УДК 636.5:637.04:577.2 doi: 10.15389/agrobiology.2023.6.1068rus

ПОЛНОГЕНОМНЫЕ АССОЦИАТИВНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ КАЧЕСТВА МЯСА ПО ПОКАЗАТЕЛЯМ ЦВЕТА ГРУДКИ У КУР (*Gallus gallus* L.)*

А.Н. ВЕТОХ, А.Ю. ДЖАГАЕВ, А.А. БЕЛОУС, Н.А. ВОЛКОВА, Н.А. ЗИНОВЬЕВА

Одним из наиболее важных признаков качества мяса служит его цветовая характеристика, которая во многом определяет потребительский спрос. Качество мяса оценивают по его цветовому спектру по специальным шкалам. В частности, широко применяется шкала L*a*b*, эффективность которой показана во многих отраслях мясного животноводства. В ряде исследований установлена генетическая обусловленность цветовых характеристик мяса сельскохозяйственных животных и птицы. Выявлены однонуклеотидные полиморфизмы (SNPs) и гены-кандидаты, детерминирующие степень проявления этого признака (J. Sun с соавт., 2022; X. Guo с соавт., 2023). Мы выполнили полногеномные ассоциативные исследования цветовых показателей мяса грудки у кур из F_2 ресурсной популяции на основании данных полногеномного генотипирования. Цель работы — поиск SNPs и идентификация генов, ассоциированных с показателем цвета мяса у кур. Объектом изучения были куры F_2 модельной ресурсной популяции (*n* = 260, виварий ФИЦ животноводства — ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста, 2021-2023 годы). Для получения популяции использовали две контрастные по мясным качествам породы кур — русскую белую (медленный рост) и корниш (быстрый рост). Генотипирование полученной птицы проводили с использованием чипов высокой плотности Illumina Chicken iSelect BeadChip 60k («Illumina Inc.», США). В возрасте 9 нед после экспериментального убоя птицы измерили характеристики мяса грудки по цветовой шкале L*a*b* с использованием портативного спектрофотометра CM-700d («Konica Minolta», Япония). На основании полученных данных гено- и фенотипирования выполнили полногеномные ассоциативные исследования, использовав программное обеспечение PLINK 1.9 с принятыми ограничениями (geno 0,1; mind 0,1; maf 0,03). В качестве порогового критерия достоверности установили p < 0,00001. Полученная F_2 ресурсная популяция кур характеризовалась высоким коэффициентом изменчивости по показателям зеленого (a*) и голубого (b*) участков спектров цвета мяса (от 19,99 % до 97,23 %). По показателю L вариабельность в исследованной популяции была относительно низкой (коэффициент изменчивости не превышал 9,75 %). На основании проведенного GWAS-анализа выявлено 60 значимых SNPs, в том числе ассоциированных с цветовым спектром: по L* — 28 SNPs, по a* — 48 SNPs, по b* — 4 SNPs. Указанные SNPs локализованы на хромосомах GGA1 (10 SNPs), GGA2 (3 SNPs), GGA3 (18 SNPs), GGA7 (2 SNPs), GGA8 (4 SNPs), GGA10 (2 SNPs), GGA12 (7 SNPs), GGA13 (9 SNPs), GGA17 (4 SNPs) и GGA18 (1 SNP). Идентифицированы 270 генов-кандидатов, связанных с изученными признаками, в 30 из этих генов были локализованы выявленные SNPs. Результаты исследования могут быть использованы в геномной селекции на улучшение качественных характеристик мяса кур.

Ключевые слова: *Gallus gallus*, куры, SNP, GWAS, гены-кандидаты, качество мяса, цвет мяса, шкала L*a*b*.

Развитие мясного птицеводства связано с высоким спросом на продукцию отрасли. С каждым годом возрастают требования к качеству мяса птицы и его товарному выходу (1, 2). По прогнозам ФАО ожидается, что до 2050 года общее производство и потребление этого продукта будет увеличиваться ежегодно на 1,8 %, что значительно превышает ожидаемый рост производства и потребления свинины (0,8 % в год) (3). Мясо кур служит источником белка с высокой биологической ценностью, особенно в сравнении с растительными белками (в частности, по содержанию железа, фосфора, витамина А, тиамина, никотиновой кислоты) (4). Кроме того, низкая энергетическая ценность делает куриное мясо продуктом здорового питания с пониженным содержанием жира и повышенной долей полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) по сравнению с мясом других видов (5).

При современном производстве мяса птицы делается упор на повышение качественных показателей с учетом различных характеристик конечного продукта, включая внешний вид, текстуру и упругость, влагоудержива-

* Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ, тема № FGGN-2023-0002.

ющую способность, цвет, pH, продолжительность хранения, содержание коллагена, растворимость белка, способность связывать жиры (6). На многие из этих факторов существенное влияние оказывают условия кормления и содержания птицы (7), а также пол, возраст и порода (7, 8).

Цвет — важный показатель качества мяса, в значительной мере определяющий потребительский спрос (9). Производству продукции с желательным цветом и отсутствием дефектов внешнего вида, определяющими эффективность ее реализации и конечную цену, уделяется большое внимание (9, 10). К дефектам цвета мяса относится так называемое бледное, мягкое и экссудативное состояние (PSE). PSE становится растущей проблемой в мясной промышленности. При PSE состоянии снижается водоудерживающая способность (ВУС) мяса, а его текстура становится более мягкой (11). У бройлеров на формирование мяса PSE влияют различные предубойные факторы, методы оглушения и режимы охлаждения (3, 12).

Птица — единственный вид животных, у которых выделяют темное и светлое мясо, что связано с типом мускулатуры. Мясо грудки имеет бледно-розовый цвет, мясо бедер и ножек темно-красное (13). Установлены прямые корреляционные связи между цветом мяса и величиной pH: у темного мяса, как правило, pH выше, у очень светлого pH ниже (14). В мясной промышленности от pH также зависят характеристика PSE (бледное, мягкое, экссудативное) и DFD (темное, твердое, сухое) (15). Свежее мясо птицы часто относят к категории PSE исключительно на основании высоких показателей цвета L* (светлоты) и низкого pH, что также снижает ВУС (16). В ряде исследований установлена генетическая обусловленность цветовых характеристик мяса сельскохозяйственных животных и птицы. Выявлены локусы количественных признаков (17, 18), SNPs (19, 20) и гены-кандидаты (19-22), детерминирующие степень проявления цветовых характеристик.

