

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

На правах рукописи



ХАТИБ АБДУЛРАХМАН

**РАЗРАБОТКА МЕТОДА ГЕНОМНОЙ ОЦЕНКИ
ПЛЕМЕННОЙ ЦЕННОСТИ ПОГОЛОВЬЯ КРУПНОГО
РОГАТОГО СКОТА МОЛОЧНОГО НАПРАВЛЕНИЯ
ПРОДУКТИВНОСТИ ПО РАЗЛИЧНЫМ ХОЗЯЙСТВЕННО-
ПОЛЕЗНЫМ ПРИЗНАКАМ**

1.5.6. Биотехнология

(03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии))

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
Проخورчук Егор Борисович

Москва – 2022

2.2.10	Частота встречаемости летальных голштинских гаплотипов	52
2.2.11	Полногеномный анализ ассоциаций с признаками фертильности и молочной продуктивности	54
2.3	РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	56
2.3.1	Характеристика сформированной базы данных признаков фертильности и молочной продуктивности.....	56
2.3.2	Оценка генетических параметров признаков фертильности и молочной продуктивности в популяции КРС черно-пестрой породы.....	61
2.3.3	Оценка племенной ценности коров и быков-производителей по признакам фертильности и молочной продуктивности на основе метода ssGBLUP-AM (TD).....	64
2.3.4	Оценка результативности системы геномной оценки племенной ценности.....	70
2.3.5	Результат проведения генотипирования биопсии эмбрионов и достоверность геномной оценки племенной ценности на эмбриональной стадии развития.....	79
2.3.6	Определение частоты встречаемости летальных гаплотипов, ассоциированных со снижением фертильности популяции КРС черно-пестрой породы.....	84
2.3.7	Результат полногеномного анализа ассоциаций с признаками фертильности и молочной продуктивности.....	87
3.	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	99
4.	ВЫВОДЫ.....	101
5.	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	103

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- КРС - крупный рогатый скот
- BLUP - лучший линейный несмещенный прогноз
- OPU - трансвагинальная аспирация ооцитов
- IVP - получение эмбрионов in vitro
- PTA - прогнозируемой способностью животного к передаче признаков
- РФ - Российской Федерации
- SNP - Однонуклеотидный полиморфизм
- GEBV - геномная оценка племенной ценности
- ssGBLUP-AM - одношаговой геномной лучший линейный несмещенный прогноз по модели животного
- QTL- локус количественного признака
- EBV- расчетная племенная ценность
- CC - Метод оценки племенной ценности сравнения со сверстницами
- BLUP SM – лучший линейный несмещенный прогноз по модели отца
- BLUP AM - лучший линейный несмещенный прогноз по модели животного
- GEBV - геномная оценка племенной ценности
- MAS - маркерной селекции или MAS-селекции
- DGV- прямая геномная племенная ценность
- GBLUP - геномной лучший линейный несмещенный прогноз
- МОЕТ - множественная овуляция и пересадка эмбрионов
- IVF - экстракорпоральное оплодотворение
- ПЦР - полимеразной цепной реакции
- LOF - мутация с потерей функции
- ПГА - полногеномная амплификация
- ВУ - брахиспина
- BLAD - дефицит адгезии лейкоцитов
- SVM - комплексный порок позвоночника
- DUMPS - дефицит уридинмонофосфатсинтетазы

- AFC - межотельный период
- CI - интервал от отёла до первого осеменения
- OFI - интервал от первого до последнего осеменения
- FLI - длина сервис-периода
- DO - длина сервис-периода
- NS - кратность осеменения
- TD - контрольный дойной день
- ПЦА - Метод главных компонент
- REML - ограниченная максимальная вероятность
- RDC - нордический красно-молочный скот

1. ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Основная цель селекции сельскохозяйственных животных состоит в отборе и воспроизведении элитных животных с высокими параметрами полезных признаков (молочная продуктивность, фертильность, устойчивость к заболеваниям, адаптация к промышленной технологии кормления и содержания) для стабильного улучшения популяции племенных животных [114, 6, 27]. Самая важная и сложная задача селекции – определение племенной ценности, которая представляет собой уровень генетического потенциала племенного животного и его способность передавать полезные признаки своему потомству. Отбор и подбор особей для племенного разведения производится в соответствии с оценкой его племенной ценности. Таким образом от точности оценки племенной ценности животных зависит успех всей племенной работы [119, 134, 4].

На начальных этапах развития животноводства оценка племенной ценности особей производилась по различным фенотипическим проявлениям признаков самой особи и фенотипу ее боковых родственников, потомков и предков. Оценка племенных ценностей крупного рогатого скота (КРС) по фенотипу в молочном скотоводстве производилась по показателям молочной продуктивности. Однако, в последние десятилетия разработаны более эффективные методы оценки племенной ценности, основанные на применении молекулярно-генетических методов. Существенного прогресса удалось достичь благодаря расшифровке генома основных сельскохозяйственных животных (КРС, свиней и овец), а также разработке более современных сложных методов статистического анализа, в частности, разработке метода наилучшего линейного несмещенного прогноза (BLUP) [149, 203, 8, 31].

Применение метода BLUP при оценке племенной ценности позволяет исключить влияние негенетических факторов на изменчивость селекционных признаков, следовательно, оценить генетический потенциал животного можно с высокой степенью достоверности. Использование молекулярно-генетических маркеров в свою очередь приводит к повышению надежности оценки племенной ценности, сокращению интервала генерации и расширению возможности проведения интенсивного отбора. Кроме того, применение геномной оценки приводит к росту темпов генетического

улучшения хозяйственно-полезных признаков в популяции и к уменьшению материально-технических затрат на оценку генетического потенциала быков-производителей [88, 149, 8, 17].

В то же время, совместное применение геномной оценки племенной ценности и современных искусственных репродуктивных технологий, таких как трансвагинальная аспирация ооцитов OPU (Ovum Pick-Up) и получение эмбрионов *in vitro* (IVP), открывает широкие перспективы селекции сельскохозяйственных животных, поскольку становится возможным оценить племенную ценность большого количества особей еще на стадии эмбрионального развития [37, 49].

Степень разработанности темы. В современной селекции быки-производители играют важную роль в процессе генетического улучшения популяции КРС молочного направления производства, поскольку от одного производителя можно получить значительно больше потомков, чем от коровы. Именно поэтому интенсивность улучшения разводимых отечественных молочных пород КРС зависит, главным образом, от точности выявления племенной ценности быков-производителей с учетом оценки качества их потомства [28, 40].

На данный момент в большинстве хозяйств Российской Федерации оценка племенной ценности быков-производителей определяется в соответствии с системой оценки по качеству потомства. Принцип системы заключается в сравнении продуктивности дочерей быка с продуктивностью лактировавших в аналогичных условиях сверстниц. То есть, произвести оценку племенной ценности быка становится возможным, если бык имеет потомство женского пола, а кроме того, его потомство достигло полового созревания и начался период лактации. Таким образом окончательный вывод о племенной ценности быка-производителя можно сделать не ранее, чем через 5 лет, на протяжении которых содержат всех быков (как с высокой, так и с низкой племенной ценностью) и ведут работы по заготовке их семенной жидкости. Исследования показывают, что всего лишь 10% быков-производителей будут иметь высокую племенную ценность, поэтому данная методика, разработанная в середине прошлого столетия, теряет свою актуальность [10, 15].

Наиболее прогрессивной методикой оценки племенной ценности является система

геномной селекции, применяемая на практике в последние 10 лет в основном в странах с развитым животноводством. Метод геномной оценки племенной ценности позволяет устанавливать генетический потенциал животного сразу после рождения, то есть определять селекционное значение генотипа особи напрямую, не дожидаясь проявления фенотипических продуктивных признаков. Таким образом, геномная селекция позволяет оценить племенную ценность животного в самом раннем возрасте, что существенно повышает эффективность селекционного отбора. Данная система не только изменила технику оценки быков-производителей по качеству потомства, но также позволила ускорить генетический прогресс в популяции КРС за счет сокращения интервала поколений. Система геномной селекции имеет важное значение для таких признаков, как фертильность и устойчивость к заболеваниям, поскольку их сложно оценить по фенотипическому проявлению признака, в отличие от признака молочной продуктивности. Геномный отбор может повысить точность определения оценки племенной ценности по признаку фертильности, если в первоначальном эксперименте будет сделано достаточно записей для оценки эффектов однонуклеотидных полиморфизмов маркеров (SNP - single nucleotide polymorphism) на изменчивость признака [88, 3, 36].

В России метод геномной селекции не нашел широкого распространения, что отражает эффективность производства молочной продукции. Так, за 2013 год в России поголовье 9 млн коров дало 31 млн литров молока, а в США показатель молочной продукции был в 3 раза выше и составил – 90,8 млн литров молока (за тот же период при одинаковой численности поголовья коров). Таким образом, решение основной проблемы селекции КРС молочного направления продуктивности в Российской Федерации состоит в разработке новых и адаптации уже имеющихся молекулярно-генетических методов, а также в применении современных статистических методов оценки племенной ценности коров и быков-производителей [25, 44].

Цель и задачи исследования. Целью исследования являлась разработка и адаптация научно-обоснованной системы геномной оценки племенной ценности КРС черно-пестрой породы в Российской Федерации по совокупности признаков фертильности и молочной продуктивности.

Для достижения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

- сформировать единую базу фенотипических данных племенных животных КРС черно-пестрой породы по совокупности признаков фертильности и молочной продуктивности;
- оценить селекционно-генетические параметры (компоненты варианты признаков, коэффициент наследуемости и повторяемости) в популяции животных черно-пестрой породы по исследуемым признакам молочной продуктивности и фертильности;
- произвести полногеномное SNP-генотипирование коров и быков-производителей первичной референтной популяции;
- рассчитать геномную оценку племенной ценности методом одношагового геномного наилучшего линейного несмещенного прогноза по модели животного (ssGBLUP-AM) для признаков фертильности и методом ssGBLUP-AM с использованием данных тестовых дней (TD) для признаков молочной продуктивности.
- рассчитать достоверность геномной оценки племенной ценности быков-производителей по исследуемым признакам молочной продуктивности и фертильности;
- произвести полногеномное SNP-генотипирование эмбрионов КРС черно-пестрой породы;
- Оценить достоверность геномной оценки племенной ценности на эмбриональной стадии развития;
- определить частоту встречаемости летальных гаплотипов, ассоциированных со снижением фертильности в популяции КРС черно-пестрой породы;
- провести полногеномное ассоциативное исследование для оценки влияния SNP-маркеров на уровень изменчивости исследуемых признаков фертильности и молочной продуктивности у животных КРС черно-пестрой породы.

Методология и методы исследования. Основными источниками материалов исследований являлись информационные базы данных из 523 племенных хозяйств молочного скота в 12 разных регионах Российской Федерации. Первичные необработанные данные были получены в виде баз данных, сгенерированных из программ СЕЛЕКС, которые относятся к реляционной СУБД Firebird 2.5. Работа с базами данных, и выгрузка необходимой информации проводилась с помощью языка

программирования Python 2.7 и пакета FDB. Расчет генетических характеристик животных был проведен на основе метода одношагового геномного наилучшего линейного несмещенного прогноза по модели животного (ssGBLUP AM). Все шаги оценки племенной ценности производились с помощью семейства программ BLUPF90. Была проведена трансвагинальная аспирация ооцитов (OPU) с последующим производством эмбрионов (IVP). Производили генотипирование эмбрионов, особей после рождения и быков-производителей с использованием микроматрицы BovineSNP50 v3 DNA Analysis BeadChip (Illumina, США). Обобщение и анализ информации осуществляли согласно общепринятым методам статистической обработки данных, применяемым в биологических исследованиях.

Научная новизна работы. Для популяции черно-пестрого скота в Российской Федерации были определены значения продуктивной способности и генетической ценности по отдельным признакам фертильности и молочной продуктивности на основе решения уравнений смешанных моделей ssGBLUP AM. Впервые для популяции КРС черно-пестрой породы была разработана система геномной оценки племенной ценности по совокупности признаков фертильности и молочной продуктивности. Впервые было проведено генотипирование эмбрионов КРС черно-пестрой породы и была рассчитана достоверность оценки племенной ценности КРС на стадии эмбрионального развития. Для популяции черно-пестрого скота в Российской Федерации была определена частота встречаемости летальных гаплотипов, ассоциированных с потерей фертильности, и также были определены однонуклеотидные полиморфизмы (SNP), связанные с наибольшей генетической изменчивостью признаков фертильности и молочной продуктивности.

Теоретическая и практическая значимость работы. Впервые были определены продуктивные и генетические характеристики маточного поголовья черно-пестрого породы для всех 523 племенных хозяйств Российской Федерации по признакам фертильности и молочной продуктивности методом ssGBLUP AM. Полученные результаты оценки племенной ценности могут быть использованы племенными предприятиями для оценки коров и быков-производителей черно-пестрой породы. Разработанная система геномной оценки племенной ценности может быть использована селекционерами и специалистами предприятий и племенных заводов для оценки

племенной ценности молодых животных. Результат оценки племенной ценности на стадии эмбрионов может быть использован в качестве справочной информации специалистами-селекционерами и репродукторами племенных заводов. Применение подхода геномной оценки племенной ценности и геномной селекции эмбрионов позволяет ускорить генетическое улучшение маточного поголовья КРС в Российской Федерации.

Положения, выносимые на защиту.

1. Метод BLUP обеспечивает наилучший линейный несмещенный прогноз племенной ценности племенных животных.
2. Рассчитаны значения племенной ценности коров и быков-производителей для 523 племенных хозяйств РФ на основании методологии BLUP-AM.
3. Определен генетический тренд у животных черно-пестрой породы по исследуемым признакам на протяжении периода с 1975 по 2017 года.
4. Рассчитана геномная оценка племенной ценности для 427 быков и 217 коров черно-пестрой породы методом ssGBLUP-AM.
5. Племенная ценность животных может быть предсказана непосредственно по генетическим маркерам с довольно высокой точностью.
6. Генотип биоптата эмбрионов может быть использован для надежного предсказания племенной ценности животных на эмбриональной стадии развития.
7. Определено распределение летальных гаплотипов, связанных с нарушением фертильности в популяции животных КРС черно-пестрой породы.
8. Определены разные генетические регионы, ассоциированные с наибольшей генетической изменчивостью признаков фертильности и молочной продуктивности.

Личный вклад автора. Работа является результатом оригинальных исследований. Автор принимал участие в определении направлений исследований, разработке схем экспериментов, получении и обработке данных, обсуждении полученных результатов и подготовке публикаций. Основные экспериментальные результаты получены лично автором. В работах, опубликованных в соавторстве, основополагающий вклад принадлежит соискателю.

Степень достоверности результатов. Все полученные результаты являются

оригинальными, их достоверность обусловлена большим объемом полученных данных, воспроизводимостью результатов в повторностях, использовании классической и современных подходов и методов, статистической обработке полученных данных. Степень достоверности подтверждается опубликованными по теме работы статьями в рецензируемых научных журналах.

Апробация работы. Результаты исследований и основные положения диссертации были представлены и обсуждены на:

- XIX Всероссийской молодежной конференции «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии» (Москва, 2019 год).

