СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ БИОЛОГИЯ, 2016, том 51, № 4, с. 423-435

Обзоры, проблемы

УДК 636.234.1:636.082:57.017.53:577.21 doi: 10.15389/agrobiology.2016.4.423rus

ГАПЛОТИПЫ ФЕРТИЛЬНОСТИ ГОЛШТИНСКОГО СКОТА*
(обзор)

Н.А. ЗИНОВЬЕВА

Голштинскую породу крупного рогатого скота разводят по крайней мере в 161 стране, на долю животных голштинской и голштинизированной черно-пестрой пород в общем поголовье молочного скота в России приходится более 65 %. Однако на фоне постоянного увеличения молочной продуктивности у коров голштинской породы наблюдается снижение репродуктивной способности (A. Barbat с соавт., 2010). В настоящее время такое снижение связывают с генетическими факторами. Поступательный рост гомозиготности в культурных породах крупного рогатого скота (КРС) обусловливает возрастание негативного влияния LoF-мутаций (loss-of-function) на фертильность коров. Диагностика LoF-мутаций, ассоциированных с летальными наследственными заболеваниями, становится одним из ключевых элементов в системе генетического мониторинга популяций сельскохозяйственных животных (Ю.А. Столповский, 2010; Н.С. Марзанов с соавт., 2012). Существенный прогресс в идентификации LoF-мутаций, ассоциированных с фертильностью, был достигнут с разработкой нового подхода, названного картированием гомозиготности (C. Charlier с соавт., 2008). Он основан на генотипировании десятков тысяч SNP (single nucleotide polymorphism) с помощью чипов средней и высокой плотности и последующей идентификации регионов с потерей гомозиготности, то есть характеризующихся отсутствием одного из гомозиготных генотипов. Этот подход позволяет выявлять области хромосом, которые служат регионами-кандидатами для локализации гаплотипов фертильности, ассоциированных с эмбриональной и ранней постэмбриональной смертностью. В течение последних нескольких лет гаплотипы фертильности были идентифицированы практически во всех основных породах молочного скота: голштинской (P.M. VanRaden с соавт., 2011; S. Fritz с соавт., 2013; T.A. Cooper с соавт., 2013), джерсейской (P.M. VanRaden с соавт., 2011; T.S. Sonstegard с соавт., 2013), бурой швицкой (P.M. VanRaden с соавт., 2011; T.A. Cooper с соавт., 2013; M. McClure с соавт., 2013), монбельярдской (S. Fritz с соавт., 2013), айрширской (T.A. Cooper с соавт., 2013), симментальской (H. Pausch с соавт., 2015), у красного нордического скота (N.K. Kadri с соавт., 2014). В представленном обзоре обобщены результаты идентификации LoF-мутаций, приводящих к нарушениям воспроизводства, в геноме голштинского скота. В настоящее время в голштинской породе регистрируется 10 гаплотипов фертильности (HCD, HH0, HH1, HH2, HH3, HH4, HH5, HHB, HHC, HHD), оказывающих влияние на степень стельности и(или) ассоциированных с эмбриональной и ранней постэмбриональной смертностью на различных стадиях (J.B. Cole с соавт., 2016). Рассматриваются возможные причины распространения гаплотипов фертильности в популяциях крупного рогатого скота: интенсивное использование в искусственном осеменении быков — скрытых носителей, значительный период времени от возникновения до идентификации мутаций (18-59 лет), возможная связь гаплотипов фертильности с показателями молочной продуктивности. Дана характеристика хромосомной локализации гаплотипов фертильности, показано их влияние на степень стельности, приводятся частоты встречаемости в североамериканской популяции голштинов, описаны стадии стельности и возраст телят, на которые приходится гибель плодов и телят — носителей гаплотипов фертильности. Представлена информация о быках-производителях, ставших родоначальниками гаплотипов фертильности. Дана характеристика генов и соответствующих LoF-мутаций, ассоциированных с гаплотипами фертильности. Показано, что отцы более 5 % быков-производителей, используемых в Российской Федерации, — скрытые носители гаплотипов фертильности. Это обусловливает актуальность скрининга российской популяции голштинского и голштинизированного скота с целью выявления скрытых носителей. Отмечается важная роль ДНК-диагностики в контроле и элиминации гаплотипов фертильности и ассоциированных с ними генетических дефектов в российской популяции племенного скота. Так, в первые 1-2 года генетического мониторинга среди быков-производителей диагностировалось более 5 % скрытых носителей CVM и около 3 % скрытых носителей BLAD, в то время как в настоящее время эти мутантные аллели отсутствуют.

Ключевые слова: голштинская порода, эмбриональная смертность, генетические дефекты, гаплотипы фертильности.

Голштинская порода крупного рогатого скота используется для

* Исследования выполнены при поддержке государства в лице Минобрнауки России, проект № 14.604.21.0062, уникальный идентификационный номер RFMEFI60414X0062.

производства молока во всем мире. По данным FAO (Food and Agriculture Organization), ее разводят по крайней мере в 161 стране (1). На долю животных голштинской и голштинизированной черно-пестрой пород в общем поголовье молочного скота в России приходится более 65 % (2).

Однако на фоне постоянного поступательного роста молочной продуктивности у коров голштинской породы наблюдается снижение репродуктивной способности (3). Так, в американской популяции голштинских коров с 1976 по 1999 год сервис-период (период от рождения потомства до первого результативного осеменения) увеличился со 126 до 169 сут (4); с 1970 по 2000 год число осеменений, необходимых для достижения стельности, увеличилось с 1,8 до 3,0, а интервал между отелами — с 13,5 до 14,9 мес (5); с 1972 по 1996 год доля стельностей после первого осеменения снизилась с 62 до 34 % (6).

В России частота наступления стельности коров после первого осеменения составляет 40-50 % (7). До недавнего времени снижение воспроизводительной способности связывали главным образом с послеродовыми проблемами клинического характера, а также с развитием метаболического стресса, обусловленного лактацией. В настоящее время считается, что по крайней мере половина такого снижения обусловлена генетическими факторами (5, 8, 9).

Исследование нескольких сотен человеческих геномов, полученных с использованием NGS-технологий (new generation sequencing), показало, что усредненный геном несет 250-300 вариантов последовательностей с нарушением функций (LoF, loss-of-function), 50-100 из которых локализованы в генах заболеваний (10, 11) и около 20 представляют собой полностью инактивированные гены (12). Сходная вариабельность геномов человека и крупного рогатого скота позволяет предположить наличие приблизительно равного числа LoF-мутаций в геноме последнего (13).

В настоящем обзоре обобщены результаты исследований по идентификации LoF-мутаций у голштинского крупного рогатого скота, ассоциированных с эмбриональной и ранней постэмбриональной смертностью и обозначенных как гаплотипы фертильности. Открытие целого ряда LoF-мутаций стало возможным благодаря разработке и применению нового подхода — так называемого картирования гомозиготности.

