

Идентификация гаплотипов фертильности крупного рогатого скота

А. В. Степанов, О. А. Быкова, О. В. Костюнина [✉], А. А. Зырянова, О. А. Шевкунов

Уральский государственный аграрный университет, Екатеринбург, Россия

[✉]E-mail: kostolan@yandex.ru

Аннотация. Анализ показателей воспроизводства современных популяций крупного рогатого скота голштинской породы показал, что одними из ключевых факторов, оказывающих влияние на снижение воспроизводительных качеств коров, являются генетические. В последние десятилетия накопилось большое количество данных о наличии в геноме рецессивных мутаций в последовательности ДНК, которые в гомозиготном состоянии снижают воспроизводительные функции животных, провоцируя эмбриональную смертность. Использование ограниченного количества выдающихся быков-производителей для искусственного осеменения уменьшило исходное генетическое разнообразие. В связи с этим идентификация и определение в популяциях гаплотипов фертильности в последнее время становится неотъемлемой частью племенной работы с крупным рогатым скотом. Проведено генотипирование 584 голов крупного рогатого скота голштинской породы из 2 хозяйств Свердловской области с целью выявления гетерозиготных носителей аномалий: HH0 (FANCI), HH1 (APAF1), HH3 (SMC2), HH4 (GART), HH5 (TFB1M), HH6 (SDE2), HH7 (CENPU), HHB (ITGB2, BLAD), HHС (SLC35A3, CVM), RABGGTB, RNF20 и TTF1. **Научная новизна** заключается в определении частоты встречаемости ранее не исследуемых в Свердловской области гаплотипов фертильности. **Цель работы** – определение частоты встречаемости гаплотипов фертильности голштинского скота в популяциях Свердловской области. **Методы исследований.** Для диагностики мутаций использовали тест-системы, разработанные в лаборатории молекулярных основ селекции отдела биотехнологии и молекулярной диагностики животных ФНЦ ВИЖ им. Л. К. Эрнста. **Результаты.** Количество гаплотипов фертильности в изучаемых стадах отличалось не только частотой встречаемости дефекта, но и количеством видов обнаруженных гаплотипов. В популяции исследуемого поголовья хозяйства 1 наибольшее количество животных являлись носителями гаплотипов фертильности HH4 и HH3 с частотой носительства 1,891 и 1,412 % соответственно, в хозяйстве 2 выявлено наибольшее количество гаплотипов HH3 и HH6 с частотой носительства 4,082 %.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, гаплотипы фертильности, летальные мутации, частота носительства, частота аллеля

Благодарности. Исследования выполнены при поддержке Российского научного фонда (грант № 22-76-10021).

Для цитирования: Степанов А. В., Быкова О. А., Костюнина О. В., Зырянова А. А., Шевкунов О. А. Идентификация гаплотипов фертильности крупного рогатого скота // Аграрный вестник Урала. 2024. Т. 24, № 07. С. 921–931. <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2024-24-06-921-931>.

Дата поступления статьи: 13.05.2024, **дата рецензирования:** 11.06.2024, **дата принятия:** 18.06.2024.

Identification of cattle fertility haplotypes

A. V. Stepanov, O. A. Bykova, O. V. Kostyunina[✉], A. A. Zyryanova, O. A. Shevkunov

Ural State Agrarian University, Ekaterinburg, Russia

[✉]E-mail: kostolan@yandex.ru

Abstract. An analysis of the reproduction rates of modern Holstein cattle populations has shown that one of the key factors influencing the decline in the reproductive qualities of cows are genetic factors. In recent decades, a large amount of data has accumulated on the presence in the genome of recessive mutations in the DNA sequence, which in the homozygous state reduce the reproductive functions of animals, causing embryonic mortality. The use of a limited number of outstanding sire bulls for artificial insemination has reduced the original genetic diversity. In this regard, the identification and determination of fertility haplotypes in populations has recently become an integral part of breeding work with cattle. Genotyping of 584 heads of Holstein cattle from 2 farms in the Sverdlovsk region was carried out in order to identify heterozygous carriers of anomalies: HH0 (FANCI), HH1 (APAF1), HH3 (SMC2), HH4 (GART), HH5 (TFB1M), HH6 (SDE2), HH7 (CENPU), HHB (ITGB2, BLAD), HHC (SLC35A3, CVM), RABGGTB, RNF20 and TTF1. **The scientific novelty** lies in determining the frequency of occurrence of fertility haplotypes that have not previously been studied in the Sverdlovsk region. **The purpose** of the study is to determine the frequency of occurrence of fertility haplotypes of Holstein cattle in populations of the Sverdlovsk region. **Research methods.** To diagnose mutations, we used test systems developed in the Laboratory of Molecular Basis of Breeding, Department of Biotechnology and Molecular Diagnostics of Animals, L. K. Ernst Federal Research Center. **Results.** The number of fertility haplotypes in the studied herds differed not only in the frequency of occurrence of the defect, but also in the number of types of detected haplotypes. In the population of “Kamenskoye” JSC, the largest number of animals were carriers of fertility haplotypes HH4 and HH3 with a carriage frequency of 1.891 and 1.412 %, respectively; the educational and experimental farm identified the largest number of haplotypes HH3 and HH6 with a carriage frequency of 4.082 %.

Keywords: cattle, Holstein breed, fertility haplotypes, lethal mutations, carrier frequency, allele frequency

Acknowledgements. The research was carried out with the support of the Russian Science Foundation (grant No. 22-76-10021).

For citation: Stepanov A. V., Bykova O. A., Kostyunina O. V., Zyryanova A. A., Shevkunov O. A. Identification of cattle fertility haplotypes. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2024; 24 (07): 921–931. <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2024-24-06-921-931>. (In Russ.)

Date of paper submission: 13.05.2024, **date of review:** 11.06.2024, **date of acceptance:** 18.06.2024.

Постановка проблемы (Introduction)

Самой распространенной породой крупного рогатого скота в мировом масштабе является голштинская. Численность животных голштинской породы в Российской Федерации в 2022 году составляла 1428,45 тыс. голов, что составляет 54,32 % от всего поголовья.

По результатам породной инвентаризации скота, проводимой в соответствии с новой методикой ЕЭК по определению породности, относительная численность голштинской породы только за 2022 год увеличилась на 19,6 %.

Введение многочисленных санкций в 2022 году в отношении Российской Федерации привело к значительному сокращению импорта племенных животных, в относительном выражении разница составила 36,8 % по сравнению с 2021 годом. Наибольшее количество импортированных животных

приходится на голштинскую породу, всего было завезено 28 126 голов, или 95,4 % от общего количества [1].

