

Разработка наборов для диагностики генетических нарушений крупного рогатого скота голштинской породы (НН4, НН5, MW)

В. Д. Зубарева[✉], М. В. Бытов, Н. А. Мартынов, О. С. Зайцева, М. А. Печенкина

Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия

[✉]E-mail: zzub97@mail.ru

Аннотация. Голштинские гаплотипы 4 (НН4) и 5 (НН5), а также миссенс-мутация в гене *CACNA1S*, вызывающая синдром врожденной мышечной слабости (MW), относятся к рецессивным генетическим нарушениям крупного рогатого скота голштинской породы. Распространение данных мутаций связано с интенсивным использованием геномной селекции, которая, несмотря на положительные эффекты в повышении молочной продуктивности, способствует усилению инбридинга и накоплению летальных и сублетальных аллелей в популяциях. **Цель** – разработка новых ПЦР-тест-систем в режиме реального времени на основе технологии TaqMan для диагностики MW, НН4 и НН5. **Методы.** В работе использованы образцы ДНК коров из созданного биобанка крупного рогатого скота голштинской породы популяций Свердловской области, Республики Удмуртия, Пермского и Краснодарского краев. Количество особей для скрининга НН4 составило 139 голов, для НН5 и MW – 137 голов. Разработка тест-систем включала подбор специфических праймеров и зондов, оптимизацию условий амплификации и валидацию на контрольных образцах с известным генотипом. **Научная новизна** заключается в том, что впервые созданы и апробированы ПЦР-тест-системы в реальном времени для одновременной детекции трех рецессивных генетических нарушений (MW, НН4 и НН5) у крупного рогатого скота голштинской породы в популяциях Российской Федерации. Разработанные подходы позволяют проводить генотипирование с высокой точностью и воспроизводимостью, что ранее не было реализовано в формате TaqMan-зондов для данных мутаций. **Результаты.** В ходе скрининга носителей НН4 не обнаружено. Частота носительства НН5 составила 0,73 % (95 % ДИ: 0,08–3,36); частота носительства MW – 10,22 % (95 % ДИ: 5,98–16,12). Разработанные тест-системы обеспечивают быструю, специфичную и экономически доступную диагностику, что делает их пригодными для рутинного скрининга в селекционных программах. Полученные данные свидетельствуют о необходимости систематического мониторинга генетических нарушений в популяциях голштинского скота Российской Федерации с целью своевременного выявления и элиминации носителей летальных и сублетальных аллелей из селекционных программ.

Ключевые слова: голштинский гаплотип 4, голштинский гаплотип 5, синдром врожденной мышечной слабости, ПЦР в реальном времени, TaqMan-зонды, крупный рогатый скот, генетическая диагностика, частота носительства

Благодарности. Исследование выполнено при финансовой поддержке Минобрнауки России в рамках Государственного задания № 0532-2025-0003 по теме «Разработка высокоточных методов идентификации генетических детерминант устойчивости к заболеваниям для использования в селекции крупного рогатого скота».

Для цитирования: Зубарева В. Д., Бытов М. В., Мартынов Н. А., Зайцева О. С., Печенкина М. А. Разработка наборов для диагностики генетических нарушений крупного рогатого скота голштинской породы (НН4, НН5, MW) // Аграрный вестник Урала. 2026. Т. 26, № 09. С. 1704–1711. <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2026-26-09-1704-1711>.

Дата поступления статьи: 10.06.2026, **дата рецензирования:** 30.06.2026, **дата принятия:** 31.07.2026.

Development of diagnostic kits for Holstein genetic disorders (HH4, HH5, MW)

V. D. Zubareva[✉], M. V. Bytov, N. A. Martynov, O. S. Zaytseva, M. A. Pechenkina

Ural Federal Agrarian Scientific Research Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia

[✉]E-mail: zzub97@mail.ru

Abstract. Holstein haplotypes 4 (HH4) and 5 (HH5), as well as early-onset muscle weakness syndrome (MW), are recessive genetic disorders reported in Holstein cattle. The spread of these mutations is associated with the intensive use of genomic selection, which, despite positive effects on milk production, contributes to increased inbreeding and the accumulation of lethal and sublethal alleles in populations. **The purpose** of this study was to develop novel real-time TaqMan-based PCR assays for the diagnosis of MW, HH4, and HH5. **Methods.** DNA samples from Holstein cows were obtained from the biobank, representing populations from Sverdlovsk region, the Udmurt Republic, Perm Krai, and Krasnodar Krai. The number of tested animals for HH4 was 139, for HH5 and MW – 137. The development of the assay systems included selecting specific primers and probes, optimizing amplification conditions, and validating the assays on control samples with known genotypes. **The scientific novelty** lies in the fact that real-time PCR assay systems were developed and tested for the first time for the simultaneous detection of three recessive genetic disorders (MW, HH4, and HH5) in Holstein cattle populations of the Russian Federation. The developed approaches enable genotyping with high accuracy and reproducibility, which had not previously been implemented in a TaqMan probe format for these mutations. **Results.** Screening revealed no carriers of HH4. The carrier frequency of HH5 was 0.73 % (95 % CI: 0.08–3.36), and the carrier frequency of MW was 10.22 % (95 % CI: 5.98–16.12). The developed assays provide rapid, specific, and cost-effective detection, making them suitable for routine screening in breeding programs. The obtained data indicate the necessity of systematic monitoring of genetic disorders in Holstein cattle populations of the Russian Federation for the timely detection and elimination of carriers of lethal and sublethal alleles from breeding programs.