Возрастание негативного влияния LoF-мутаций на фертильность коров связывают с поступательным ростом гомозиготности в культурных породах, поскольку в гомозиготном состоянии такие мутации могут быть летальными, приводя к эмбриональной гибели. Так, средний коэффициент инбридинга у голштинского скота в США вырос с 0,22 % в 1965 году до 6,53 % в 2015 году (14). Причинами возрастания степени инбридинга стали относительно низкое исходное генетическое разнообразие в большинстве молочных пород как следствие их происхождения от ограниченного числа родоначальников; интенсивное использование для искусственного осеменения относительно небольшого числа выдающихся быков-производителей, практикуемое в течение более 50 лет; жесткая селекция по ограниченному числу признаков (15). Некоторые голштинские быки стали отцами нескольких тысяч сыновей, оцененных по качеству потомства, и нескольких сотен тысяч и даже более миллиона лактирующих дочерей. Кроме того, из приблизительно 5000 быков, оцениваемых ежегодно по качеству потомства, почти 50 % — потомки 10 наиболее популярных быков (16). В этой связи диагностика LoF-мутаций, ассоциированных с летальными наследственными заболеваниями, становится одним из клю-

чевых элементов в системе генетического мониторинга популяций сельскохозяйственных животных (17, 18).

Число LoF-мутаций, обусловливающих наследственные аномалии и вызывающих эмбриональную и раннюю постэмбриональную смертность, в молочных породах крупного рогатого скота до недавнего времени ограничивалось единицами. Так, в голштинской породе были идентифицированы LoF-мутации, вызывающие следующие наследственные заболевания: дефицит уридинмонофосфатсинтазы (deficiency of uridine monophosphate synthase, DUMPS) (19), дефицит лейкоцитарной адгезии (bovine leukocyte adhesion deficiency, BLAD) (20), комплексный порок позвоночника (complex vertebral malformation, CVM) (21), брахиспинальный синдром (brachyspina syndrome, BY) (22); в бурой швицкой породе с проявлением LoF-мутаций связывали синдром Вивера (23).

Существенный прогресс в идентификации LoF-мутаций, ассоциированных с фертильностью, был достигнут с разработкой нового подхода, названного картированием гомозиготности. Он основан на генотипировании десятков тысяч SNP (single nucleotide polymorphism) с помощью чипов средней и высокой плотности и последующей идентификации регионов с потерей гомозиготности, то есть характеризующихся отсутствием одного из гомозиготных генотипов. Примером может служить чип Bovine SNP50 v2 BeadChip («Illumina», США), позволяющий проводить анализ 54609 SNP.

Подобные участки генома рассматриваются в качестве кандидатов для локализации генов, несущих LoF-мутации. Предложенный метод позволяет осуществлять идентификацию летальных генетических дефектов в течение очень короткого периода времени и при наличии ограниченного числа случаев их проявления (24). Применение нового подхода позволило в течение последних нескольких лет идентифицировать такие дефекты практически во всех основных породах молочного скота: голштинской (25-27), джерсейской (25, 28), бурой швицкой (25, 27, 29), монбельярдской (26), айрширской (27), симментальской (30), у красного нордического скота (31). Выявленные посредством картирования гомозиготности дефекты получили название гаплотипов фертильности. Известные ранее генетические дефекты DUMPS, BLAD, CVM и Брахиспина были также подтверждены с использованием этого подхода. Если для диагностики генетических дефектов используется ДНК-чип, то результаты интерпретируются как идентификация соответствующих гаплотипов (HHD, HHB, HHC, HH0), в то время как при прямом анализе причинной мутации речь идет об идентификации собственно генетических дефектов.

В голштинской породе в настоящее время регистрируется 10 гаплотипов фертильности (HCD, HH0, HH1, HH2, HH3, HH4, HH5, HHB, HHC, HHD), оказывающих влияние на процент успешных осеменений (с наступлением стельности) и(или) ассоциированных с эмбриональной и ранней постэмбриональной смертностью на различных стадиях и встречающихся с частотой от 0,01 до 2,95 % (32) (рис. 1). Негативное влияние этих гаплотипов, оцененное в популяции североамериканских голштинов, проявляется в снижении частоты осеменений, завершившихся стельностью (при спаривании коров, отцы которых были скрытыми носителями гаплотипа, с быками, содержащими в геноме аналогичный гаплотип), на 1,0-9,9 % (25-27).

Распространению гаплотипов фертильности способствует то, что их носители — выдающиеся быки-производители, которых предпочитают использовать в системе искусственного осеменения. Например, знаменитый бык Carlin-M Ivanhoe BELL оказался скрытым носителем гаплотипов HHB

и ННС. Однако только в США от него получили более 79000 лактирующих дочерей и более 1200 оцененных сыновей (33).

Носителями гаплотипа НН1 были два интенсивно вовлекавшихся в воспроизводство быка-производителя — Pawnee Farm Arlinda CHIEF (1962 год рождения) и его сын Walkway Chief MARK (1978 год рождения). От последнего получено более 60 тыс. дочерей и сыновья, ставшие активно используемыми быками-производителями (34). Установлено, что с каждым из двух этих быков связано около 7 % аллелофонда современной североамериканской популяции голштинов (35).

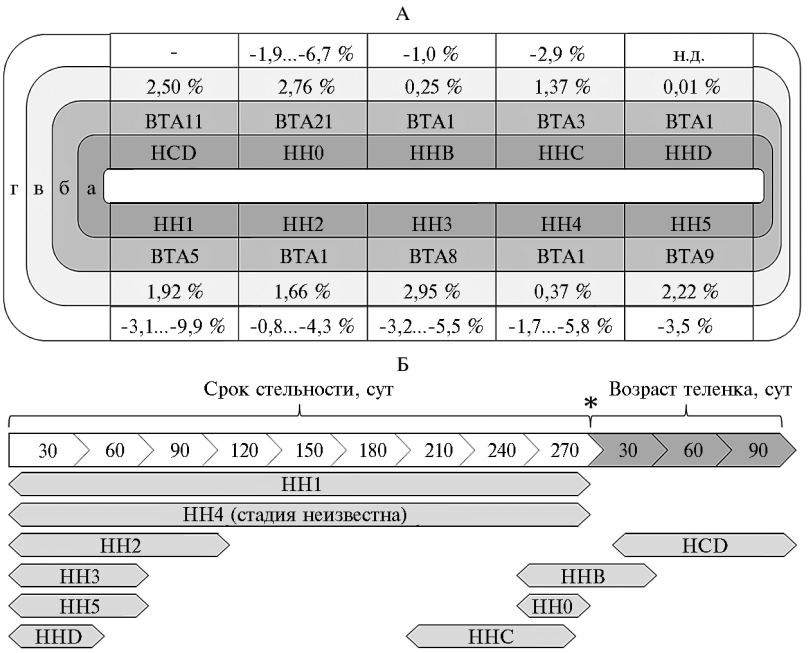

Рис. 1. Краткая характеристика гаплотипов фертильности у голштинского скота.

А — хромосомная локализация, распространение и фенотипическое проявление гаплотипов фертильности голшинского скота: а — гаплотипы фертильности голштинского скота; б — аутосомы крупного рогатого скота (BTA), на которых локализованы гены, ассоциированные с гаплотипами фертильности; в — частота встречаемости гаплотипа (составляет $^1/_2$ от частоты скрытых носителей) в североамериканской популяции голштинов; г — снижение частоты стельности у коров, отцы которых были скрытыми носителями дефекта, при спаривании с быками — скрытыми носителями аналогичного дефекта, рассчитанное для североамериканской и французской популяций голштинов. Прочерк означает, что стельность протекает нормально, а гибель теленка происходит в течение 1-2 мес жизни; н.д. — не диагностировалось.

