



Volkova, Natalia A., German, Nadezhda Yu., Larionova, Polina V., Vetokh, Anastasia N., Romanov, Michael N and Zinovieva, Natalia A. (2023) [*Identification of SNPs and candidate genes associated with abdominal fat deposition in quails (Coturnix japonica)*] Идентификация SNPs и генов-кандидатов, ассоциированных с отложением абдоминального жира у перепелов *Coturnix japonica*. *Agricultural Biology [Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya]*, 58 (6). pp. 1079-1087. ISSN 0131-6397.

Downloaded from

<https://kar.kent.ac.uk/104538/> The University of Kent's Academic Repository KAR

The version of record is available from

<https://doi.org/10.15389/agrobiology.2023.6.1079eng>

This document version

Author's Accepted Manuscript

DOI for this version

Licence for this version

UNSPECIFIED

Additional information

In Russian; English abstract

Versions of research works

Versions of Record

If this version is the version of record, it is the same as the published version available on the publisher's web site. Cite as the published version.

Author Accepted Manuscripts

If this document is identified as the Author Accepted Manuscript it is the version after peer review but before type setting, copy editing or publisher branding. Cite as Surname, Initial. (Year) 'Title of article'. To be published in **Title of Journal**, Volume and issue numbers [peer-reviewed accepted version]. Available at: DOI or URL (Accessed: date).

Enquiries

If you have questions about this document contact ResearchSupport@kent.ac.uk. Please include the URL of the record in KAR. If you believe that your, or a third party's rights have been compromised through this document please see our [Take Down policy](https://www.kent.ac.uk/guides/kar-the-kent-academic-repository#policies) (available from <https://www.kent.ac.uk/guides/kar-the-kent-academic-repository#policies>).

ИДЕНТИФИКАЦИЯ SNP И ГЕНОВ-КАНДИДАТОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ОТЛОЖЕНИЕМ АБДОМИНАЛЬНОГО ЖИРА У ПЕРЕПЕЛОВ *COTURNIX JAPONICA* ***Н.А. ВОЛКОВА, Н.Ю. GERMAN, П.В. ЛАРИОНОВА, А.Н. ВЕТОХ, М.Н. РОМАНОВ, Н.А. ЗИНОВЬЕВА**

Интенсивность жировых отложений, в том числе абдоминального жира, у сельскохозяйственной птицы является одним из важных показателей, характеризующих как мясную продуктивность и качество мясной птицеводческой продукции, так и общее здоровье птицы. Данный показатель положительно коррелирует с быстрым ростом у птицы и в значительной степени зависит не только от параметров кормления и содержания, но и генетических факторов. Из разных видов сельскохозяйственной птицы достаточно многочисленны исследования по изучению генетических механизмов, связанных с жировым обменом и интенсивностью отложения жира, проведены на курах. Достигнуты значительные успехи в данном направлении. Идентифицированы SNP и гены-кандидаты, детерминирующие отложение как внутримышечного, так и брюшного (абдоминального) жира у кур. На перепелах данные исследования относительно малочисленны. К настоящему времени в литературе недостаточно информации о локусах количественных признаков перепелов, достоверно связанных с показателями жирового обмена. В данном сообщении представлены результаты полногеномных ассоциативных исследований содержания абдоминального жира у перепелов F2 модельной ресурсной популяции. Целью работы были поиск SNP и идентификация генов-кандидатов, ассоциированных с отложением абдоминального жира у перепелов. Объектом исследований являлись самцы F2 модельной ресурсной популяции перепелов (n=146). Для получения данной популяции использовали две контрастные по скорости роста и мясным качествам породы перепелов: японская (медленный рост) и техасская (быстрый рост). Генотипирование полученных особей F2 проводили методом GBS. После фильтрации в ходе обработки данных генотипирования для дальнейшего анализа было отобрано 92618 SNPs. С использованием программного обеспечения PLINK 1.9 с принятыми ограничениями (geno 0,1, mind 0,1, maf 0,05) было проведено изучение ассоциаций данных полногеномного генотипирования с показателем содержания абдоминального жира у перепелов. В качестве порогового критерия достоверности было установлено $p < 0,000001$. Полученная F2 ресурсная популяция перепелов характеризовалась высокой вариабельностью показателя содержания абдоминального жира в туше. В возрасте 56 дней данный показатель варьировал от 0,01 до 10,46 г и составил в среднем $2,41 \pm 0,16$ г. На основании проведенного GWAS-анализа идентифицировано 29 SNPs и 11 генов-кандидатов (в пределах выявленных SNPs), ассоциированных с отложением абдоминального жира у перепелов. Локализация выявленных SNP была установлена на хромосомах 1, 2, 7, 8, 17, 19, 21, 24 и 28. Установленные гены-кандидаты (*CNTN5*, *GNAL*, *PDE1A*, *RBMS1*, *PTPRF*, *SH3GLB2*, *SLC27A4*, *TRIM62*, *IGSF9B*, *USHBP1*) были идентифицированы на хромосомах CJA1 (1), CJA2 (1), CJA7 (2), CJA8 (1), CJA17 (2), CJA21 (1), CJA24 (1) и CJA28 (2). Детектированные SNP и гены кандидаты могут быть в дальнейшем исследованы в качестве генетических маркеров в программах селекции на улучшение мясных качеств перепелов и снижение содержания жира в тушках.

Ключевые слова: *Coturnix japonica*, перепел, QTL, SNP, GBS, GWAS, абдоминальный жир.