- XIV Международная научно-практическая конференция «Состояние и перспективы развития агропромышленного комплекса» (Ростов-на-Дону, 2021)

Публикация результатов исследований. По результатам работы были опубликованы 4 печатные работы: из них 3 статьи в рецензируемых научных изданиях, индексируемых международными базами данных (Web of Science, Scopus) и рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ имени М.В. Ломоносова, 1 публикация в сборниках материалов и тезисах докладов на российских и международных научных конференциях.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 126 страницах печатного текста, состоит из следующих глав: введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, результат исследований, заключение, выводы и списка литературы. Диссертация включает 14 таблиц и 24 рисунка. Список литературы включает 204 наименования, в том числе 154 - на иностранных языках.

2. ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

2.1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

2.1.1 Развитие селекции сельскохозяйственных животных

Одним из важнейших достижений человечества стало одомашнивание диких животных и разработка способов отбора с определенными признаками для получения необходимых продуктов и дальнейшего разведения. Благодаря одомашниванию и примитивной селекции человечество уже в эпоху неолита имело почти все виды домашнего скота. Современная селекция животных - это наука о методах создания и улучшения уже существующих пород животных [33].

Селекция представляет собой непрерывный процесс с постоянно совершенствующимися методами, поскольку новые породы должны иметь более высокую продуктивность, быть более устойчивыми к заболеваниям, чем породы им предшествующие. На начальном этапе развития селекции животных искусственный отбор особей с нужными свойствами происходил на интуитивном уровне, в соответствии с интересующими признаками. Так, человек стал отбирать и размножать наиболее продуктивных животных, что способствовало их непроизвольному улучшению [107].

На протяжении многих тысячелетий человек модифицировал и совершенствовал виды, созданные природой, чтобы получить внутривидовые группы (породы) для производства продукции, которая отвечала требованиям человечества. Совокупность видов и пород сельскохозяйственных животных, существующих на данный момент в мире, представляет собой результат деятельности человека на протяжении тысячелетий. Важным ресурсом в отборе и модификации видов является генетическое разнообразие популяций, дающее человечеству возможность совершенствовать существующие и выводить новые породы сельскохозяйственных животных, которые удовлетворяют основные потребности [32, 42].

Некоторые исследователи показывают, что истоки селекции КРС молочного направления восходит к первому столетию до нашей эры, что изложено в трудах о племенном деле того времени [204]. Выведение пород КРС происходило в пределах ограниченной группы особей, вследствие естественной географической изоляции популяций. Искусственный отбор особей с наилучшими качествами производился

субъективно и базировался на фенотипических признаках – продуктивность или внешний вид особи. Основным же методом селекции являлся близкородственный инбридинг, направленный на получение особей с селекционными признаками схожими с родительскими особями [59, 68].

В XX веке промышленная революция привела к миграции людей в крупные города, что существенно сократило объемы фермерских продуктов питания, вследствие чего возникла необходимость не только восполнить прежние ресурсы, но и удовлетворить постоянно повышающиеся объемам производства молочной продукции [92]. Увеличить объемы продуктов питания удалось за счет выведения новых пород и также улучшения существующих пород молочного скота, благодаря развитию молекулярно-генетических методов [139].

Благодаря теории эволюции Ч. Дарвина, законам Г. Менделя, учению о чистых линиях и мутациях селекционеры смогли разработать методы для сознательного отбора растений и животных с интересующими наследственными признаками [91, 160]. Закономерности независимого наследования и свободного комбинирования признаков в потомстве послужили теоретической основой гибридизации и скрещивания, являющихся вместе с отбором основными методами селекции. Дальнейшее развитие генетики привело к созданию гетерозисных гибридов кукурузы, сорго, огурца, томата, свёклы, пшеницы, гибридов КРС, птицы.

Основы современной теории разведения животных были заложены в первой половине 20-го века [146]. В своих исследованиях Р. А. Фишер показал, что разнообразие проявления признака может зависеть от участия большого количества так называемых менделевских факторов (генов). Также Р. А. Фишер вместе с С. Райтом и Дж. Б.С. Холдейном, являлись основоположниками теоретической популяционной генетики. Т. Х. Морган и его коллеги объединили хромосомную теорию наследования с работами Г. Менделя и создали теорию, согласно которой хромосомы содержат в себе наследственный материал [75, 169].

Ученый Д. Л. Лаш, известный как основатель современного научного животноводства, считал, что селекция животных должна проводиться за счет сочетания количественной статистики и генетической информации, вместо субъективной оценки по

внешнему виду особи. Его книга «Планы разведения животных», опубликованная в 1937 году, оказала большое влияние на селекцию животных во всем мире. Л. Н. Хейзел продолжил исследования Д. Л. Лаша, и в своей докторской диссертации изложил теорию селекционного индекса и концепцию оценки генетических корреляций. Селекционный индекс представляет собой уравнение, где каждому признаку присваивается определенный экономический вес, дающее в конечном итоге обобщенную оценку животного по ряду продуктивных признаков пробанда или его предков. При этом, в основу теории селекционного индекса легли принципы метода путевых коэффициентов, сформулированные в начале 1920-х гг. Сьюэлом Райтом, чьи исследования были связаны с селекцией риса [149, 26].

Позднее была разработана расчетная племенная ценность (EBV) статистиком К. Р. Хендерсоном. Расчетная племенная ценность позволила ранжировать животных в соответствии с их предполагаемым генетическим потенциалом, что привело к более точным результатам селекции и, таким образом, к более быстрому генетическому улучшению от поколения к поколению [190]. Хендерсону удалось дополнительно повысить точность оценочной племенной ценности благодаря методу наилучшего линейного несмещенного прогноза (BLUP) в 1950 году, однако популярным термин стал только с 1960 года. Затем Хендерсон предложил включить данные о родственных связях между животными в оценку племенной ценности особи, так появился метод наилучшего линейного несмещенного прогноза по модели животного (BLUP-AM) [56, 28].

Существенным событием для развития геномной селекции стало открытие двойной спирали ДНК Д. Уотсоном и Ф. Криком, основанное на данных рентгенструктурного анализа, полученных М. Уилкинсоном и Р. Франклином [81]. В настоящее время крупномасштабное генотипирование проводится в автоматическом режиме: десятки тысяч генетических маркеров, равномерно распределенных в геноме за ограниченное время. Для генетических маркеров известны расположение и структура, таким образом их можно рассматривать как своего рода «флаги» на геноме. Генетические маркеры позволяют проводить сравнения животных по структуре генома. По мере развития научно-теоретических основ о законах наследования признаков, применение современных молекулярно-генетических, а также статистических методов оценки

племенной ценности сельскохозяйственных животных менялись практические подходы специалистов к совершенствованию имеющихся пород по полезным признакам [202].

Так, в странах, где молочное скотоводство развито в достаточной степени, произошел переход улучшения по экономически полезным признакам групп животных с уровня отдельных хозяйств в масштабах целых пород. Таким образом внедрение и усовершенствование методов селекции позволило достичь существенных результатов в области животноводства, в частности, при разведении КРС. В настоящее время существует порядка 1000 пород КРС, из которых наиболее распространены 450, а общее поголовье составляет 1,3 миллиарда особей. Самой высокоудойной и многочисленной породой считается – голштинская, чёрно-пёстрой масти, выведенная в Европе [59, 174].

На данный момент порода широко распространена в Америке, где лучшие коровы дают более 30 тысяч кг молока в год. Рекорд пожизненной продуктивности голштинской породы поставила канадская корова Смурф, которая за 15 лет жизни дала 9 телят и 214686 кг молока, жирностью 3,6% и содержанием белка 3,1%. Удой по первой лактации составил 11664 кг молока, а по максимальной – шестой, 21684 кг молока. По данным субъектов Российской Федерации, в настоящее время функционирует 19,5 тыс. хозяйств, занимающихся молочным скотоводством. Наибольшей численностью поголовья КРС в Российской Федерации занимает популяция черно-пестрой породы, доля от общего числа составляет - 53,57%, или 1 503,6 тыс. голов. Второе место занимает голштинская порода, где поголовье составляет - 16,27%, или 467,7 тыс. голов, за ней следуют более малочисленные породы: холмогорская (6,7%, или 187,9 тыс. голов), симментальская (6,26%, или 175,7 тыс. голов), красно-пестрая (5,45%, или 153,1 тыс. голов) и др. Средняя продуктивность за 305 дней лактации черно-пестрой породы в Российской Федерации за 2017 г. составила 6486 кг молока с содержанием жира 3,86 и белка 3,16 %, средняя продуктивность по всем пробонитированным коровам других пород – 6573 кг с содержанием жира 3,89 и белка 3,19% [1, 27, 36, 44].

Таким образом, методы селекции позволяют получить новые породы, улучшить существующие породы по хозяйственно-полезным признакам, и соответственно увеличить продуктивность животных.

2.1.2 Племенная ценность и наследственные особенности хозяйственно-селекционных признаков сельскохозяйственных животных

Геномная ценность — это влияние генофонда животного на его продуктивность. В отличие от геномной ценности, племенная ценность - это влияние генетического потенциала особи на продуктивность его потомства. Несмотря на то, что абсолютную генетическую ценность особи точно определить нельзя, существует возможность ее прогнозировать, опираясь на фенотипические и геномные данные [114, 161].

Племенная ценность относится к значению животного в программе разведения по определенному признаку и оценивается в два раза выше ожидаемой племенной ценности его потомства. Причина удвоения ожидаемой племенной ценности потомства заключается в том, что только половина генов особи передается потомству, а оставшаяся половина поступает от другого родителя [57, 72]. Ожидаемая производительность потомства называется передаточной способностью и составляет половину племенной ценности. Племенная ценность может быть определена на основе собственных данных о животном и показателей известных родственников. Значение племенной ценности, разделенная на 2, может использоваться для прогнозирования продуктивности будущего потомства и называются «прогнозируемой способностью к передаче признака» (Predicted Transmitting Ability, PTA). Например, дочери быка с PTA 200 кг по надоям молока, как ожидается, будут давать в среднем на 50 кг больше молока за лактацию, чем дочери быка с PTA по надоям 150 кг, если их матери обладают одинаковым генетическим потенциалом. Фактическая разница не будет точной при сравнении отдельных дочерей, поскольку две дочери не получают одинаковую комбинацию генов или окажутся в одной и той же среде. Таким образом, дочери одного и того же производителя могут иметь сильно различающиеся показатели [58, 112, 177, 193].

Однако такие признаки КРС как удой, фертильность и устойчивость к заболеваниям, кодируются сочетанием нескольких генов. Даже когда задействовано небольшое количество генов, вариация признака будет демонстрировать непрерывное распределение из-за результатов ошибки измерения и воздействия окружающей среды. Согласно классификации Зиновьевой Н.А., все признаки можно разделить на две категории:

1. Моногенные или олигогенные признаки (главные гены). Для таких признаков, в случае приблизительной локализации гена, существует возможность идентификации ДНК-маркеров, расположенных внутри главного гена или в непосредственной близости от него.

2. Полигенные признаки (локусы количественных признаков, QTL). К признакам с полигенной природой наследования относятся большинство важных хозяйственно-полезных признаков сельскохозяйственных животных. Полигенная природа признака означает, что его количественный уровень генетически определяется различными аллельными вариантами целого ряда локусов, разбросанных по всему геному [13].

Согласно основному принципу количественной генетики:

Фенотипическое проявление признака (P) является совокупностью генотипа (G) и воздействия окружающей среды (E):

$$P = G + E$$

Генотип относится к общей генетической изменчивости. Это включает не только эффекты ядерных генов, но также эффекты митохондриальных генов и взаимодействия между генами. Генотипические вариации можно разделить на аддитивные и неаддитивные. Аддитивная генетическая вариация представляет собой совокупный эффект отдельных локусов, поэтому общее среднее значение равно суммированному вкладу этих локусов. Неаддитивная генетическая вариация представляет собой вариацию доминирования (взаимодействие между аллелями) и вариацию эпистаза (взаимодействие между генами) [185].

На количественно изменяющиеся признаки также влияет окружающая среда (E), то есть может быть только экологический эффект или взаимодействие между генами и окружающей средой. Другими словами, как разные генотипы реагируют в разных условиях. Итак, приведенное выше уравнение можно записать как:

$$P = A + D + I + E + e$$

P: фенотипическое проявление признака; A: аддитивный генетический эффект; D: эффект доминирования; I: эпистатический эффект; E: воздействие на окружающую среду; e: остаточный эффект.

Однако передан потомству может быть только аддитивный генетический эффект. Другие генетические эффекты (доминирование и эпистатический эффект) свойственные индивиду и не передаются. Воздействие на окружающую среду также не передается, и некоторые воздействия на окружающую среду не могут быть идентифицированы (остаточный эффект) [167, 45]. Генетическая аддитивная изменчивость, обусловленная суммарным действием аллелей всех генных локусов, одни из которых усиливают, а другие ослабляют развитие признака. Такие гены называются основными генами количественных признаков. Положение генов в хромосоме обозначают термином «локус количественного признака» (Quantitative Trait Loci, QTL). Считается, что QTL – это генетический локус, вариация которого на базе разных аллелей ведет к изменениям фенотипического проявления признака, обладающих статистической значимостью. QTL – это дискретные, относительно устойчивые генетические образования, определяемые некоторыми аллелями входящих в них генов, влияющие на ряд признаков, с помощью которых они выявляются. Исследователи считают, что каждый признак молочной продуктивности находится под мультилокусным контролем (от 50 до 100 QTL), из которых 17% являются мажорными [97, 20].

Аддитивная Генетическая изменчивость лежит в основе многих программ селекционного отбора, поскольку именно она контролирует большинство хозяйственно-полезных признаков. Таким образом, генетическая изменчивость (аддитивный генетический эффект) является первым компонентом генетического прогресса популяции животных [9, 19].

Вплоть до конца XX века генетический прогресс в скотоводстве достигался путем отбора по оценке племенной ценности на основе фенотипических данных предков, самого животного и его потомства, без знания, как числа воздействующих на признаки генов, так и их эффектов [104]. Несмотря на это, селекционерам удалось достичь существенных результатов. Например, при разведении коров голштинской породы в США за 5 лет реализованный генетический прогресс составил 80 кг молока (с одной коровы за 1 год). Это является прямым доказательством эффективности методов биометрической генетики. Однако продуктивность КРС зависит не только от совокупности генов, но и других факторов, которые не всегда можно контролировать, что

не позволяет достигнуть 100% надежности при отборе лучших генов, полагаясь только лишь на фенотип особи [20]. Расширенная проверка по потомству помогает добиться высокой точности оценки племенной ценности животного, что в свою очередь связано с риском высоких затрат для некоторых признаков (например, для признаков качества мяса). Кроме того, время получения оценки племенной ценности быков-производителей составляет от 5 до 10 лет в рамках применения программам селекции с традиционной проверкой быков. Оценка племенной ценности, основанная на генетических принципах селекции, позволяет осуществлять отбор животных с в молодом возрасте нужным генотипом, обуславливающим наличие полезных признаков [20].

2.1.3 Методы оценки племенной ценности

Основным этапом при разработке селекционной программы является выбор метода оценки племенной ценности животных по интересующим признакам. Современный уровень развития биологической науки не дает возможности измерить истинную генетическую ценность животного. Точность оценки племенной ценности животных зависит от используемого метода, и повысить ее значительно легче, чем улучшить все другие факторы, определяющие генетический прогресс [123, 180, 14, 47]. Наиболее современные методы оценки племенной ценности особей предусматривают возможность выделения генетических эффектов из структуры общей изменчивости показателей признака, а значит, позволяют наиболее достоверно определить племенные качества оцениваемых особей. Выбор метода оценки племенной ценности особей основывается на наличии (доступности) и достоверности информации первичного учета фенотипических показателей о животных, корректности идентификации животных и регистрации их родословных в информационных системах [28].