Б — схематическое отображение сроков гибели плодов (телят) — гомозиготных носителей гаплотипов фертильности. Срок стельности коров-матерей указан на шкале с белой заливкой, начиная с осеменения (принимается за 0-е сут); дата отела маркирована звездочкой. Шкала, отражающая возраст теленка, начинается с даты отела (принимается за 0-е сут) и показана серой заливкой. Гаплотипы фертильности (HCD, HH0, HH1, HH2, HH3, HH4, HH5, HHB, HHC, HHD) указаны внутри стрелок, расположение которых относительно шкалы срока стельности и шкалы возраста теленка показывает вероятный период, когда происходит гибель плода или теленка, гомозиготного по соответствующему гаплотипу.

Широкое распространение гаплотипа HH4 произошло через французского быка JOCKO BESNE, от которого было получено более 1,7 млн доз семени. В базах данных голштинского скота в 21 стране имеются учетные записи о продуктивности более 160 тыс. его дочерей. Число ферм во Франции, на которых используются дочери JOCKO BESNE, — свыше 23000 (36).

Другая причина накопления гаплотипов фертильности в популяци-

ях скота — длительный интервал (18-59 лет) от возникновения мутаций до их идентификации и разработки тест-систем для скрининга и выявления скрытых носителей (рис. 2).

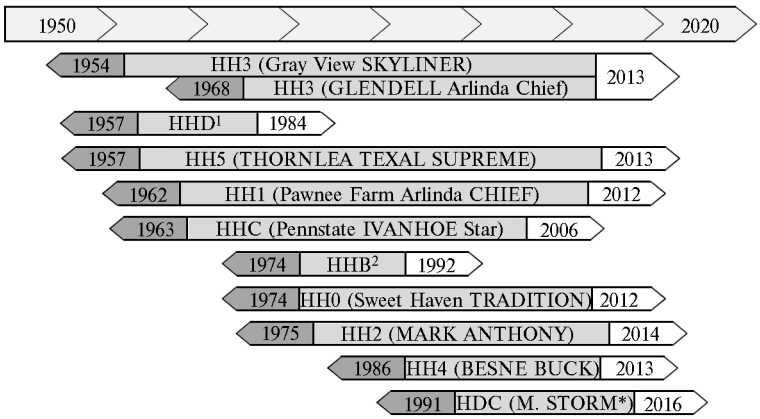

Рис. 2. Период от рождения голштинских быков — родоначальников гаплотипов фертильности до идентификации соответствующих мутаций. По каждому гаплотипу стрелка ориентирована по шкале времени (вверху) от года рождения быка-родоначальника (слева) до года идентификации соответствующей мутации (справа). Название гаплотипа приведено в скобках в центральной части стрелки с указанием клички соответствующего быка-родоначальника (HHD[1] — Skokie Sensation NED; HHB[2] — Carlin-M Ivanhoe BELL). Звездочкой отмечен наиболее ранний описанный носитель мутации (точный родоначальник неизвестен).

В качестве еще одной причины распространения гаплотипов фертильности можно рассматривать их возможную ассоциацию с продуктивными качествами. Так, анализ ~ 3 млн записей параметров продуктивности у 1,7 млн дочерей быков с известными генотипами по HHC показал, что дочери быков — скрытых носителей HHC имели более высокий удой (в среднем на 160 кг) и больший выход молочного жира (на 4 кг) и белка (на 5 кг) (37). В настоящее время установлены гены и точная локализация соответствующих LoF-мутаций для 9 гаплотипов фертильности голштинского скота (табл.).

Гены и соответствующие LoF-мутации, ассоциированные с гаплотипами фертильности у голштинского скота

Гаплотип	OMIA ID	Ген		Полиморфизм		Ссылка
		символ	наименование (дефект)	позиции	тип	
HCD	001965	*APOB*	Аполипопротеин B (дефицит холестерина; cholesterol deficiency haplotype, CDH)	77.958.994	1,3 kb Ins (G135Vfs10X)	(38-40)
HH0	000151	*FANCI*	Анемия Фанкони, комплементарная группа I (брахиспина; brachyspina syndrome, BY)	21.184.869-21.188.198	Del (V877Lfs27X)	(22, 41)
HH1	000001	*APAF1*	Фактор 1, активирующий апоптические протеазы; apoptic protease-activating factor 1	63.150.400	C→T (Q579X)	(42)
HH2	001823	–	–	94.860.836-96.553.339	–	(25, 43)
HH3	001824	*SMC2*	Белок структурной поддержки хромосом 2	95.410.507	T→C (F1135S)	(43, 44)
HH4	001826	*GART*	Фосфорибозилглицинамид-синтетаза	1.277.227	A→C (N290T)	(26)
HH5	001941	*TFB1M*	Митохондриальный транскрипционный фактор B1	93.232.651-93.370.998	138 kb Del	(27, 45)
HHB	000595	*ITGB2*	β-Интегрин (дефицит лейкоцитарной адгезии; bovine leukocyte adhesion deficiency, BLAD)	145.119.004	A→G	(20)
HHC	001340	*SLC35A3*	Член A3 семейства транспортеров растворенных веществ 35 (комплексный порок позвоночника; complex vertebral malformation, CVM)	43.411.473	G→T (V180F)	(21)
HHD	000262	*UMPS*	Уридинмонофосфатсинтаза (дефицит уридинмонофосфатсинтазы; deficiency of uridine monophosphate synthase, DUMPS)	69.757.801	T→C (R1247X)	(19)

Примечание. OMIA ID — идентификационный номер в базе данных Online Mendelian Inheritance in Animals. Прочерки означают, что ген и мутация пока не идентифицированы.

Гаплотип HCD, приводящий к гибели телят в первые недели или месяцы жизни от последствий, вызванных идиопатической диареей, картирован на 11-й хромосоме (38). Причина HCD — инсерция мобильного LTR-элемента (ERV2-1) размером 1299 bp после позиции 77.958.994 BTA11 (UMD3.1), расположенная между 24-м и 25-м нуклеотидами экзона 5 в гене аполипопротеина B (*APOB*, apolipoprotein B) (39). В независимом исследовании (40) локализацию мутации подтвердили, однако полный размер инсерции эндогенного ретровирусного элемента (BoERV) оценили равным примерно 7 kb. Инсерция обусловливает сдвиг рамки считывания, начиная от аминокислоты APOB в позиции 135 (Gly135ValfsX10), и приводит к отсечению 97 % соответствующего белка длиной 4567 аминокислот. APOB занимает центральное место в системе аполипопротеинов и служит обязательным компонентом липопротеинов низкой плотности и хиломикронов. Выявленный дефект аналогичен наследственной гипобеталипопротеинэмии 1 (familial hypobetalipoproteinemia 1, FHBL1) у человека (OMIM № 615558), которая характеризуется гипохолестеринэмией и отсутствием абсорбции жирорастворимых витаминов, что приводит к деградации сетчатки.