Продукция птицеводства занимает прочные позиции в общей структуре продуктов питания, производимых животноводческой отраслью (1, 2). Большим спросом у населения пользуются как яйца, так и мясо сельскохозяйственной птицы (3, 4). Мясо птицы в отличие от мяса других видов сельскохозяйственных животных является диетическим продуктом, характеризующимся высокой пищевой ценностью и хорошими вкусовыми качествами (5, 6). В составе мяса птицы, как правило, содержится небольшое количество жира и значительная доля белков (3, 6).

Основой устойчивого развития и конкурентоспособности мясного птицеводства является создание и использование высокопродуктивных пород и кроссов птицы, что невозможно без проведения эффективной селекционной работы, направленной на поиск и идентификацию ценных генотипов с использованием современных методов и подходов, основанных на изучении молекулярно-генетических механизмов формирования и проявления селекционно-значимых

* Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 21-16-00086

признаков. Одной из ключевых задач геномной селекции, направленной на улучшение качества птицеводческой продукции и повышение рентабельности данной отрасли является поиск SNP и идентификация генов-кандидатов, детерминирующих проявление селекционно-значимых признаков у сельскохозяйственной птицы. За последние годы сформированы значительные базы данных SNP и генов-кандидатов, ассоциированных с показателями мясной продуктивности сельскохозяйственной птицы (7, 8).

Одним из важных показателей, характеризующих мясные качества птиц является интенсивность жировых отложений (9, 10). Различают внутримышечный и внутренний (брюшной, абдоминальный) жир. Внутримышечный жир определяет питательность мяса, его вкусовые качества и текстуру (9). Абдоминальный жир откладывается у птицы в брюшной полости и служит источником энергии для птиц. Его содержание в туше может достигать до 3-4% от веса тушки (11). Избыточное отложение абдоминального жира негативно влияет на общее здоровье птицы (12, 13) и качество тушек (10, 11). В ряде исследований рассматривается использование абдоминального жира как продукта, улучшающего текстуру, вкусовые качества и повышающего пищевую ценность и питательность мясной продукции, получаемой из мяса птицы (14, 15). На жировой обмен и интенсивность накопления жировых отложений влияют ряд факторов: условия содержания (10), кормления (16, 17, 11), возраст (18, 19), пол (19), генетическая предрасположенность (20-22). У самок отмечается более высокое отложение жира по сравнению с самцами (19). Интенсивность жировых отложений положительно коррелирует с быстрым ростом у птицы, что затрудняет проведение отбора птицы по скорости роста и снижению жира в тушках (20). Эффективным инструментом идентификации генов-кандидатов, ассоциированных с экономически-значимыми признаками, является проведение полногеномных ассоциативных исследований (GWAS) однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) с уровнем проявления изучаемых признаков (23). Из разных видов сельскохозяйственной птицы достаточно многочисленные исследования по изучению генетических механизмов, связанных с жировым обменом и интенсивностью отложения жира, проведены на курах (24, 25). Достигнуты значительные успехи в данном направлении. Идентифицированы SNP и гены-кандидаты, детерминирующие отложение как внутримышечного, так и брюшного (абдоминального) жира у кур (26-28). На перепелах данные исследования относительно малочисленны (29). К настоящему времени в литературе недостаточно информации о локусах количественных признаков перепелов, достоверно связанных с показателями жирового обмена.

В настоящем сообщении представлены результаты полногеномных ассоциативных исследований содержания абдоминального жира у перепелов F2 модельной ресурсной популяции. Новизна исследований заключается в идентификации новых SNP и генов-кандидатов, с высокой достоверностью ($p < 0,00001$) ассоциированных с интенсивностью жировых отложений у перепелов. Детектированные SNP могут быть в дальнейшем исследованы в качестве генетических маркеров для использования в селекции на улучшение мясных качеств перепелов и снижение содержания жира в тушках.

Цель настоящей работы – поиск SNP и идентификация генов-кандидатов, ассоциированных с отложением абдоминального жира у перепелов.

Методика. Исследования проводили на базе ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста. Объектом исследований являлись 146 самцов F2 ресурсной популяции перепелов. Для получения F2 ресурсной популяции перепелов использовали две породы: медленно растущую яичную – японская и быстро растущую мясную – техасская белая. На первом этапе было сформировано 4 семьи, каждая из которых включала 1 самца и 5 самок исходных пород – японской и техасской белой. От каждой семьи было получено по 20-30 голов F1. Особи F1 были использованы для получения F2 ресурсной популяции. С этой целью было подобрано 12 семей (F1_1 – F1_12), состоящих из 1 самца и 3 самок F1, не являющихся близкими родственниками. От

данных особей F1 были получены и отобраны для дальнейших исследований самцы F2 (n = 146, группы F2_1 - F2_12).

В возрасте 8 недель проводили экспериментальный убой птицы. Тушку разделяли и отбирали абдоминальный жир в брюшной области. Учитывали следующие показатели: масса тушки и абдоминального жира. Взвешивание разделанной тушки и абдоминального жира проводили на лабораторных весах. Для полногеномных ассоциативных исследований использовали показатели абсолютного и относительного содержания абдоминального жира в тушках перепелов. Показатель относительного содержания абдоминального жира рассчитывали, как процентное отношение массы абдоминального жира к общей массе тушки.