На начальных этапах становления селекционной работы методы определения племенных качеств особи были основаны на учете фенотипических проявлений признаков у предков оцениваемого индивида (оценка по родословной), у него самого (оценка по собственной продуктивности), у его потомков (оценка по потомству). Суть подхода заключается в том, чтобы из относительно ограниченного объема фенотипических данных предков, боковых родственников, самого животного и

потомства необходимо извлекать максимум достоверной генетической информации и использовать ее с высокой эффективностью [29].

На протяжении XX столетия методы, позволяющие прогнозировать племенную ценность животных постоянно развивались, в особенности для быков-производителей молочных пород. До возникновения метода искусственного осеменения отбор быков-производителей происходил в соответствие с показателями продуктивности матерей или средней продуктивности потомства. Также отбор быков производили в зависимости от «индекса быка», который являлся результатом сравнения продуктивности дочерей и матерей. Однако эти подходы были несовершенными, поскольку они не учитывали влияние на продуктивность факторов окружающей среды, числа потомков и генетическую изменчивость признаков [23].

Широкое использование метода искусственного осеменения позволило распространить дочерей быков в разные регионы, страны и континенты, что привело к потребности в разработке более совершенных методов оценки племенной ценности быков-производителей. Основная проблема заключается в появлении межстадных паратипических различий, которые не позволяют рассчитать племенную ценность быков-производителей по продуктивности потомства. Так, возникла необходимость элиминировать факторы окружающей среды между стадами, чтобы определить только генетические факторы, что обуславливают изменчивость признака [195].

В 1950-х гг. в Англии Робертсон и Рендель (Robertson и Rendel, 1950, 1955) разработали теорию и вычислительную процедуру метода «сравнения со сверстницами» (Contemporary Comparison, CC) [153]. В данном случае продуктивность всех дочерей быка-производителя сравнивают с продуктивностью их сверстниц - животных, которые родились в одно время с дочерьми данного быка, в одном и том же хозяйстве, но получены от других производителей. Этот метод получил широкое применение и до сих пор используется для оценки быков-производителей во многих странах. Однако, метод CC не позволяет решить проблему элиминации межстадных паратипических различий [2].

Важным событием для оценки племенной ценности явилась разработка метода наилучшего линейного несмещенного прогноза, (Best Linear Unbiased Prediction, BLUP).

Метод BLUP, предложенный в 70-х годах статистиком и животноводом профессором Ч.Р.Хендерсоном, отличается статистической неискаженностью. Статистическая неискаженность метода заключается в особенности расчета, при котором происходит разделение паратипических и генетических факторов. В настоящее время метод BLUP является общепринятым и широко используется при составлении программ селекции от крупного рогатого скота, овец, свиней до рыб, так как позволяет наиболее точно определить генетический потенциал животных и прогнозировать продуктивные качества потомства с помощью сложных математических моделей и статистического анализа [80, 17, 18].

Благодаря развитию в конце XX века биометрических и молекулярно-генетических методов, информационных и коммуникационных технологий впервые стало возможным использование информации о генотипе животных при оценке их племенной ценности. Открытие микросателлитных маркеров позволило выявить различия между животными по многим сайтам генома, которые можно рассматривать как локусы маркеров. Сами по себе они, вероятно, не являются локусами количественных признаков (QTL), но могут быть связаны с ними. Таким образом, появилась возможность идентифицировать и использовать QTL в маркер-ассоциированной селекции (Marker-Assisted Selection, MAS). Высокая стоимость генотипирования животных по таким маркерам, вероятно, помешала раннему широкому использованию этой технологии [23].

Существенным прорывом было появление первого чернового варианта проекта «Геном человека» 2001 году, и стало известно, что большая часть вариаций последовательности генома может быть отнесена к однонуклеотидным полиморфизмам (SNP). В настоящее время SNP-маркеры являются важным инструментом для определения генетического потенциала домашнего скота, поскольку они широко распространены и обнаруживаются по всему геному: в интронах, экзонах, промоторах, энхансерах или межгенных областях. Фактически, в геноме КРС около трех миллиардов нуклеотидов, и в то же время известно более 30 миллионов SNP, то есть один SNP-маркер на каждые 100 нуклеотидов. Позднее, несколько исследовательских групп предложили включить информацию о SNP-маркерах в метод BLUP. Таким образом возник метод полногеномного отбора или геномная селекция (GS) [90, 14, 16].

Оценка племенной ценности, основанная на генетических принципах селекции, позволяет осуществлять отбор животных в молодом возрасте с нужным генотипом, обуславливающим наличие полезных признаков [20].

2.1.3.1 Метод оценки племенной ценности сравнения со сверстницами (СС)

Модель сравнения со сверстницами была предложена Робертсоном и Ренделом в 1954 году. В то же время в США Хендерсон С.Р. представил разновидность этого метода. Разница между двумя методами заключается в том, что в первой модели использовались только записи первой лактации, а во втором методе учитывались все лактации [189]. Метод сравнения со сверстницами обосновал свою применимость в гипотезе генетического сходства стад. Робертсон и Рендель (1950) и Скьервольд (1963) подсчитали, что отбор быков-производителей составляет около двух третей потенциала генетического прогресса для производства молока в оптимальной структуре разведения молочного скота. Ожидается, что повышение точности отбора быков-производителей окажет вдвое большее влияние на генетический прогресс, чем улучшение отбора коров. Однако некоторые исследователи предполагают, что это соотношение больше, чем два к одному [180].

Принцип метода сравнения со сверстницами заключается в сравнении продуктивности дочерей быка с продуктивностью лактировавших в аналогичных условиях сверстниц. Расчёт оценки племенной ценности (EBV) производят по формуле[21]:

$$EBV = 2b \frac{\sum(D - \bar{C})}{n}, \text{ где}$$

$$b = \frac{w}{w+k} \text{ и } k = \frac{4-h^2}{h^2}$$

где $(D - \bar{C})$ - отклонение продуктивности дочери быка (D) от средней продуктивности сверстниц (C); n - число дочерей; w - число эффективных дочерей ($= n \times nC / (n + nC)$), nC - число сверстниц); h^2 - коэффициент наследуемости.

Для повышения объективности подобной оценки необходимо, чтобы потомство

происходило от похожих по продуктивности матерей и выращивалось в одинаковых условиях. При оценке быков-производителей молочного направления производства желательно, чтобы отел происходил в один и тот же период, в одном возрасте для синхронизации периода лактации [47].

Недостаток метода СС связан с невозможностью учитывать генетические различия между группами животных в популяции. Единственное условие, при котором метод СС дает несмещенные оценки племенной ценности быков выполняется при отборе всех оцениваемых быков в пределах одной популяции при отсутствии генетического тренда, то есть, когда эффективность селекции равна нулю. Кроме того, метод СС не исключает возможность некорректной классификации (ранжирования) быков по их племенной ценности при использовании генетического материала быков-производителей из разных стран Европы и Северной Америки в разведении отечественных пород молочного направления [21].

2.1.3.2 Метод оценки племенной ценности наилучшего линейного несмещенного прогноза (BLUP)

BLUP это метод селекционной и генетической оценки животных. Он основан из сложных математических и статистических расчетов и позволяет сделать вывод о практической ценности (генетический потенциал, продуктивные качества и т.д.) конкретной особи [85, 154]. Известно, что точность оценки племенной ценности зависит от многих факторов; числа потомков использованных при испытании, генетического фона на котором оно проводится, условий их кормления, содержания и сезона года и т.д. Производители оцененные в одних условиях как улучшатели оказываются нейтральными или даже ухудшателями при иных условиях [99, 156, 159].

Для решения этой проблемы профессором С. Хендерсоном из Корнельского университета в 70-е годы XX века был предложен метод BLUP. Название BLUP представляет собой аббревиатуру от английского Best Linear Unbiased Prediction (наилучший линейный несмещенный прогноз) [95, 102, 165]. Изначально речь шла только о теоретической модели, которая была абсолютно неприемлема для практического применения. Разработка в последующие годы методов расчета и различных моделей для

оценки племенной ценности на основе BLUP привело к тому, что этот метод стал основным методом оценки племенной ценности КРС (с начала 80-х годов XX века) [86]. Сущность этого метода заключается в использовании статистических поправок на влияние поддающихся учету факторов. При этом следует различать статистический метод BLUP и модель, которая используется для описания данных. Модель описывает, какие причинные факторы (селекционное значение, ферма, сезон, материнское влияние и т.д.) оказывают влияние на продуктивность. Метод представляет собой способ расчета, учитывающий в оцениваемых значениях влияние описанных в модели различных факторов [14].

BLUP является своеобразным вариантом индексной оценки. Коэффициенты этого индекса находятся на основании разложения общей дисперсии признака на факториальные, а сам он представляет собой уравнение регрессии [14].

Преимуществом данного метода является то, что он позволяет увеличить число потомков для оценки, максимально нивелируя влияние средовых факторов [40]. Главное достоинство метода BLUP состоит в том, что он позволяет максимально использовать всю имеющуюся информацию об оцениваемом животном [43]. В основе метода BLUP находится модель в виде уравнения регрессии, отражающее зависимость одних переменных от других. При этом метод позволяет максимально сгладить вклад факторов окружающей среды в конечный оценочный коэффициент. Для определения модели, которую необходимо применить для популяции, нужно владеть разносторонней информацией об исследуемых особях и условиях их содержания [156].

Модель - это уравнение которое показывает какие независимые переменные, факторы, влияют на зависимую переменную и признаки. Модель необходима для того, чтобы описать фактическую ситуацию в популяции (породе) то есть как можно полнее и точнее определить факторы, которые влияют на продуктивность животного. В практике для каждой популяции должна быть подобрано оптимальное уравнение BLUP, это потому, что наилучшая модель BLUP для одной популяции, может быть не адекватной для другой [86].

Метод BLUP обеспечивает наилучшую линейную несмещенную оценку фиксированных факторов и наилучший линейный несмещенный прогноз случайных

факторов. В результате увеличивается вероятность присвоить верный коэффициент производителю в системе рангов. Самая первая модель метода BLUP позволяла дать прогноз аддитивной генетической изменчивости производителя по качеству потомства, обозначалась как BLUP SM (sire model – модель отца) и рассчитывалась по следующему уравнению [170, 171, 21]:

$$Y_{ijk1} = \mu + HYS_i + G_j + S_{jk} + e_{ijk1}$$

Где Y_{ijk1} - продуктивность первотелки дочери jk-го быка из j-ой генетической группы в i-ом стаде-годе-сезоне; μ - общее среднее продуктивности по популяции; HYS_i - фиксированный эффект i-го стадо-год-сезона; G_j - фиксированный эффект j-ой генетической группы отца; S_{jk} - рандомизированный аддитивный генетический эффект (=1/2 генетической племенной ценности) k-го отца из j-ой генетической группы; e_{ijk1} - рандомизированный эффект неучтенных факторов.

Фиксированные факторы стадо (H), год (Y) и сезон отела (S) объединяются и включаются в модель как один комбинированный HYS фактор. Таким образом можно учесть эффект не только каждого отдельного фактора, но и взаимодействия между этими факторами. При оценке быка-производителя, продуктивность его дочери сравнивается с продуктивностью сверстниц в пределах i-ой градации HYS. Детализация комбинированного фактора HYS (увеличение числа сезонов) позволяет в наибольшей степени исключить влияние каждого отдельного фактора на продуктивность и оценки племенной ценности животных [147, 22]. Включение в модель BLUP Фиксированного фактора G позволяет учитывать генетический тренд в популяции. Объединение в группы быков-производителей происходит по году их рождения. Если быки генетически дифференцированы (разный процент генов улучшающей породы) по кровности, то включение фактора (G) в модель BLUP приводит к повышению точности оценки быков производителей [21].

Матричная запись вышеприведенной модели выглядит следующим образом [157]:

$$y = Xb + Zu + e$$

где: y - вектор известных наблюдаемых признаков (продуктивности, фертильность, устойчивость к болезням и т.д.); b – вектор, содержащий неизвестные фиксированные

эффекты (например: эффект стадо-года-сезона отела), которые необходимо исключить при оценки племенной ценности; u – это вектор по случайным неизвестным аддитивным генетическим эффектам отцов, которые необходима прогнозировать; e - вектор по случайным эффектам неучтенных в модели факторов (по среднему равна нуль) ; X и Z - соответствующие единичные диагональные матрицы, связывающие с векторами фиксированных и случайных эффектов.

Для решения уравнения необходима построить систему линейных уравнений смешанной модели (Mixed Model Equations, MME) [85, 147, 157]:

$$\begin{bmatrix} \hat{X}R^{-1}X & \hat{X}R^{-1}Z \\ \hat{Z}R^{-1}X & \hat{Z}R^{-1}Z + G^{-1} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{b} \\ \hat{u} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \hat{X}R^{-1}y \\ \hat{Z}R^{-1}y \end{bmatrix}$$

$$\text{где: } G = A\sigma_g^2 ; R = I\sigma_e^2$$

A - Матрица отношения; σ_g^2 = варианса по отцам (= 0,25 σ_a^2); σ_a^2 - аддитивная генетическая варианса; I – единичная матрица; σ_e^2 - остаточная варианса.

Решение системы линейных уравнений смешанной модели позволяет несмещенную оценку фиксированного эффекта генетической группы (g), к которой относится оцениваемый бык производитель, также решение уравнения ММЕ обеспечивает несмещенный прогноз аддитивной генетической ценности быка в независимости от средовых факторов, таких как условия содержания, кормления, года и сезона отела, и также в независимости от всех взаимодействий между этими факторами. В данной вышеприведенной модели (sire model – модель отца) племенную ценность рассчитывается как удвоенная сумма оценок аддитивной генетической ценности быка-производителя и фиксированного эффекта генетической группы (g), в которую оцениваемый бык был включен [20]:

$$EVB_{BLUPjk} = 2(G_j + S_{jk})$$

где: EVB_{BLUPjk} – оцениваемая племенная ценность jk -го быка в j -ой генетической группы; S_{jk} – оценка эффекта отца; G_j – оценка эффекта генетической группы.

2.1.3.3 Метод оценки племенной ценности наилучшего линейного несмещенного прогноза - модель животного (BLUP AM)

В модель BLUP SM для оценки включены только быки-производители и их дочери, а не все животные в стаде. Кроме того, модель не охватывает генетические отношения между животными, что приводит к снижению точности оценки племенной ценности [109]. Возникла необходимость в получении точных описаний процессов отбора и соответствующей модели отбора для решения этих проблем, а также включения всех животных популяции в одну модель с учетом генетических взаимоотношений между всеми животными [101, 102]. Хендерсон разработал метод вычисления аддитивной генетической родословной матрицы (A) между животными в популяции с учетом коэффициента инбридинга для каждого животного [100]. Это дает ряд преимуществ: быки и коровы оцениваются одновременно с учетом всех родственных отношений между животными в стаде, повышается достоверность оценки быков и коров; учитывается генетическая ценность партнеров по спариванию. Модификация модели позволяет включить в уравнение BLUP всех животных, даже тех, у которых нет записей о потомстве [196]. Такая модель получила название BLUP по модели животного. Линейная форма модели животного [196]:

$$y = X\beta + Zg + e$$

где: y : $1 \times n$ (число записей) вектор по наблюдениям (продуктивность, фертильность); β : $1 \times p$ (число уровней фиксированных эффектов) вектор по фиксированным эффектам; g : $1 \times q$ (число уровней случайных эффектов животных) вектор аддитивной генетической вариации (EBVs); X, Z – матрицы $n \times p, n \times q$, которые связывают оценку животных с фиксированными и случайными эффектами; $e = 1 \times n$ – вектор случайных неучтенных в модели эффектов.