Keywords: Holstein haplotype 4, Holstein haplotype 5, muscle weakness syndrome, real-time PCR, TaqMan probes, cattle, genetic diagnostics, carrier frequency

Acknowledgments: The study was carried out with the financial support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation within the framework of the State Assignment No. 0532-2025-0003 on the topic “Development of high-precision methods for identifying genetic determinants of disease resistance for use in cattle breeding”.

For citation: Zubareva V. D., Bytov M. V., Martynov N. A., Zaytseva O. S., Pechenkina M. A. Development of diagnostic kits for genetic disorders in Holstein cattle (HH4, HH5, MW). *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2026; 26 (09): 1704–1711. <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2026-26-09-1704-1711>. (In Russ.)

Date of paper submission: 10.06.2026, **date of review:** 30.06.2026, **date of acceptance:** 31.07.2026.

Постановка проблемы (Introduction)

Голштинские гаплотипы 4 и 5, а также миссенс-мутация в гене *CACNA1S*, вызывающая синдром ранней мышечной слабости (MW), представляют собой рецессивные генетические нарушения крупного рогатого скота голштинской породы. Искусственное осеменение, экстракорпоральное оплодотворение и трансплантация эмбрионов используются в геномной селекции, направленной на повышение удоя, содержания жира и белка в молоке, а также для отбора животных с желательными фенотипическими характеристиками. Вместе с тем, несмотря на указанные положительные эффекты, геномная селекция способствует усилению инбри-

динга, что сопровождается возникновением летальных мутаций и проявлением новых рецессивных аномалий [1].

Синдром ранней мышечной слабости (Early-onset muscle weakness syndrome, MW/HMW) – это рецессивное моногенное заболевание крупного рогатого скота голштинской породы (OMIA 002819-9913), обусловленное миссенс-мутацией в гене *CACNA1S* (rs3423414874; c.3068G>A; p.Gly1029Ser), локализованном на 16-й хромосоме. Ген кодирует $\alpha 1S$ -субъединицу дигидропиридинового рецептора (DHPR), который является ключевым компонентом системы сопряжения возбуждения и сокращения скелетной мускулатуры. Замена

глицина серином в положении 1029 нарушает регуляцию внутриклеточного кальция, что клинически проявляется неонатальной астазией – неспособностью новорожденных телят самостоятельно стоять, а также характерной позой и прогрессирующей атрофией мышц тазового пояса [2; 3].

Важной особенностью MW является неполная пенетрантность: часть гомозиготных особей демонстрирует минимальные клинические признаки или сохраняет жизнеспособность при хорошем уходе, что существенно осложняет диагностику и требует обязательного применения молекулярно-генетических методов [2; 3]. В настоящее время для диагностики данного генетического нарушения разработана аллель-специфичная ПЦР [4].

Голштинский гаплотип 4 (НН4) представляет собой рецессивное наследственное нарушение, ассоциированное с мутацией в гене GART (OMIA: 001826–9913), впервые описанное в 2013 году. Фенотипически НН4 проявляется эмбриональной смертностью: гибель плода происходит на сроках гестации от 60 до 100 дней. Гомозиготные по мутантному аллелю эмбрионы нежизнеспособны, что приводит к ранним абортam и снижению репродуктивных показателей у коров-носителей [5]. Для проведения скрининговых исследований НН4 Н. В. Ковалюк с соавторами разработана ПЦР-ПДРФ [6].

Голштинский гаплотип 5 (НН5) обусловлен мутацией в гене TFB1M (OMIA: 001941–9913), впервые описан в 2016 году. Как и НН4, данное нарушение относится к рецессивным летальным мутациям с эмбриональной гибелью гомозигот на сроках стельности от 60 до 100 дней. Мутация в гене TFB1M нарушает нормальное развитие плода, что приводит к его резорбции или абортu. НН5 представляет собой один из наиболее распространенных гаплотипов в популяции голштинского скота, что требует обязательного мониторинга носительства в племенных стадах с целью предотвращения распространения [5]. Y. Zhang с соавторами разработали ПЦР-тест-системы на основе конкурентной аллель-специфической ПЦР (KASP) для дифференциации аллелей дикого типа и соответствующих мутантных аллелей как для НН4, так и для НН5 [7].