Продуктивность домашнего скота резко возросла за последние 50 лет. Так, например, молочная продуктивность у коров голштинской породы удвоилось с 6000 кг в 1960 году до 12 000 кг и более, и около 75 % этих изменений были генетическими. Однако значительному увеличению удоя сопутствовало снижение устойчивости к болезням и ухудшение фертильности животных. Уровень сохранения беременности в этой популяции снизился на 6 % за тот же период. Предполагается, что снижение фертильности является результатом отрицательного энергетического баланса высокопродуктивных коров. Дополнительным объяснением может быть увеличение числа случаев преждевременного прерывания беременности из-за гомозиготности по эмбриональным летальным мутациям [2].

Использование элитных производителей во всем мире привело к накоплению случаев инбридинга и высокой частоте генетических дефектов в популяциях молочного скота. За последние годы у крупного рогатого скота голштинской породы было идентифицировано несколько генетических дефектных генов или гаплотипов [3].

В последние годы особую актуальность приобрела проблема распространения вредных летальных рецессивных мутаций практически во всех породах молочного скота и, к сожалению, с регулярной повторяемостью появления новых дефектов [4].

Фертильность является важной чертой, связанной с репродуктивными показателями и заботой о благополучии животных. Летальные аллели влияют на фертильность через раннюю эмбриональную гибель, аборт и мертворождение в зависимости от генетической экспрессии аллеля [5].

В связи с тем, что проблемы с фертильностью являются одной из наиболее распространенных причин выбраковки крупного рогатого скота и животные голштинской породы с большей частотой подвергаются выбытию из стада именно из-за проблем с воспроизводством, чем животные других пород, существует острая необходимость в повышении фертильности самок, особенно у крупного рогатого скота голштинской породы.

Благодаря стандартному однонуклеотидному полиморфизму (SNP), внедренному в селекционные программы около десяти лет назад, стали доступны исчерпывающие популяционные геномные данные о текущих племенных популяциях разных пород крупного рогатого скота. Ван Раден с соавторами первыми предложили провести скрининг такого рода данных для выявления областей генома, имеющих мутацию, влияющую на фертильность животных. В своих исследованиях они выявили пять гаплотипов, значительно отклоняющихся от равновесия Харди – Вайнберга (HWE) и, таким образом, потенциально несущих летальные варианты в популяции американской голштинской породы. Три из этих гаплотипов, а именно гаплотипы 1, 2 и 3 голштинской породы (НН1–НН3), показали значительную негативную связь с признаками размножения.

В последующих аналогичных исследованиях на популяции французской голштинской породы выявили 14 дополнительных областей гаплотипа, подтвердив три ранее описанных гаплотипа НН1, НН2 и НН3. На основании накопленных данных было рекомендовано регулярно проводить новые анализы по мере накопления данных генотипирования.

В совокупности эти результаты указывают на то, что, хотя голштинская порода является международной породой, характеризующейся ограниченным числом животных-основателей, национальные субпопуляции этого скота несут разную генетиче-

скую нагрузку из-за особенностей ведения селекционной работы с животными [6].

Н. А. Зиновьева в своих исследованиях приводит описание 10 гаплотипов фертильности крупного рогатого скота голштинской породы, идентифицированных на 2016 год [7]. По сегодняшний день продолжают работы по картированию позиции летальных рецессивных мутаций, обосновывается характеристика хромосомной локализации гаплотипов фертильности, определяется их влияние на плод. Общими усилиями ученых всех стран сейчас в базе данных OMIA представлена информация о гаплотипах фертильности голштинского крупного рогатого скота.

Сложность выявления такого «генетического груза» заключается в том, что животное, которое получило от своих родителей только один дефектный ген (от матери или отца) и является носителем этого дефекта, как правило, абсолютно здорово и даже проявляет высокие признаки производительности. Однако получение в наследство двух мутантных генов (один от отца и один от матери) приводит к проявлению негативных симптомов именно у потомков. Традиционный подход к выявлению генетических факторов, вызывающих повреждение или гибель плода, заключается в отслеживании с использованием родословной информации. Однако этот подход не способен идентифицировать вредную генетическую мутацию в случаях, например, при ранней эмбриональной смерти. Большинство носителей этих наследственных отклонений могут быть выявлены только с помощью молекулярных технологий исследования структуры поврежденной ДНК [8].

В связи с этим важным практическим аспектом характеризуется изучение рецессивных летальных мутаций, идентифицированных у голштинского скота, и оценка частоты их распространения в популяциях.

Изучение различных кариотипических аномалий, частоты их встречаемости, выявление особей, обладающих генетическими дефектами, и их элиминация из системы воспроизводства уменьшат частоту репродуктивных нарушений, а также аномалий, связанных с экономически важными признаками, причем не только у тестируемых животных, но и у их потомства [9].

Генотипирование 484 коров голштинской породы китайской популяции на наличие генетических дефектов, включая гаплотипы 1–6 (НН1–НН6), гаплотипы дефицита холестерина (HCD), дефицита адгезии лейкоцитов крупного рогатого скота (BLAD), сложный порок развития позвоночника (CVM) и синдром брахоспины (BS), привело к тому, что 16,12 % носителей имели по крайней мере один генетический дефект, в то время как гомозиготный рецессивный генотип не был обнаружен. В этом ис-

следовании были обнаружены частоты носителей в диапазоне от 0,0 % (НН6) до 3,72 % (НН3) для отдельных дефектов [10].

Изучая частоту встречаемости гаплотипов фертильности в китайской популяции голштинского скота, установили, что из 1633 коров частота носителей генетических дефектов составила 6,92 %, 5,76 %, 4,46 %, 4,30 %, 3,62 %, 2,94 %, 1,86 % и 0,37 % для НН1, НН3, CVM, НН5, HCD, BS, НН6 и BLAD соответственно. Носительство НН4 обнаружено не было. Примечательно, что 27,43 % коров несли по крайней мере один генетический дефект, в то время как 2,27 % и 0,12 % коров несли двойные и тройные аллели генетического дефекта соответственно [3].

В результате исследования гаплотипов фертильности в популяции голштинского крупного рогатого скота Республики Казахстан обнаружено, что частота встречаемости гаплотипов НН1, НН3, НН5, HCD и ВУ колеблется от 1,4 % до 16,6 % [11].

Исследование рецессивных дефектов, связанных с низкой репродуктивной активностью в анализируемой популяции голштинских животных Уругвая, которые могут влиять на здоровье и продуктивность молочного скота, показало, что из общего числа 1468 (48,5 %) быков с генетической информацией из каталога производителей по НН1 и 1471 (48,6 %) по НН3 и НН4 обнаружено 90 (6,1 %) носителей НН1, 60 (4,1 %) по НН3 и 6 (0,4%) по НН4 [12].