Для выделения ДНК использовали пульпу пера. Экстракцию ДНК проводили с использованием набора Syntol для выделения ДНК из ткани животных (Syntol, Moscow, Россия). Концентрацию растворов ДНК определяли с использованием флуориметра Qubit 3.0 (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, США). Для проверки чистоты извлеченной ДНК соотношение OD260/280 было протестировано с использованием инструмента NanoDrop-2000 (Thermo Fisher Scientific). Генотипирование перепелов проводили посредством GBS анализа по методике, описанной ранее (30). В качестве референсного генома использовали геном Japanese quail – *Coturnix japonica* 2.0 [база данных Ensembl]. Удаление адаптеров и демультиплексирование файла fastq проводили с помощью программы cutadapt. Контроль качества fastq файлов осуществляли в программе FastQC (31). Для выравнивания на референсный геном использовали пакет bowtie2 (32). После фильтрации для дальнейшего анализа использовали 92618 SNPs. Совместное генотипирование полученных файлов проводили при помощи bamtools, с получением одного multi sample VCF file (bcftools mpileup ... | bcftools call -m - | bcftools view -M2 ...), а также команд из пакета snpGBS. Данные были сформированы в файл допустимого для дальнейшего анализа формата с использованием программного обеспечения R (33). С помощью программы PLINK 1.9 проводился контроль качества детектирования SNP. К полученным генотипам перепелов применили фильтр по параметру эффективности генотипирования (mind 0.1, maf 0.05), а генотипированные SNP менее чем в 90% образцов (geno 0.1) были исключены из анализа.

Для выявления ассоциаций SNP с показателями содержания абдоминального жира у перепелов применяли регрессионный анализ в PLINK 1.9. Достоверность влияния SNP и определение значимых регионов в геноме перепелов оценивали с использованием теста для проверки нулевых гипотез при пороговом значении $p < 0.00001$. Данные визуализировали в пакете qqman с помощью языка программирования R (33). Поиск генов-кандидатов, расположенных в области идентифицированных SNP, осуществляли с помощью геномного ресурса Ensembl *Coturnix japonica* 2.0. Расчет статистических показателей осуществлялся в Microsoft Excel 2013.

Результаты. Содержание абдоминального жира в тушках 56-дневных перепелов F2 модельной ресурсной варьировало от 0,01 до 10,46 г и составило в среднем 2.41 ± 0.16 г. Следует отметить высокую вариабельность и значительную степень разброса данного показателя у исследованной птицы – 78,7%. При этом доля абдоминального жира от общей массы тушки изменялась от 0,01% до 4,82% при среднем показателе коэффициента вариации 73,2%.

Анализ отдельных групп перепелов F2 также выявил внутри данных групп высокую вариацию абсолютного и относительного содержания абдоминального жира в тушках (табл. 1).

1. Содержание абдоминального жира в тушках перепелов F2 модельной ресурсной популяции

Группа	n	Масса абдоминального жира, г					Доля абдоминального жира в тушке, %				
		средняя	ошибка	max	min	CV, %	средняя	ошибка	max	min	CV, %
F2_1	8	1,93	0,51	4,24	0,01	74,6	1,09	0,29	2,48	0,01	75,2
F2_2	15	2,95	0,48	6,10	0,10	63,5	1,53	0,25	3,19	0,06	63,2
F2_3	7	1,35	0,15	2,02	0,82	29,5	0,71	0,06	1,00	0,48	23,8
F2_4	18	2,49	0,40	7,64	0,35	68,6	1,31	0,21	4,03	0,22	67,3

F2_5	7	2,54	0,87	6,95	0,71	90,9	1,53	0,51	4,13	0,46	87,4
F2_6	14	2,84	0,68	10,46	0,55	89,7	1,47	0,31	4,82	0,30	80,1
F2_7	18	1,96	0,46	8,72	0,10	99,5	1,05	0,23	4,29	0,06	92,9
F2_8	11	2,30	0,52	5,39	0,10	75,1	1,32	0,29	2,92	0,08	71,7
F2_9	10	2,13	0,43	5,41	0,73	63,5	1,18	0,19	2,44	0,45	50,2
F2_10	6	2,13	0,66	3,63	0,01	76,3	1,22	0,35	1,99	0,01	71,0
F2_11	18	2,97	0,56	8,83	0,49	80,3	1,52	0,26	4,13	0,32	71,2
F2_12	14	2,32	0,51	5,36	0,01	78,6	1,31	0,28	3,04	0,01	76,2
В среднем	146	2,41	0,16	10,46	0,01	78,7	1,30	0,08	4,82	0,01	73,2

На рисунке 1 представлена диаграмма, отражающая распределение перепелов исследуемой выборки по содержанию абдоминального жира в тушке в зависимости от генотипа.

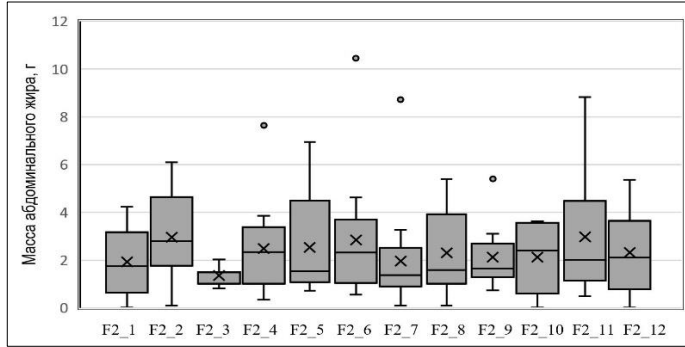


Рис. 1. Характеристика популяции перепелов F2 по содержанию абдоминального жира в тушке. F2_1 - F2_12 – группы перепелов F2 ресурсной популяции.