Существующие диагностические подходы, несмотря на свою эффективность, обладают рядом ограничений: необходимость электрофоретической детекции (для ПЦР-ПДРФ и аллель-специфичной ПЦР) либо использование сложных и дорогостоящих платформ (для кастомной KASP-системы). Кроме того, отсутствуют унифицированные протоколы ПЦР в реальном времени для детекции НН4, НН5 и MW, что затрудняет внедрение рутинного скрининга в ветеринарных лабораториях. Разработка ПЦР-тест-систем с использованием гидролизующих зондов позволит совместить высокую специ-

фичность и сократить время анализа, что особенно актуально для массового генотипирования в селекционных программах.

Цель исследования – разработать новые ПЦР-тест-системы для диагностики летальных и сублетальных генетических мутаций крупного рогатого скота голштинской породы.

Методология и методы исследования (Methods)

Объект исследования – ДНК крупного рогатого скота голштинской породы. Предмет исследования – ДНК-маркеры, ассоциированные с генетически детерминированными заболеваниями крупного рогатого скота (синдром врожденной мышечной слабости (MW), голштинские гаплотипы 4, 5).

Схема эксперимента

Исследование выполнено на образцах ДНК биобанка, созданного в отделе геномных исследований и селекции животных Уральского НИВИ – структурного подразделения ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН. Всего для диагностики голштинского гаплотипа 4 было исследовано 139 проб ДНК от коров Свердловской области, Республики Удмуртии и Пермского края. Скрининг на наличие голштинского гаплотипа 5 проведен на 137 образцах ДНК от коров Свердловской области и Республики Удмуртия, на наличие синдрома врожденной мышечной слабости – на 137 пробах ДНК от коров голштинской породы Краснодарского края, Свердловской области и Республики Удмуртия.

Оборудование и технические средства

Для идентификации носителей синдрома врожденной мышечной слабости и голштинского гаплотипа 4 были разработаны собственные ПЦР-тест-системы. Для диагностики голштинского гаплотипа 5 был использован ранее предложенный A. Khatib с соавторами набор праймеров, для которого дополнительно нами были разработаны специфические зонды [8].

Для диагностики на носительство мутаций использовали специфические олигонуклеотидные праймеры, синтезированные компанией «Биолаб-микс» (Россия) (таблица 1). Дизайн олигонуклеотидов выполнен с помощью FastPCR 6.8 [9; 10]. Определение температур плавления и отжига праймеров проведено с использованием Primer BLAST [11] и IDT-DNA OligoAnalyser [12], а проверка на наличие димеров – с помощью ThermoFisher Multiple Primer Analyzer [13]. Амплификацию ДНК проводили с помощью экстрамикса HS-Taq ПЦР (2x) (diaGene, Россия), детекцию – в амплификаторе CFX Opus 96 (Bio-Rad Laboratories, Inc., США).

Температурные режимы, оптимальные для протекания реакций, представлены в таблице 2. Оценку специфичности разработанных реакций проводили с использованием горизонтального гель-электрофореза.

Таблица 1

Последовательности праймеров, использованные в исследовании

Последовательность 5'–3'	Размер ампликона, п. н.
Голштинский гаплотип 4 (HH4)	
F: AAGGTGTCCTCTATGCTGG R: GTGCAGAGCAAGCCATCTA HH4_prN: [FAM]TTTAaT[LNA-T]GCCGTTTCGGTGATCCA[BHQ1] HH4_prM: [ROX]TTAcT[LNA-T]GCCGTTTCGGTGATCC[BHQ2]	324
Голштинский гаплотип 5 (HH5) [8; данное исследование]	
F: AGATATGCTAAAGTTTACCTAGAAGAA WT_R: CTGAAGCTCCATTCTGAGTCAT Del_R: TGCTCTATGAATTTTGTGAATGGT HH5_prN: [FAM]TGTTT[LNA-G]AAAAATATCTGTTATTTTGCC[BHQ1] HH5_prM: [ROX]TGGTGTAGGTTCTAAAATGTCTTG[BHQ2]	442 (дикий тип) 256 (мутантная аллель)
Синдром врожденной мышечной слабости (MW)	
F: GAAATTTTCCCCTCAA[LNA-G]CC R: TGCTCATCGTCATGCTCTTC prN2: [FAM]CTACGCGGTCATCgGCATG[BHQ1] prM2: [ROX]CATCTACGCGGTCATCaGCATG[BHQ2]	386