В настоящем сообщении представлены результаты полногеномных ассоциативных исследований показателей цветового спектра мяса грудки у кур F_2 ресурсной популяции. Идентифицированы новые SNPs и гены-кандидаты, с высокой достоверностью ($p < 0{,}00001$) ассоциированные с показателями цвета мяса у кур. Оценка возможности использовать детектированные SNPs как генетические маркеры в селекции на улучшение качественных показателей мяса кур — предмет дополнительного изучения.

Цель работы — поиск SNPs и идентификация генов, ассоциированных с показателем цвета мяса у кур.

Методика. Исследования проводили на курах F_2 модельной ресурсной популяции ($n = 260$; виварий ФИЦ животноводства — ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста, 2021-2023 годы), для создания которой использованы две породы — корниш (мясная порода) и русская белая (яичная порода). Цыплят до 3-недельного возраста выращивали в брудерах с постепенным понижением температуры с 34 °С (в первые часы после выхода из яйца) до 23 °С, затем переводили на напольное содержание. Условия содержания птицы в соответствии с ее возрастом предусматривали постоянный доступ к полнорационному промышленному комбикорму и свежей воде, хорошую приточную вентиляцию, обеспечивающую отсутствие сырости, сквозняков и загазованности, нормальную освещенность. В возрасте 9 нед проводили экспериментальный убой птицы в соответствии с национальным стандартом Российской Федерации ГОСТ Р 52837-2007 «Птица сельскохозяйственная для убоя. Технические условия». Голодная выдержка составляла 8-10 ч. После убоя тушки ошпаривали, снимали оперение и проводили их обвалку.

Цветовые характеристики мяса грудки измеряли с помощью портативного спектрофотометра CM-700d («Konica Minolta», Япония) по си-

стеме L*a*b* (трехмерное пространство, где отрицательные значения a и b соответствуют холодным цветам, положительные значения — теплым цветам). Показатель цвета L характеризует отражение света от поверхности мяса (23). Через 24 ч после убоя снимали цветовые спектры в пяти точках образца филе грудки и определяли для каждого среднее значение по шкалам спектра.

ДНК выделяли из пульпы пера с использованием коммерческого набора «ДНК Экстран-2» (ООО «НПФ Синтол», Россия) в соответствии с рекомендациями производителя. Качество и целостность выделенной ДНК проверяли в 1 % агарозном геле методом горизонтального гель-электрофореза. Чистоту препарата оценивали на спектрофотометре NanoPhotometer® N60 («Thermo Fisher Scientific», США), отбирали пробы с соотношением $OD_{260/280}$ больше 1,8. Концентрацию ДНК определяли на флуориметре Qubit® 2.0 («Invitrogen/Life technologies», США) с использованием набора Qubit™ dsDNA BR Assay («Invitrogen/Life technologies», США) для количественного определения ДНК в диапазоне 2-1000 нг.

Полногеномное генотипирование кур выполняли с использованием ДНК-чипа Illumina Chicken iSelect BeadChip («Illumina, Inc.», США), содержащего 60 тыс. SNP. Контроль качества и фильтрацию данных генотипирования для каждого образца и каждого SNP выполняли в программной среде R с программным пакетом PLINK 1.9 (http://zzz.bwh.harvard.edu/plink/), применяя следующие фильтры в программе: --mind 0.10, --geno 0.10, --maf 0.05, --hwe 1e-3. Для полногеномного ассоциативного исследования (GWAS) и выявления SNP, связанных с показателями цвета мышечных тканей, использовали команды для регрессионного анализа –assoc, --adjust, --qt-means. Для подтверждения достоверного влияния SNP и определения значимых регионов в геноме кур использовали тест для проверки нулевых гипотез по Бонферрони. Данные визуализировали в пакете qqman (https://github.com/qqman). Поиск генов-кандидатов в области идентифицированных SNP проводили с помощью средства просмотра геномных данных (Genome Data Viewer) в базе данных NCBI Gallus gallus (chicken) (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/datasets/genome/). Функциональные аннотации генов выполняли с привлечением базы данных GeneCards (http://www.genecards.org/) и программы DAVID (https://david.ncifcrf.gov/).

Статистические показатели рассчитывали с использованием пакета анализа данных в Microsoft Office 365 по следующим параметрам: значение средних (*M*), стандартная ошибка (±SEM), минимум (min), максимум (max), коэффициент вариации (*Cv*, %).

Результаты. Данные измерений цветовых характеристик мяса грудки у кур F_2 ресурсной популяции представлены в таблице 1.

1. Характеристика кур (*Gallus gallus* L.) из F_2 ресурсной популяции по цветовым характеристикам мяса грудки (*n* = 260, виварий ФИЦ животноводства — ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста, 2021-2023 годы)

Показатель	*M*	±SEM	min	max	*Cv*, %
L	38,88	1,98	42,08	62,28	7,62
a	2,12	0,19	-0,31	14,07	97,23
b	10,07	0,18	5,73	16,81	19,99

Примечание. Координата L характеризует светлоту по спектру от темного (0) к светлому (100); a — спектр от зеленого (–128) до пурпурного (127); b — спектр от голубого (–128) до желтого (127).

Согласно данным таблицы 1, значения спектров a* и b* филе грудки характеризовались высоким коэффициентом вариации (соответственно 97,23 и 19,99 %). Это указывает на влияние генетического фактора помесности на изменчивость указанных признаков, когда в выборке контролируются условия кормления, содержания, клиническое здоровья птицы и миними-

зируется стресс при убое.