Гаплотип HH0, ассоциированный с мертворождением, картирован в области 20-25 Mb на 21-й хромосоме (25). Была установлена связь с гаплотипом HH0 делеции размером 3,3 kb в гене *FANCI* (Fanconi anemia complementation group I), которая включала экзоны 25-27-й из 37 экзонов, интроны 25-й, 26-й и частично интроны 24-й и 27-й (41). FANCI необходим для поддержания хромосомной стабильности. Специфически связываясь как с одноцепочечной, так и с двухцепочечной ДНК, этот белок принимает участие в активации на фазах S и G_2 клеточного цикла. FANCI играет важную роль в репарации разрывов двухцепочечной ДНК посредством гомологической рекомбинации и в репарации межцепочечных кросслинков (interstrand crosslink, ICL). Мутация в гене *FANCI* у крупного рогатого скота обусловливает нарушения эмбрионального развития, проявляющиеся в снижении массы плода, нарушении роста, позвоночных уродствах в форме укорочения позвоночного столба и удлинении конечностей. Кроме того, отмечаются аномалии развития внутренних органов, в частности сердца, почек и гонад.

Гаплотип HH1, связанный с эмбриональной смертностью на разных сроках стельности, картирован на 5-й хромосоме в области 58-66 Mb (25, 26). Установлено, что причиной снижения фертильности, ассоциированной с HH1, служит нонсенс-мутация C→T в гене фактора 1, активирующего апоптотические протеазы (apoptotic peptidase-activating factor 1, *APAF1*), приводящая к замене Gln Stop в позиции 579 аминокислотной последовательности (42). Функциональный пептид APAF1 инициирует апоптоз и необходим для нормального эмбрионального развития (46).

Гаплотип HH2, который становится причиной гибели плодов до 100-х сут стельности, картирован в области 92-97 Mb на 1-й хромосоме (25). Позднее для HH2 было указано расположение между позициями 94.860.836 и 96.553.339 (43), однако точная локализация мутации до настоящего времени не установлена.

Гаплотип HH3, с которым связана эмбриональная смертность до 60-х сут стельности, картирован на 8-й хромосоме на участке 90-95 Mb (25). По уточненным данным, область локализации HH3 — 94-96 Mb (26), установлена его ассоциация с мутацией в гене структурной поддержки хромосом 2 (*SMC2*, structural maintenance of chromosomes 2), также известном как chromosome-associated polypeptide E (ассоциированный с хромо-

сомами полипептид Е) (30). Причина НН3 — несинонимичная замена Т→С в позиции 95.410.507 24-го экзона в гене *SMC2*, приводящая к аминокислотной замене Phe→Ser в положении 1135 в НТФазном домене кодируемого белка (43, 44, 47). Являясь субъединицей конденсинов I и II — больших белковых комплексов, SMC2 участвует в репарации ДНК, конденсации хромосом и их сегрегации в процессе клеточного деления (48).

Гаплотип НН4, приводящий к эмбриональной смертности (стадия неизвестна) локализован на 1-й хромосоме в области 1,9-3,3 Mb (26). Установлено, что гаплотипу НН4 соответствует миссенс-мутация А→С в положении 1.277.227 в гене фосфорибозилглицинамид-синтетазы (*GART*, glycinamide ribonucleotide formyltransferase), приводящая к аминокислотной замене Asn→Thr в позиции 290 (26). GART — трифункциональный пептид, который участвует в биосинтезе пуринов de novo (49) и необходим для нормального эмбрионального развития.

Гаплотип НН5, обусловливающий эмбриональные потери до 2 мес стельности, картирован на 9-й хромосоме (25) в области 92.350.052-93.910.957 (27). Установлено, что причина эмбриональной смертности, ассоциированной с НН5, — делеция размером 138 kb (точки разрыва и слияния соответственно в позициях 93.232.651 и 93.370.998 UMD_3.1). На участках, прилегающих к разрывам с обеих сторон, найдены повторяющиеся элементы — член семейства Bov-B (upstream) и L1ME3 из семейства L1 LINE (downstream). Исходя из этого, был сделан вывод, что мутационное событие произошло вследствие гомологичной рекомбинации/делеции. Делеция затрагивает полную последовательность гена диметиладенозинтрансферазы 1, известного также как ген митохондриального транскрипционного фактора В1 (mitochondrial transcription factor B1, *TFB1M*) (45). TFBM1 необходим для инициации трансляции белков в митохондриях, поэтому его отсутствие у животных, гомозиготных по мутации, вызывает летальный эффект.

Методом картирования гомозиготности были подтверждены ассоциации гаплотипов ННВ (локализован в области 141-146 Mb на 1-й хромосоме), ННС (40-46 Mb на 3-й хромосоме) и ННD (55-73 Mb на 1-й хромосоме) с ранее открытыми наследственными дефектами — соответственно дефицитом лейкоцитарной адгезии у крупного рогатого скота (BLAD), комплексным пороком позвоночника (CVM) и дефицитом уридинмонофосфатсинтазы (DUMPS) (25).

Известно, что причина BLAD — замена А→G в позиции 383 гена β-интегрина (integrin beta 2, *ITGB2*), приводящая к аминокислотной замене Asp→Gly (20). ITGB — мембранный белок, компонент гетеродимерного поверхностного гликопротеина, состоящего из субъединиц α и β, который необходим для обеспечения агрегации тромбоцитов. Интегрины влияют на онтогенез, гемостаз, тромбоз, заживление ран, метастазирование опухолей, а также на иммунную защиту. Мутация в *ITGB* приводит к нарушению взаимодействия β-субъединицы с α-субъединицами, что делает лейкоциты неспособными проникать из кровяного русла к месту инфекции (50), нарушая тем самым иммунную защиту организма.

Причина CVM — миссенс-мутация G→T в позиции 599 в гене члена А3 семейства транспортеров растворенных веществ 35 (solute carrier family 35, member A3, *SLC35A3*), приводящая к аминокислотной замене Val→Phe в позиции 180 (51). SLC35A3 (UDP-N-ацетилглюкозамин, UDP-GlcNAc, транспортер), известный также как DKFZp781P1297, отвечает за транспорт UDP-N ацетилглюкозамина в полости комплекса Гольджи. Мутация в гене *SLC35A3* приводит к нарушению его функции. Дан-

ные, полученные при анализе 62062 осеменений с использованием быков — скрытых носителей мутации и их дочерей, показали, что большинство (до 77 %) плодов-носителей резорбируются или погибают до 260-х сут стельности, при этом аборты могут происходить на любых сроках (52). Остальные стельности заканчиваются мертворождением обычно на 1-2 нед раньше ожидаемой даты отела. Лишь небольшая доля гомозиготных по CVM телят рождаются живыми, однако и они вскоре погибают. Характерные признаки телят-носителей — общая недоразвитость, укороченная шея, слившиеся и деформированные позвонки и сколиоз. Также может наблюдаться деформация суставов передних и задних конечностей. Кроме того, у родившихся в срок мертвыми телят выявляются пороки сердца. Так, из 62 пораженных CVM плодов и мертворожденных телят в 61 случае (98,4 %) с использованием радиографии были установлены повреждения позвоночника, из которых в 58 случаях (93,5 %) выявлены пороки ребер. Пороки сердца, главным образом в форме дисплазии, присутствовали в 15 случаях (24,2 %). Билатеральная симметричная изогнутость запястных и пястных суставов была обнаружена во всех случаях, в то время как поздний артрит выявлен в 54 (87,1 %). Дефект перегородки желудочков сердца наблюдался в 33 случаях (53,2 %) зачастую в сочетании с другими кардиальными пороками (53).