Table 1
Sequences of primers used in the study

Sequence 5'–3'	Amplicon size, bp
Holstein haplotype 4 (HH4)	
F: AAGGTGTCCTCTATGCTGG R: GTGCAGAGCAAGCCATCTA HH4_prN: [FAM]TTTAaT[LNA-T]GCCGTTTCGGTGATCCA[BHQ1] HH4_prM: [ROX]TTAcT[LNA-T]GCCGTTTCGGTGATCC[BHQ2]	324
Holstein haplotype 5 (HH5) [8; this study]	
F: AGATATGCTAAAGTTTACCTAGAAGAA WT_R: CTGAAGCTCCATTCTGAGTCAT Del_R: TGCTCTATGAATTTTGTGAATGGT HH5_prN: [FAM]TGTTT[LNA-G]AAAAATATCTGTTATTTTGCC[BHQ1] HH5_prM: [ROX]TGGTGTAGGTTCTAAAATGTCTTG[BHQ2]	442 (wild type) 256 (mutant allele)
Muscle weakness syndrome (MW)	
F: GAAATTTTCCCCTCAA[LNA-G]CC R: TGCTCATCGTCATGCTCTTC prN2: [FAM]CTACGCGGTCATCgGCATG[BHQ1] prM2: [ROX]CATCTACGCGGTCATCaGCATG[BHQ2]	386

Таблица 2
Режимы амплификации,
используемые в исследовании

Протокол амплификации
Голштинский гаплотип 4 (HH4)
1 цикл: 95 °C – 5 мин.;
40 циклов: 95 °C – 20 с, 60 °C – 30 с, 72 °C – 20 с
Голштинский гаплотип 5 (HH5) [8, данное исследование]
1 цикл: 95 °C – 5 мин.;
40 циклов: 95 °C – 30 с, 57 °C – 30 с, 72 °C – 30 с
Синдром врожденной мышечной слабости (MW)
1 цикл: 95 °C – 5 мин.;
40 циклов: 95 °C – 20 с, 63 °C – 30 с, 72 °C – 20 с

Table 2
Amplification protocols

Amplification protocol
Holstein haplotype 4 (HH4)
1 cycle: 95 °C – 5 min.;
40 cycles: 95 °C – 20 s, 60 °C – 30 s, 72 °C – 20 s
Holstein haplotype 5 (HH5) [8, this study]
1 cycle: 95 °C – 5 min.;
40 cycles: 95 °C – 30 s, 57 °C – 30 s, 72 °C – 30 s
Muscle weakness syndrome (MW)
1 cycle: 95 °C – 5 min.;
40 cycles: 95 °C – 20 s, 63 °C – 30 s, 72 °C – 20 s

Статистическая обработка

Доверительный интервал (95 % ДИ), характеризующий частоту встречаемости аллелей в генеральной совокупности по данным выборочных частот, рассчитывали по методу Джеффриса с использованием онлайн-калькулятора [14].

Результаты (Results)

В результате проведенных исследований были разработаны ПЦР-тест-системы для диагностики синдрома врожденной мышечной слабости и голштинских гаплотипов 4 и 5.

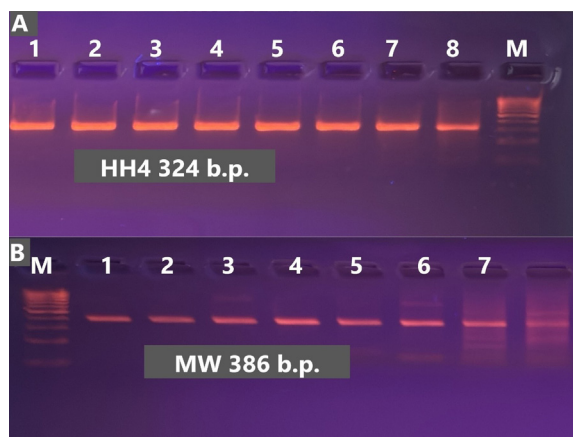


Рис. 1. Результаты оптимизации тест-системы:
А. Для диагностики голштинского гаплотипа 4.
В. Для диагностики синдрома врожденной мышечной слабости.
1–8 – эксперимент с градиентом температур,
М – размерный стандарт с шагом 100 п. н.
Fig. 1. Optimization of the test system:
А. For the diagnosis of Holstein haplotype 4.
В. For the diagnosis of weak muscle syndrome.
1–8 – gradient PCR at the annealing step,
М – 100-bp DNA ladder