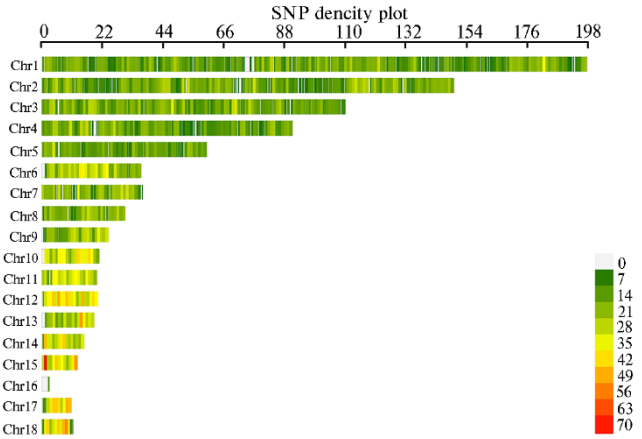

Рис. 1. График плотности SNPs по изучаемым цветовым характеристикам мяса кур (*Gallus gallus* L.) из F_2 ресурсной популяции по хромосомам (*n* = 260, виварий ФИЦ животноводства — ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста, 2021-2023 годы).

После фильтрации данных для полногеномных исследований ассоциаций всего использовали 16630 SNPs. Плотность распределения выявленных SNPs по хромосомам представлена на рисунке 1.

По всем изученным цветовым показателям мяса у кур из F_2 ресурсной популяции мы в результате идентифицировали 60 значимых SNPs ($p < 0,00001$) на хромосомах GGA1, GGA2, GGA3, GGA7, GGA8, GGA10, GGA12, GGA13, GGA17, GGA18 (рис. 2).

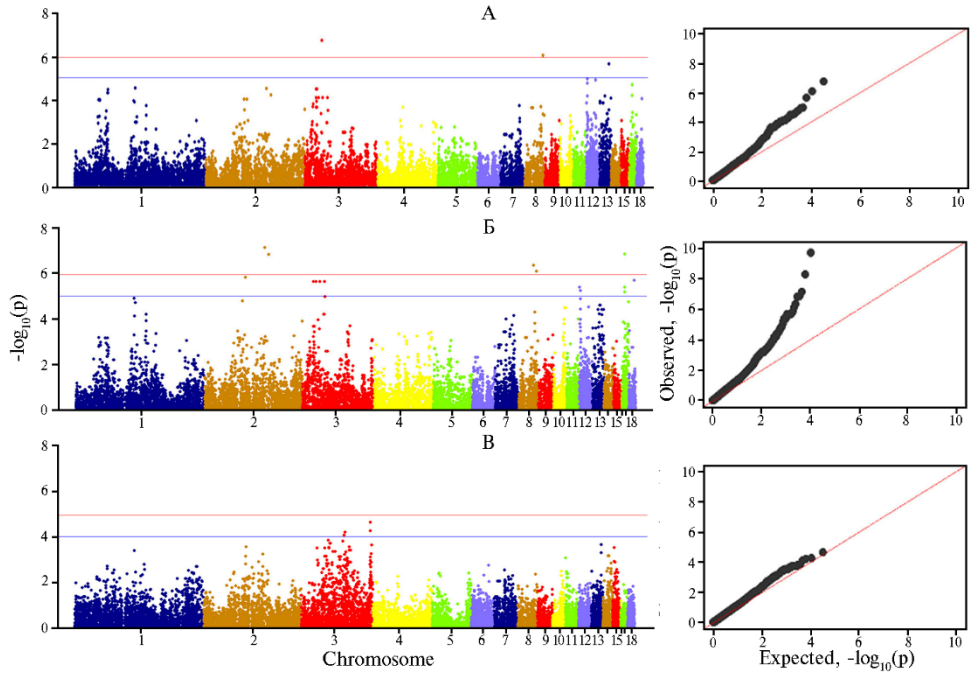

Рис. 2. Генетическая архитектура цветовых характеристик мяса грудки у кур (*Gallus gallus* L.) из F_2 ресурсной популяции: слева — полногеномные плоты; справа — графики Q-Q (вероятности); А — спектр цвета L*, Б — спектр цвета a*, В — спектр цвета b* (*n* = 260, виварий ФИЦ животноводства — ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста, 2021-2023 годы).

В таблице 2 представлены достоверно значимые SNPs ($p < 0,00001$), ассоциированные с цветовыми характеристиками мяса грудки у кур из F_2 ресурсной популяции. Установлено, что с параметром цвета L* ассоциированы 28 SNPs. Эти SNPs локализованы на GGA1 (4 SNPs), GGA2 (5 SNPs), GGA3 (8 SNPs), GGA8 (1 SNP), GGA12 (4 SNPs), GGA13 (3 SNPs), GGA17 (2 SNPs) и GGA18 (1 SNP). По параметру a* мы выявили 48 значимых SNPs

на хромосомах GGA1, GGA2, GGA3, GGA7, GGA8, GGA10, GGA12, GGA13, GGA17 и GGA18. Наибольшее число SNPs обнаружили на GGA3 (12 SNPs), наименьшее – на GGA18 (1 SNP). Для критерия цвета мяса грудки b* было выявлено только 4 SNP на GGA3.