Польскими учеными в период с 2004 по 2014 год были протестированы 3035 и 338 польских голштино-фризских быков для выявления носителей CVM и ВУ соответственно. Среди проанализированных быков был выявлен 191 носитель CVM (6,29 %) и 20 носителей ВУ (5,92 %) [13].

В совокупности эти результаты указывают на то, что, хотя голштинская порода является международной породой, характеризующейся ограниченным числом животных-основателей, национальные субпопуляции несут разную генетическую нагрузку из-за решений местного отбора [14].

В ходе проведения собственных исследований популяций голштинского скота предприятий Свердловской области было проведено определение частоты встречаемости и анализ информации о 12 летальных эмбриональных мутациях, встречающихся у крупного рогатого скота голштинской породы, размещенной в базе данных OMIA, идентификация которых осуществлялась с использованием гаплотипического подхода, таких как:

FANCI/НН0 (анемия Фанкони, группа комплементации I) – животные с анемией Фанкони характеризуются резко сниженной массой тела, задержкой роста, обширными пороками развития позвонков, вызывающими значительное укорочение позвоночника (brachyspina) и длинными и тонкими

конечностями. Кроме того, у пораженных телят наблюдается нижний брахигнатизм (т. е. неравномерное выравнивание верхних и нижних зубов), а также пороки развития внутренних органов, в частности сердца, почек и половых желез. Значительная часть пораженных телят умирает внутриутробно. Таким образом, эта мутация также способствует естественным абортам и, следовательно, снижению фертильности.

АРАF1/НН1 – аутосомно-рецессивная наследуемая мутация, связанная с гаплотипом 1 голштинской породы (НН1) и характеризующаяся заменой цитозина тиминотом (с.1741C > T) в хромосоме 5. Поскольку функциональный пептид АРАF1 необходим для развития эмбриона, гомозиготность по этому аллелю приводит к естественному самопроизвольному аборту и, следовательно, к предполагаемому снижению фертильности у быков-носителей, которых спаривают с коровами-носителями. Мутация вызывает гибель плода и эмбриона на сроке от 60 до 200 дней беременности и снижает частоту зачатий [15].

SMC2/НН3 – причиной эмбриональной смертности телят является несинонимная однонуклеотидная замена – SNP (T/C) в экзоне 24 гена структурной поддержки хромосом (SMC2) в положении 95 410 507 (UMD3.1), rs456206907. Данный полиморфизм является причиной замен как аминокислоты 1135 от фенилаланина до серина Phe1135Ser (GenBank #: XP_002689921.2), так и кодируемого белка в домене Р-loop-нуклеозидтрифосфатгидролазы (НТФаза). Белок SMC2 играет важную роль в процессах репарации ДНК, конденсации хромосом и их сегрегации в процессе клеточного деления [16]

НН3 является наиболее частым дефектом в популяции голштинской породы США, при этом потеря беременности происходит в течение первых 60 дней беременности [17].

GART/НН4 – миссенс-мутации (g.1277227A.C; сборка генома UMD 3.1) в гене GART (который кодирует глицинамид рибонуклеотидтрансфилазу), приводящей к р.N290T. Эффект этого гаплотипа заключается в снижении частоты отела телок на 5,8% и коров на 1,74% [5].

TFB1M/НН5 – вероятная причина мутации – делеция 138 кбит/с, охватывающая положение от 93 233 до 93 371 кбит/с на хромосоме 9 (ВТА9), содержащая только диметиладенозинтрансферазу 1 (TFB1M). Контрольные точки делеции обрамлены ядерными элементами с длинными вкраплениями Bov-B (выше по течению) и L1ME3 (ниже по течению), что предполагает гомологичное событие рекомбинации/делеции. TFB1M диметилирует остатки аденина в шпилечной петле на 3'-конце митохондриальной 12S рРНК, являясь важным для синтеза и функционирования малой рибосомной субъединицы митохондрий.

Эмбрионы, гомозиготные по варианту TFB1M, способны развиваться до ранней стадии эмбрионального диска, но не подвергаются раннему удлинению зачатия, необходимому для продолжения беременности [18].

SDE2/HH6 – идентифицирован как вероятный переход от А к G в позиции 29,773,628 п. н. на хромосоме 16 (g.29773628A> G; rs434666183). Этот переход от А к G изменяет иницирующий ATG (метиониновый) кодон на ACG, потому что ген транскрибируется по обратной цепи. Инициация трансляции по ближайшему кодону приведет к сокращению SDE2 на 83 аминокислоты. Учитывая, что репродуктивный цикл у коров составляет в среднем 21 день, эти результаты указывают на то, что большинство эмбрионов погибает в первые 35 дней беременности [19; 20].

CENPU/HH7 – мутантный аллель представляет собой делецию 4 нуклеотидов, расположенных в положении от +3 до +6 п. н. после донорского сайта сплайсинга экзона 11. Межвидовое выравнивание нуклеотидов показало, что нуклеотид в положении +3 полностью консервативен у позвоночных, что позволяет предположить, что он играет важную роль в регуляции сплайсинга CENPU. При модификации после экзона 11 аномальный сплайсинг CENPU может вызвать распад мРНК или выработку белка, модифицированного после остатка 319 из 409 АА. Эти факторы предполагают, что мутация g.14168130_14168133delTACT на хромосоме 27 изменяет сплайсинг CENPU и является эмбрионально летальной [21].

ITGB2/BLAD(HNB) – это заболевание у крупного рогатого скота голштинской породы обусловлено миссенс-мутацией (с.383A> G) в гене CD18, теперь известном как ITGB2. Эта мутация была подтверждена в ходе проведенного анализа данных о последовательности всего генома 234 голов крупного рогатого скота, включая ключевых предков голштино-фризской, и джерсийской пород: мутация с.383A>G была выявлена только у четырех голштинских быков в этом исследовании, каждый из которых ранее был идентифицирован как носитель.

Пораженные животные погибают из-за чрезвычайной восприимчивости к инфекциям, вызванной неспособностью белых кровяных телец (лейкоцитов) проникать из кровотока в инфицированные ткани. Эта неспособность обусловлена отсутствием мембранного гликопротеина, называемого бета-2-субъединицей интегрина лейкоцитов, или CD18.5

SLC35A3/CVM(HNC) – сложный порок развития позвоночника, является наследственным синдромом у голштино-фризского крупного рогатого скота. Ген заболевания кодирует члена семейства переносчиков растворенных веществ SLC35, которые представляют собой ферменты, транспортирующие нуклеотидные сахара из цитозоля в просвет

эндоплазматического ретикулума и/или аппарата Гольджи. В этих органеллах сахара-нуклеотиды используются гликозилтрансферазами для синтеза сахарных цепей гликопротеинов, гликолипидов и углеводных полимеров. SLC35A3 крупного рогатого скота является первым переносчиком нуклеотидов и сахаров, который, как показано, играет роль в развитии осевого скелета, демонстрируя, что некоторые молекулярные механизмы, которые действуют во время формирования позвонков и ребер, зависят от модификации углеводов в аппарате Гольджи.

