003-4702-2736

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках научного проекта № 075-15-2021-1037 (внутренний № 15.БПК.21.0001) с использованием ЦКП «Генетическая коллекция редких и исчезающих пород кур» (Санкт-Петербург, Пушкин).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 28.03.2023. После доработки 25.09.2023. Принята к публикации 26.09.2023.