2. Достоверно значимые (p < 0,00001) **SNPs, ассоциированные с цветовыми характеристиками мяса грудки у кур (*Gallus gallus* L.) из F_2 ресурсной популяции** (*n* = 260, виварий ФИЦ животноводства — ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста, 2021-2023 годы)

Хромосома GGA	SNP	Позиция	p	Признак
1	GGaluGA017028	49518104...50473515	4,87E-05	L
	Gga_rs13865002		4,87E-05	
	GGaluGA017292		3,33E-05	
	Gga_rs13899455	88864063...90363842	1,27E-05	a
	Gga_rs14856616		7,36E-05	
	GGaluGA031490	91050938...91450938	2,87E-05	L, a
			1,95E-05	
	Gga_rs13917314	107440599...107940361	6,13E-05	a
	Gga_rs13917480		6,13E-05	
2	Gga_rs14187600	57548810...58000666	9,71E-05	L, a
			1,62E-05	
	Gga_rs14187774		9,71E-05	
			1,62E-05	
	GGaluGA150095	62037051...62437051	9,72E-05	L, a
			1,47E-06	
	Gga_rs14219701	91397215...91797215	2,99E-05	L, a
			7,47E-08	
	Gga_rs15133231	97797354...98197354	5,91E-05	L, a
			1,49E-07	
3	Gga_rs16228851	16704934...17317837	7,91E-05	L, a
			2,24E-06	
	GGaluGA210154		3,22E-05	
	Gga_rs14321392	18109888...18509888	3,22E-05	L
	Gga_rs14323710	20423383...20823383	7,91E-05	L, a
			2,24E-06	
	Gga_rs16239991	25213895...25613895	1,85E-07	L, a
			2,39E-11	
	Gga_rs15303835	26562059...26962059	7,91E-05	L, a
			2,24E-06	
	GGaluGA215531	32726056...34925170	6,15E-05	L, a
	Gga_rs16250047		6,15E-05	
	Gga_rs14337156		6,15E-05	
	Gga_rs16250652		6,15E-05	
	Gga_rs14337823		6,15E-05	
	GGaluGA215952		7,91E-05	
			2,24E-06	
	Gga_rs16251735		7,91E-05	
			2,24E-06	
	GGaluGA216144		1,04E-05	
	Gga_rs15375140	65279421...65679421	8,35E-05	b
	GGaluGA226948	66888191...67288191	6,24E-05	
	GGaluGA238450	105376493...105875531	5,50E-05	
	Gga_rs16338886		2,25E-05	
7	GGaluGA313956	16384962...16784962	9,96E-05	a
	Gga_rs13598324	28338012...28738012	6,98E-05	
8	GGaluGA330168	22596941...22996941	4,46E-07	a
	Gga_rs14653321	24397555...24797555	4,96E-05	a
	GGaluGA332278	27324733...27840907	8,92E-07	L, a
			2,06E-10	
	Gga_rs15937915		7,96E-07	
10	Gga_rs14953406	18446784...19677731	3,25E-05	a
	GGaluGA072861		3,25E-05	
12	GGaluGA080532	366564...1003693	4,08E-06	a
	GGaluGA080537			
	Gga_rs15628463			
	Gga_rs15630811	1703306...2418508	6,82E-05	L, a
			1,33E-05	
	GGaluGA081274		1,09E-05	
			5,67E-06	
	Gga_rs14031390		1,71E-05	
			3,72E-05	
	GGaluGA087110	14173406...14573406	1,21E-05	L, a
			3,01E-05	

13	GGaluGA093806	9428125...9828125	6,88E-05	L, a
			3,86E-05	
	Gga_rs15698305	11860386...13195035	5,92E-05	a
	Gga_rs14060024		2,46E-05	
	GGaluGA095191		2,46E-05	
	GGaluGA001139		2,46E-05	
	Gga_rs14063043	15435179...16143937	6,59E-05	L, a
	Gga_rs14063186		2,26E-06	
			5,55E-09	
	GGaluGA097116		3,85E-05	
	Gga_rs14065976	18469260...18869260	8,32E-05	L, a
			3,78E-05	
17	GGaluGA114289	4212179...5004176	6,34E-05	L, a
			4,00E-06	
	GGaluGA114391		2,04E-05	
			1,44E-07	
	GGaluGA114420		6,48E-06	
	Gga_rs15788572	10517209...10917209	1,78E-05	a
18	Gga_rs14114367	8362502...8762502	9,17E-05	L, a
			2,02E-06	

Далее мы идентифицировали гены-кандидаты, содержащие выявленные SNPs или сцепленные с ними (±0,2 Mb). Структурная аннотация выявила 270 генов, по предварительной оценке отвечающих за цветовые спектры филейной части грудки, в том числе 30 генов, локализованных в позициях выявленных SNPs (табл. 3).

3. Структурная аннотация генов-кандидатов в области выявленных SNPs, ассоциированных с цветом мяса грудки у кур (*Gallus gallus* L.) из F_2 ресурсной популяции (*n* = 260, виварий ФИЦ животноводства — ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста, 2021-2023 годы)

Хромосома GGA	Ген-кандидат			Признак
	в позиции SNP		сцепленный с позицией SNP (±0,2 Mb)	
	ID гена	позиция		
1	*TEF*	49701507..49717640	*CD200, CD200L, CRYBG3, KCNJ15, MEI1, EP300, BTLA, CGGBP1, ARL6, KCNJ6, ETS2*	L, a
	MKL1	50003390..50101264		
	TNRC6B	50146094..50287628		
	EPHA6	90900356..91399201		
	ERG	107658703..107811187		
2	*VAPA*	97965836..97997739	*ACO2, RANGAP1, C1H3ORF52, EPHA3, CCDC134, L3MBTL2, ARL13B, PROS1, CSDC2, RBX1, NSUN3, STX19, XRCC6, XPNPEP3, POLR3H, ST13P5, TOB2, SGSM3, SREBF2, ADSL, SHISA8, GRAP2, PHF5A, FAM83F, DESI1, SNU13, DCDC2, NRSN1, MRS2, GPLD1, PHACTR1, EDN1, CNDP1, CNDP2, MOG, ALDH5A1, HIVEP1, CYB5A, FAM69C, APCDD1, PPP4R1, FBXO15, TIMM21, RAB31, RALBP1, TWSG1*	L, a
3	*TMEM63A*	16879683..16908662	*PARP1. CNIH3, HLX, SHKBP1, CAMKMT, SIX3, MCFD2, SCCPDH, PRKD3, SPAST, SRD5A2, QPCT, CEBPZ, ELP3, LIN9, MIXL1, DNAH14, MTARC1, CENPF, PTPN14, SIX2, CALM2, PPP1CB, NDUFAF7, SULT6B1, DPY30, MEMO1, SMYD3, CNST, TFB2M, ADSS2, COX20, DESI2, TUBE1, ARMC2, FBXO16, EXTL3*	L, a, b
	KCNK2	20526712..20653121		
	TTC7A	26628446..26790506		
	KIF28P	33508057..33530730		
	AHCTF1	33454877..33507931		
	KIF26B	34003714..34297816		
	AKT3	34651696..34796287		
	LAMA4	65400812..65497195		
	AFG1L	67086571..67151321		
	FZD3	105634168..105686155		
7	–	–	*ACBD3, SDE2, WDR26, PFN3, EFCAB2, HNRNPU, SDCCAG8, WISP3, FOXO3, INTS9, LEFTY1, ENAH, DEGS1, MARK1, FYN, SNX3, NR2E1, OSTM1, SEC63, CHN1, INSIG2, WIPF1, CCDC93, CHRNA1, DDX18*	L, a
8	*BEND5*	22380811..23220947	*GPR155, CIR1, SCRN3, SP9, OLA1, SP3, FOXD3, ALG6, LRP8, ITGB3BP, PGM1, ROR1, DMRTB1, YIPF1, NDC1*	L, a
	GLIS1	24591950..24764561		
	EFCAB7	27494881..27547348		