Сообщается о случаях CVM у абортированных, недоношенных, мертворожденных и новорожденных телят. Пораженные телята имеют пониженный вес, деформированный позвоночник и сокращения сухожилий на ногах. С этим синдромом связано несколько других пороков развития, включая пороки сердца [22].

RABGGTB – миссенс-мутация p.Tyr195Cys предложена как рецессивная потенциально летальная мутация.

RNF20 – нонсенс-мутация, стоп-кодон p.Lys693, предложена как рецессивная потенциально летальная мутация [23].

TTF1 – мутация с остановкой усиления (rs715966442; BTA11: 1,02,463,944 нуклеотидная позиция) в факторе прекращения транскрипции гена РНК-полимеразы I (TTF1) вызывает прерывание беременности у крупного рогатого скота голштино-фризской породы (HF) [24].

Методология и методы исследования (Methods)

Для диагностики мутаций использовали тест-системы, разработанные в лаборатории молекулярных основ селекции отдела биотехнологии и молекулярной диагностики животных ФНЦ ВИЖ им. Л. К. Эрнста, а также с использованием данных базы OMIA.

Материалом для исследований послужили пробы биологического материала – кровь животных. Всего исследовано 698 дойных коров голштинской породы из популяции двух хозяйств Свердловской области, из них 500 голов, принадлежащих хозяйству 1, поголовье которого составляет более 7500 голов крупного рогатого скота, в том числе 3300 дойных коров. Хозяйство 2 имеет статус племенного репродуктора и общее поголовье более 800 голов крупного рогатого скота.

Для постановки реакций использовали наборы реагентов Gene Pak PCR Core (ООО Лаборатория «Изоген», г. Москва).

Результаты (Results)

Анализ представленных в таблице данных показал, что в генотипах крупного рогатого скота исследуемого поголовья хозяйства 1 обнаружены носители 7 из 12 гаплотипов фертильности голштинского скота. Наибольшее количество животных являлись носителями гена GART (HH4) – 8 голов, частота но-

сительства 1,891 %. Вторым по количеству носителей является ген SMC2/HH3, который обнаружен у 6 животных стада, частота встречаемости составила 1,412 %. Третьим по количеству носителей оказался гаплотип SDE2/HH6, обнаруженный у 4 коров с частотой встречаемости 0,937 %.

В ходе проведения исследований в стаде хозяйства 1 не обнаружены такие гаплотипы, как

FANCI/HH0, TFB1M/HH5, SLC35A3_CVM, RNF20 и TTF1. Гаплотип RABGGTB выявлен только у одного животного, частота носительства составила 0,233 %. Остальные гаплотипы – APAF1/HH1, CENPU/HH7 и ITGB2/BLAD – встречались в выборке с одинаковой частотой 0,701 %, что соответствует выявлению у 3 животных.

Таблица 1

Частота распространения гаплотипов фертильности голштинского крупного рогатого скота в популяциях племенных хозяйств Свердловской области

	Ген/гаплотип											
	FANCI/HH0	APAF1 HH1	SMC2/HH3	GART/HH4	TFB1M/HH5	SDE2/HH6	CENPU/HH7	ITGB2/BLAD	SLC35A3/CVM(HHC)	RABGGTB	RNF20	TTF1
Хозяйство 1 (500 гол.)												
Носители, гол.	0	3	6	8	0	4	3	3	0	1	0	0
Не носители, гол.	431	428	425	423	431	427	428	428	431	430	431	431
Частота носительства, %	0,000	0,701	1,412	1,891	0,000	0,937	0,701	0,701	0,000	0,233	0,000	0,000
Частота аллеля, %	0,000	0,003	0,007	0,009	0,000	0,005	0,003	0,003	0,000	0,001	0,000	0,000
Хозяйство 2 (198 гол.)												
Носители, гол.	0	2	6	0	0	6	5	1	0	0	0	2
Не носители, гол.	153	151	147	153	153	147	148	152	153	153	153	151
Частота носительства, %	0,000	1,325	4,082	0,000	0,000	4,082	3,378	0,658	0,000	0,000	0,000	1,325
Частота аллеля, %	0,000	0,007	0,020	0,000	0,000	0,020	0,016	0,003	0,000	0,000	0,000	0,007
Все поголовье (698 гол.)												
Носители, гол.	0	5	12	8	0	10	8	4	0	1	0	2
Не носители, гол.	584	579	572	576	584	574	576	580	584	583	584	582
Частота носительства, %	0,000	0,864	2,098	1,389	0,000	1,742	1,389	0,690	0,000	0,172	0,000	0,344
Частота аллеля, %	0,000	0,004	1,010	0,007	0,000	0,009	0,007	0,003	0,000	0,001	0,000	0,002

*Table 1
Frequency of distribution of fertility haplotypes of Holstein cattle in populations of breeding farms of the Sverdlovsk region*

	Gene/haplotype											
	FANCI/HH0	APAF1 HH1	SMC2/HH3	GART/HH4	TFB1M/HH5	SDE2/HH6	CENPU/HH7	ITGB2/BLAD	SLC35A3/CVM(HHC)	RABGGTB	RNF20	TTF1
Farm 1 (500 heads)												
Carriers, heads	0	3	6	8	0	4	3	3	0	1	0	0
Not carriers, heads	431	428	425	423	431	427	428	428	431	430	431	431
Carriage frequency, %	0.000	0.701	1.412	1.891	0.000	0.937	0.701	0.701	0.000	0.233	0.000	0.000
Allele frequency, %	0.000	0.003	0.007	0.009	0.000	0.005	0.003	0.003	0.000	0.001	0.000	0.000
Farm 2 (198 heads)												
Carriers, heads	0	2	6	0	0	6	5	1	0	0	0	2
Not carriers, heads	153	151	147	153	153	147	148	152	153	153	153	151
Carriage frequency, %	0.000	1.325	4.082	0.000	0.000	4.082	3.378	0.658	0.000	0.000	0.000	1.325
Allele frequency, %	0.000	0.007	0.020	0.000	0.000	0.020	0.016	0.003	0.000	0.000	0.000	0.007
All livestock (698 heads)												
Carriers, heads	0	5	12	8	0	10	8	4	0	1	0	2
Not carriers, heads	584	579	572	576	584	574	576	580	584	583	584	582
Carriage frequency, %	0.000	0.864	2.098	1.389	0.000	1.742	1.389	0.690	0.000	0.172	0.000	0.344
Allele frequency, %	0.000	0.004	1.010	0.007	0.000	0.009	0.007	0.003	0.000	0.001	0.000	0.002