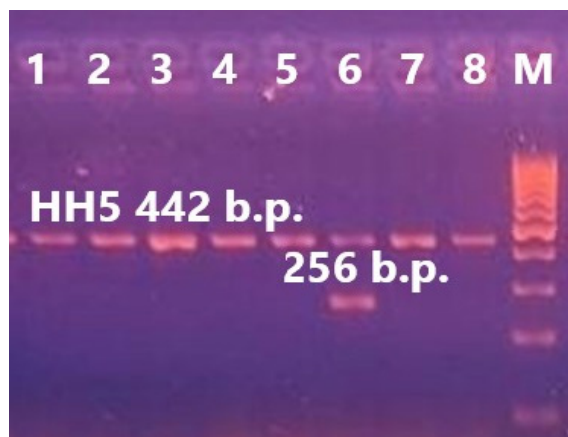


Рис. 2. Результаты электрофореза для диагностики голштинского гаплотипа 5: 1–5, 7, 8 – аллель дикого типа (442 п. н.); 6 – мутантная аллель (246 п. н.), М – размерный стандарт с шагом 100 п. н.
Fig. 2. Agarose gel electrophoresis results for the diagnosis of Holstein haplotype 5: lanes 1–5, 7, 8 – wild-type allele (442 b. p.); lane 6 – mutant allele (246 b. p.), М – 100-bp DNA ladder

Таблица 3
Частота встречаемости генетически детерминированных заболеваний крупного рогатого скота голштинской породы

LoF-мутации	Особей исследовано				Число носителей	Носителей, %	Нижнее значение 95 % ДИ	Верхнее значение 95 % ДИ
	Свердловская область	Пермский край	Удмуртская Республика	Краснодарский край				
HH4	65	48	26	–	0	0	0	1,79
HH5	111	–	26	–	1	0,73	0,08	3,36
MW	89	–	24	24	14	10,22	5,98	16,12

Table 3
The incidence of hereditary disorders in Holstein dairy cattle

Lof mutation	Number of animals tested				Number of carriers	Carriers, %	Lower 95 % CI	Upper 95 % CI
	Sverdlovsk region	Perm Krai	Udmurt Republic	Krasnodar Krai				
HH4	65	48	26	–	0	0	0	1.79
HH5	111	–	26	–	1	0.73	0.08	3.36
MW	89	–	24	24	14	10.22	5.98	16.12

Для подбора оптимальных условий амплификации проводили ПЦР с градиентом температур на этапе отжига праймеров. Условия амплификации: предварительная денатурация – 5 мин.; далее 35 циклов: денатурация, отжиг и элонгация – по 20 с каждый. Температуры денатурации и элонгации составили 95 и 72 °С соответственно. Градиент температур на этапе отжига праймеров варьировал от 64 до 56 °С. Наблюдается соответствие длины ампликонов с результатами анализа по базе данных primer BLAST (рис. 1).

При помощи разработанной ПЦР-тест-системы для диагностики голштинского гаплотипа 4 проведен скрининг 139 особей голштинской породы Свердловской области и Республики Удмуртии, носителей в исследованной выборке не обнаружено. На носительство MW всего было исследовано 137 особей голштинской породы Краснодарского края, Свердловской области и Республики Удмуртия, обнаружено 14 носителей – 10,22 % (95 % ДИ: 5,98–16,12). При помощи разработанных наборов в исследованной выборке коров обнаружен 1 носитель HH5, что составляет 0,73 % (95 % ДИ: 0,08–3,36) (таблица 3).

Носители, которые ранее были обнаружены при помощи набора праймеров для диагностики голштинского гаплотипа 5, также выявлены разработанной TaqMan-системой (рис. 2).

Обсуждение и выводы (Discussion and Conclusion)

Синдром врожденной мышечной слабости голштинского скота впервые описан в 2022 году [2]. При помощи ретроспективного анализа определено происхождение мутации до быка Southwind Bell of Bar-Lee (род. 1984). Широкое использование его потомков Roylane Socra Robust-ET и Seagull-Bay Supersire-ET способствовало глобальному распространению генетического нарушения. В исследованной нами выборке частота встречаемости носительства синдрома врожденной мышечной слабости составила 10,22 %. По результатам отечественных и мировых исследований частота носительства MW варьирует от 3 до 38 % в зависимости от географического региона: в США – до 11 % среди коров, в Польше – до 38 % среди быков исследованной выборки, в Российской Федерации (Краснодарский край) – 5,5 % у коров и телок, достигая 28 % в быкопроизводящей группе. По данным Я. А. Хабибрахмановой с соавторами, мутация в гене CACNA1S выявлена у 4,3 % быков-производителей голштинской породы в отечественной популяции (частота мутантной аллели – 2,15 %) [2; 3]. Отсутствие скрининговых исследований привело к накоплению носителей синдрома врожденной мышечной слабости в популяциях крупного рогатого скота, в связи с чем данное генетическое нарушение было включено в список обязательного тестирования согласно Решению Евразийской экономической комиссии от 17 декабря 2024 г. № 140 (приложение № 3 к Решению Коллегии ЕЭК от 02.06.2020 № 74).