DUMPS возникает вследствие нуклеотидной замены T→C в позиции 1247 гена уридинмонофосфатсинтазы (uridine monophosphate synthase, *UMS*), приводящей к аминокислотной замене Arg→Stop (54). У животных-носителей вместо белка нормальной длины синтезируется укороченный протеин с нарушенными биологическими функциями. UMS — фермент, ответственный за превращение оротовой кислоты в уридинмонофосфат, служащий составной частью пиримидиновых нуклеотидов. Гомозиготность по мутантному аллелю обусловливает внутриматочную гибель эмбрионов до 40-х сут стельности, оказывая тем самым отрицательное влияние на плодовитость (55, 56).

Проведенный анализ родословных 560 быков-производителей, используемых в системе искусственного осеменения в России, и оценка их статуса по результатам поиска в базе данных голштинского скота (57) показали, что доля быков, имеющих отцов — скрытых носителей гаплотипов фертильности, достигает 5,4 %. Для снижения генетически обусловленных эмбриональных и ранних постэмбриональных потерь необходимо установить контроль за распространением гаплотипов фертильности в российской популяции голштинского и голштинизированного скота.

С этой целью в Центре биотехнологии и молекулярной диагностики Всероссийского НИИ животноводства им. академика Л.К. Эрнста (Московская обл., пос. Дубровицы) проводится генетический мониторинг LoF-мутаций в генах *APOB*, *FANCI*, *APAF1*, *SMC2*, *GART*, *TFBM1*, *ITGB2*, *SLC35A3*, *UMPS*, которые ассоциированы соответственно с HCD, BY, HH1, HH3, HH4, HH5, BLAD, CVM и DUMPS (58-61).

Скрининг на наличие скрытых носителей вышеназванных генетических дефектов среди отечественного голштинского и черно-пестрого голштинизированного крупного рогатого скота показал, что они встречаются с относительно высокой частотой, которая достигает примерно 10 % у коров и около 4 % у быков-производителей.

Внедрение ДНК-диагностики позволяет контролировать распространение мутаций, обусловливающих наследственные дефекты, в популяции племенного скота и постепенно их элиминировать. Так, в первые 1-2 года генетического мониторинга среди быков-производителей диа-

гностировалось более 5 % скрытых носителей CVM и около 3 % скрытых носителей BLAD, в то время как в настоящее время соответствующие мутантные аллели в исследованном поголовье быков-производителей отсутствуют (62, 63).

Таким образом, благодаря новому подходу — картированию гомозиготности в породах крупного рогатого скота были идентифицированы участки генома, ассоциированные с эмбриональной и ранней постэмбриональной смертностью, получившие название гаплотипов фертильности. В голштинской породе молочного скота в настоящее время регистрируются 10 летальных гаплотипов. Вследствие широкого распространения в популяциях племенного скота гаплотипы фертильности и лежащие в их основе LoF-мутации — одна из существенных причин снижения фертильности у коров. Принимая во внимание экспоненциальный рост числа исследований в области структурной и функциональной геномики животных, в частности крупного рогатого скота, в ближайшее время следует ожидать открытия новых генетических дефектов. В этой связи ДНК-диагностика станет действенным инструментом в контроле и управлении рисками, обусловленными распространением генетических дефектов в популяциях племенных животных.

ФГБНУ Всероссийский НИИ животноводства им. академика Л.К. Эрнста,
142132 Россия, Московская обл., Подольский р-н, пос. Дубровицы,
e-mail: n_zinovieva@mail.ru

Поступила в редакцию 30 апреля 2016 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [*Agricultural Biology*], 2016, V. 51, № 4, pp. 423-435

HAPLOTYPES AFFECTING FERTILITY IN HOLSTEIN CATTLE (review)

N.A. Zinovieva

L.K. Ernst All-Russian Research Institute of Animal Husbandry, Federal Agency of Scientific Organizations, pos. Dubrovitsy, Podolsk Region, Moscow Province, 142132 Russia, e-mail n_zinovieva@mail.ru

Acknowledgements:
The studies were performed with financial support of the Russian Ministry of Education and Science; project № 14.604.21.0062, unique identification № RFMEFI60414X0062
Received April 30, 2016 doi: 10.15389/agrobiology.2016.4.423eng

Abstract

The observed progressive increase of homozygosity in the cultural cattle breeds leads to increased negative impact of LoF-mutations (LoF — loss-of-function) in reducing cow fertility. Significant progress in the identification of LoF-mutations, which are associated with fertility, was achieved with the development of a new approach called «homozygosity mapping» (C. Charlier et al., 2008). This approach allows identifying the chromosomal regions characterized by loss of homozygosity, which are the candidate regions for location of fertility haplotypes associated with embryonic and early post-embryonic mortality. In the past few years, the fertility haplotypes were identified in almost all the major breeds of dairy cattle: Holstein (P.M. VanRaden et al., 2011; S. Fritz et al., 2013; T.A. Cooper et al., 2013), Jersey (P.M. VanRaden et al., 2011; T.S. Sonstegard et al., 2013), Brown Swiss (P.M. VanRaden et al., 2011; T.A. Cooper et al., 2013; M. McClure et al., 2013), Montbeliarde (S. Fritz et al., 2013), Ayrshire (T.A. Cooper et al., 2013), Fleckvieh (H. Pausch et al., 2015), Nordic Red cattle (N.K. Kadri et al., 2014). In presented review, it is characterized the haplotypes affecting fertility, which are segregated in Holsteins — the main dairy cattle breed worldwide (bred in 161 countries). In Russia, the ratio of Holstein and holsteinized Black-Pied cattle accounted for more than 65 % of common dairy cattle population. Currently, in the Holstein breed is registered ten fertility haplotypes (HCD, HH0, HH1, HH2, HH3, HH4, HH5, HHB, HHC, HHD), which affect the pregnancy losses and/or associated with embryonic and early post-embryonic mortality at different stages (J.B. Cole et al., 2016). Possible causes for segregation of the fertility haplotypes in cattle populations are discussed. These are intensive use of carrier bulls for artificial insemination, a considerable period from occurrence to the identification of causative mutations (18-59 years), the possible association of carrier status with productive traits. The chromosomal location of the fertility haplotypes is characterized, the haplotype frequencies in North-American Holstein population are

presented and the effects of bull carrier status on cow pregnancy rate are shown. It is described the stages of pregnancy and/or the age of calves on which there is the embryonic mortality of affected fetus and/or the death of affected calves. It is characterized the genes and the causative LoF-mutations, which are associated with fertility haplotypes. It is shown that more than 5 % of sires used in Russia have had the fathers, which are the carriers of fertility haplotypes. Thus, it is necessary to screen the Russian population of Holstein and holsteinized cattle to detect the carrier status of animals. The role of DNA-diagnostics in the control and elimination of fertility haplotypes and associated genetic defects in the Russian population of breeding cattle is discussed. Survey for these latent genetic defects among domestic Holstein and holsteinized Black Pied cattle showed that they occur at a relatively high rate, reaching about 10 % for cows and about 4 % for bulls. Among the bulls more than 5 % were hidden CVM carriers, and about 3 % were latent BLAD carriers. Currently, due to genetic monitoring, these mutant alleles are not being recorded in sires of the population.