Результаты исследования встречаемости гаплотипов фертильности крупного рогатого скота хозяйства 2 выявили определенную аналогичность с исследованиями поголовья хозяйства 1. Так, следует отметить отсутствие таких гаплотипов фертильности крупного рогатого скота, как FANCI/HH0), GART/HH4, TFB1M/HH5, SLC35A3_CVM, RABGGTB и RNF20. Среди исследуемого поголовья хозяйства 2 выявлены носители только 6 гаплотипов фертильности, в то время как при анализе генотипов поголовья хозяйства 1 определено 7 таких гаплотипов.

Среди трех наиболее встречающихся гаплотипов фертильности крупного рогатого скота можно выделить SMC2/HH3 и SDE2/HH6, которые встречаются с одинаковой частотой – 4,082 %, по каждому из них выявлено носительство у 6 голов коров в выборке. Третьим по количеству выделенных носителей является гаплотип CENPU/HH7, он обнаружен в генотипе 5 животных, частота носительства

гаплотипа составляет 3,378 %. Гаплотипы фертильности APAF1/HH1, ITGB2/BLAD и TTF1 выявлены только у одного или двух животных, частота носительства составляет 0,658–1,325 %, а частота аллеля – соответственно 0,003–0,007 %.

При сравнительной оценке частоты определения случаев носительства гаплотипов фертильности крупного рогатого скота установлено, что в анализируемом стаде хозяйства 1 выявлено 28 носителей этих генов, что составляет 6,49 %. По хозяйству 2 выявлено 22 носителя гаплотипов фертильности, что, в свою очередь, составляет 14,38 %, что 2,2 раза выше аналогичного показателя хозяйства 1.

Рассматривая суммарно данные по носительству гаплотипов фертильности обоих хозяйств, можно распределить гаплотипы фертильности по встречаемости в общем поголовье (698 гол.) на 3 группы: до 5 носителей, 5–9 носителей, 10 носителей и более (рис. 1).

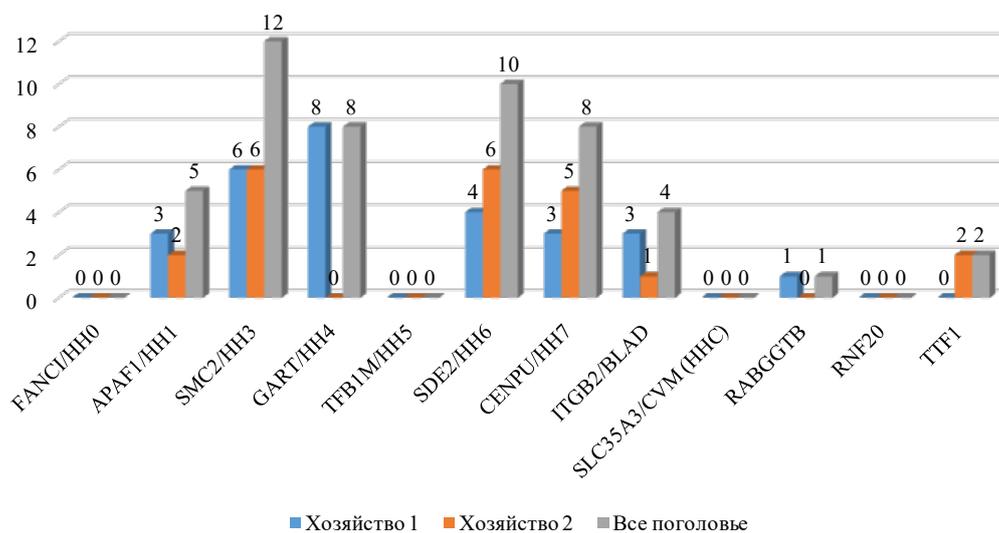


Рис. 1. Количество носителей гаплотипов фертильности, голов

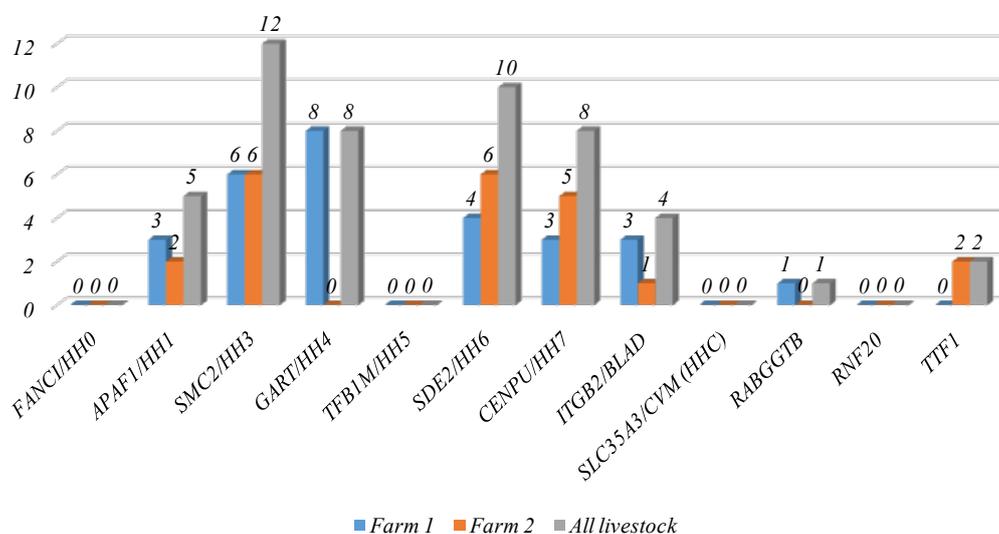


Fig. 1. Number of carriers of fertility haplotypes, heads

Таким образом, наибольшее количество носителей выявлено по гаплотипам SDE2/HH6 и SMC2/HH3, их носителями являлось 10 и 12 коров с частотой носительства 1,742 и 2,098 % соответственно (рис. 1). Ко второй группе по количеству выявленных носителей отнесены гаплотипы APAF1/HH1 – 5 голов, GART/HH4 и CENPU/HH7 – по 8. Следует отметить, что гаплотип GART/HH4 является специфичным для стада хозяйства 1, среди животных хозяйства 2 ни одного носителя не обнаружено. Наименее встречаемыми оказались гаплотипы ITGB2/BLAD, RABGGTB и TTF1: частота их носительства составила 0,690, 0,172 и 0,344 %, что соответствует 4; 1 и 3 головам крупного рогатого скота.