Полногеномный анализ ассоциаций (whole-genome associated study, GWAS) содержания абдоминального жира в тушке перепелов исследуемой популяции показал, что в возрасте 8 недель данный показатель был ассоциирован с 29 SNP ($p < 0,00001$). Данные SNP были локализованы на хромосомах 1, 2, 7, 8, 17, 19, 21, 24 и 28. Наибольшее количество SNP отмечалось на хромосомах 1 и 7 (11 и 7 SNP, соответственно), наименьшее – на хромосомах 2, 17, 19, 21 и 24 (1-2 SNP).

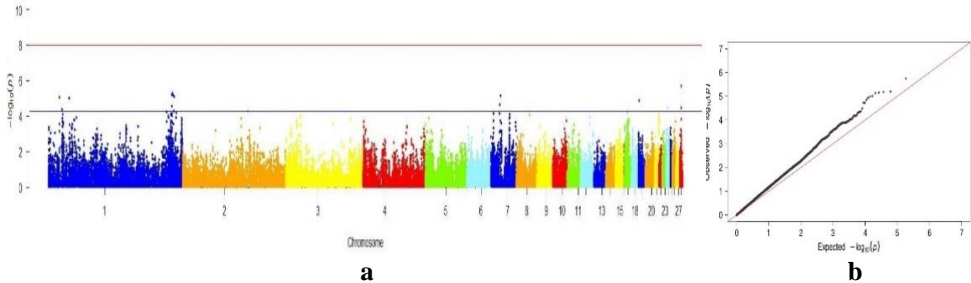


Рис. 2. График Манхэттен (а) и квантиль–квантильный (Q–Q) график (b) GWAS для показателя содержания абдоминального жира в тушке перепелов F2 ресурсной популяции в возрасте 8 недель. Манхэттен-плот: распределение однонуклеотидных мутаций в хромосомах перепелов до уровня достоверности ($-\log_{10}(p)$) в соответствии с предполагаемым вероятностным значением ($p < 0,0001$) и тестом Бонферрони ($p < 1,05 \times 10^{-8}$) для показателя содержания абдоминального жира в тушке перепелов F2 ресурсной популяции.

Выявленные SNP ($p < 0,00001$) были использованы для аннотирования генов-кандидатов, ассоциированных с отложением абдоминального жира у перепелов. Структурная аннотация выявила 124 гена, в том числе 11 генов, локализованных в пределах идентифицированных SNPs - *CNTN5*, *GNAL*, *PDE1A*, *RBMS1*, *PTPRF*, *SH3GLB2*, *SLC27A4*, *TRIM62*, *IGSF9B*, *USHBP1* и *NR2F6* (табл. 2). Данные гены были идентифицированы на 8 хромосомах – CJA1 (1), CJA2 (1), CJA7 (2), CJA8 (1), CJA17 (2), CJA21 (1), CJA24 (1) и CJA28 (2).

Гены-кандидаты и значимые SNP ($p < 0.00001$), ассоциированные с отложением абдоминального жира у перепелов, показаны в таблице 2.

2. SNP и потенциальные гены-кандидаты ($p < 0.00001$), ассоциированные с отложением абдоминального жира у перепелов в возрасте 8 недель

Chr	Число SNPs	SNP	P	Ген	
				в пределах SNP	$\pm 0,2$ Mb
1	11	1:14239735	1,03E-05	-	<i>GTSE1, TRMU, RAMD4, CERK</i>
		1:17986717	4,74E-05	-	<i>IL17REL, MLC1, MOV10L1, PANX2, TRABD, SELENOO, TUBGCP6, HDAC10</i>
		1:161416406	8,12E-05	-	<i>ATM, NPAT, ACAT1, ELMOD1</i>
		1:161611015	7,37E-06	-	<i>ALKBH8, CWF19L2</i>
		1:161611163	3,26E-05	-	<i>ELMOD1, ALKBH8, CWF19L2, GUCY1A2</i>
		1:161950040	6,55E-06	-	<i>GUCY1A2, ASDPHPT, KBTBD3, MSANTD4</i>
		1:162669404	6,99E-06	-	<i>PDGFD</i>
		1:164041425	6,53E-05	-	<i>PGR, ARHGAP42, CNTN5</i>
		1:164300065	9,84E-06	<i>CNTN5</i>	-
		1:18579785	9,30E-05	-	<i>PLXNB2, ZNF800, GRM8</i>
		2	2	2:85104703	5,62E-05
2:87734460	1,35E-05			<i>GNAL</i>	<i>SPIRE1, AFG3L2, PRELID3A, MPPE1</i>
7	7	7:11751354	6,63E-05	-	<i>PARD3B, NRP2, INO80D</i>
		7:11751372	6,63E-05	-	
		7:12205885	1,88E-05	-	<i>DNAJC10, PIKFYVE, CYP20A1, NBEAL1, IDH1</i>
		7:12292293	1,88E-05	<i>PDE1A</i>	
		7:13285939	6,29E-06	-	<i>CWC22, ZNF385B, SESTD1, CCDC141</i>
		7:25004119	9,48E-05	<i>RBMS1</i>	<i>LY75, PLA2R1, ITGB6</i>
8	2	7:3916979	9,88E-05	-	<i>AGAP1, GBX2, ASB18, IQCA1, ACKR3</i>
		8:17793153	9,35E-05	<i>PTPRF</i>	<i>IPO13, KDM4A, ST3GAL3</i>
17	2	8:17793157	9,35E-05	-	
		17:4080998	4,98E-05	<i>SH3GLB2</i>	<i>SPTAN1, TBC1D13, ENDOG, LRRC8A, PHYHD1, NUP188, TBC1D13, PTPA, NTMT1</i>
19	1	17:3724688	1,71E-05	<i>SLC27A4</i>	<i>NAIF1, EEIG1, SH2D3C, DPM2, AK1</i>
		19:601237	1,42E-05	-	<i>CLDN4, LIMK1, CALN1, MTMR4, ABHD11, METTL27, SBDS, GALNT17</i>
21	1	21:5674628	8,43E-05	<i>TRIM62</i>	<i>WNT4, P3H1, ZMYND12, PHC2, USP48, ECE1, EIF4G3, CDC42, C1orf50, PPIH, SLC2A1, ALPL</i>
24	1	24:2070512	4,36E-05	<i>IGSF9B</i>	<i>OPCML, NCAPD3, THYNI, B3GAT1, JAM3, VPS26B, ACAD8</i>
28	2	28:2442148	4,46E-05	<i>USHBP1</i>	<i>REEP6, THOP1, GADD45B, ABHD8, ANO8, YJEFN3, MAU2, NCAN</i>
		28:2436106	1,79E-06	<i>NR2F6</i>	