Главная цель решения уравнения смешанной линейной модели BLUP AM - рассчитывать линейную функцию β и g (EBV) от y . Для этого необходимо решение смешанной модели (MME), которая в BLUP AM будет иметь вид [100]:

$$\begin{bmatrix} X'X & Z'X \\ Z'X & Z'Z + A^{-1}\alpha \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \beta \\ g \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'y \\ Z'y \end{bmatrix}$$

Где: A – матрица генетического родства; $\alpha = \frac{\sigma_e^2}{\sigma_a^2} = \frac{1-h^2}{h^2}$; β - линейная оценка фиксированных факторов; g - лучший несмещенный прогноз генетической ценности животного (EBV).

Общей особенностью модели животного является то, что в ней используется аддитивная матрица генетических отношений (A). Матрица родства строится таким образом что диагональные элементы равны $1 + F_i$, где F_i является коэффициентом инбридинга животного (i). Внедиагональные элементы матрицы родства – коэффициент родства между животными или числитель коэффициента родства Райта между животными [103, 113].

В модели BLUP AM, с одной стороны, все известные родственники животного оказывают влияние на его EBV. С другой стороны, каждое животное вносит вклад в EBV своих родственников. Степень обоюдного влияния зависит от тесноты родства между животными. Дочери, сыновья и родители имеют большее значение для оценки животного, чем дедушки, двоюродные братья и сестры, другие более отдаленные родственники [103, 24].

2.1.3.4 Геномная оценка племенной ценности (геномная селекция)

Революция геномного отбора связана с двумя событиями. Во - первых, было произведено секвенирование генома крупного рогатого скота, которое привело к открытию многих тысяч ДНК-маркеров - SNPs. Одновременно с открытием множества маркеров SNP в геномах домашнего скота произошло резкое снижение стоимости генотипирования. Во-вторых, было показано, что можно проводить более точный отбор животных на основе данных плотных ДНК-маркерами без описания фенотипа, то есть методом геномной селекции [143, 50].

Геномная селекция основана на геномной оценке племенной ценности (GEBV) с использованием большого количества маркеров, равномерно распределенных по всему геному. Соответственно начальным этапом геномной селекции является маркерная селекция. Известно, что большая часть хозяйственно ценных селекционных признаков имеет полигенный характер, т.е. контролируется множеством генов. При этом изменчивость признаков под воздействием факторов внешней среды может достигать

50 %. В то же время имеются гены или группа генов, а точнее аллели этих генов, вклад которых в проявление того или иного признака продуктивности при любых условиях среды более значителен и имеет четко выраженный эффект [54, 89, 138].

Молекулярно-генетические методы позволяют определить различия между животными по аллельным вариантам в локусах ДНК, которые или непосредственно влияют на проявление признака, либо связаны с QTL, что делает возможным картировать эти локусы и проводить отбор животных непосредственно по генотипам, т.е. по генетическим маркерам. Такой подход получил название маркерной селекции или MAS-селекции.

Как правило, фрагменты ДНК, которые расположены близко друг к другу на хромосоме, наследуются сцепленно. Это явление позволяет использовать генетические маркеры для локализации сцепленных с ними QTL. Так как однонуклеотидные полиморфные маркеры (SNPs) равномерно распределены по всему геному, они могут связаны со всеми QTL, влияющих на изменчивость селекционных признаков. Определение влияние всех SNPs на изменчивость признаков, позволяет определить суммарный эффект всех генов из структуры общей изменчивости показателей [34].

Данный подход позволяет определить племенную ценность животного в раннем возрасте, практически сразу после рождения и проводить селекцию, не ожидая достижения животным половой зрелости и появления у него признаков половозрелости. Кроме того, данным подход позволяет определить племенную ценность с точностью до 80% [172].

Первый этап геномной оценки племенной ценности состоит в создании контрольной референтной популяции, которая позволяет проанализировать связь между генотипами SNP и селекционными признаками. В молочном скотоводстве, как правило, эту калибровочную выборку формируют из генотипированных быков данной породы, имеющих оценки по потомству. Затем устанавливается статистическая зависимость между генотипами SNP и величиной признаков у потомства. GEBV вычисляется как сумма эффектов всех SNP-маркеров, которые распределены по геному примерно на одинаковом расстоянии. При высокой плотности SNP-маркеров большинство локусов

количественных признаков QTL потенциально будут находиться в неравновесии по сцеплению с фланкирующими их генетическими маркерами [138, 162].

Эффекты SNP-маркеров, выявленные в референсной популяции, можно использовать в течение нескольких поколений для достаточно точного предсказания геномных племенных оценок у молодых бычков, исходя только из результатов их генотипирования. По сравнению с традиционными методами селекции, основанными на оценке фенотипа и родословной животного, геномная селекция позволяет, во-первых, более эффективно отбирать животных по признакам, которые имеют низкую наследуемость, во-вторых, оценить большее число кандидатов для селекции и, в-третьих, повысить интенсивность селекции за счет сокращения интервала между поколениями [49].

Для расчета GEBV сначала выводится уравнение прогнозирования на основе SNPs. Весь геном делится на небольшие сегменты, влияние которых оценивается в референтной популяции, в которой животные являются фенотипированными и генотипированными.

Таким образом, улавливаются эффекты всех локусов, которые вносят вклад в генетические вариации, даже если эффекты отдельных локусов очень малы. В последующих поколениях животных можно генотипировать по маркерам, чтобы определить, какие сегменты хромосом они несут, а предполагаемые эффекты сегментов, которые несет животное, затем можно суммировать по всему геному, чтобы предсказать GEBV [188].

Модели Байеса, включающие эффекты SNP и прямые геномные значения (DGVs), основаны на совместном анализе генотипов и фенотипов, могут быть модифицированы для использования псевдофенотипов (т. е. оценочных значений племенной ценности, скорректированных на среднее значение и точность родителей или отклонения потомства) только для генотипированных животных, таких как быки-производители. Позднее, Ван Раден предложил эквивалентный метод, называемый геномным BLUP (GBLUP), в котором прогнозы для генотипированных животных получают на основе геномных отношений (т. е. доли аллелей, общих между животными), а не только родословных отношений. Эта матрица геномных отношений (G) показывает какие маркерные аллели унаследованы каждой особью [125].

Пусть M будет матрицей, которая определяет, какие маркерные аллели унаследованы каждой особью. Размеры M - это количество особей (n) по количеству локусов (m). Уравнения могут включать в себя информацию маркеров с использованием матрицы MM' размера $n \times n$ или матрицы $M'M$ размера $m \times m$. Если элементы M установлены в -1 , 0 и 1 для гомозиготы, гетерозиготы и другой гомозиготы, соответственно, диагонали MM' подсчитывают количество гомозиготных локусов для каждого животного, а внедиагонали MM' - количество аллелей, общих у родственников. Напротив, диагонали $M'M$ подсчитывают количество гомозиготных особей для каждого локуса, а внедиагонали измеряют частоту наследования аллели в разных локусах одной и той же особи. Пусть частота второго аллеля в локусе i равна p_i , и пусть матрица P содержит частоты аллелей, выраженные как разность от $0,5$ и умноженные на 2 , так что столбец i матрицы P равен $2(p_i - 0,5)$. Вычитание P из M дает матрицу Z , которая устанавливает средние значения эффектов аллелей равными 0 . Тогда, матрицу геномных отношений G можно получить по формуле [192]:

$$G = \frac{ZZ'}{2 \sum P_i (1 - P_i)}$$

Если каждая особь измеряется один раз на предмет признака и наследование всех аллелей известно, то вектор данных y может быть смоделирован как:

$$y = Xb + Zu + e$$

Xb - относится к фиксированным паратипическим эффектам; e - является вектором случайной ошибки с дисперсией $R\sigma_e^2$. Матрица R диагональна с элементами: $R_{ii} = \frac{1}{R_{dau}} - 1$, где R_{dau} - надежность оценки быка по дочерям с исключением родительской информации; u - вектор состоит из аддитивных генетических эффектов, которые представляют собой эффекты замещения аллеля для каждого маркера. Сумма (Zu) по всем маркерам локуса предполагается эквивалентной а вектору геномных племенных ценностей (a).

В смешанной модели (ММЕ) GBLUP используется геномная матрица родства G вместо аддитивных генетических матрица родства (A), которая используется в обычном

BLUP AM. Смешанная модель (ММЕ) для GBLUP имеет вид [85]:

$$\begin{bmatrix} X'X & ZX \\ ZX' & ZZ + G^{-1}\alpha \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \hat{b} \\ \hat{u} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'y \\ Z'y \end{bmatrix}$$

Прямое геномное значение DGV (a) получают на примере данного уравнения:

$$a = Z(ZR^{-1}Z + I\lambda)^{-1}ZR^{-1}(y - X\hat{b})$$

Не нулевые QTL могут быть переоценены или недооценены, но их аддитивный (суммарный) эффект будет оценен точно. Поэтому все эффекты важны и включаются в расчет DGV (для традиционных биометрических методов геном – «черный ящик»; при расчете полигенной EBV допускают аддитивное действие генов и оценивают суммарный их эффект; прим. В.К.). Так как анализируется сразу весь геном, то отпадает необходимость в идентификации QTL или генов. Методология DGV предполагает, что весь геном объясняет всю генетическую вариацию признаков. Было показано, что с высокоплотными маркерами геномная селекция без знания место нахождения мажорных генов так же эффективна, как MAS, в которой известна точная их локализация. Поэтому, имея плотные маркерные карты, фенотипические данные и надлежащие аналитические средства можно рассчитывать DGV животных не идентифицируя QTL (или гены) [20].

Несмотря на широкое применение метода GBLUP в селекции животных, его основная проблема заключается в том, что в модели присутствуют только генотипированные животные. Поскольку только часть животных имеет генотип, GBLUP может иметь меньше фенотипической и родословной информации, чем BLUP. Из-за этого необходимы некоторые дополнительные шаги для объединения геномной и родословной информации. При использовании GBLUP метод оценки племенной ценности является многоступенчатым содержанием следующих этапов [117]:

- 1- Оценка EBV с использованием традиционного BLUP;
- 2- Получение дерегрессированных оценок или отклонений дочерей (Дочерние отклонения, DD);
- 3- Прогнозирование DGV с использованием GBLUP;
- 4- Смешивание DGV с EBV. (Объединение DGV с традиционным родительским средним)

Подход смешивания, использованный для создания GEBV, был следующим [94]:

$$GEBV = w1DGV + w2EST$$

Где: GEBV – геномная оценка племенной ценности; DGV - непосредственная геномная ценность, получаемая в результате GBLUP; EST - оцениваемая племенная ценность традиционным BLUP или родительским средним (РА). w1 и w2 – связываются с надежностью оценки:

$$w1 = \frac{Rel_{DGV}}{Rel_{DGV} + Rel_{EST}}; w2 = \frac{Rel_{EST}}{Rel_{EST} + Rel_{DGV}}$$

Геномная селекция имеет возможность быть широко используемой, поскольку происходит построение генетических карт высокой плотности для КРС, технология микрочипов является относительно дешевой и происходит постоянное развитие биометрических методов оценки животных. В скотоводстве экономически развитых стран геномную информацию начинают использовать (1) для оценки племенной ценности и (2) при разработке новых схем разведения. Внедрение геномной селекции оказывает большое влияние на традиционные системы генетической оценки и на программы генетического улучшения животных [199]. Результаты моделирования показывают, что точность GEBV может быть такой же высокой, как точность EBV по качеству потомства. Потенциально геномный отбор может привести к удвоению скорости генетического прироста за счет отбора и разведения быков в возрасте 2 лет, а не 5 лет. Избегая оценки по качеству потомства, компании по разведению быков могут сэкономить до 92% своих затрат. Однако часть этой экономии может быть компенсирована необходимостью инвестировать больше денег в генотипирование, чтобы увеличить интенсивность отбора и, таким образом, увеличить скорость генетического прогресса [98, 172].

2.1.3.5 Одношаговый геномной лучший линейный несмещенный прогноз племенной ценности (ssGBLUP)

Оценка GEBV представляет собой многоступенчатый процесс, в котором традиционная оценка EBV методом BLUP остается неизменной, а геномный отбор проводится с применением дополнительных анализов. Однако многоступенчатый метод

имеет некоторые недостатки: (а) DGV генерируются только для простых моделей (то есть моделей с одним признаком, не по материнской линии); (б) в модель включены только генотипированные животные; (с) для этого требуются громоздкие псевдофенотипы, которые могут зависеть от точности, полученной с помощью приближенных алгоритмов [79, 126].

Несмотря на широкое применение многоступенчатых методов геномных оценок племенной ценности во всем мире, начиная с 2009 года, этот класс методов не является совершенным. Это связано с тем, что генотипирование проводится для ограниченного числа особей и геномная информация не может быть экстраполирована на негенотипированных животных; следовательно, для генотипированных животных рассчитывается GEBV, в то время как для негенотипированных особей рассчитывается EBV. В результате было предложено несколько корректировок, особенно в отношении молочного скота, чтобы приблизить EBV к GEBV при многоэтапной оценке. Было признано, что многоэтапные методы в конечном итоге приведут к ошибочным прогнозам. Намереваясь решить эти проблемы при получении геномных прогнозов, Misztal с соавторами предложил метод, объединяющий фенотипы, родословную и генотипы в единую оценку. Этот метод называется одношаговым геномным ssBLUP [121].

Метод ssGBLUP включает замену матрицы родословных отношений (A) в традиционном BLUP на реализованную матрицу родственных связей, которая объединяет родословные и геномные отношения. Эта реализованная матрица взаимосвязей называется H-матрицей [117].

Вывод о совместном распределении родословных и геномных отношений позволяет экстраполировать геномную информацию на негенотипированных животных. Это означает, что в ssGBLUP родословные родственные связи негенотипированных животных усиливаются геномной информацией их родственников. Со временем метод ssGBLUP стал наиболее предпочтительным инструментом для геномной оценки и отбора у многих видов домашних животных, а именно мясного крупного рогатого скота, свиней, бройлеров, несушек, молочных овец и коз, баранины и рыбы. Хотя ssGBLUP упрощает систему оценки генома, ее реализация включает в себя несколько деталей и требует

знания особенностей метода [120, 126].

Решения для u получали из системы линейных уравнений смешанной модели [94]:

$$\begin{bmatrix} \acute{X}X & \acute{X}Z \\ \acute{Z}X & \acute{Z}Z + H^{-1}\alpha \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \hat{b} \\ \hat{u} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \acute{X}y \\ \acute{Z}y \end{bmatrix}$$

Комбинированная матрица генотипов и родословной создавалась по формуле [53]:

$$H^{-1} = A^{-1} + \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 0 & G^{-1} - A_{22}^{-1} \end{bmatrix},$$

Где A^{-1} – обратная матрица родства, A_{22}^{-1} – обратная матрица родства генотипированных животных, G^{-1} – обратная матрица родства, рассчитанная по генотипу животных.