10	–	–	*DIO1, MEGF11, ANP32A, DIS3L, NOX5, MAP2K1, GLCE, TIPIN, KIF23, ZWILCH, PAQR5, LCTL, TLE3, RPL4, UACA, SNAPC5, SMAD6, SMAD3*	L, a
12	*PBRM1*	771096..833446	*TNNC1, RPL29, MAPKAPK3, CISH, NISCH, STAB1, NT5DC2, SMIM4, GNL3, SPCS1, GLT8D1, NEK4, ITIH3, MUSTN1, SFMBT1*	L, a
	HEMK1	1847096..1930905		
	DOCK3	2034647..2317912		
	MAGI1	14181633..14474643		
13	*GLRA1*	12434258..12486014	*SFXN1, DRD1, MFAP3, GRIA1, UBE2B, SKP1, BRD8, KIF20A, NMUR2, G3BP1, SPARC, ATOX1, PPP2CA, TCF7, RAPGEF6, GRK6, LMAN2, FAT2, CCDC69, GM2A, ANXA6, RGS14, ARL2, LACAAT2L, TNIP1, GPX3, DCTN4, PRR7, PDLIM7, NDST1, RPS14, CD74, TCOF1, B4GALT7, ADRA2BL2, SMIM3, RBM22, MYOZ3, SYNPO, DOK3, DBN1, ARSI, CAMK2A, PDGFRB, CDX1, DDX41, RAB24, HMGXB3, CSF1R, TRIM105, NPY7R, PRELID1, NSD1, TBC1D9B, MGAT4B, SQSTM1, MAML1, CANX, HNRNPH1, DCK2*	L, a
	FLT4	12951742..12998047		
	VDAC1	15589702..15650724		
	FSTL4	15845754..16032315		
17	*BRINP1*	4664527..4744154	*TLR4*	L, a
18	*LMX1B*	10665426..10802338	*GNA13, MVB12B, RGS9, ARSG, ALC, WIP11, PRKAR1A, ANGPTL2, ABCA8, MAP2K6, RALGPS1, ABCA5*	L, a
	ABCA9	8559320..8581766		

П р и м е ч а н и е. Прочерки в таблице означают, что найденная позиция SNP не была локализована внутри гена.

Из 270 выявленных генов, ассоциированных с цветовыми характеристиками мяса грудки кур F2 ресурсной популяции, было отобрано 39 значимых генов-кандидатов, отвечающих за биологические функции, в том числе 3 гена, внутри которых были локализованы идентифицированные SNPs. Перечень генов и их биологические функции представлены в таблице 4.

4. Функциональная аннотация выявленных генов, ассоциированных с цветовыми характеристиками мяса грудки у кур (*Gallus gallus* L.) из F_2 ресурсной популяции (n = 260, виварий ФИЦ животноводства — ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста, 2021-2023 годы)

Ген	Позиция	Биологическая функция
В позиции SNP:		
BRINP1	4664527..4744154	Клеточный цикл, гибель клеток, поведение
FSTL4	15845754..16032315	Развитие многоклеточных организмов, развитие нервной системы
TTC7A	26628446..26790506	Клеточный гомеостаз ионов железа
Сцепленный с позицией SNP (±0,2 Mb):		
ARL13B	89891671..89940839	Закольцовывание сердца, формирование паттерна нервной трубки
ABCA5	8582298..8608484	Транспорт липидов
ABCA8	8536924..8557588	Транспорт липидов
CD200L	88913076..88921182	Регуляция иммунного ответа
DMRTB1	24557324..24563156	Развитие половых клеток, дифференциация пола
FBXO15	91609665..91633896	Связывание белков
FBXO16	105598226..105634014	Связывание белков
FYN	65580445..65711082	Сердечный процесс, развитие переднего мозга, врожденный иммунный ответ
GNA13	8386712..8414335	Старение многоклеточного организма
G3BP1	12485905..12506960	Врожденный иммунный ответ, защитный ответ на вирус
GM2A	12614487..12617622	Транспорт липидов
LRP8	24349072..24499027	Регуляция врожденного иммунного ответа
NDST1	12716758..12736200	Процесс биосинтеза полисахаридной цепи
PDLIM7	9768860..9788764	Развитие сердца
PRELID1	9812879..9814674	Транспорт липидов
SIX3	25520822..25523953	Развитие глаз, созревание эпителиальных клеток
SMAD3	18814590..18878841	Ответ на гипоксию, развитие иммунной системы
SP3	16704259..16735630	Развитие печени
B4GALT7	9710664..9712643	Метаболизм углеводов, биосинтез гликозаминогликанов
CCDC134	49550539..49554893	Ангиогенез, эмбриональное кроветворение, эмбриональное развитие печени
DIO1	24792883..24797740	Биосинтез гормонов
DEGS1	17295979..17300997	Биосинтез жирных кислот