Keywords: Holstein breed, embryonic mortality, genetic defects, fertility haplotype.

REFERENCES

1. *Domestic animal diversity database (DAD-IS).* Available http://dad.fao.org/. Accessed February 27, 2016.
2. Labinov V.V. *Rezul'taty i osnovnye napravleniya sovershenstvovaniya selektsionno-plemennoi raboty v molochnom skotovodstve Rossiiskoi Federatsii. Ministerstvo sel'skogo khozyaistva RF* [Advances and main aspects of improved breeding in livestock husbandry in the Russian Federation]. Available http://www.mcx.ru/documents/file_document/v7_show/33370.133.htm. Accessed May 28, 2016 (in Russ.).
3. Barbat A., Le Mezec P., Ducrocq V., Mattalia S., Fritz S., Boichard D., Ponsart C., Humblot P. Female fertility in French dairy breeds: current situation and strategies for improvement. *J. Reprod. Dev.*, 2010, 56: S15-S21 (doi: 10.1262/jrd.1056S15).
4. Washburn S.P., Silvia W.J., Brown C.H., McDaniel B.T., McAllister A.J. Trends in reproductive performance in Southeastern Holstein and Jersey DHI herds. *J. Dairy Sci.*, 2002, 85: 244-251 (doi: 10.3168/jds.S0022-0302(02)74073-3).
5. Lucy M.C. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? *J. Dairy Sci.*, 2001, 84: 1277-1293 (doi: 10.3168/jds.S0022-0302(01)70158-0).
6. Silvia W. Changes in reproductive performance of Holstein dairy cows in Kentucky from 1972 to 1996. *J. Dairy Sci.*, 1998, 81(Suppl. 1): 244.
7. Subbotin A.D. *Zhivotnovodstvo Rossii*, 2011, 10: 45-46 (in Russ.).
8. Dobson H., Smith R.F., Royal M.D., Knight C.H., Sheldon I.M. The high producing dairy cow and its reproductive performance. *Reprod. Domest. Anim.*, 2007, 42(Suppl 2): 17-23 (doi: 10.1111/j.1439-0531.2007.00906.x).
9. Oltenacu P.A., Broom D.M. The impact of genetic selection for increased milk yield on the welfare of dairy cows. *Animal Welfare*, 2010, 19(S): 39-49.
10. Durbin R.M., the 1000 Genomes Project Consortium. A map of human genome variation from population-scale sequencing. *Nature*, 2010, 467: 1061-1073 (doi: 10.1038/nature09534).
11. Pelak K., Shianna K.V., Ge D., Maia J.M., Zhu M., Smith J.P., Cirulli E.T., Fellay J., Dickson S.P., Gumbs C.E., Heinzen E.L., Need A.C., Ruzzo E.K., Singh A., Campbell C.R., Hong L.K., Lornsen K.A., McKenzie A.M., Sobreira N.L., Hoover-Fong J.E., Milner J.D., Ottman R., Haynes B.F., Goedert J.J., Goldstein D.B. The characterization of twenty sequenced human genomes. *PLoS Genet.*, 2010, 6(9): e1001111 (doi: 10.1371/journal.pgen.1001111).
12. MacArthur D.G., Balasubramanian S., Frankish A., Huang N., Morris J., Walter K., Jostins L., Habegger L., Pickrell J.K., Montgomery S.B., Albers C.A., Zhang Z.D., Conrad D.F., Lunter G., Zheng H., Ayub Q., De Pristo M.A., Banks E., Hu M., Handsaker R.E., Rosenfeld J.A., Fromer M., Jin M., Mu X.J., Khurana E., Ye K., Kay M., Saunders G.I., Suner M.M., Hunt T., Barnes I.H., Amid C., Carvalho-Silva D.R., Bignell A.H., Snow C., Yngvadottir B., Bumpstead S., Cooper D.N., Xue Y., Romero I.G., the 1000 Genomes Project Consortium, Wang J., Li Y., Gibbs R.A., McCarroll S.A., Dermitzakis E.T., Pritchard J.K., Barrett J.C., Harrow J., Hurles M.E., Gerstein M.B., Tyler-Smith C. A systematic survey of loss-of-function variants in human protein-coding genes. *Science*, 2012, 335: 823-828 (doi: 10.1126/science.1215040).
13. Bickhart D.M., Hou Y., Schroeder S.G., Alkan C., Cardone M.F., Matukumalli L.K., Song J., Schnabel R.D., Ventura M., Taylor J.F., Garcia J.F., Van Tassell C.P., Sonstegard T.S., Eichler E.E., Liu G.E. Copy number variation of individual cattle genomes using next-generation sequencing. *Genome Res.,* 2012, 22(4): 778-790 (doi: 10.1101/gr.133967.111).
14. *Council on dairy cattle breeding. Inbreeding trend for holstein or red & white cows.* Available