Поиск и анализ информационных источников показал, что ни для одного из 11 генов-кандидатов, выявленных в пределах идентифицированных SNPs (*CNTN5*, *GNAL*, *PDE1A*, *RBMS1*, *PTPRF*, *SH3GLB2*, *SLC27A4*, *TRIM62*, *IGSF9B*, *USHBP1*, *NR2F6*), не была показана связь с отложением абдоминального жира у перепелов. Однако для 7 выявленных генов-кандидатов было установлено их влияние на липидный обмен и накопление жировых отложений у других видов животных и птицы. Так, было показано влияние генов *PTPRF* и *GNAL* на развитие, формирование и накопление жировой ткани (34) и отложение абдоминального жира (35) у кур, генов *TRIM62* и *SLC27A4* – на толщину (36) и липидный состав (37) шпика свиней. На лабораторных мышах показано влияние на адипогенез и липидный обмен генов *NR2F6*, *PDE1A* и *RBMS1*, в частности, на накопление жировых отложений в условиях холода (38) и ожирение (39, 40, 41).

Для других выявленных в наших исследованиях генов-кандидатов была установлена их связь с показателями мясной продуктивности и качеством мяса сельскохозяйственных животных и птицы. В частности, была выявлена связь гена *CNTN5* с эффективностью потребления корма у пекинских уток в возрасте до 42 дней (42), что может свидетельствовать о влиянии гена *CNTN5* на пищевое поведение птицы

и, следовательно, накопление внутримышечного и брюшного жира. Также показано влияние гена *CNTN5* на pH мяса длиннейшей мышцы спины у овец F2 ресурсной популяции тексель × алтайская порода (43). Выявлена связь гена *PTPRF* с показателем живой массы у коров голштинской породы (44).