В нашем исследовании носителей HH4 не обнаружено, однако А. В. Степанов с соавторами в одном из хозяйств Свердловской области выявили, что частота носительства генетического наруше-

ния составила 1,89 % [15]. Частота встречаемости голштинского гаплотипа 5 в исследованной выборке составила 0,73 %, в более ранних проведенных нами исследованиях частота встречаемости была 1,4 %, что объясняется большей выборкой животных [16]. В исследовании О. С. Романенковой с соавторами с помощью разработанной AS-PCR были проведены скрининговые исследования разводимых в России 1202 быков-производителей и 708 коров голштинской и голштинизированных пород, среди которых обнаруженная частота встречаемости носителей – 3,24 % и 1,41 % среди быков-производителей и коров соответственно [17]. Таким образом, представленные данные подтверждают значительную вариабельность частоты носительства MW, HH4 и HH5 в разных популяциях крупного рогатого скота и свидетельствуют о необходимости регулярного мониторинга данных мутаций в селекционных программах.

Впервые были созданы тест-системы для детекции аллелей голштинских гаплотипов 4, 5 и синдрома врожденной мышечной слабости в режиме реального времени. Наша разработка позволяет проводить быструю диагностику данных рецессивных летальных и сублетальных мутаций.

Носителей голштинского гаплотипа 4 не было обнаружено ни в одной из исследованных популяций. HH5 выявлен только у одного животного исследованной выборки. Носители MW обнаружены среди коров голштинской породы Краснодарского края, Свердловской области и Республики Удмуртия. В связи с высокой частотой распространения синдрома врожденной мышечной слабости в популяциях крупного рогатого скота необходимо проводить мониторинговые исследования племенных производителей и доноров эмбрионов животных для обеспечения устойчивого развития животноводства в регионе.

Библиографический список

1. Ciacia M. G., Phipps A. J. Early-onset muscle weakness syndrome (MW) in an Australian Holstein calf // Australian Veterinary Journal. 2025. Vol. 103, No. 5. Pp. 298–303. DOI: 10.1111/avj.13431.
2. Алтухова Н. С., Подвальнова Д. С. Синдром ранней мышечной слабости голштинского скота: молекулярные механизмы, эпидемиология и стратегии контроля // Тимирязевский биологический журнал. 2026. Т. 4, № 1. Article number 301. DOI: 10.26897/2949-4710-2026-4-1-3-01.
3. Хабибрахманова Я. А., Калашникова Л. А., Багаль И. Е. [и др.] Частота генетических дефектов у быков-производителей голштинской породы // Ветеринария и кормление. 2025. № 7. С. 76–79.
4. Ковалюк Н. В., Волченко А. Е., Ширяева Е. В. [и др.] Тестирование и распространение новой генетической аномалии крупного рогатого скота голштинской породы HMW (OMIA ID 002819-9913) // Молочное и мясное скотоводство. 2024. № 3. С. 8–10.
5. Gozdek M., Mucha S., Prostek A., Kamola D., Sadkowski T. Distribution of recessive genetic defect carriers in Holstein Friesian cattle: a Polish perspective // Animals. 2024. Vol. 14, No. 22. Article number 3170. DOI: 10.3390/ani14223170.
6. Ковалюк Н. В., Волченко А. Е., Ширяева Е. В., Якушева Л. И., Шахназарова Ю. Ю. Тест-система для идентификации гаплотипа фертильности HH4 и его распространение среди быков производителей голштинской породы // Сборник научных трудов КНИЦЗВ. 2023. Т. 12, № 2. С. 4–6. DOI: 10.48612/sbornik-2023-2-1.