Обсуждение и выводы (Discussion and Conclusion)

Было проведено исследование частоты носительства 12 гаплотипов фертильности голштинского скота HH0 (FANCI), HH1 (APAF1), HH3 (SMC2), HH4 (GART), HH5 (TFB1M), HH6 (SDE2), HH7 (CENPU), HH8 (ITGB2, BLAD), HH9 (SLC35A3, CVM), RABGGTB, RNF20.

В ходе исследований установлено, что некоторые генетические мутации, ассоциированные с наследственными заболеваниями, не встречаются в стадах хозяйства 1 и хозяйства 2, такие как FANCI (HH0), TFB1M (HH5), SLC35A3 (CVM, HH9), RNF20. Следует отметить, что в хозяйстве 1 отсутствует гаплотип TTF1, а в хозяйстве 2 не обнаружены носители таких гаплотипов, как GART (HH4) и RABGGTB.

В популяции хозяйства 1 наибольшее количество животных являлись носителями гаплотипов фертильности HH4 и HH3 с частотой носительства 1,891 и 1,412 % соответственно, в хозяйстве 2 выявлено наибольшее количество гаплотипов HH3 и HH6 с частотой носительства 4,082 %, что является достаточно высоким показателем.

Следует отметить высокий процент выявленных носителей летальных рецессивных мутаций среди животных стада хозяйства 2 – 14,38 %, в то время как по анализируемому поголовью хозяйства 1 он составил 6,49 %.

Библиографический список

1. Ежегодник по племенной работе в молочном скотоводстве в хозяйствах Российской Федерации (2022 год) // Лесные поляны Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела, 2023. 255 с.
2. Charlier C., Li W., Harland C., Littlejohn M., Coppeters W., Creagh F., Davis S., Druet T., Faux P., Guillaume F., Karim L., Keehan M., Kadri N.K., Tamma N., Spelman R., Georges M. NGS-based reverse genetic screen for common embryonic lethal mutations compromising fertility in livestock // *Genome*. 2016. No. 26. Pp. 1333–1341. DOI: 10.1101/gr.207076.116.
3. Khan M. Y. A., Omar A. I., He Y., Chen S., Zhang S., Xiao W., Zhang Y. Prevalence of nine genetic defects in Chinese Holstein cattle // *Veterinary Medicine and Science*. 2021. No. 7 (5). Pp. 1728–1735. DOI: 10.1002/vms3.525.
4. Трухачев В. И., Злыднев Н. З., Олейник С. А., Селионова М. И., Чижова Л. Н., Бобрышова Г. Т. ДНК-диагностика наследственных заболеваний молочного скота // *Фермер. Черноземье*. 2018. № 9 (18). С. 52–56.
5. Sudhakar A., Nayee N., Saha S. et al. Role of genetic introgression in introducing mutant alleles in *Bos indicus* cattle and prevalence of lethal genetic disorders in *Bos taurus* × *Bos indicus* and *Bos indicus* cattle in India // *Tropical Animal Health and Production*. 2023. Vol. 55. Article number 399. DOI: 10.1007/s11250-023-03798-8.
6. Wu X., Mesbah-Uddin M., Guldbrandtsen B., Lund M. S., Sahana G. Haplotypes responsible for early embryonic lethality detected in Nordic Holsteins // *Journal of Dairy Science*. 2019. Vol. 102, No. 12. Pp. 11116–11123. DOI: 10.3168/jds.2019-16651.
7. Зиновьева Н. А. Гаплотипы фертильности голштинского скота // *Сельскохозяйственная биология*. 2016. Т. 51, № 4. С. 423–435. DOI: 10.15389/agrobiol.2016.4.423rus.
8. Суханова О. Г. Анализ некоторых генетических заболеваний крупного рогатого скота голштинской породы // *Приоритетные векторы развития промышленности и сельского хозяйства: материалы III Международной научно-практической конференции*. Макеевка: Донбасская аграрная академия, 2020. С. 111–114.
9. Саприкина Т. Ю., Криворучко А. Ю., Скокова А. В. Генетические аномалии крупного рогатого скота (обзор) // *Сельскохозяйственный журнал*. 2022. № 2 (15). С. 92–102. DOI: 10.25930/2687-1254/011.2.15.2022.
10. Khan M. Y. A., Dai D., Su X., Tian J., Zhou J., Ma L., Wang Y., Wen W., Zhang Y. Multiplex fluorescent amplification-refractory mutation system PCR method for the detection of 10 genetic defects in Holstein cattle and its comparison with the KASP genotyping assay // *Animal Genetics*. 2024. No. 55 (3). Pp. 457–464. DOI: 10.1111/age.13432.
11. Shormanova M., Makhmutov A., Shormanova A., Muslimova Z., Ussenbekov Y. Development of alternative diagnosis of HH1, HH3, HH5 and HCD fertility haplotypes and subfertility syndrome in cattle // *Reproduction in domestic animals*. 2024. No. 59 (1). Article number e14533. DOI: 10.1111/rda.14533.

12. Branda-Sica A., Artigas R., de Torres E., Kinley E., Nicolini P., Federici M. T., Llambi S. Monitoring of recessive defects associated with low reproductive performance in dairy cattle in Uruguay // *Open Veterinary Journal*. 2023. No. 13 (10). Pp. 1290–1298. DOI: 10.5455/OVJ.2023.v13.i10.8.

13. Kamiński S. Eradication of carriers of Complex Vertebral Malformation (CVM) and Brachyspina in Polish Holstein-Friesian bulls // *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 2023. No. 26 (2). Pp. 315–317. DOI: 10.24425/pjvs.2023.145031.

14. Häfliger I. M., Spengeler M., Seefried F. R., et al. Four novel candidate causal variants for deficient homozygous haplotypes in Holstein cattle // *Scientific Reports*. 2022. No. 12. Article number 5435. DOI: 10.1038/s41598-022-09403-6.

15. Albertino L. G., Albuquerque A. L. H., Ferreira J. F., Oliveira J. P. M., Borges A. S., Patelli T. H. C., Oliveira-Filho J. P. Allele Frequency of APAF1 Mutation in Holstein Cattle in Brazil // *Frontiers in Veterinary Science*. 2022. No. 9. Article number 822224. DOI: 10.3389/fvets.2022.822224.