Таким образом, выполненные нами полногеномные ассоциативные исследования содержания абдоминального жира в тушках перепелов ресурсной популяции F2 позволили с высокой достоверностью ($p < 0,00001$) выявить 29 SNP на хромосомах 1, 2, 7, 8, 17, 19, 21, 24 и 28. В области выявленных SNPs установлено 11 генов-кандидатов, достоверно связанных с отложением абдоминального жира у перепелов в возрасте 8 недель. Проведенная функциональная аннотация показала участие семи идентифицированных генов в процессах липидного метаболизма у других видов сельскохозяйственных животных. Полученные данные составят основу для дальнейших исследований, направленных на поиск ассоциаций выявленных мутаций с другими селекционно значимыми показателями продуктивности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Фисинин В.И., Буяров В.С., Буяров А.В., Шуметов В.Г. Мясное птицеводство в регионах России: современное состояние и перспективы инновационного развития. *Аграрная наука*, 2018, 2:30-38.
2. Зыков С.А. Современные тенденции развития птицеводства. *Эффективное животноводство*, 2019, 4 (152): 51-54.
3. Priti M., Satish S. Quail farming: an introduction. *International Journal of Life Sciences*, 2014, 2: 190-193.
4. Minvielle F. The future of Japanese quail for research and production. *World's Poultry Science Journal*, 2004, 60(4): 500-507 (doi:10.1079/WPS200433).
5. Quaresma M.A.G., Antunes I.C., Gil Ferreira B., Parada A., Elias A., Barros M., Santos C., Partidário A., Mourato M., Roseiro L.C. The composition of the lipid, protein and mineral fractions of quail breast meat obtained from wild and farmed specimens of Common quail (*Coturnix coturnix*) and farmed Japanese quail (*Coturnix japonica domestica*). *Poultry Science*, 2022, 101(1): 101505 (doi:10.1016/j.psj.2021.101505).
6. Genchev A., Mihaylova G., Ribarski S., Pavlov A., Kabakchiev M. Meat quality and composition in Japanese quails. *Trakia Journal of Sciences*, 2008, 6(4): 72-82.
7. Hu Z.-L., Park C. A., Reecy J. M. Bringing the Animal QTLdb and CorrDB into the future: meeting new challenges and providing updated services. *Nucleic Acids Research*, 2022, 50(D1): D956–D961 (doi: 10.1093/nar/gkab1116).
8. Коршунова Л.Г., Карапетян Р.В., Комарчев А.С., Куликов Е.И. Ассоциации однонуклеотидных замен в генах-кандидатах с хозяйственно полезными признаками у кур (*Gallus gallus domesticus* L.) (обзор). *Сельскохозяйственная биология*, 2023, 58(2): 205-222 (doi: 10.15389/agrobiology.2023.2.205rus).
9. Sarsenbek A., Wang T., Zhao J., Jiang W. Comparison of carcass yields and meat quality between Baicheng-You chickens and Arbor Acres broilers. *Poultry Science*, 2013, 92: 2776-2782.
10. Yang Y., Wen J., Fang G. Y., Li Z. R., Dong Z. Y., Liu J. The effects of raising system on the lipid metabolism and meat quality traits of slow-growing chickens. *Journal of Applied Animal Research*, 2015, 43(2): 147-152 (doi: 10.1080/09712119.2014.928631).
11. Fouad A., El-Senousey H. Nutritional Factors Affecting Abdominal Fat Deposition in Poultry: A Review. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 2014, 27: 1057-68 (doi: 10.5713/ajas.2013.13702).
12. Zhao S.M., Ma H.T., Zou S.X., Chen W.H., Zhao R.Q. Hepatic lipogenesis gene expression in broiler chicken with different fat deposition during embryonic development. *Journal of Veterinary Medicine*, 2007, 54: 1-6 (doi: 10.1111/j.1439-0442.2007.00898.x).
13. Xing J., Kang L., Hu Y., Xu Q., Zhang N., Jiang Y. Effect of dietary betaine supplementation on mRNA expression and promoter CpG methylation of lipoprotein lipase gene in laying hens. *Journal of Poultry Science*, 2009, 46: 224-228.
14. Dikici A., Nacac B., Yel N., Zaimoğulları K., İpek G., Özer M. Quality characteristics and oxidative stability of chicken kavrurma formulated with chicken abdominal fat as beef fat replacer. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 2022, 73(3): 4525–4534 (doi: 10.12681/jhvms.27738).
15. Santos M.F., Lima D.A.S., Madruga M. S., Silva F.A.P. Lipid and protein oxidation of emulsified chicken patties prepared using abdominal fat and skin. *Poultry Science*, 2020, 99(3): 1777-1787 (doi:10.1016/j.psj.2019.11.027).
16. Li J., Cheng Y., Chen Y., Qu H., Zhao Y., Wen C., Zhou Y. Effects of dietary synbiotic supplementation on growth performance, lipid metabolism, antioxidant status, and meat quality in Partridge shank chickens. *Journal of Applied Animal Research*, 2019, 47(1): 586-590 (doi: 10.1080/09712119.2019.1693382).