https://www.cdcb.us/eval/summary/inbrd.cfm? Accessed February 27, 2016.
15. Kuznetsov V.M., Vakhonina N.V. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya* [*Agricultural Biology*], 2010, 4: 55-58 (in Russ.). Available http://www.agrobiology.ru/4-2010kuznetsov.html. No date.
16. Weigel K.A. Controlling inbreeding in modern breeding programs. *J. Dairy Sci.,* 2001, 84(Suppl. E): E177-E184.
17. Stolpovskii Yu.A. Concept and principles of genetic monitoring for the purpose of preservation in situ of domestical animals kinds. *Agricultural Biology*, 2010, 6: 3-8 (in Engl.). Available http://www.agrobiology.ru/6-2010stolpovskiy-eng.html. No date.
18. Marzanov N.S., Devrishov D.A., Marzanova S.N., Komkova E.A., Ozerov M.Yu., Kantanen Yu. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya* [*Agricultural Biology*], 2011, 2: 3-14 (in Russ.). Available http://www.agrobiology.ru/2-2011marzanov.html. No date.
19. Shanks R.D., Dombrowski D.B., Harpestad G.W., Robinson J.L. Inheritance of UMP synthase in dairy cattle. *J. Hered.*, 1984, 75: 337-340.
20. Shuster D.E., Kehrli Jr. M.E., Ackermann M.R., Gilbert R.O. Identification and prevalence of a genetic defect that causes leukocyte adhesion deficiency in Holstein cattle. *PNAS USA*, 1992, 89: 9225-9229 (doi: 10.1073/pnas.89.19.9225).
21. Agerholm J.S., Bendixen C., Andersen O., Arnbjerg J. Complex vertebral malformation in Holstein calves. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 2001, 13: 283-289 (doi: 10.1177/104063870101300401).
22. Agerholm J.S., McEvoy F., Arnbjerg J. Brachyspina syndrome in a Holstein calf. *J. Vet. Diagn. Invest.*, 2006, 18: 418-422 (doi: 10.1177/104063870601800421).
23. Georges M., Dietz A.B., Mishra A., Nielsen D., Sargeant L.S., Sorensen A., Steele M.R., Zhao X., Leipold H., Womack J.E. Microsatellite mapping of the gene causing weaver disease in cattle will allow the study of an associated quantitative trait locus. *PNAS USA*, 1993, 90: 1058-1062 (doi: 10.1073/pnas.90.3.1058).
24. Charlier C., Coppieters W., Rollin F., Desmecht D., Agerholm J.S., Cambisano N., Carta E., Dardano S., Dive M., Fasquelle C., Frennet J.-C., Hanset R., Hubin X., Jorgensen C., Karim L., Kent M., Harvey K., Pearce B.R., Simon P., Tama N., Nie H., Vandeputte S., Lien S., Longeri M., Fredholm M., Harvey R.J., Georges M. Highly effective SNP-based association mapping and management of recessive defects in livestock. *Nat. Genet.*, 2008, 40: 449-454 (doi: 10.1038/ng.96).
25. VanRaden P.M., Olson K.M., Null D.J., Hutchison J.L. Harmful recessive effects on fertility detected by absence of homozygous haplotypes. *J. Dairy Sci.*, 2011, 94: 6153-6161 (doi: 10.3168/jds.2011-4624).
26. Fritz S., Capitan A., Djari A., Rodriguez S.C., Barbat A., Baur A., Grohs C., Weiss B., Boussaha M., Esquerré D., Klopp C., Rocha D., Boichard D. Detection of haplotypes associated with prenatal death in dairy cattle and identification of deleterious mutations in GART, SHBG and SLC37A2. *PLoS ONE*, 2013, 8(6): e65550 (doi: 10.1371/journal.pone.0065550).
27. Cooper T.A., Wiggans G.R., VanRaden P.M., Hutchison J.L., Cole J.B., Null D.J. *Genomic evaluation of Ayrshire dairy cattle and new haplotypes affecting fertility and stillbirth in Holstein, Brown Swiss and Ayrshire breeds.* JAM, 2013, T206.
28. Sonstegard T.S., Cole J.B., VanRaden P.M., Van Tassell C.P., Null D.J., Schroeder S.G., Bickhart D., McClure M.C. Identification of a nonsense mutation in CWC15 associated with decreased reproductive efficiency in Jersey cattle. *PLoS ONE*, 2013, 8: e54872 (doi: 10.1371/journal.pone.0054872).
29. McClure M., Kim E., Bickhart D., Null D., Cooper T., Cole J., Wiggans G., Ajmone-Marsan P., Colli L., Santus L., Liu G.E., Schroeder S., Matukumalli L., Van Tassell C., Sonstegard T. Fine mapping for Weaver syndrome in Brown Swiss cattle and the identification of 41 concordant mutations across NRCAM, PNPLA8 and CTTNBP2. *PLoS ONE*, 2013, 8(3): e59251 (doi: 10.1371/journal.pone.0059251).
30. Pausch H., Schwarzenbacher H., Burgstaller J., Flisikowski K., Wurmser C., Jansen S., Jung S., Schnieke A., Wittek T., Fries R. Homozygous haplotype deficiency reveals deleterious mutations compromising reproductive and rearing success in cattle. *BMC Genomics*, 2015, 16: 312 (doi: 10.1186/s12864-015-1483-7).
31. Kadri N.K., Sahana G., Charlier C., Iso-Touru T., Guldbrandtsen B., Karim L., Nielsen U.S., Panitz F., Aamand G.P., Schulman N., Georges M., Vilkki J., Lund M.S., Druet T. A 660-Kb deletion with antagonistic effects on fertility and milk production segregates at high frequency in Nordic Red cattle: additional evidence for the common occurrence of balancing selection in livestock. *PLoS Genet.*, 2014, 10(1): e1004049 (doi: 10.1371/journal.pgen.1004049).
32. Cole J.B., Van Raden P.M., Null D.J., Hutchison J.L., Cooper T.A., Hubbard S.M. *Haplotype tests for recessive disorders that affect fertility and other traits. AIP Research Report Genomic3, 02. Feb. 2016.* Available http://aipl.arsusda.gov/reference/recessive_haplotypes_ARR-G3.html. Accessed February 09, 2016.