16. Михайлова М. Е., Романишко Е. Л., Киреева А. И. Детекция полиморфизма rs456206907 гена SMC2, детерминирующего гаплотип фертильности HH3 у крупного рогатого скота // *Молекулярная и прикладная генетика*. 2018. Т. 25. С. 67–72.

17. Ask-Gullstrand P., Strandberg E., Båge R., Rius-Vilarrasa E., Berglund B. The effect of genetic defects on pregnancy loss in Swedish dairy cattle // *Journal of Dairy Science*. 2024. No. 107 (5). Pp. 2999–3005. DOI: 10.3168/jds.2023-24159.

18. Pérez-Gómez A., Hamze J. G., Flores-Borobia I., Galiano-Cogolludo B., Lamas-Toranzo I., González-Bruñi L., Ramos-Ibeas P., Bermejo-Álvarez P. HH5 double-carrier embryos fail to progress through early conceptus elongation // *Journal of Dairy Science*. 2024. No. 24. DOI: 10.3168/jds.2023-24482.

19. Fritz S., Hoze C., Rebours E., Barbat A., Bizard M., Chamberlain A., Escoufflaire C., Vander Jagt C., Bous-saha M., Grohs C., Allais-Bonnet A., Philippe M., Vallée A., Amigues Y., Hayes B. J., Boichard D., Capitan A. An initiator codon mutation in SDE2 causes recessive embryonic lethality in Holstein cattle // *Journal of Dairy Science*. 2018. No. 101 (7). Pp. 6220–6231. DOI: 10.3168/jds.2017-14119.

20. Kamiński S. Missense mutation in SDE2 gene – new lethal defect transmitted into Polish Holstein-Friesian cattle // *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 2019. No. 22 (3). Pp. 627–630. DOI: 10.24425/pjvs.2019.129974.

21. Hozé C., Escoufflaire C., Mesbah-Uddin M., Barbat A., Boussaha M., Deloche M. C., Boichard D., Fritz S., Capitan A. Short communication: A splice site mutation in CENPU is associated with recessive embryonic lethality in Holstein cattle // *Journal of Dairy Science*. 2020. No. 103. Pp. 607–612. DOI: 10.3168/jds.2019-17056.

22. Rafiq A., Zareen G., Akbar S., Asif M., Ahmed N., Bibi N., Habiba U., Khan A. U., Shaikh R. S., Iqbal F. Association of genotypes at rs438228855 in bovine SLC35A3 receptor gene of Pakistani cattle with the susceptibility to develop complex vertebral malformation // *Reproduction in Domestic Animals*. 2023. No. 58 (6). Pp. 754–761. DOI: 10.1111/rda.14346.

23. OMA – online mendelian inheritance in animals [Электронный ресурс]. URL: <https://omia.org/home> (дата обращения: 29.04.2024).

24. Surati U., Niranjana S. K. Development of PCR-based genetic test for detection of TTF1 mutation causing abortion in Holstein Friesian cattle // *Reproduction in Domestic Animals*. 2024. No. 59 (5). Article number 14581. DOI: 10.1111/rda.14581.

Об авторах:

Алексей Владимирович Степанов, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры биотехнологии и пищевых продуктов, Уральский государственный аграрный университет, Екатеринбург, Россия; ORCID 0000-0002-8523-5938, AuthorID 694790. *E-mail: alexeystepanow@mail.ru*

Ольга Александровна Быкова, доктор сельскохозяйственных наук, профессор кафедры биотехнологии и пищевых продуктов, Уральский государственный аграрный университет, Екатеринбург, Россия; ORCID 0000-0002-0753-1539, AuthorID 663503. *E-mail: olbyk75@mail.ru*

Ольга Васильевна Костюнина, доктор биологических наук, профессор кафедры биотехнологии и пищевых продуктов, Уральский государственный аграрный университет, Екатеринбург, Россия; ORCID 0000-0001-8206-3221, AuthorID 147325. *E-mail: kostolan@yandex.ru*

Анастасия Андреевна Зырянова, аспирант кафедры биотехнологии и пищевых продуктов, Уральский государственный аграрный университет, Екатеринбург, Россия; ORCID 0009-0008-1435-8210, AuthorID 1123090. *E-mail: agata.lis.00@mail.ru*

Олег Александрович Шевкунов, специалист по работе с РИНЦ, Уральский государственный аграрный университет, Екатеринбург, Россия; ORCID 0000-0003-2975-0633, AuthorID 956848. *E-mail: xoshyn@gmail.com*