17. Sugiharto S., Pratama A. R., Yudiarti T., Wahyuni H. I., Widiastuti E., Sartono T. A. Effect of acidified turmeric and/or black pepper on growth performance and meat quality of broiler chickens. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 2020, 8(1): 85-92 (doi:10.1080/23144599.2020.1830691).
18. Narinc D., Karaman E., Aksoy T. Effects of slaughter age and mass selection on slaughter and carcass characteristics in 2 lines of Japanese quail. *Poultry Science*, 2014, 93(3): 762-769 (doi.org/10.3382/ps.2013-03506).
19. Abou-Kassem D.E., El-Kholy M.S., Alagawany M., Laudadio V., Tufarelli V. Age and sex-related differences in performance, carcass traits, hemato-biochemical parameters, and meat quality in Japanese quails. *Poultry Science*, 2019, 98(4): 1684-1691 (doi: org/10.3382/ps/pey543).
20. Lotfi E., Zerehdaran S., Azari M. A. Genetic evaluation of carcass composition and fat deposition in Japanese quail. *Poultry Science*, 2011, 90(10): 2202-2208 (doi: 10.3382/ps.2011-01570).
21. Narinc D., Aksoy T., Karaman E., Aygun A., Firat M. Z., Uslu M. K. Japanese quail meat quality: Characteristics, heritabilities, and genetic correlations with some slaughter traits. *Poultry Science*, 2013, 92(7): 1735-1744 (doi: 10.3382/ps.2013-03075).
22. Jiang M., Fan W.L., King S.Y., Wang J., Li P., Liu R.R., Li Q.H., Zheng M.Q., Cui H.X., Wen J., Zhao G.P. Effects of balanced selection for intramuscular fat and abdominal fat percentage and estimates of genetic parameters. *Poultry Science*, 2017, 96(2): 282-287 (doi: 10.3382/ps/pew334).
23. Глазко В.И., Косовский Г.Ю., Глазко Т.Т., Федорова Л.М. ДНК маркеры и «микросателлитный код» (обзор). *Сельскохозяйственная биология*, 2023, 58(2): 223-248 (doi: 10.15389/agrobiology.2023.2.223rus).
24. Wang D., Qin P., Zhang K., Wang Y., Guo Y., Cheng Z., Li Z., Tian Y., Kang X., Li H., Liu X. Integrated LC/MS-based lipidomics and transcriptomics analyses revealed lipid composition heterogeneity between pectoralis intramuscular fat and abdominal fat and its regulatory mechanism in chicken. *Food Research International*, 2023, 172: 113083 (doi: 10.1016/j.foodres.2023.113083).
25. Moreira G.C.M., Boschiero C., Cesar A.S.M., Reecy J. M., Godoy T. F., Trevisoli P. A., Cantão M. E., Ledur M. C., Ibelli A. M. G., Peixoto J. O., Moura M. T., Garrick D., Coutinho L. L. A genome-wide association study reveals novel genomic regions and positional candidate genes for fat deposition in broiler chickens. *BMC Genomics*, 2018, 19: 374 (doi: 10.1186/s12864-018-4779-6).
26. Zhang H., Hu X., Wang Z., Zhang Y., Wang S., Wang N., Ma L., Leng L., Wang S., Wang Q., Wang Y., Tang Z, Li N., Da Y., Li H. Selection signature analysis implicates the PC1/PCSK1 region for chicken abdominal fat content. *PLoS One*, 2012, 7(7):e40736 (doi: 10.1371/journal.pone.0040736).
27. Trevisoli P.A., Moreira G.C.M., Boschiero C., Cesar A.S.M., Petrini J., Margarido G.R.A., Ledur M.C., Mourão G.B., Garrick D., Coutinho L.L. A Missense Mutation in the MYBPH Gene Is Associated With Abdominal Fat Traits in Meat-Type Chickens. *Frontiers in Genetics*, 2021, 11(12): 698163 (doi: 10.3389/fgene.2021.698163).
28. Zhang H., Shen L.Y., Xu Z.C., Kramer L.M., Yu J.Q., Zhang X.Y., Na W., Yang L.L., Cao Z.P., Luan P., Reecy J.M., Li H. Haplotype-based genome-wide association studies for carcass and growth traits in chicken. *Poultry Science*, 2020, 99(5): 2349-2361 (doi: 10.1016/j.psj.2020.01.009).
29. Tavaniello S., Maiorano G., Siwek M., Knaga S., Witkowski A., Di Memmo D., Bednarczyk M. Growth performance, meat quality traits, and genetic mapping of quantitative trait loci in 3 generations of Japanese quail populations (*Coturnix japonica*). *Poultry Science*, 2014, 93(8): 2129-2140 (doi: 10.3382/ps.2014-03920).
30. Volkova N.A., Romanov M.N., Abdelmanova A.S., Larionova P.V., German N.Y., Vetokh A.N., Shakhin A.V., Volkova L.A., Anshakov D.V., Fisinin V.I., Narushin V. G., Griffin D. K., Sölkner J., Brem G., McEwan J. C., Brauning R., Zinovieva N. A. Genotyping-by-Sequencing Strategy for integrating genomic structure, diversity and performance of various Japanese quail (*Coturnix japonica*) breeds. *Animals*, 2023, 13: 3439 (doi: 10.3390/ani13223439).
31. Andrews S. FastQC: A Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data; Version 0.10.1; Bioinformatics Group, Babraham Institute: Cambridge, UK, 2012. Available online: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc> (accessed on 25 September 2023).
32. Langmead B. bowtie2: A Fast and Sensitive Gapped Read Aligner. Version 2.4.4. GitHub, Inc. 2021. Available online: <https://github.com/BenLangmead/bowtie2> (accessed on 25 September 2023).
33. Turner S.D. qqman: an R package for visualizing GWAS results using Q-Q and Manhattan plots. *Journal of Open Source Software*, 2018, 3(25): 731 (doi: 10.21105/joss.00731).
34. Gao Z., Ding R., Zhai X., Wang Y., Chen Y., Yang C-X., Du Z-Q. Common gene modules identified for chicken adiposity by network construction and comparison. *Frontiers in Genetics*, 2020, 11:537 (doi: 10.3389/fgene.2020.00537).
35. Zhang H., Du Z.Q., Dong J.Q. Detection of genome-wide copy number variations in two chicken lines divergently selected for abdominal fat content. *BMC Genomics*, 2014, 15: 517 (doi: 10.1186/1471-2164-15-517).
36. Lee Y.S., Shin D. Genome-wide association studies associated with backfat thickness in landrace and yorkshire pigs. *Genomics Inform*, 2018, 16(3): 59-64 (doi: 10.5808/GI.2018.16.3.59).

37. Revilla M., Puig-Oliveras A., Crespo-Piazuelo D., Criado-Mesas L., Castelló A., Fernández A.I., Ballester M., Folch J.M. Expression analysis of candidate genes for fatty acid composition in adipose tissue and identification of regulatory regions. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 2045 (doi: 10.1038/s41598-018-20473-3).
38. Maganti A., Chi J., Cohen P. Arx and Nr2f6 transcriptionally regulate visceral and brown fat phenotype. *Diabetes*, 2021; 70(S1): 201–LB (doi: 10.2337/db21-201-LB).
39. Zhou B., Jia L., Zhang Z., Xiang L., Yuan Y., Zheng P., Liu B., Ren X., Bian H., Xie L., Li Y., Lu J., Zhang H., Lu Y. The nuclear orphan receptor NR2F6 promotes hepatic steatosis through upregulation of fatty acid transporter CD36. *Advanced Science*, 2020, 7(21): 2002273 (doi: 10.1002/adv.202002273).
40. Kim N.J., Baek J.H., Lee J., Kim H., Song J-K., Chun K-H. A PDE1 inhibitor reduces adipogenesis in mice via regulation of lipolysis and adipogenic cell signaling. *Experimental & Molecular Medicine*, 2019, 51: 1–15 (doi: 10.1038/s12276-018-0198-7).
41. Dairi G., Al Mahri S., Benabdelkamel H., Alfadda A.A., Alswaji A.A., Rashid M., Malik S.S., Iqbal J., Ali R., Al Ibrahim M., Al-Regaiey K., Mohammad S. Transcriptomic and proteomic analysis reveals the potential role of RBMS1 in adipogenesis and adipocyte metabolism. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(14): 11300 (doi: 10.3390/ijms241411300).
42. Li G-S., Liu W-W., Zhang F., Zhu F., Yang F-X., Hao J-P., Hou Z.-C. Genome-wide association study of bone quality and feed efficiency-related traits in Pekin ducks. *Genomics*, 2020, 112(6): 5021-5028 (doi: 10.1016/j.ygeno.2020.09.023).
43. Zhao Y., He S., Huang J., Liu M. Genome-wide association analysis of muscle pH in texel sheep × altay sheep F2 resource population. *Animals*, 2023, 13(13): 2162 (doi: 10.3390/ani13132162).
44. Hardie L.C., VandeHaar M.J., Tempelman R.J., Weigel K.A., Armentano L.E., Wiggins G.R., Veerkamp R.F., de Haas Y., Coffey M.P., Connor E.E., Hanigan M.D., Staples C., Wang Z., Dekkers J.C.M., Spurlock D.M. The genetic and biological basis of feed efficiency in mid-lactation Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 2017, 100(11): 9061-9075 (doi: 10.3168/jds.2017-12604).