2.1.4 Применение способов репродуктивных технологий при геномной селекции

Высокий темп развития геномных и генно-инженерных технологий играет существенную роль в улучшении генома КРС и, соответственно, в управление процессом генетического совершенствования популяции (ее продуктивности, устойчивости к заболеваниям, повышения фертильности, снижения вероятности врожденных дефектов) [201]. Достичь генетического улучшения поголовья КРС можно за счет повышения достоверности оценки племенной ценности быков-производителей, а также при сокращении интервала генерации [148]. Наиболее перспективными подходами наряду с технологией трансплантации эмбрионов остаются генно-инженерные и геномные технологии, которые направлены как на повышение продуктивности молочного скота, так и на улучшение его репродуктивной эффективности [78].

Современными репродуктивными технологиями являются множественная овуляция и пересадка эмбрионов (Multiple Ovulation and Embryo Transfer, MOET), а также трансвагинальная аспирация ооцитов (OPU) с последующим производством эмбрионов (IVP), которое включает экстракорпоральное оплодотворение (In Vitro Fertilization, IVF) [49]. Кроме того, в последние 20 лет для увеличения маточного поголовья племенные предприятия используют технологию биопсии эмбрионов с последующим определением пола методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), ограничивая таким образом число

подсаживаемых эмбрионов. Объединение производства эмбрионов с их генотипированием, что позволяет повысить число селекционных кандидатов, сократить интервал между поколениями, а также произвести селекцию животных на эмбриональной стадии развития [60]. Скорость генетического прогресса в популяции КРС можно описать следующим уравнением [162]:

$$\Delta G = (i \cdot r \cdot \sigma_a^2) / L,$$

где ΔG – это генетический прогресс, i - интенсивность селекции, r - достоверность оценки племенной ценности, σ_a^2 - аддитивная генетическая вариация интересующего признака и L - генерационный интервал. Таким образом основными факторами для повышения эффективности отбора являются: высокая интенсивность отбора, надежность оценки племенной ценности и низкий генерационный интервал. Все вышеперечисленные параметры можно улучшить за счет биотехнологических манипуляций с половыми клетками и эмбрионами [69].

Интенсивность отбора в популяции КРС - это отношение числа особей, отбираемых для селекции к числу животных, принятых на выращивание. С повышением уровня продуктивности стада необходимо увеличивать интенсивность отбора. Методы МОЕТ и ОРУ-IVP позволяют относительно повысить число кандидатов путем увеличения количества промывок в схемах МОЕТ. При использовании метода ОРУ-IVF количество эмбрионов, произведенных за определенный период времени, может быть увеличено в 2-3 раза за счет повторных сеансов, приводящих к воспроизводству примерно 70 телят на одного донора в год [106].

Метод геномной селекции взрослых особей позволяет снизить интервал генерации до 10 мес. Сократить интервал между поколениями можно при извлечении ооциты из яичников самок-доноров, которые культивируются и оплодотворяются *in vitro*. Далее эмбриональные клетки генотируют по SNP-маркерам. На основании маркерных генотипов проводится отбор эмбрионов, которые имплантируются самкам-реципиентам. Процедуру повторяю и извлекают ооциты у особей второго поколения. Таким образом, применение маркеров при отборе эмбрионов сокращает генерационный интервал самок до 3-6 месяцев [136, 186].

С другой стороны, повысить эффективность геномной селекции можно за счет

генотипирования коров, что позволяет идентифицировать элитных коров-производительниц как потенциальных доноров для получения эмбрионов *in vitro*. Использование эмбриональных биотехнологий (МОЕТ, IVF) направлено на интенсификацию производства эмбрионов от ограниченного числа элитных коров-производительниц [49].

Таким образом использование репродуктивных биотехнологий при геномной селекции увеличивает скорость генетического прогресса в популяции, за счет сокращения интервалов генерации, повышения достоверности оценки племенной ценности и увеличении интенсивности отбора.

2.1.5 Генетические гаплотипы, связанные с нарушением фертильности крупного рогатого скота

Одним из экономически важных признаков КРС является фертильность. За последние 10 лет были разработаны геномные технологии, позволяющие идентифицировать рецессивные летальные локусы, ассоциированные со снижением фертильности у животных [63, 38]. Наиболее значимыми менделевскими генетическими вариантами, связанные с признаком фертильности как у самцов, так и у самок, являются мутации с потерей функции (*loss-of-function*, LOF), которые возникают в генах жизнеспособности [129].

В геноме человека примерно 7 168 (33,3%) из 21,556 аннотированных генов необходимы для жизни, то есть функциональность по крайней мере одной копии каждого из этих генов важна для жизни человека. Количество и соотношение основных генов у КРС, вероятно, похожи на таковые у человека. Гомозиготность по мутации LOF или гетерозиготность двух хромосом, каждая из которых имеет разные мутации LOF в одном и том же гене приводит к летальному исходу [183].

Большинство мутаций LOF вызывают раннюю потерю эмбриона из-за невозможности имплантации или развития. Кроме того, возможны потери телят во втором и третьем триместрах беременности. Возникновение гомозиготных эмбрионов с мутациями LOF, вызывающее летальный исход, приводит к снижению частоты аллелей с мутациями LOF в каждом последующем поколении [152].

Однако, при использовании искусственного осеменения частота некоторых летальных аллелей LOF в поголовье КРС может достигать высокого уровня, поскольку мутации LOF передаются от быков-носителей большому количеству потомков. Кроме того, в популяции КРС может присутствовать большое количество летальных мутаций LOF, за счет огромного числа важных генов, каждый из которых является мишенью для мутаций. Однако, частота встречаемости таких мутаций достаточно низкая [67].

Существенный прогресс в идентификации мутаций LOF был достигнут с помощью аналитического подхода, который впервые был описан в 2011 году. Ученые предположили, что летальные гаплотипы можно обнаружить среди гаплотипов, которые имеют высокую частоту встречаемости в популяции, но никогда не встречаются в гомозиготном состоянии у живых особей [191]. Данный подход основан на проведение генотипирования животных на десятки тысяч SNP-маркеров с помощью чипов и последующей идентификацией сегментов 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. Проведение отбора, исключаящего особей-носителей летальных гаплотипов, приведет к улучшению фертильности животных в популяции КРС [12].

В течение последних нескольких лет в популяции голштинской породы были идентифицированы несколько гаплотипов фертильности: НН0 или брахиспина (BY), НН1, НН2, НН3, НН4, НН5, НН6, НН7, ННВ или дефицит адгезии лейкоцитов (BLAD), ННС или комплексный порок позвоночника (CVM) и ННД или дефицит уридинмонофосфатсинтазы (DUMPS).

Брахиспина является летальным генетическим дефектом молочного голштинского КРС. ВУ приводит к аборту в течение первых 40 дней или мертворождению после продолжительного периода стельности. Мертворожденные телята характеризуются общей задержкой развития, сильным снижением веса тела, укорочением шеи и позвоночника, длинными и тонкими конечностями, и также нарушением в развитии внутренних органов. Мутация, вызывающая брахиспину является делецией участков

ДНК гена *FANCI* размером 3,3 kb. Частота встречаемости носителей ВУ составляет 7,4% у голштинской породы [76, 7].

Дефицит лейкоцитарной адгезии (Blad) - аутосомно-рецессивное наследственное заболевание, обусловлено однонуклеотидной заменой ($A \rightarrow G$) в гене *ITGB2*. Мутация приводит к замене аспарагиновой кислоты на глицин в 128-ом положении аминокислоты. Больные животные умирают по причине иммунодефицита (неспособность лейкоцитов перейти из кровотока в пораженной ткани). Носители гомозиготного генотипа по Blad характеризуются снижением резистентности организма к бактериальным инфекциям, тяжелыми и рецидивирующими. инфекциями слизистых оболочек, таких как пневмония, язвенный и гранулематозный стоматит, энтерит, периодонтит, потеря зубов, задержка заживления ран, нейтрофилия, дерматофития, папилломатоз. В результате смерть животного происходит в первый год жизни [11, 48].

Дефицит Уридинмонофосфатсинтетаза (DUMPS) - заболевание обусловлено точечной мутацией ($C \rightarrow T$) в 405 кодоне. Мутация приводит к образованию преждевременного стоп-кодона и усеченной с-терминальной субъединицы протеина. Болезнь возникла в США у быка-производителя USA000001308101 Skokie Sensation Ned, 1957 г [41]. р. и получила всемирное распространение вследствие продажи племенных животных, эмбрионов и спермы голштинского скота. Заболевание характеризуется абортами на 40 день стельности или резорбцией плода в течение первых двух месяцев стельности, приводя к увеличению межотельных интервалов [176].

SVM (комплексный порок позвоночника) – генетическое рецессивное заболевание, широко распространенное в голштинской популяции, приводящее к абортам преждевременным родам, мертворождениям или смертям телят в первые дни жизни, а значит, воздействующий на смертность молодняка и воспроизводительные способности скота. Самым ярким проявлением этого заболевания, о чем говорит уже само его название, являются многочисленные уродства скелета (укорочение шейного и грудного отдела позвоночника, деформация суставов передних и задних конечностей). Причиной SVM является замена $G \rightarrow T$ в последовательности ДНК гена *SLC35A3*. Частота встречаемости мутации SVM составляет в Голландии и Франции – до 40%; Канаде – 6,2%; США – 20% [74, 46].

Многие другие генетические дефекты, ведущие к снижению фертильности молочного скота, были выявлены после 2011 года таких как НН1, НН2, НН3, НН4, НН5, НН6 и НН7. По принятой номенклатуре наименование гаплотипа состоит из двух латинских букв и порядкового номера. Первая буква обозначает породу (Н – голштинская порода), вторая – от слова haplotype [191]. Дальнейшие исследования привели к идентификации причинных мутаций для НН1, НН3, НН4, НН5, НН6 и НН7. Однако мутация, вызывающая НН2 до сих пор не обнаружена. Таким образом для НН2 определяется статус носительство гаплотипа, а не казуальной мутации [71]. Информация о различных гаплотипах фертильности у голштинской и черно-пестрой породы породы представлена в таблице 1.

Таблица 1. Гаплотипы фертильности в популяции КРС голштинской и черно-пестрой породы породы

Гаплотип	Хромозом	Ген	Позиции	Тип	Ссылка
НН0	21	<i>FANCI</i>	21,184,869 – 21,188,198	3.3 Kb, делеция	[76]
НН1	5	<i>APAF1</i>	63,150,400	<i>C>T</i>	[51]
НН2*	1	-	94,860,836 – 96553,339	-	[71]
НН3	8	<i>SMC2</i>	95,410,507	<i>T>C</i>	[133]
НН4	1	<i>GART</i>	1,277,227	<i>A>C</i>	[82]
НН5	9	<i>TFB1M</i>	92,350,052 – 93,910,957	138 kbp, делеция	[175]
НН6	16	<i>SDE2</i>	29773628	<i>A>G</i>	[83]
НН7	27	<i>CENPU</i>	14168130_14168133	ТАСТ делеция	[105]
НCD	11	<i>APOB</i>	77,953,380 – 78,040,118	1.3kb, инсерция	[115]
ННС	3	<i>SLC35A3</i>	43,412,427	<i>G>T</i>	[74]
ННD	1	<i>UMPS</i>		<i>C > T</i>	[176]
ННВ	1	<i>ITGB2</i>	145,119,004	<i>A>G</i>	[178]

* Казуальная мутация, вызывающая НН2 до сих пор не определена.

Основная молочная порода КРС в России - российская черно-пестрая, которая была выведена в результате скрещивания между российскими молочными породами и голландской голштино-фризской породой. До сих пор наличие генетических дефектов среди животных этой породы никогда не подвергалось тщательному исследованию. Ожидается, что эти дефекты будут существовать у российского молочного скота, поскольку семя, эмбрионы и живые животные по-прежнему импортируются в Россию из разных стран для повышения продуктивности местных животных [24].

2.2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЙ

2.2.1 База данных информации о племенных животных

Была сформирована единая база данных о фенотипических показателях исследуемых признаков и о происхождении животных из 12 регионов Российской Федерации. Для формирования единой базы данных использовались первичные базы информации о племенных животных черно-пестрой породы из 523 предприятий, внесенных в реестр племенных организаций Министерства сельского хозяйства Российской Федерации. Первичные необработанные данные были получены в виде баз данных, сгенерированных из программ СЕЛЕКС [30], которые относятся к реляционной

СУБД Firebird 2.5. Работа с базами данных и выгрузка необходимой информации проводилась с помощью языка программирования Python 2.7 и пакета FDB. Для каждого животного с законченной лактацией, входившего в 523 локальные базы данных, была выгружена информация о показателях фертильности и молочной продуктивности, и информация о происхождении животных. В качестве информации о молочной продуктивности для каждого животного выгружалась информация о TD (день, когда собираются показатели молочной продуктивности животного за контрольный дойный день) для каждой лактации: информация о суточном удое, суточном проценте жира и суточном проценте белка. В качестве информации для формирования базы фенотипических данных по признакам фертильности для каждого животного выгружалась информация о дате отела, возрасте при отеле, дате и кратности осеменения. На основе загружаемых первичных данных была сформирована база данных следующих признаков фертильности: возраст первого отела (AFC) в днях; межотельный период (CI) в днях; интервал от отёла до первого осеменения (OFI) в днях; интервал от первого до последнего осеменения (FLI) в днях; длина сервис-периода (DO) в днях; кратность осеменения (NS).

Также для всех животных была выгружена вся первичная информация о происхождении. Для каждого животного выгружалась информация о всех известных поколениях предков по отцовской и материнской линиям.

2.2.2 Система оценки достоверности фенотипических данных племенных животных

При первичном анализе созданной единой базы данных информации о племенных животных было обнаружено, что первичные данные содержат большое количество ошибок и неточностей. Это не позволяет использовать такие данные для проведения дальнейших исследований. Для исправления сложившейся ситуации была разработана уникальная многоступенчатая система проверки данных молочной продуктивности на достоверность, которая включает в себя 6 основных этапов: проверка данных на критические значения, проверка продолжительности стельности, проверка изменчивости данных о молочной продуктивности внутри каждого хозяйства, проверка количества тестовых дней в лактации и анализ достоверности данных о молочной продуктивности

внутри каждой лактации. Все лактации, вошедшие в созданную единую базу данных, проходили проверки последовательно по каждому этапу. Лактации, информация о которых не проходила проверку на качество, удалялась из дальнейшего анализа.

Прежде всего из базы данных были удалены сведения о молочной продуктивности, значения которых были меньше или равны 0. Далее данные о молочной продуктивности проверялись на попадание в интервал ($\mu - 3\sigma$, $\mu + 3\sigma$). Данные, не входящие в этот промежуток, были удалены. Стоит отметить, что в случае удаления значений по суточному удою, данные по молочному жиру и молочному белку также были удалены независимо от того, прошли ли они данную проверку.

На следующем этапе проводилась проверка продолжительности стельности для каждой лактации также по правилу «трех сигм» [5]. Предварительно были удалены ошибочные неположительные значения. В результате проверку прошли лактации, которым соответствовала продолжительности стельности от 268 до 317 дней. Лактации, продолжительность предварительной стельности перед которыми не попадала в доверительный интервал, удалялись из дальнейшего анализа.

На третьем этапе проверки, чтобы исключить данные, полученные методом копирования единоразово полученных значений, в каждом хозяйстве был проведен контроль изменчивости признаков внутри стада. В результате данной проверки из дальнейшего анализа были удалены значения признаков в каждом хозяйстве, если за каждый контрольный дойный день, неделю или месяц в данных предприятия были обнаружены одинаковые значения.

Следующим этапом проверки данных молочной продуктивности на достоверность является проверка количества и качества тестовых дней в каждой лактации. Согласно утвержденным правилам оценки молочной продуктивности коров, данные были проверены на соответствие следующим условиям:

- 1) Должны иметься данные о не менее трех тестовых днях в лактации;
- 2) Между датой отела и датой первого TD должно быть не более 70 дней;
- 3) Между смежными TD должно быть не более 70 дней.