References

1. *Yearbook on breeding work in dairy cattle breeding on farms of the Russian Federation*. Lesnyye Polyany: All-Russian Research Institute of Breeding, 2023. 255 p. (In Russ.)
2. Charlier C., Li W., Harland C., Littlejohn M., Coppieters W., Creagh F., Davis S., Druet T., Faux P., Guillaume F., Karim L., Keehan M., Kadri N. K., Tamma N., Spelman R., Georges M. NGS-based reverse genetic screen for common embryonic lethal mutations compromising fertility in livestock. *Genome*. 2016; 26: 1333–1341. DOI: 10.1101/gr.207076.116.
3. Khan M. Y. A., Omar A. I., He Y., Chen S., Zhang S., Xiao W., Zhang Y. Prevalence of nine genetic defects in Chinese Holstein cattle. *Veterinary medicine and science*. 2021; 7 (5): 1728–1735. DOI: 10.1002/vms3.525.
4. Trukhachev V. I., Zlydnev N. Z., Oleynik S. A., Selionova M. I., Chizhova L. N., Bobryshova G. T. DNA diagnostics of hereditary diseases of dairy cattle. *Farmer. Chernozem Region*. 2018; 9 (18): 52–56. (In Russ.)
5. Sudhakar A., Nayee N., Saha S., et al. Role of genetic introgression in introducing mutant alleles in *Bos indicus* cattle and prevalence of lethal genetic disorders in *Bos taurus* × *Bos indicus* and *Bos indicus* cattle in India. *Tropical Animal Health and Production*. 2023; 55: 399. DOI: 10.1007/s11250-023-03798-8.
6. Wu X., Mesbah-Uddin M., Guldbrandtsen B., Lund M. S., Sahana G. Haplotypes responsible for early embryonic lethality detected in Nordic Holsteins. *Journal of Dairy Science*. 2019; 102 (12): 11116–11123. DOI: 10.3168/jds.2019-16651.
7. Zinov'yeva N. A. Fertility haplotypes of Holstein cattle. *Agricultural Biology*. 2016; 4: 423–435. DOI: 10.15389/agrobiology.2016.4.423rus. (In Russ.)
8. Sukhanova O. G. Analysis of some genetic diseases of Holstein cattle. *Priority vectors for the Development of Industry and Agriculture: Materials of the III International Scientific and Practical Conference*. Makeevka: Donbass Agrarian Academy, 2020. Pp. 111–114. (In Russ.)
9. Saprykina T. Yu., Krivoruchko A. Yu., Skokova A. V. Genetic anomalies of cattle (Review). *Agricultural Magazine*. 2022; 2 (15): 92–102. DOI: 10.25930/2687-1254/011.2.15.2022. (In Russ.)
10. Khan M. Y. A., Dai D., Su X., Tian J., Zhou J., Ma L., Wang Y., Wen W., Zhang Y. Multiplex fluorescent amplification-refractory mutation system PCR method for the detection of 10 genetic defects in Holstein cattle and its comparison with the KASP genotyping assay. *Animal Genetics*. 2024; 55 (3): 457–464. DOI: 10.1111/age.13432.
11. Shormanova M., Makhmutov A., Shormanova A., Muslimova Z., Ussenbekov Y. Development of alternative diagnosis of HH1, HH3, HH5 and HCD fertility haplotypes and subfertility syndrome in cattle. *Reproduction in Domestic Animals*. 2024; 59 (1): e14533. DOI: 10.1111/rda.14533.
12. Branda-Sica A., Artigas R., de Torres E., Kinley E., Nicolini P., Federici M. T., Llambí S. Monitoring of recessive defects associated with low reproductive performance in dairy cattle in Uruguay. *Open Veterinary Journal*. 2023; 1 (10): 1290–1298. DOI: 10.5455/OVJ.2023.v13.i10.8.
13. Kamiński S. Eradication of carriers of Complex Vertebral Malformation (CVM) and Brachyspina in Polish Holstein-Friesian bulls. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 2023; 26 (2): 315–317. DOI: 10.24425/pjvs.2023.145031.
14. Häfliger I. M., Spengeler M., Seefried F. R., et al. Four novel candidate causal variants for deficient homozygous haplotypes in Holstein cattle. *Scientific Reports*. 2022; 12: 5435. DOI: 10.1038/s41598-022-09403-6.
15. Albertino L. G., Albuquerque A. L. H., Ferreira J. F., Oliveira J. P. M., Borges A. S., Patelli T. H. C., Oliveira-Filho J. P. Allele Frequency of APAF1 Mutation in Holstein Cattle in Brazil. *Frontiers in Veterinary Science*. 2022; 9: 822224. DOI: 10.3389/fvets.2022.822224.
16. Mikhaylova M. E., Romanishko E. L., Kireeva A. I. Detection of the rs456206907 polymorphism of the SMC2 gene, which determines the HH3 fertility haplotype in cattle. *Molecular and Applied Genetics*. 2018; 25: 67–72. (In Russ.)
17. Ask-Gullstrand P., Strandberg E., Båge R., Rius-Vilarrasa E., Berglund B. The effect of genetic defects on pregnancy loss in Swedish dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 2024; 107 (5): 2999–3005. DOI: 10.3168/jds.2023-24159.
18. Pérez-Gómez A., Hamze J. G., Flores-Borobia I., Galiano-Cogolludo B., Lamas-Toranzo I., González-Bruce L., Ramos-Ibeas P., Bermejo-Álvarez P. HH5 double-carrier embryos fail to progress through early conceptus elongation. *Journal of Dairy Science*. 2024; 24. DOI: 10.3168/jds.2023-24482.
19. Fritz S., Hoze C., Rebours E., Barbat A., Bizard M., Chamberlain A., Escoufflaire C., Vander Jagt C., Bous-saha M., Grohs C., Allais-Bonnet A., Philippe M., Vallée A., Amigues Y., Hayes B. J., Boichard D., Capitan A. An initiator codon mutation in SDE2 causes recessive embryonic lethality in Holstein cattle. *Journal of Dairy Science*. 2018; 101 (7): 6220–6231. DOI: 10.3168/jds.2017-14119.
20. Kamiński S. Missense mutation in SDE2 gene – new lethal defect transmitted into Polish Holstein-Friesian cattle. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 2019; 22 (3): 627–630. DOI: 10.24425/pjvs.2019.129974.

21. Hozé C., Escoufflaire C., Mesbah-Uddin M., Barbat A., Boussaha M., Deloche M. C., Boichard D., Fritz S., Capitan A. Short communication: A splice site mutation in CENPU is associated with recessive embryonic lethality in Holstein cattle. *Journal of Dairy Science*. 2020; 103: 607–612. DOI: 10.3168/jds.2019-17056.

22. Rafiq A., Zareen G., Akbar S., Asif M., Ahmed N., Bibi N., Habiba U., Khan A. U., Shaikh R. S., Iqbal F. Association of genotypes at rs438228855 in bovine SLC35A3 receptor gene of Pakistani cattle with the susceptibility to develop complex vertebral malformation. *Reproduction in Domestic Animals*. 2023; 58 (6): 754–761. DOI: 10.1111/rda.14346.

23. OMIA – online mendelian inheritance in animals [Internet] [cited 2024 Apr 29]. Available from: <https://omia.org/home>.

24. Surati U., Niranjana S. K. Development of PCR-based genetic test for detection of TTF1 mutation causing abortion in Holstein Friesian cattle. *Reproduction in Domestic Animals*. 2024; 59 (5): e14581. DOI: 10.1111/rda.14581.

Authors information:

Aleksey V. Stepanov, candidate of agricultural sciences, associate professor of the department of biotechnology and food products, Ural State Agrarian University, Ekaterinburg, Russia; ORCID 0000-0002-8523-5938, AuthorID 694790. *E-mail: alexeystepanow@mail.ru*

Olga A. Bykova, doctor of agricultural sciences, professor of the department of biotechnology and food products, Ural State Agrarian University, Ekaterinburg, Russia; ORCID 0000-0002-0753-1539, AuthorID 663503. *E-mail: olbyk75@mail.ru*

Olga V. Kostyunina, doctor of biological sciences, professor of the department of biotechnology and food products, Ural State Agrarian University, Ekaterinburg, Russia; ORCID 0000-0001-8206-3221, AuthorID 147325. *E-mail: kostolan@yandex.ru*

Anastasiya A. Zyryanova, graduate student of the department of biotechnology and food products, Ural State Agrarian University, Ekaterinburg, Russia; ORCID 0009-0008-1435-8210, AuthorID 1123090. *E-mail: agata.lis.00@mail.ru*

Oleg A. Shevkunov, RSCI specialist, Ural State Agrarian University, Ekaterinburg, Russia; ORCID 0000-0003-2975-0633, AuthorID 956848. *E-mail: xoshyn@gmail.com*