33. Olson T. *New genes: good and bad.* Available http://dairy.ifas.ufl.edu/dpc/2002/Olson.pdf. Accessed March 02, 2016.
34. Vierhout C.N., Cassell B.G., Pearson R.E. Comparisons of cows and herds in two progeny testing programs and two corresponding states. *J. Dairy Sci.*, 1999, 82: 822-828 (doi: 10.3168/jds.S0022-0302(99)75302-6).
35. Larkin D.M., Daetwyler H.D., Hernandez A.G., Wright C.L., Hetrick L.A., Boucek L., Bachman S.L., Band M.R., Akraiko T.V., Cohen-Zinder M., Thimmapuram J., Macleod I.M., Harkins T.T., McCague J.E., Goddard M.E., Hayes B.J., Lewin H.A. Whole-genome resequencing of two elite sires for the detection of haplotypes under selection in dairy cattle. *PNAS USA*, 2012, 109(20): 7693-7698 (doi: 10.1073/pnas.1114546109).
36. *Holstein sire Jocko Besne Passes. Holstein World, 2012.* Available http://www.holsteinworld.com/story.php?id=6044#sthash.5tNGTcW4.dpbs. Accessed March 02, 2016.
37. Kuhn M., Hutchison J., Van Tassell C. Effects of complex vertebral malformation gene on production and reproduction. *J. Anim. Sci.*, 2005, 83(Suppl. 1): 140.
38. Kipp S., Segelke D., Schierenbeck S., Reinhardt F., Reents R., Wurmser C., Pausch H., Fries R., Thaller G., Tetens J., Pott J., Piechotta M., Grünberg W. A new Holstein haplotype affecting calf survival. *Interbull Bull.*, 2015, 49: 49-53.
39. Menzi F., Besuchet-Schmutz N., Fragnière M., Hofstetter S., Jagannathan V., Mock T., Raemy A., Studer E., Mehinagic K., Regenscheit N., Meylan M., Schmitz-Hsu F., Drögemüller C. A transposable element insertion in APOB causes cholesterol deficiency in Holstein cattle. *Anim. Genet.*, 2016, 47(2): 253-257 (doi: 10.1111/age.12410).
40. Charlier C. The role of mobile genetic elements in the bovine genome. *Proc. Plant and Animal Genome XXIV Conf.* San Diego, 2016: W636.
41. Charlier C., Agerholm J.S., Coppieters W., Karlskov-Mortensen P., Li W., de Jong G., Fasquelle C., Karim L., Cirera S., Cambisano N., Ahariz N., Mullaart E., Georges M., Fredholm M. A deletion in the bovine *FANCI* gene compromises fertility by causing fetal death and brachyspina. *PLoS ONE*, 2012, 7(8): e43085 (doi: 10.1371/journal.pone.0043085).
42. Adams H.A., Sonstegard T., VanRaden P.M., Null D.J., Van Tassell C., Lewin H. Identification of a nonsense mutation in APAF1 that is causal for a decrease in reproductive efficiency in dairy cattle. *Proc. Plant and Animal Genome XX Conf.* San Diego, 2012: P0555.
43. McClure M.C., Bickhart D., Null D., VanRaden P., Xu L., Wiggans G., Liu G., Schroeder S., Glasscock J., Armstrong J., Cole J.B., Van Tassell C.P., Sonstegard T.S. Bovine exome sequence analysis and targeted SNP genotyping of recessive fertility defects BH1, HH2 and HH3 reveal causative mutation in *SMC2* for HH3. *PLoS ONE*, 2014, 9: e92769 (doi: 10.1371/journal.pone.0092769).
44. Daetwyler H.D., Capitan A., Pausch H., Stothard P., van Binsbergen R., Brøndum R.F., Liao X., Djari A., Rodriguez S.C., Grohs C., Esquerré D., Bouchez O., Rossignol M.-N., Klopp C., Richa D., Fritz S., Eggen A., Bowman P.J., Coote D., Chamberlain A.J., Anderson C., Van Tassell C.P., Hulsegge I., Goddard M.E., Guldbrandtsen B., Lund M.S., Veerkamp R.F., Boichard D.A., Fries R., Hayes B.J. Whole-genome sequencing of 234 bulls facilitates mapping of monogenic and complex traits in cattle. *Nature Genet.*, 2014, 46: 858-865 (doi: 10.1038/ng.3034).
45. Schütz E., Wehrhahn C., Wanjek M., Bortfeld R., Wemheuer W.E., Beck J., Brenig B. The Holstein Friesian lethal haplotype 5 (HH5) results from a complete deletion of TBF1M and cholesterol deficiency (CDH) from an ERV-(LTR) insertion into the coding region of APOB. *PLoS ONE*, 2016, 11(4): e0154602 (doi: 10.1371/journal.pone.0154602).
46. De Zio D., Maiani E., Cecconi F. *Apaf1* in embryonic development — shaping life by death, and more. *Int. J. Dev. Biol.*, 2015, 59(1-3): 33-39 (doi: 10.1387/ijdb.150047dd).
47. Hayes B., Daetwyler H.D., Fries R., Guldbrandtsen B., Lund M.S., Boichard D.A., Stothard P., Veerkamp R.F., Hulsegge I., Rocha D., Van Tassell C., Mullaart E., Gredler B., Druet T., Bagnato A., Goddard M., Chamberlain A., 1000 Bull Genomes Consortium. The 1000 Bull Genomes project — toward genomic selection from whole genome sequence data in dairy and beef cattle. *Proc. Plant and Animal Genome XXI Conf.* San Diego, 2013: W150.
48. Schmiesing J.A., Ball A.R. Jr., Gregson H.C., Alderton J.M., Zhou S., Yokomori K. Identification of two distinct human SMC protein complexes involved in mitotic chromosome dynamics. *PNAS USA*, 1998, 95(22): 12906-12911 (doi: 10.1073/pnas.95.22.12906).
49. Ng A., Uribe R.A., Yieh L., Nuckels R., Gross J.M. Zebrafish mutations in gart and paics identify crucial roles for de novo purine synthesis in vertebrate pigmentation and ocular development. *Development*, 2009, 136(15): 2601-2611 (doi: 10.1242/dev.038315).
50. Nagahata H. Bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD): a review. *J. Vet. Med. Sci.*, 2004, 66: 1475-1482 (doi: 10.1292/jvms.66.1475).

51. Thomsen B., Horn P., Panitz F., Bendixen E., Petersen A.H., Holm L.E., Nielsen V.H., Agerholm J.S., Arnbjerg J., Bendixen C. A missense mutation in the bovine *SLC35A3* gene, encoding a UDP-N-acetylglucosamine transporter, causes complex vertebral malformation. *Genome Res.*, 2006, 16: 97-105 (doi: 10.1101/gr.3690506).
52. Nielsen U.S., Aamand G.P., Andersen O., Bendixen C., Nielsen V.H., Agerholm J.S. Effects of complex vertebral malformation on fertility traits in Holstein cattle. *Livestock Production Science*, 2003, 79: 233-238 (doi: 10.1016/S0301-6226(02)00170-7).
53. Agerholm J.S., Andersen O., Almskou M.B., Bendixen C., Arnbjerg J., Aamand G.P., Nielsen U.S., Panitz F., Petersen A.H. Evaluation of the inheritance of the complex vertebral malformation syndrome by breeding studies. *Acta Vet. Scand.*, 2004, 45: 133-137.
54. Schwenger B., Schöber S., Simon D. DUMPS cattle carry a point mutation in the uridine monophosphate synthase gene. *Genomics*, 1993, 16(1): 241-244 (doi: 10.1006/geno.1993.1165).
55. Shanks R.D., Robinson J.L. Embryonic mortality attributed to inherited deficiency of uridine monophosphate synthase. *J. Dairy Sci.*, 1989, 72(11): 3035-3039 (doi: 10.3168/jds.S0022-0302(89)79456-X).
56. Shanks R.D., Popp R.G., McCoy G.C., Nelson D.R., Robinson J.L. Identification of the homozygous recessive genotype for the deficiency of uridine monophosphate synthase in 35-day bovine embryos. *J. Reprod. Fertil.*, 1992, 94(1): 5-10 (doi: 10.1530/jrf.0.0940005).
57. *Bulls' status for haplotypes impacting fertility on the records of Holstein Association USA. Holstein Association USA, 14.12.2015.* Available http://www.holsteinusa.com/pdf/haplotype/hapbulcarriers.pdf. Accessed March 05, 2016.
58. Zinov'eva N.A., Gladyr' E.A., Ernst L.K., Brem G. *Vvedenie v molekulyarnuyu gennuyu diagnostiku sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh* [Introduction to molecular gene diagnosis in farm animals]. Dubrovitsy, 2002 (in Russ.).
59. Romanenkova O.V., Gladyr' E.A., Kostyunina O.V., Zinov'eva N.A. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK*, 2015, 11: 91-94 (in Russ.).
60. Romanenkova O.V., Gladyr' E.A., Kostyunina O.V., Zinov'eva N.A. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK*, 2016, 30(2): 94-97 (in Russ.).
61. Zinov'eva N.A., Kostyunina O.V., Volkova V.V., Yanchukov I.N., Ermilov A.N. *Molochnoe i myasnoe skotovodstvo*, 2016, 2: 5-7 (in Russ.).
62. Zinov'eva N.A., Gladyr' E.A., Kharzinova V.R., Kostyunina O.V., Pokrovskaya M.V., Drushlyak N.G., Kabitskaya Ya.A. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK*, 2012, 11: 37-40 (in Russ.).
63. Zinov'eva N.A., Strekozov N.I., Eskin G.V., Turbina I.S., Yanchukov I.N., Ermilov A.N. *Zhivotnovodstvo Rossii*, 2015, 6: 30-31 (in Russ.).