7. Zhang Y., Liang D., Huang H., et al. Technical note: development and application of KASP assays for rapid screening of 8 genetic defects in Holstein cattle // *Journal of Dairy Science*. 2020. Vol. 103, No. 1. Pp. 619–624. DOI: 10.3168/jds.2019-16345.
8. Khatib A., Prokhortchouk E., Mazur A. M. The distribution of lethal Holstein haplotypes affecting female fertility among the Russian black-and-white cattle // *Eurasian Journal of Biosciences*. 2020. Vol. 14, No. 2. Pp. 2545–2552.
9. Kalendar R., Lee D., Schulman A.H. Java web tools for PCR, in silico PCR, and oligonucleotide assembly and analysis // *Genomics*. 2011. Vol. 98, No. 2. Pp. 137–144. DOI: 10.1016/j.ygeno.2011.04.009.
10. Kalendar R., Khasenov B., Ramankulov Y., Samuilova O., Ivanov K. I. FastPCR: an in silico tool for fast primer and probe design and advanced sequence analysis // *Genomics*. 2017. Vol. 109, No. 3-4. Pp. 312–319. DOI: 10.1016/j.ygeno.2017.05.005.
11. Ye J., Coulouris G., Zaretskaya I., et al. Primer-BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction // *BMC Bioinformatics*. 2012. Vol. 13, No. 1. Article number 134. DOI: 10.1186/1471-2105-13-134.
12. Owczarzy R., Tataurov A. V., Wu Y., et al. IDT SciTools: a suite for analysis and design of nucleic acid oligomers // *Nucleic Acids Research*. 2008. Vol. 36. No. suppl_2. Pp. W163–W169.
13. Breslauer K. J., Frank R., Blöcker H., Marky L. A. Predicting DNA duplex stability from the base sequence // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1986. Vol. 83, No. 11. Pp. 3746–3750.
14. Sergeant E. S. G. Epitools epidemiological calculators [Электронный ресурс] // *Ausvet*. 2018. URL: <https://epitools.ausvet.com.au/ciproportion> (дата обращения: 06.06.2026).
15. Степанов А. В., Быкова О. А., Костюнина О. В., Зырянова А. А., Шевкунов О. А. Идентификация гаплотипов, определяющих плодовитость крупного рогатого скота // *Аграрный вестник Урала*. 2024. Т. 24, № 7. С. 921–931. DOI: 10.32417/1997-4868-2024-24-07-921-931.
16. Бытов М. В., Зубарева В. Д., Зайцева О. С. [и др.] Разработка диагностических тест-систем и скрининг гаплотипов фертильности крупного рогатого скота голштинской породы // *Достижения науки и техники АПК*. 2025. Т. 39, № 4. С. 58–65. DOI: 10.53859/02352451_2025_39_4_58.
17. Романенкова О. С., Зиновьева Н. А., Костюнина О. В., Волкова В. В. Диагностика гаплотипа HH5 в стадах голштинского и голштинизированного черно-пестрого скота России // *Молочное и мясное скотоводство*. 2018. № 6. С. 13–16. DOI: 10.25632/MMS.2018.2018.20295.

Об авторах:

Владлена Дмитриевна Зубарева, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела геномных исследований и селекции животных, Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия; ORCID 0000-0003-0284-0276, AuthorID 110995. E-mail: zzub97@mail.ru

Максим Владимирович Бытов, младший научный сотрудник отдела геномных исследований и селекции животных, Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия; ORCID 0000-0002-3622-3770, AuthorID 1121043. E-mail: bytovmaks@mail.ru

Николай Александрович Мартынов, лаборант отдела геномных исследований и селекции животных, Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия; ORCID 0000-0001-9251-0056, AuthorID 1120361. E-mail: martynov_kolya98@mail.ru

Ольга Сергеевна Зайцева, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник отдела геномных исследований и селекции животных, Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия; ORCID 0000-0003-0005-2161, AuthorID 324382. E-mail: bodrova-zaizeva@mail.ru

Марина Андреевна Печенкина, лаборант отдела геномных исследований и селекции животных, Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук, Екатеринбург, Россия; ORCID 0009-0002-1561-5553, AuthorID 1319773. E-mail: pn190503@mail.ru

References

1. Ciacia M. G., Phipps A. J. Early-onset muscle weakness syndrome (MW) in an Australian Holstein calf. *Australian Veterinary Journal*. 2025; 103 (5): 298–303. DOI: 10.1111/avj.13431.
2. Altukhova N. S., Podvalnova D. S. Early-onset muscle weakness syndrome in Holstein cattle: molecular mechanisms, epidemiology, and control strategies. *Timiryazev Biological Journal*. 2026; 4: 301. DOI: 10.26897/2949-4710-2026-4-1-3-01. (In Russ.)