Продолжение таблицы 4

EDN1	62406640..62411539	Клеточный гомеостаз ионов кальция, сокращение гладких мышц вен
GPX3	12661488..12663434	Реакция на окислительный стресс
INSIG2	28449946..28462775	Биосинтез холестерина
LCTL	18547541..18551236	Метаболизм углеводов
LEFTY1	16864275..16879586	Развитие селезенки
LACAAT2L	12628444..12633004	Транспорт аминокислот
MAP2K1	18496305..18527713	Развитие сердца, развитие щитовидной железы
NRSN1	57666592..57673732	Развитие нервной системы
PGM1	27548636..27567569	Метаболизм углеводов, процесс обмена глюкозы
PPP1CB	26901055..26932174	Метаболизм гликогена
SCCPDH	33530313..33540359	Биосинтез гликолипидов
SFXN1	9634295..9669465	Транспорт ионов, транспорт аминокислот
STX19	89905548..89921452	Внутриклеточный транспорт белков
TNNC1	643058..648527	Сокращение скелетных мышц, регуляция мышечного сокращения

Цвет служит важным показателем качества мяса курицы и тесно связан с гликолизом и внутримышечным жировым обменом. Отмечены функции ряда выявленных генов-кандидатов (транспорт липидов, аминокислот, белков, холестерина, биосинтез жирных кислот, развитие селезенки, печени, сердца, связывание белков), которые напрямую или косвенно влияют на цветообразование мяса. Выявленные гены отвечают за биологический функционал, включая развитие многоклеточного организма и его органов, гомеостаз жирных кислот, биохимические процессы. Как известно, стресс сильно влияет на органолептические показатели мяса, поэтому развитие нервной системы играет немаловажную роль в формировании его цветовых спектров. Для 7 генов-кандидатов, идентифицированных в наших исследованиях, в ряде научных работ показана связь с селекционно значимыми признаками у кур. В частности, установлены высокодостоверные ассоциации гена *AKT3* с пигментацией перьев у кур (24) и развитием мышечных волокон (25). Показано влияние генов *FSTL4* и *VDAC1* на содержание влаги в желтке яйца (26), гена *TTC7A* — на накопление гликогена в мышцах кур (27). Также сообщается о связи гена *FSTL4* с быстрым ростом мышц у бройлеров (28). Установлено влияние генов *MAGI1* и *VDAC1* на показатели иммунитета (29-31), генов *FZD3* и *EPHA6* — на состояние и развитие нервной системы (32). Для других выявленных нами генов-кандидатов в ряде работ обнаружена связь с показателями мясной продуктивности и качеством мяса у других видов сельскохозяйственных животных. Так, установлены ассоциации генов *TTC7A* и *AFG1L* с толщиной шпика у свиней (33, 34), гена *BRINP1* — с показателями роста у свиней (35) и развития (линейные промеры) у коз (36).

Таким образом, в проведенном исследовании мы выявили 60 значимых SNPs, ассоциированных с цветом мяса у кур, в том числе 28 SNPs, связанных с цветовым спектром L*, 48 SNPs — со спектром a*, 4 SNPs — со спектром b*. Обнаруженные нами SNPs локализованы на хромосомах GGA1 (10 SNPs), GGA2 (3 SNPs), GGA3 (18 SNPs), GGA7 (2 SNPs), GGA8 (4 SNPs), GGA10 (2 SNPs), GGA12 (7 SNPs), GGA13 (9 SNPs), GGA17 (4 SNPs), GGA18 (1 SNP). Также идентифицированы 270 генов-кандидатов, связанных с изученными признаками, из которых в 30 генах локализуются выявленные SNPs. Эти результаты могут быть использованы в геномной селекции кур на качественные характеристики мяса.

ФГБНУ Федеральный исследовательский центр животноводства — ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста,
142132 Россия, Московская обл., г.о. Подольск, пос. Дубровицы, 60,
e-mail: anastezuya@mail.ru ✉, alan_dz@inbox.ru, belousa663@gmail.com, natavolkova@inbox.ru, zinovieva@mail.ru

Поступила в редакцию 26 октября 2023 года

GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDIES OF CHICKEN (*Gallus gallus* L.) BREAST MEAT COLOR CHARACTERISTICS

A.N. Vetokh ✉, *A.Yu. Dzhagaev, A.A. Belous, N.A. Volkova, N.A. Zinovieva*

Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, 60, pos. Dubrovitsy, Podolsk District, Moscow Province, 142132 Russia, e-mail anastezuya@mail.ru (✉ corresponding author), alan_dz@inbox.ru, belousa663@gmail.com, natavolkova@inbox.ru, zinovieva@mail.ru
ORCID:
Vetokh A.N. orcid.org/0000-0002-2865-5960
Dzhagaev A.Yu. orcid.org/0000-0001-7818-0142
Belous A.A. orcid.org/0000-0001-7533-4281
Volkova N.A. orcid.org/0000-0001-7191-3550
Zinovieva N.A. orcid.org/0000-0003-4017-6863
The authors declare no conflict of interests
Acknowledgements:
Supported financially by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, topic No. FGGN-2023-0002
Final revision received October 26, 2023
Accepted November 23, 2023
doi: 10.15389/agrobiology.2023.6.1068eng