Лактации, которые не подходили по этим правилам, были удалены. Стоит отметить, что если удалялись данные по признаку «Суточный удой в кг», то удалялась

вся лактация.

На следующем этапе проверки, для каждой лактации, информация о суточных удоях которой прошла предыдущие этапы проверки, была построена кривая лактации с использованием международно признанных методик [198, 200]. Для каждой построенной лактационной кривой по каждому признаку были рассчитаны средние абсолютные ошибки аппроксимации (Mean Absolute Error, MAE). Полученные результаты для каждого признака образуют нормально распределенную выборку значений. В результате анализа рассчитанных средних абсолютных ошибок аппроксимации для каждой лактации, из дальнейшего расчета были исключены лактации, которые имели слишком большую ошибку аппроксимации (не вошли в промежуток $(0, \mu + 3\sigma)$).

Проверка первичных данных признаков фертильности проводилась для каждого признака отдельно. По признаку возраста первого отёла были удалены данные, значение которых не совпадает с интервалом 18 - 38 месяцев. Проверка данных по межотельному периоду проводилась таким образом, что в базу данных прошли только лактации, которые соответствовали межотельному периоду от 300 до 600 дней. Также в созданную базу данных вошли данные, значения которых от 25 до 360 дней для признака интервала отёла - первого осеменения (OFI) и от 25 до 500 дней признаков: интервал первого-последнего осеменения (FLI) и длина сервис-периода (DO). Проверка достоверности данных о кратности осеменения (NS) проводилась в соответствии с условием, что значение данных должно быть не более 10 осеменений за лактацию.

2.2.3 Система оценки достоверности информации о происхождении племенных животных

Для всех животных, информация о лактации которых была удалена в рамках проверки данных фертильности и молочной продуктивности на достоверность, из единой базы данных племенных животных также удалялась и информации об их происхождении. Первичный анализ показал, что качество данных о происхождении животных не позволяет проводить дальнейшие исследования, так как содержит большое количество дубликатов, ошибочных и неточных данных.

На первом этапе корректировки данных о происхождении животных был разработан уникальный алгоритм исправления зацикливаний в существующей

первичной базе данных о происхождении. Основная идея алгоритма – это присвоить животному номер поколения и проанализировать его изменение. Первоначально каждое животное в таблице родства имеет значение «1». Если по ходу прохождения последовательно по таблице встречаются потомки какого-либо животного, то номер поколения, в котором он находится, увеличивается на единицу. Если потомок животного имеет номер поколения выше, то соответственно необходимо пропорционально увеличить номер поколения животного. Алгоритм продолжает работу пока не перестанут изменяться номера поколений животных. Соответственно, животное с самым большим номером поколения является родоначальником. В том случае, если для какого-то животного есть ошибки в данных и имеются циклы, его номер поколения не перестанет увеличиваться. Животные с такой аномалией удалялись из базы данных информации о происхождении. Разработанный алгоритм позволил удалить ошибочные данные такого рода.

Следующим этапом корректировки сформированной базы родства являлось формирование комбинированной базы данных информации о происхождении животных с использованием референсной базы данных. Данный этап системы заключается в интеграции животных из созданной базы данных в уже имеющуюся в открытом доступе базу данных происхождения племенных животных молочных пород CDCB (Council of Dairy Cattle Breeding), США., как самой полной базы данных по молочным породам в мире. Информация о происхождении животных, полученная из этой базы данных, считалась референсной. Далее из российской и зарубежной информации о происхождении животных были построены два генеалогических дерева. Был проведен поиск совпадений вершин этих двух деревьев (животных). Условия поиска – совпадение пола + части номера + даты рождения или совпадение пола + номера, длина которого более 7 цифр. Если для вершин идентифицировалось совпадение, то все записи о предках этого животного в российской информации о родстве заменялись на референсную. Это, кроме прочего, позволило восполнить недостающую в наших базах данных информацию и объединить ветви генеалогического дерева, построенного по российским данным, которые без зарубежной базы данных никогда бы не пересеклись.

После формирования комбинированной базы данных о происхождении животных,

приводилась группировка дубликатов одних и тех же предков животных с законченной лактацией. Прежде всего, записи, которые не подверглись замене в рамках предыдущего этапа, группировались между собой по совпадению клички + даты рождения, или инвентарного номера + клички или инвентарного номера + даты рождения. Каждой группе записей был присвоен уникальный номер в хронологическом порядке. Ошибочные данные удалялись в том случае, если для одной группы записей родителям (отцу или матери) присвоено два или более уникальных номера. Далее данные группировались с учетом межродственных связей (совпадение отца или матери + совпадение каких-либо личных данных (клички, номера или даты рождения)).

Так же в данной работе мы апробировали метод восстановления части недостающей информации в матрице родства путем итерационной оценки матрицы R (ковариационная матрица остаточной ошибки e) для AM-модели. Для этого мы применяем EM-алгоритм [96] - алгоритм, используемый в математической статистике для нахождения оценок максимального правдоподобия параметров вероятностных моделей, в случае, когда модель зависит от некоторых скрытых переменных. Сначала происходит оценка латентных переменных по текущему приближению параметров, а затем находится оценка параметров, максимизирующая правдоподобие оценки латентных переменных и повторяется до тех пор, пока не сойдется к максимуму правдоподобия. В первом приближении мы считаем, что матрица R - диагональная, и решив AM-модель с ней, мы получаем оценку внутренних параметров (β и u) модели, а затем в следующей итерации находим следующее приближение оценки матрицы R , используя ту же AM-модель. Тем самым улучшая точность оценки нашей AM-модели.

2.2.4 Генотипирование животных

Генотипирование проводилось в компании ООО «Геноаналитика» для 427 быков-производителей и 217 коров. ДНК была выделена из крови и кожных выщипов согласно стандартного протокола QIAamp® DNA Investigator. Генотипирование проведено с использованием микроматрицы BovineSNP50 v3 DNA Analysis BeadChip (Illumina, США), согласно инструкции к этим микроматрицам. Для генотипирования брали 4 мкл ДНК с концентрацией 50 нг/мкл. Только генотипы с значением (call rate > 90%) были

использованы для разработки системы геномной оценки племенной ценности. Все SNPs маркёры, минорная частота аллеля которых менее 5% были исключены из анализа.

2.2.5 Оценка племенной ценности и генетических параметров животных

Оценки племенной ценности и генетических параметров проводились методом (TD ssGBLUP AM) для признаков молочной продуктивности [150] и методом (ssGBLUP AM) [122] для признаков фертильности. Для того чтобы оценить влияние факторов внешней среды на проявление признаков молочной продуктивности была произведена группировка данных по следующим паратипическим факторам: а) по номеру контрольного дойного дня (TD); б) по возрасту при отеле (A); с) по эффекту хозяйство-год-сезон отела (HYS_c); д) по эффекту номера лактации (L). Данные о признаках фертильности были сгруппированы по следующим факторам: а) регион-год-сезон рождения (RYS_b); б) регион-год-сезон отела (RYS_c); с) регион-год-сезон осеменения (RYS_i); д) возраст животного (A); е) номер лактации; ж) лактация-возраст животного (LA).

Для оценка племенной ценности и генетических параметров животных были сформированы следующие фиксированные статистические модели:

$$Y = X_1A + X_2HYS_c + X_3L + X_4TD + Z_1a + Z_2p + e$$

$$AFC = X_1RYS_b + X_2H + Z_1a + e$$

$$CI = X_1RYS_c + X_2H + X_3LA + Z_1a + Z_2p + e$$

$$CFI = X_1RYS_c + X_2H + X_3LA + Z_1a + Z_2p + e$$

$$FLI = X_1RYS_i + X_2H + X_3LA + Z_1a + Z_2p + e$$

$$DO = X_1RYS_c + X_2H + X_3LA + Z_1a + Z_2p + e$$

$$NS = X_1RYS_i + X_2H + X_3LA + Z_1a + Z_2p + e$$

Где: Y- вектор показателей молочной продуктивности (удой, кг; содержание жира в молоке, %; содержание белка в молоке, %); AFC - вектор наблюдений признака возраста первого отёла; CI - вектор наблюдений признака межотельного периода; CFI - вектор наблюдений признака интервала от отёла до первого осеменения; FLI - вектор наблюдений признака интервала от первого до последнего осеменения; DO - вектор наблюдений признака длины сервис-периода; NS - вектор наблюдений признака кратности осеменения; A – вектор фиксированного эффекта возраста животных; TD -

вектор фиксированного контрольного дойного дня; HYS_c - вектор фиксированного эффекта хозяйство-год-сезон отела; L – вектор фиксированного эффекта номера лактации; RYS_b – вектор фиксированного эффекта регион-год-сезон рождения; H - вектор фиксированного эффекта хозяйства; RYS_c – вектор фиксированного эффекта регион-год-сезон отёла; LA - вектор фиксированного эффекта лактация-возраст животного; RYS_i – вектор фиксированного эффекта регион-год-сезон осеменения; a - вектор рандомизированных аддитивных эффектов животного; p – вектор рандомизированных эффектов окружающей среды; e – вектор остаточных эффектов; X_1, X_2, X_3, X_3, Z_1 и Z_2 - единичные диагональные матрицы, связывающие вектор наблюдений с векторами фиксированных и случайных эффектов.

В матричной записи биометрические модели ssGBLUP AM имели вид:

$$y = X b + Z u + e .$$

где: y - вектор наблюдений признака; b - вектор неизвестных фиксированных эффектов окружающей среды, влияние которых необходимо исключить; u - вектор неизвестных рандомизированных аддитивных генетических эффектов животных, прогноз которых необходимо сделать; e - вектор рандомизированных эффектов неучтенных факторов со средней равной 0; X и Z – соответствующие матрицы плана, определяющие структуру набора данных, которые использовали для оценки животных.

Решения для u получали из системы линейных уравнений смешанной модели:

$$\begin{bmatrix} X'X & X'Z \\ Z'X & Z'Z + H^{-1}\alpha \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \hat{b} \\ \hat{u} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X'y \\ Z'y \end{bmatrix}$$

Комбинированная матрица генотипов и родословной H^{-1} создавалась по формуле:

$$H^{-1} = A^{-1} + \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 0 & G^{-1} - A_{22}^{-1} \end{bmatrix},$$

Где A^{-1} – обратная матрица родства, A_{22}^{-1} – обратная матрица родства генотипированных животных, G^{-1} – обратная матрица родства, рассчитанная по генотипу животных.

Расчет компонентов вариации для продуктивной популяции производился методом ограниченного максимального правдоподобия (Restricted Maximum Likelihood, REML). Программный пакет BLUPF90 был использован для оценки

племенной ценности животных и компоненты дисперсии исследуемых признаков [141].

Расчёт коэффициента наследуемости и повторяемости проводился по следующим формулам [55]:

$$h^2 = \frac{\sigma_a^2}{\sigma_a^2 + \sigma_p^2 + \sigma_e^2}$$
$$R = \frac{\sigma_a^2 + \sigma_p^2}{\sigma_a^2 + \sigma_p^2 + \sigma_e^2}$$

где: h^2 - коэффициент наследуемости признака; R - коэффициент повторяемости признака; σ_a^2 - аддитивная генетическая дисперсия; σ_p^2 - дисперсия окружающей среды; σ_e^2 - дисперсия остаточных эффектов.

Достоверность племенной ценности рассчитывалась с использованием следующей формулы [52]:

$$REL = 1 - \frac{PEV}{(1 + F)\sigma_a^2}$$

где: REL - достоверность оценки племенной ценности; PEV - прогнозируемая дисперсия ошибок; F - коэффициент инбридинга; σ_a^2 - аддитивная генетическая дисперсия.

Метод кросс-валидации был использован, чтобы оценить валидацию разработанной системы геномной оценки. Генотипированные животные были разделены случайным образом на 11 равных групп. 10 групп были использованы по очереди для расчёта модели. Оставшаяся 11 группа была тестовой - были удалены данные о потомках этих животных, и племенная ценность рассчитывалась только по геному (GEBV). Полученные оценки были сравнены с племенной ценностью животных, рассчитанной с использованием фенотипических данных о потомках в модели (EBV). Достоверность разработанной системы геномной оценки выражается степенью корреляции между значениями GEBV и EBV у генотипированных животных [61, 155].

2.2.6 Производство эмбрионов КРС in vitro (IVP)

Эмбрионы и их биопсии были любезно предоставлены компанией ООО «Геноаналитика», которая получила их в рамках реализации проекта по Соглашению №

14.579.21.0147 о предоставлении субсидии (уникальный идентификатор работ (проекта) RFMEFI57917X0147) и гранта РФФИ 17-29-08033 офи_м.

2.2.7 Проведение полногеномной амплификации биопсии эмбрионов

Полногеномная амплификация (ПГА) ДНК из биоптата проводилась методом изотермической амплификации с множественным вытеснением с помощью набора *illustra™ GenomiPhi™ V2 DNA Amplification Kit* (GE Healthcare, Munich, Germany). Стандартный протокол ПГА был модифицирован для получения оптимального результата при работе с биоптатом эмбрионов: был добавлен предварительный этап лизиса клеток эмбрионов и этап очистки продукта амплификации после проведения ПГА. Перед началом работы приготовили свежие буферы: алкалинный лизис буфер (100 мкл: 1М DTT 5 мкл; 1М КОН 20мкл; MQ H₂O 75мкл), нейтрализующий буфер (100 мкл: 1 М Tris-HCl, pH 7.5 60мкл; 1М HCl 40мкл), спирт, 70% (500 мкл: спирт, 96% 365 мкл; MQ 135 мкл).

Для лизиса клеток, в каждую пробирку, содержащую клетки биоптата в буфер PBS добавляли 1,5 мкл алкалинного лизис-буфера. После этого, пробирки инкубировались 30 минут при -70°C, а затем 10 минут при 65°C. После этого было добавлено 1.5 мкл нейтрализующего буфера, а затем пробирки поместили на лед.

Для амплификации, в каждую пробирку добавляли 9 мкл *GenomiPhi* буфер. ДНК была денатурирована на 95°C в течение 3 минут и затем пробирки охлаждали на льду. После этого в каждый образец добавляли 10 мкл реакционного буфера, содержащего дезоксирибонуклеотидтрифосфат (dNTP), случайные гексамеры и полимеразу *Phi29*. Реакционную смесь инкубировали при 30°C в течение 18 часов. После амплификации, ДНК-полимеразу *Phi29* инактивировали нагреванием при 65°C в течение 10 минут. После этого, пробирки с продуктами амплификации замораживали и хранили при -20°C до генотипирования. Оценка количества ДНК проводилась на спектрофотометре *NanoDrop ND1000-Technologies-Inc* (Wilmington, DE, США), а оценка качества ДНК проводилась с помощью гель-электрофореза.

2.2.8 Подсадка эмбрионов

Подсадка эмбрионов проводилась в хозяйстве ООО «Русь» (Пермская область)

специалистами компани ООО «Геноаналитика» в рамках реализации проекта по Соглашению № 14.579.21.0147 о предоставлении субсидии (уникальный идентификатор работ (проекта) RFMEFI57917X0147).