ФГБНУ ФИЦ животноводства — ВИЖ им. академика
Л.К. Эрнста,

142132 Россия, Московская обл., г.о. Подольск, пос. Дубровицы, 60,
e-mail: natavolkova@inbox.ru ✉, ngerman9@gmail.com, volpolina@mail.ru,
anastezuya@mail.ru, m.romanov@kent.ac.uk, n_zinovieva@mail.ru

Поступила в редакцию

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2023, V., 1, pp. //

IDENTIFICATION OF SNP AND CANDIDATE GENES ASSOCIATED WITH ABDOMINAL FAT DEPOSITION IN QUAILS (COTURNIX JAPONICA)

N.A. Volkova, N.Yu. German, P.V. Larionova, A.N. Vetokh, M.N. Romanov, N.A. Zinovieva

L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, 60, pos. Dubrovitsy, Podolsk District, Moscow Province, 142132 Russia, e-mail natavolkova@inbox.ru ✉, ngerman9@gmail.com, volpolina@mail.ru, anastezuya@mail.ru, m.romanov@kent.ac.uk, n_zinovieva@mail.ru

ORCID:

Volkova N.A. orcid.org/0000-0001-7191-3550

Vetokh A.N. orcid.org/0000-0002-2865-5960

German N.Yu. orcid.org/0000-0001-5888-4695

Romanov M.N. orcid.org/0000-0003-3584-4644

Larionova P.V. orcid.org/0000-0001-5047-1888

Zinovieva N.A. orcid.org/0000-0003-4017-6863

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

Supported financially by Russian Science Foundation, grant No. 21-16-00086

Received

doi:

Abstract

In poultry, the intensity of fat deposits, including abdominal fat, is one of the important indicators characterizing both meat productivity and the quality of poultry meat products, and the overall health of the bird. This indicator positively correlates with rapid growth in poultry and largely depends on both feeding and maintenance parameters, as well as on genetic factors. Of all poultry species, quite a lot of research has been carried out on chickens to study the genetic mechanisms associated with fat metabolism and the intensity of fat deposition. Significant progress has been made in this direction. SNPs and candidate genes have been identified that determine the deposition of both intramuscular and abdominal fat in chickens. These studies on quails are relatively few in number. To date, there is not enough information in the literature about the loci of quantitative traits in quail that are significantly associated with fat metabolism parameters. This report presents the results of genome-wide association studies of abdominal fat content in model resource population – F2 of quails. The aim of the work was to find SNPs and identify candidate genes associated with abdominal fat deposition in quails. The objects of research were the F2 resource population of quails (males, n=146). To obtain this population, two quail breeds contrasting in growth rate

and meat quality were used: Japanese breed (slow growth) and Texas breed (fast growth). The obtaining F2 individuals were genotyped using the GBS method. For further analysis, 92618 SNPs were selected during processing of genotyping data by the filtering. Using PLINK 1.9 software with accepted restrictions (geno 0.1, mind 0.1, maf 0.05), associations of genome-wide genotyping data with abdominal fat content in quails were studied. The threshold significance criterion was set to $p < 0.000001$. The obtaining F2 population of quail was characterized by high variability in the abdominal fat content of the carcass. At the age of 56 days, this indicator varied from 0.01 to 10.46 g and on averaged was 2.41 ± 0.16 g. Based on the GWAS analysis, 29 SNP and 11 candidate genes associated with abdominal fat deposition in quails were identified. The localization of the identified SNPs was established on chromosomes 1, 2, 7, 8, 17, 19, 21, 24, 28. Established candidate genes (*CNTN5*, *GNAL*, *PDE1A*, *RBMS1*, *PTPRF*, *SH3GLB2*, *SLC27A4*, *TRIM62*, *IGSF9B*, *USHBP1*) were identified on chromosomes CJA1 (one gene), CJA2 (one gene), CJA7 (two genes), CJA8 (one gene), CJA17 (two genes), CJA21 (one gene), CJA24 (one gene) and CJA28 (two genes). The detected SNPs and candidate genes can be further investigated as genetic markers in breeding programs to improve the meat quality of quail and reduce the fat content in carcasses.

Key words: Coturnix japonica, quail, QTL, SNP, GBS, GWAS, abdominal fat.