Abstract

One of the most important parameters of meat quality is its color characteristics, which largely determines consumer demand for these products. Special color scales are used to assess the quality of meat based on its color spectrum. The L*a*b* scale is common the effectiveness of which has been shown in meat livestock farming. A number of studies have established the genetic determination of meat color characteristics for farm animals and poultry. SNPs and candidate genes that determine the expression of this trait have been identified (J. Sun et al., 2022; X. Guo et al., 2023). Here, we submit data on genome-wide association studies of the spectrum of color parameters of breast meat of F_2 chickens of the resource population based on genome-wide genotyping data. The aim of research was to search for SNPs and identify genes associated with meat color in chickens. For the research, an F_2 model resource chickens population (n = 260, vivarium of the Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, 2021-2023) was obtained by crossing two chicken breeds contrasting in meat quality, the Russian White (slow growth) and Cornish (fast growth). The poultry of F_2 resource population was genotyped using high-density Illumina Chicken iSelect BeadChip 60k (Illumina, Inc., USA). At the age of 9 weeks, birds were slaughtered. The spectra of breast meat were measured according to the L*a*b* color scale using a portable spectrophotometer CM-700d (Konica Minolta, Japan). Based on the genotype and phenotype data, genome-wide association studies were carried out using PLINK 1.9 software with accepted restrictions (geno 0.1, mind 0.1, maf 0.03). The threshold significance criterion was set to $p < 0.000001$. The chickens of F_2 resource population was characterized by a high coefficient of variability in the green (a*) and blue (b*) spectrum of meat color, from 19.99 % to 97.23 %. According to the L parameter, chickens showed relatively low variability not exceeding 9.75 %. Based on the GWAS analysis, 60 significant SNPs were identified, including those associated with the color spectrum L* (28 SNPs), a* (48 SNPs), and b* (4 SNPs). These SNPs were located on chromosomes GGA1 (10 SNPs), GGA2 (3 SNPs), GGA3 (18 SNPs), GGA7 (2 SNPs), GGA8 (4 SNPs), GGA10 (2 SNPs), GGA12 (7 SNPs), GGA13 (9 SNPs), GGA17 (4 SNPs), and GGA18 (1 SNP). We identified 270 candidate genes associated with the studied traits, including 30 genes that contain the identified SNPs. The results of the study can be helpful in further genomic selection of chickens for improving meat quality.

Keywords: *Gallus gallus*, chicken, SNP, GWAS, candidate genes, meat quality, meat color, L*a*b* color scale.

REFERENCES

1. Sandercock D.A., Barker Z.E., Mitchell M.A., Hocking P.M. Changes in muscle cell cation regulation and meat quality traits are associated with genetic selection for high body weight and meat yield in broiler chickens. *Genetics Selection Evolution*, 2009, 41: 8 (doi: 10.1186/1297-9686-41-8).
2. Fisinin V.I., Buyarov V.S., Buyarov A.V., Shumetov V.G. *Agrarnaya nauka*, 2018, 2: 30-38 (in Russ.).
3. Alnahhas N., Berr C., Chabault M., Chartrin P., Le Bihan-Duval E. Genetic parameters of white striping in relation to body weight, carcass composition, and meat quality traits in two broiler lines divergently selected for the ultimate pH of the pectoralis major muscle. *BMC Genomics*, 2016, 17: 61 (doi: 10.1186/s12863-016-0369-2).
4. Karunanayaka D.S., Jayasena D.D., Jo C. Prevalence of pale, soft, and exudative (PSE) condition in chicken meat used for commercial meat processing and its effect on roasted chicken breast. *Journal of Animal Science and Technology*, 2016, 58: 27 (doi: 10.1186/s40781-016-0110-8).