2.2.9 Генотипирование эмбрионов и рождённых животных и оценка их племенной ценности

Генотипирование проводилось для ДНК, полученных после ПГА и для ДНК, выделенных из биоматериала от рождённых животных (выщипы). Выделение ДНК из выщипов проводилось согласно стандартного протокола QuickGene DNA tissue kit L (DT-L). Генотипирование проводилось с использованием микроматрицы BovineSNP50 v3 DNA Analysis BeadChip (Illumina, США), согласно инструкции к этим микроматрицам. Для проведения генотипирования брали 4 мкл образца с концентрацией ДНК 50 нг/мкл. Расчет геномной оценки племенной ценности эмбрионов и рождённых животных проводился по 3 признакам молочной продуктивности (суточный удой в кг, молочный жир в %, молочный белок в %) и 3 признакам фертильности межотельный период (CI); интервал от отёла до первого осеменения (OFI); длина сервис-периода (DO) с использованием одноступенчатой животной модели ssAM-BLUP.

2.2.10 Частота встречаемости летальных голштинских гаплотипов

Особей КРС черно-пестрой породы тестировали на носительство 10 летальных гаплотипов, связанных с нарушением фертильности: HH0 (BY), HH1, HH2, HH3, HH4, HH5, HCD, HHC (CVM), HHB (BLAD) and HHD (DUMPS). Для выявления животных-носителей летальных мутаций производили генотипирование с использованием биочипов BovineSNP50 v3 DNA, содержащих мутации. Для выявления животных-носителей среди негенотипированных особей проводили ПЦР. В качестве биологического материала для выделения ДНК были использованы кровь, сперма, волосы или кожа животных.

ПЦР выполняли в конечном объеме 10 мкл реакционной смеси, содержащей 1 мкл ДНК-матрицы, 0,4 мкл прямого и 0,4 мкл обратного праймера, 2 мкл 5X ПЦР-буфера MasCFETaqMIX (Диалат, Москва) и 6,2 мкл H₂O. Все реакции проводили в термоциклере T100™ (BioRad) в следующих условиях: 3 мин 94 С°; 35 циклов, каждый

из которых включает 30 секунд 94 С°, 30 секунд 58 С° и 30 секунд 72 С°; 5 мин 72 С°. Для гаплотипа НН4 реакции проводили при других условиях: 3 мин при 95 С°; 35 циклов каждый из 30 секунд 95 С°, 30 секунд 64 С° и 30 секунд 72 С°; 5 мин 72 С°.

Определение статуса носителя мутации ВУ проводили методом, описанным Charlier и другими [66]. Суть метода заключается в использовании двух пар праймеров. Первая пара праймеров обеспечивают амплификацию мутантной аллели, размер которой составляет 409 пара нуклеотидов (пн), а вторая пара праймеров амплифицирует аллель дикого типа, где 537 пн. Для тестирования мутаций НСD и НН5 были использованы три праймера в соответствии с методами, описанными Menzi и другими [135] и Schütz и другими [175], соответственно.

Анализ продуктов амплификации для ВУ, НН5 и НСD проводился с помощью электрофореза в 4% агарозном геле, окрашенном 0,001% раствором бромид этидия. Продукты ПЦР для НН1, НН3, НН3, СVМ, ВLAD и DUMPS сначала ферментативно расщепляли, а затем расщепленные продукты визуализировали в 4% агарозном геле. В качестве размерного маркера использовали ДНК Лэддер М50 (ДИАЛАТ Лтд. кат. № MWM50RL). Все рестрикционные ферменты, праймеры и размеры фрагментов представлены в таблице 2.

Таблица 2. Последовательность нуклеотидов праймеров, рестрикционные ферменты и размер фрагментов для 10 летальных голштинских гаплотипов.

гаплотип	Последовательность праймеров	Ферменты рестрикции	Размер продуктов (пн)	
			носитель	не носитель
ВУ	Across DEL_UP1: GCTCAAGTAGTTAGTTGCTCCACTG	—	409	—
	Across DEL_DN1: АТАААТАААТААААGCAGGATGCTGAAA			
	Within DEL_UP1: TCACAAAAGGGTAGGAGACTACCTG	—	—	537
	Within DEL_DN1: GCTTATTGTTTACCCTTGACAGTG			
НН1	F: TATAGACTGTGAGAATTTCCAGG R: TTATCGACCTCCTGCTTGACCTGC	BstM W1	139+17	127+12+17
НН2*	—	—	—	—
НН3	F: AGATTTGCTTCAGCGCTTTGGCAAAAAGTGGTAAAAT R: TCTGAGGCTCTTTTTGGTTCTTACCTGAGAATGTGTC	TaqI	151+59+38	151+97
НН4	F: GAAGGTGTCTCTATGCTGG R: AAGTGCAGAGCAAGCCATCT	True9 I	154+117+56	154+59+58+56
НН5	НН5-TFB1M.F: AGATATGCTAAAGTTTACCTAGAAAGAA	—	—	442
	НН5-TFB1M.WT.R: CTGAAGCTCCATTCTGAGTCAT			
	НН5-TFB1M.F: AGATATGCTAAAGTTTACCTAGAAAGAA		256	—
	НН5-TFB1M.Del.R: TGCTCTATGAATTTTGTGAATGGT			
НСD	НСD WF: GGTACACATCCTCTCTCTGC	—	—	249

	HCD WR: AGTGGAACCCAGCTCCATTA			
	HCD MF: CACCTTCCGCTATTCGAGAG			
	HCD WR: AGTGGAACCCAGCTCCATTA		436	—
CV	F: CACAATTTGTAGGTCTCATGGCA	Zsp2 I	287+268+19	287
M	R: CGATGAAAAAGGAACCAAAAAGGG			
DU	F: GCAAATGGCTGAAGAACATTCTG	AvaI	89+53+36+ 19	53+36+ 19
MPS	R: GCTTCTAACTGAACTCCTCGAGT			
BLA	F: GAATAGGCATCCTGCATCATATCCACCA	TaqI	354+198+ 156	198+156
D	R: CTTGGGGTTTCAGGGGAAGATGGAGTAG			

* Казуальная мутация, вызывающая НН2 до сих пор не определена.

2.2.11 Полногеномный анализ ассоциаций с признаками фертильности и молочной продуктивности

Полногеномный анализ ассоциаций проводился методом ssGWAS [130] с использованием тех же моделей, которые были использованы для оценки племенной ценности и генетических параметров животных (смотреть в разделе 2.2.5). Была использована информация о генотипе 644 животных (427 быков-производителей и 217 коров). Контроль качества генотипирования и регрессионный анализ по ассоциациям проводили с помощью программы PostGSf90. SNPs с значением (call rate <0.90) были исключены из анализа. SNP-маркёры, минорная частота аллеля которых менее 5% также были исключены из анализа. После проведения контроля качества было отобрано 38054 эффективных SNP-маркёров.

Расчет геномной матрицы родства (G) проводили по алгоритму, разработанному Р.М. VanRaden [192] по формуле $G = ZZ' / [2\sum p_i(1-p_i)]$, где Z – центральная матрица частоты аллелей у генотипированных животных; P_i – частота второго аллеля i-ого локуса.

Оценка эффектов SNP проводилась по следующей формуле [194]:

$$\hat{u} = \lambda D Z G^*^{-1} \sigma_g^2,$$

где: $\lambda = \frac{1}{\sum_{i=1}^M 2P_i(1-P_i)}$; \hat{u} - эффект SNP; M – количество SNP; P_i - частота второго аллеля i-ого локуса; D -диагональная матрица весов для дисперсий SNP; σ_g^2 - варианса эффектов генотипированных животных.

Генетическая варианса каждого SNP-эффекта рассчитана по формуле [194]:

$$\hat{\sigma}_{u,i}^2 = \hat{u}_i^2 2P_i (1 - P_i),$$

где: $\hat{\sigma}_{u,i}^2$ - варианса эффекта i -ого локуса; \hat{u}_i - эффекта i -ого локуса; P_i - частота второго аллеля i -ого локуса.

График Manhattan был построен для визуализации доли генетической вариансы, которая обусловлена окном на хромосоме, состоящим из 20 смежных SNP. Анализы проводились с использованием семейства программ BLUPF90 [140]. Определение генов проводилось с использованием инструмента Браузера генома KPC [145].

2.3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ*

2.3.1 Характеристика сформированной базы данных признаков фертильности и молочной продуктивности

В результате разработанной системы была сформирована уникальная сводная база данных о происхождении племенных животных по отцовской и материнской линии, в которую вошла информация для 69 131 быка и 2 551 529 коров молочного направления продуктивности черно-пестрой породы. Разработанная система впервые позволяет скомбинировать разнородную информацию о происхождении племенных животных молочного направления продуктивности из 523 хозяйств Российской Федерации. Даты рождения по вошедшим в базу данных лактациям распределились между 1975 и 2017 годами, среднее количество тестовых дней, приходившихся на одну лактацию, составило 9. Распределение животных в созданной базе данных и распределение генотипированных животных по дате рождения представлено на рисунках 1 и 2.

* Основные результаты, изложенные в данной главе, опубликованы в следующих научных статьях автора:

1. Khatib, A., Rukin, I., Pantiukh, K., Abralava, M., Mazur, A., Brigida, A., ... & Vitiukhovskiy, A. (2019). The possibility of genetic evaluation of bovine embryos. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 10(1), 156-160. DOI:10.5530/srp.2019.1.29
2. Khatib, A., Mazur, A. M., & Prokhortchouk, E. (2020). The distribution of lethal Holstein haplotypes affecting female fertility among the Russian Black-and-White cattle. *EurAsian Journal of BioSciences*, 14(2), 2545-2552.
3. Пантюх, К., И. Рукин, С. Портнов, А. Хатиб, С. Пантелеев, А. Мазур (2019). Применение полногеномной амплификации для генетической оценки эмбрионов коров. *Вавиловский журнал генетики и селекции* 23(4): 489-495. импакт-фактор РИНЦ – 1.157. [Pantiukh, K. S., Rukin, I. V., Portnov, S. M., Khatib, A., Panteleev, S. L., & Mazur, A. M. (2019). The use of whole genome amplification for genomic evaluation of bovine embryos. *Vavilovskij Zhurnal Genetiki i Selekcii*, 23(4), 489-495. Impact Factor – 1.157 (Q3). DOI:10.18699/VJ19.518].

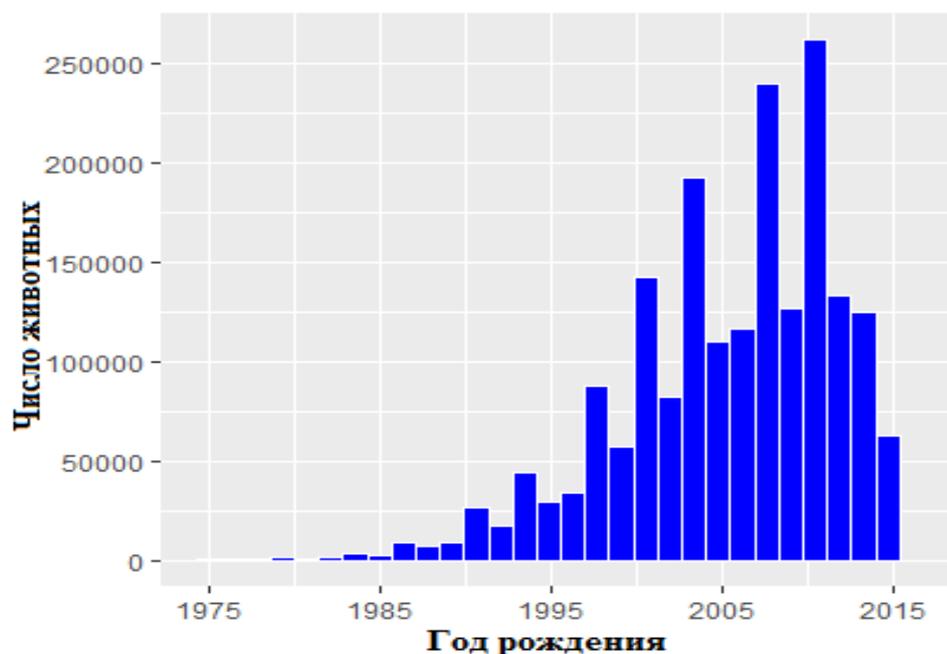


Рисунок 1. Распределение животных в созданной базе данных по дате рождения.

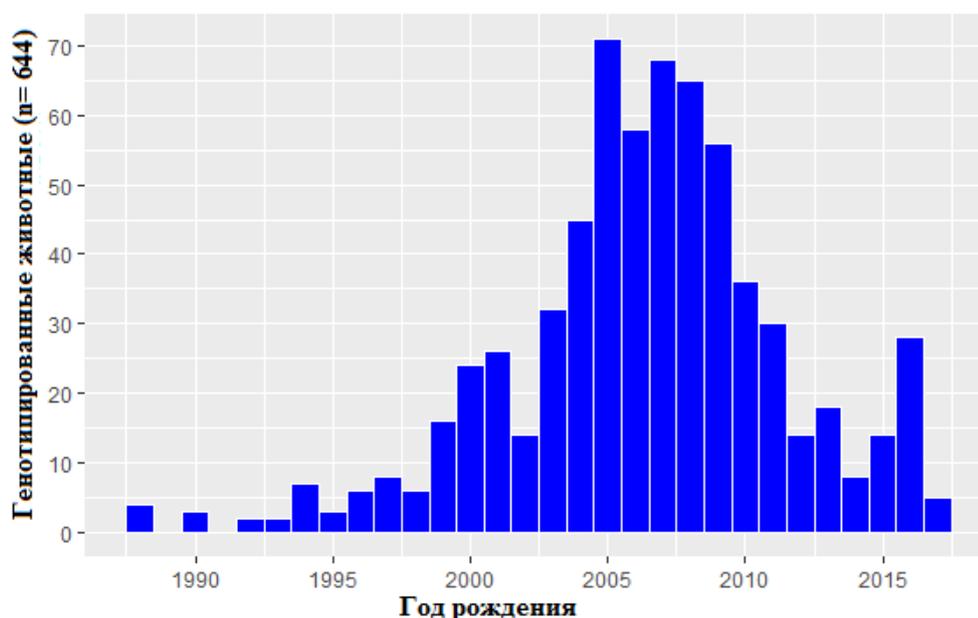


Рисунок 2. Распределение генотипированных животных по дате рождения.

После разработки и апробации системы проверки фенотипических данных и данных о происхождении вошедших в единую базу данных племенных животных молочного направления продуктивности в итоговую высоко достоверную базу данных вошла информация о продуктивности 1 597 426 животных с законченными 4 771 366 лактациями. Для каждой лактации в базу данных была включена информация по 3 признакам молочной продуктивности (суточный удой в кг, молочный жир в %, молочный

белок в %) и по 6 признакам фертильности: возраст первого отела (AFC) в днях; межотельный период (CI) в днях; интервал от отёла до первого осеменения (OFI) в днях; интервал от первого до последнего осеменения (FLI) в днях; длина сервис-периода (DO) в днях; кратность осеменения (NS). Значения сформированной базы данных представлены в таблице 3.

Таблица 3. Значения базы данных племенных животных российской популяции КРС черно-пестрой породы.