3. Khabibrakhmanova Ya. A., Kalashnikova L. A., Bagal I. E., et al. Frequency of genetic defects in Holstein breeding bulls. *Veterinaria i kormlenie*. 2025; 7: 76–79. DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2025-7-18. (In Russ.)
4. Kovalyuk N. V., Volchenko A. E., Shiryaeva E. V., et al. Testing and distribution of a new genetic anomaly in Holstein cattle HMW (OMIA ID 002819-9913). *Dairy and Beef Cattle Farming*. 2024; 3: 8–10. DOI: 10.33943/MMS.2024.94.40.0029913. (In Russ.)
5. Gozdek M., Mucha S., Prostek A., Kamola D., Sadkowski T. Distribution of recessive genetic defect carriers in Holstein Friesian cattle: a Polish perspective. *Animals*. 2024; 14 (22): 3170. DOI: 10.3390/ani14223170.
6. Kovalyuk N. V., Volchenko A. E., Shiryaeva E. V., Yakusheva L. I., Shakhnazarova Yu. Yu. A test system for the identification of the fertility haplotype HH4 and its distribution among the Holstein breeding bulls. *Collection of Scientific Papers of KRCAHVM*. 2023; 12 (2): 4–6. DOI: 10.48612/sbornik-2023-2-1. (In Russ.)
7. Zhang Y., Liang D., Huang H., et al. Technical note: Development and application of KASP assays for rapid screening of 8 genetic defects in Holstein cattle. *Journal of Dairy Science*. 2020; 103 (1): 619–624. DOI: 10.3168/jds.2019-16345.
8. Khatib A., Prokhortchouk E., Mazur A. M. The distribution of lethal Holstein haplotypes affecting female fertility among the Russian black-and-white cattle. *Eurasian Journal of Biosciences*. 2020; 14 (2): 2545–2552.
9. Kalendar R., Lee D., Schulman A.H. Java web tools for PCR, in silico PCR, and oligonucleotide assembly and analysis. *Genomics*. 2011; 98 (2): 137–144. DOI: 10.1016/j.ygeno.2011.04.009.
10. Kalendar R., Khassenov B., Ramankulov Y., Samuilova O., Ivanov K. I. FastPCR: An in silico tool for fast primer and probe design and advanced sequence analysis *Genomics*. 2017; 109 (3-4): 312–319. DOI: 10.1016/j.ygeno.2017.05.005.
11. Ye J., Coulouris G., Zaretskaya I., Cutcutache I., Rozen S., Madden T. L. Primer-BLAST: a tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC Bioinformatics*. 2012; 13 (1): 134. DOI: 10.1186/1471-2105-13-134.
12. Owczarzy R., Tataurov A. V., Wu Y., et al. IDT SciTools: a suite for analysis and design of nucleic acid oligomers. *Nucleic Acids Research*. 2008; 36 (suppl_2): W163–W169. DOI: 10.1093/nar/gkn198.
13. Breslauer K. J., Frank R., Blöcker H., Marky L. A. Predicting DNA duplex stability from the base sequence. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1986; 83 (11): 3746–3750. DOI: 10.1073/pnas.83.11.3746.
14. Sergeant E. S. G. Epitools epidemiological calculators. *Ausvet* [Internet]. 2018 [cited 2026 Jun 06]. Available from: <https://epitools.ausvet.com.au/ciproportion>.
15. Stepanov A. V., Bykova O. A., Kostyunina O. V., Zyryanova A. A., Shevkunov O. A. Identification of haplotypes determining fertility in cattle. *Agrarian Bulletin of the Urals*. 2024; 24 (7): 921–931. DOI: 10.32417/1997-4868-2024-24-07-921-931. (In Russ.)
16. Bytov M. V., Zubareva V. D., Zaytseva O. S., et al. Development of diagnostic test systems and screening of fertility haplotypes in Holstein cattle. *Achievements of Science and Technology of AIC*. 2025; 39 (4): 58–65. DOI: 10.53859/02352451_2025_39_4_58. (In Russ.)
17. Romanenkova O. S., Volkova V. V., Kostyunina O. V., Zinovyeva N. A. Diagnostics of HH5 haplotype in herds of Holstein and Holsteinized Black-and-White cattle in Russia. *Dairy and Beef Cattle Farming*. 2018; 6: 13–19. DOI: 10.25632/MMS.2018.2018.20295. (In Russ.)

Authors' information:

Vladlena D. Zubareva, candidate of veterinary sciences, senior researcher at the department of genomic research and animal breeding, Ural Federal Agrarian Research Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia; ORCID 0000-0003-0284-0276, AuthorID 110995. *E-mail: zzub97@mail.ru*

Maksim V. Bytov, junior researcher at the department of genomic research and animal breeding, Ural Federal Agrarian Research Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia; ORCID 0000-0002-3622-3770, AuthorID 1121043. *E-mail: bytovmaks@mail.ru*

Nikolay A. Martynov, laboratory assistant at the department of genomic research and animal breeding, Ural Federal Agrarian Research Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia; ORCID 0000-0001-9251-0056, AuthorID 1120361. *E-mail: martynov_kolya98@mail.ru*

Olga S. Zaytseva, candidate of veterinary sciences, senior researcher at the department of genomic research and animal breeding, Ural Federal Agrarian Research Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia; ORCID 0000-0003-0005-2161, AuthorID 324382. *E-mail: bodrova-zaizeva@mail.ru*

Marina A. Pechenkina, laboratory assistant at the department of genomic research and animal breeding, Ural Federal Agrarian Research Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia; ORCID 0009-0002-1561-5553, AuthorID 1319773. *E-mail: pn190503@mail.ru*