5. Riovanto R., Marchi M., Cassandro M., Penasa M. Use of near infrared transmittance spectroscopy to predict fatty acid composition of chicken meat. *Food Chemistry*, 2012, 134(4): 2459-2464 (doi: 10.1016/j.foodchem.2012.04.038).
6. Semikopenko N.I. *Vse o myase*, 2017, 5: 38-41 (in Russ.).
7. Dorokhin N.A. *Sel'skokhozyaystvennyy zhurnal*, 2020, 5(13): 59-64 (in Russ.).
8. Bogolyubova N.V., Nekrasov R.V., Zelenchenkova A.A. Antioxidant status and quality of poultry and animal meat under stress and its correction with the use of various adaptogens (review). *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya* [*Agricultural Biology*], 2022, 57(4): 628-663 (doi: 10.15389/agrobiology.2022.4.628eng).
9. Qiao M., Fletcher D.L., Smith D.P., Northcutt J.K. The effect of broiler meat color on pH, moisture, water-holding capacity, and emulsification capacity. *Poultry Science*, 2001, 80: 676-680 (doi: 10.1093/ps/80.5.676).
10. Petracci M., Betti M., Bianchi M., Cavani C. Color variation and characterization of broiler breast meat during processing in Italy. *Poultry Science*, 2004, 83: 2086-2092 (doi: 10.1093/ps/83.12.2086).
11. Woelfel R.L., Owens C.M., Hirschler E.M., Martinez R.D., Sams A.R. The characterization and incidence of pale, soft, and exudative broiler meat in a commercial processing plant. *Poultry Science*, 2002, 81: 579-584 (doi: 10.1093/ps/81.4.579).
12. Oba A., Almeida M.D., Pinheiro J.W., Ida E.I., Marchi D.F., Soares A.L., Shimokomaki M. The effect of management of transport and lairage conditions on broiler chicken breast meat quality and DOA (Death on Arrival). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 2009, 52: 205-211 (doi: 10.1590/S1516-89132009000700026).
13. Mir N.A., Rafiq A., Kumar F., Singh V., Shukla V. Determinants of broiler chicken meat quality and factors affecting them: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 2017, 54: 2997-3009 (doi: 10.1007/s13197-017-2789-z).
14. Anadon H.L.S. *Biological, nutritional, and processing factors affecting breast meat quality of broilers. Ph.D. Thesis*. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA, 24061, USA, 2002.
15. Ezhkova G.O., Ponomarev V.Ya., Reshetnik O.A. *Tekhnologiya povysheniya kachestva myasnogo syr'ya PSE i DFD na organizmennom i tkanevom urovne: monografiya* [Technology for improving the quality of meat raw materials PSE and DFD at the organism and tissue level: monograph]. Kazan', 2007 (in Russ.).
16. Bowker B. Chapter 4. Developments in our understanding of water-holding capacity. In: *Woodhead publishing series in food science, technology and nutrition, poultry quality evaluation*. Woodhead Publishing, 2017: 77-113 (doi: 10.1016/B978-0-08-100763-1.00004-0).
17. Allais S., Hennequet-Antier C., Berri C., Salles L., Demeure O., Le Bihan-Duval E. Mapping of QTL for chicken body weight, carcass composition, and meat quality traits in a slow-growing line. *Poultry Science*, 2019, 98(5): 1960-1967 (doi: 10.3382/ps/pey549).
18. Seo D.W., Park H.B., Jung S., Cahyadi M., Choi N.R., Jin S., Heo K.N., Jo C., Lee J.H. QTL analyses of general compound, color and pH traits in breast and thigh muscles in Korean native chicken. *Livestock Science*, 2015, 182: 145-150 (doi: 10.1016/j.livsci.2015.09.020).
19. Sun Y., Zhao G., Liu R., Zheng M., Hu Y., Wu D., Zhang L., Li P., Wen J. The identification of 14 new genes for meat quality traits in chicken using a genome-wide association study. *BMC Genomics*, 2013, 14: 458 (doi: 10.1186/1471-2164-14-458).
20. Sun J., Tan X., Yang X., Bai L., Kong F., Zhao G., Wen J., Liu R. Identification of candidate genes for meat color of chicken by combing selection signature analyses and differentially expressed genes. *Genes*, 2022, 13: 307 (doi: 10.3390/genes13020307).
21. Korshunova L.G., Karapetyan R.V., Komarchev A.S., Kulikov E.I. Association of single nucleotide polymorphisms in candidate genes with economically useful traits in chickens (*Gallus gallus domesticus* L.) (review). *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya* [*Agricultural Biology*], 2023, 58(2): 205-222 (doi: 10.15389/agrobiology.2023.2.205eng).
22. Guo X., Zhang H., Wang H., He X.X., Wang J.X., Wei W., Liu M., Xu J.M., Liu Y.N., Jiang R.S. Identification of key modules and hub genes involved in regulating the color of chicken breast meat using WGCNA. *Animals*, 2023, 13(14): 2356 (doi: 10.3390/ani13142356).
23. Gorbunova E.V., Korotaev V.V., Lastovskaya E.A. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Priborostroenie*, 2014, 57(12): 64-65 (in Russ.).
24. Park M.N., Choi J.A., Lee K.T., Lee H.J., Choi B.H., Kim H., Kim T.H., Cho S., Lee T. Genome-wide association study of chicken plumage pigmentation. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, 2013, 26(11): 1523-1528 (doi: 10.5713/ajas.2013.13413).
25. Chen S., An J., Lian L., Qu L., Zheng J., Xu G., Yang N. Polymorphisms in AKT3, FIGF, PRKAG3, and TGF-β genes are associated with myofiber characteristics in chickens. *Poultry Science*, 2013, 92(2): 325-330 (doi: 10.3382/ps.2012-02766).
26. Zhang R., Yao F., Cheng X., Yang M., Ning Z. Identification of candidate genomic regions for egg yolk moisture content based on a genome-wide association study. *BMC Genomics,* 2023, 24: 110 (doi: 10.1186/s12864-023-09221-8).
27. Liu X., Liu L., Wang J., Cui H., Chu H., Bi H., Zhao G., Wen J. Genome-wide association study of muscle glycogen in jingxing yellow chicken. *Genes,* 2020, 11(5): 497 (doi: 10.3390/genes11050497).

28. Dou D., Shen L., Zhou J., Cao Z., Luan P., Li Y., Xiao F., Guo H., Li H., Zhang H. Genome-wide association studies for growth traits in broilers. *BMC Genomic Data*, 2022, 23: 1 (doi: 10.1186/s12863-021-01017-7).
29. Sun Y., Li Q., Hu Y., Sun Y, Liu R., Zheng M., Wen J., Li P., Liu L., Zhao G. Genome-wide association study of immune traits in chicken F2 resource population. *J. Anim. Breed. Genet.*, 2016, 133(3): 197-206 (doi: 10.1111/jbg.12186).
30. Ridgway L.D., Kim E.Y., Dryer S.E. MAGI-1 interacts with Slo1 channel proteins and suppresses Slo1 expression on the cell surface. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 2009, 297(1): 55-65 (doi: 10.1152/ajpcell.00073.2009).
31. Han C., Zeng X., Yao S., Gao L., Zhang L., Qi X., Duan Y., Yang B., Gao Y., Liu C., Zhang Y., Wang Y., Wang X. Voltage-dependent anion channel 1 interacts with ribonucleoprotein complexes to enhance infectious bursal disease virus polymerase activity. *Journal of Virology*, 2017, 91(16): e00584-17 (doi: 10.1128/JVI.00584-17).
32. Nishida K., Flanagan J.G., Nakamoto M. Domain-specific olivocerebellar projection regulated by the EphA-ephrin-A interaction. *Development*, 2002, 129(24): 5647-5658 (doi: 10.1242/dev.00162).
33. Xue Y., Liu S., Li W., Mao R., Zhuo Y., Xing W., Liu J., Wang C., Zhou L., Lei M. Genome-wide association study reveals additive and non-additive effects on growth traits in Duroc pigs. *Genes*, 2022, 13: 1454 (doi: 10.3390/genes13081454).
34. Lee Y.-S., Shin D. Genome-wide association studies associated with backfat thickness in landrace and Yorkshire pigs. *Genomics Informatics*, 2018, 16(3): 59-64 (doi: 10.5808/GI.2018.16.3.59).
35. Ruan D., Zhuang Z., Ding R., Qiu Y., Zhou S., Wu J., Xu C., Hong L., Huang S., Zheng E., Cai G., Wu Z., Yang J. Weighted single-step GWAS identified candidate genes associated with growth traits in a Duroc pig population. *Genes*, 2021, 12: 117 (doi: 10.3390/genes12010117).
36. Gu B., Sun R., Fang X., Zhang J., Zhao Z., Huang D., Zhao Y., Zhao Y. Genome-wide association study of body conformation traits by whole genome sequencing in Dazu black goats. *Animals*, 2022, 12: 548 (doi: 10.3390/ani12050548).