Признак	Число животных	Число записей	Число животных в таблице родства	Число быков	Мин	Макс	Среднее	SE*
Суточный удой (кг)	1047224	29735417	1983031	51810	0.2	46.211	20.90	8.43
Молочный жир (%)	1033839	26393276	1983031	51810	2.38	5.47	3.90	0.46
Молочный белок (%)	1046148	26955476	1983031	51810	2.31	4.08	3.18	0.24
AFC (дней)	937175	937175	1434321	49644	540	1230	836.06	117.32
CI (дней)	763773	2026259	1247553	46371	300	600	401.79	67.1
OFI (дней)	904999	2535158	1409240	49111	25	360	90.713	53.43
FLI (дней)	787536	3174412	1214206	47352	0	720	41.685	79.24
DO (дней)	898131	2539399	1400007	48964	25	500	140.18	89.81
NS	959501	3575124	1447815	49781	1	10	1,80	1.39

*SE - стандартное отклонение

Как показано в таблице 3, число животных, имеющих информацию о суточном удое, молочном жире и молочном белке составило 1 047 224, 1 033 839 и 1 046 148, соответственно. Число записей тестового дня составило 29 735 417, 26 393 276 и 26 955 476, соответственно по суточному удою, содержанию жира и содержанию белка в молоке. Таблица родства по трем признакам молочной продуктивности содержала информацию о 1 983 031 животных, из которых 51 810 являлись быками-производителями. Среднее значение продуктивности всего поголовья составило 20.9 ± 8.433 кг по суточному удою, $3,90 \pm 0.445\%$ по содержанию жира в молоке и $3,18 \pm 0.244 \%$ по содержанию белка в молоке.

Таблица родства для признаков AFC, CI, OFI, FLI, DO и NS содержала данные о 1 434 321, 1 247 553, 1 409 240, 1 214 206, 1 400 007 и 1 447 815 животных, соответственно. Количество быков-производителей составило 49 644, 46 371, 49 111, 47 352, 48 964 и 49 781, соответственно. Среднее значение по признаку возраста первого отела составило

836.06 ± 117.32 дней. По остальным признакам фертильности среднее значение составило 401.79 ± 67.098 дней по CI, 90.713 ± 53.425 дней по OFI, 41.685 ± 79.243 дней по FLI, 140.18 ± 89.805 дней по DO и 1,80 ± 1,39 по NS. Распределение значений всех изучаемых признаков в популяции КРС черно-пестрой породы представлено на рисунках 3 - 6.

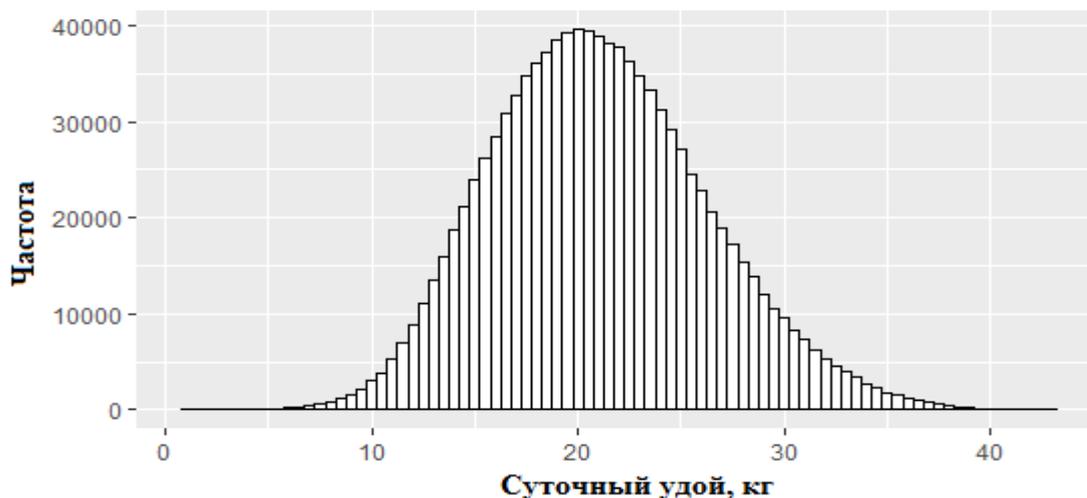


Рисунок 3. Кривая распределения значений суточного удоя (кг) в анализируемой популяции.

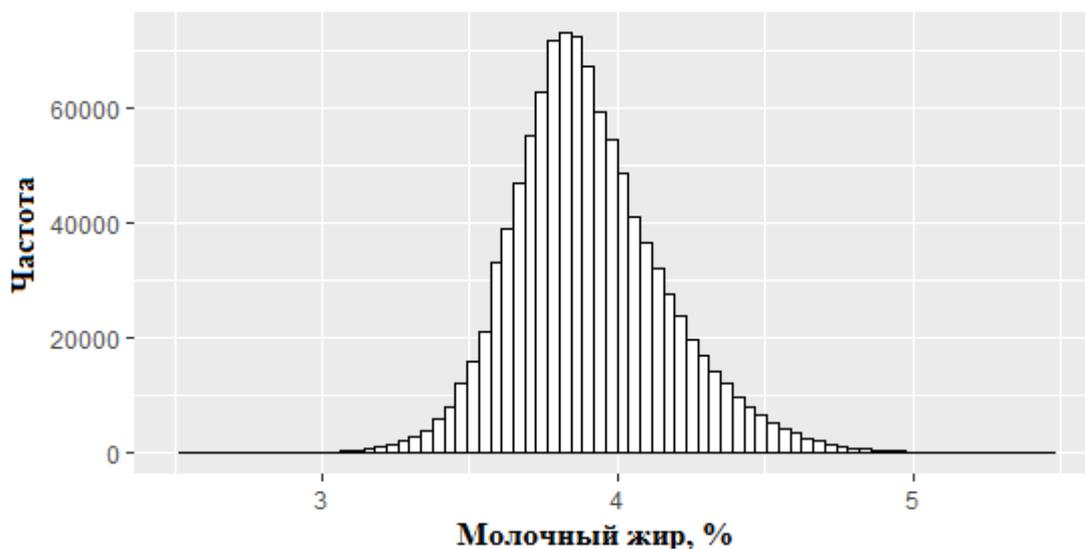


Рисунок 4. Кривая распределения значений молочного жира (%) в анализируемой популяции.

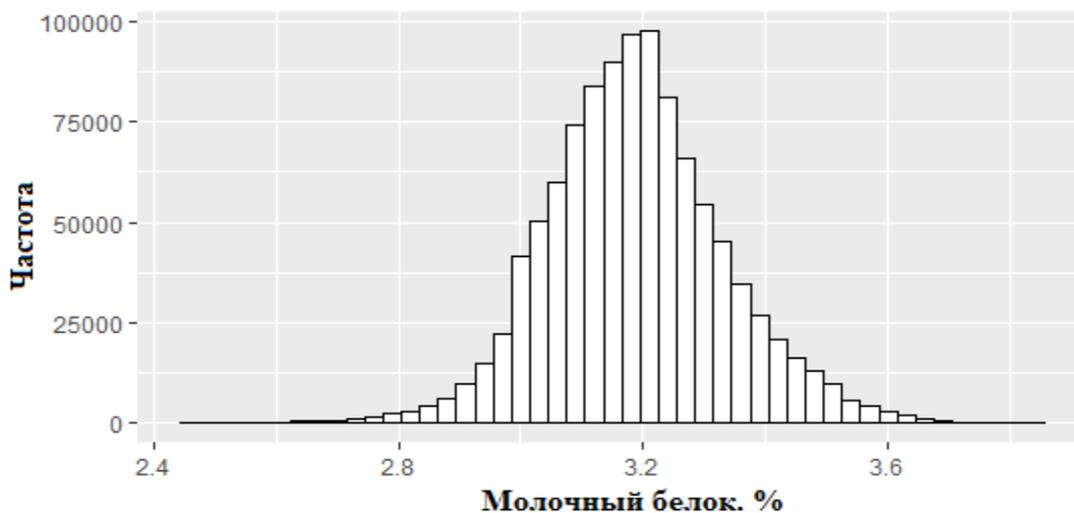
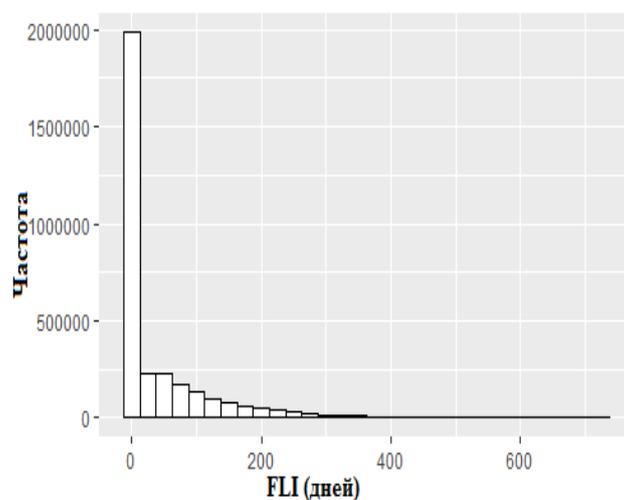
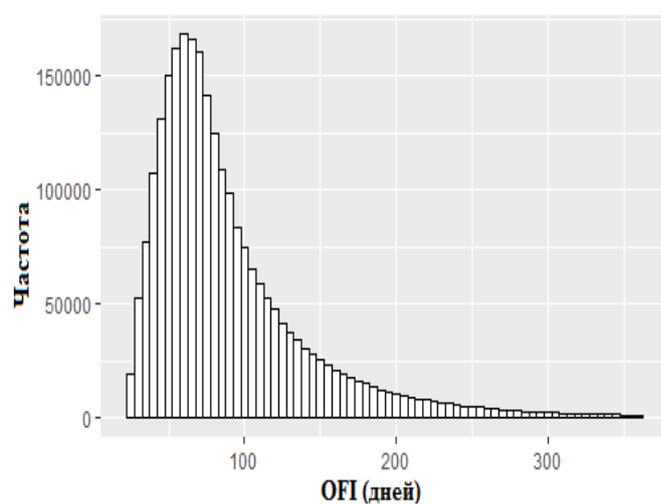
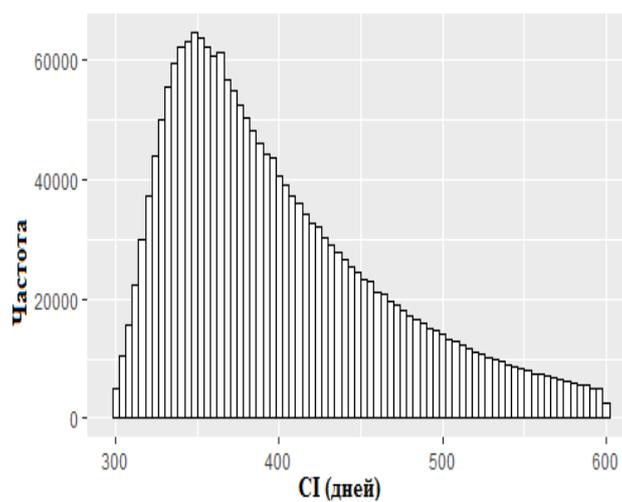
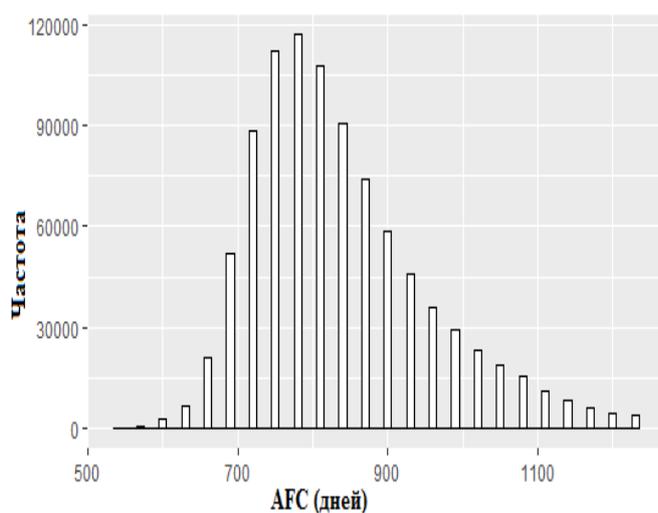


Рисунок 5. Кривая распределения значений молочного белка (%) в анализируемой популяции.



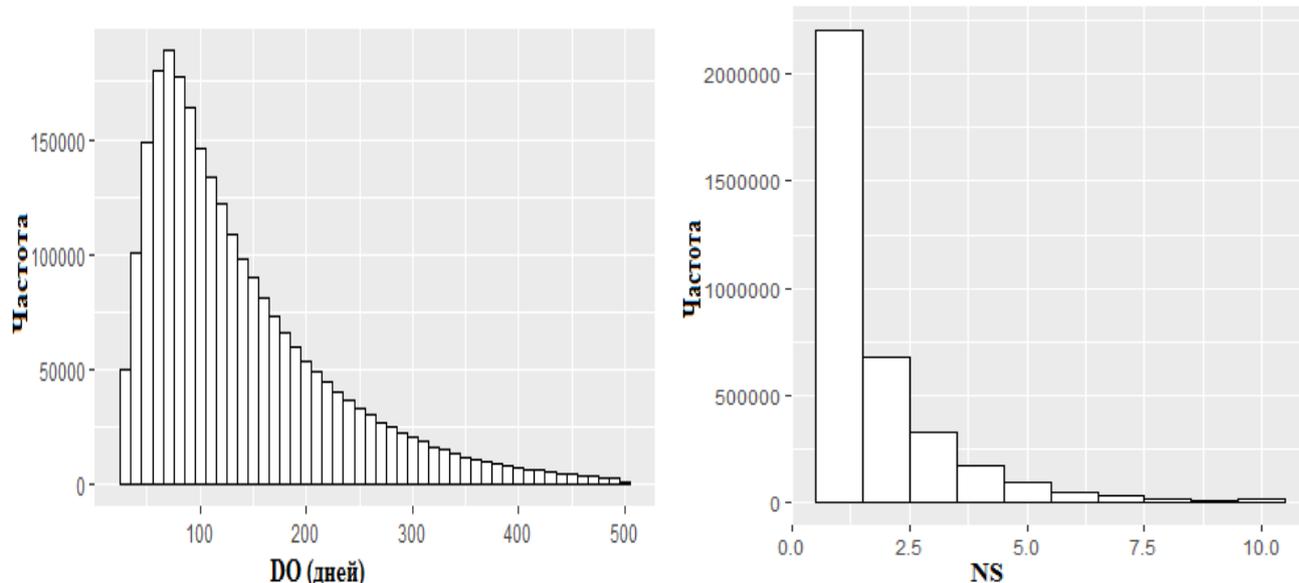


Рисунок 6. Кривая распределения значений признаков фертильности в анализируемой популяции: возраст первого отела (AFC); межотельный период (CI); интервал от отёла до первого осеменения (OFI); интервал от первого до последнего осеменения (FLI); длина сервис-периода (DO).

2.3.2 Оценка генетических параметров признаков фертильности и молочной продуктивности в популяции КРС черно-пестрой породы

На предварительном этапе общей методологии оценки племенной ценности производился расчет и анализ генетических параметров исследуемых признаков в анализируемой популяции животных: значений фенотипической и генетической изменчивости (вариансы признаков), значений вариации окружающей среды, а также коэффициентов повторяемости и наследуемости исследуемых признаков. Для оценки компоненты вариации была произведена группировка данных по влияющим на исследуемые признаки факторам окружающей среды. Затем были рассчитаны компоненты вариации с использованием смешанной модели и с применением метода ограниченного максимального правдоподобия (Restricted Maximum Likelihood, REML). Полученные результаты группировки данных по факторам окружающей среды приведены в таблице 4.

Таблица 4. Результат группировки данных по факторам окружающей среды*

Признак	A	HYSc	L	H	RYSb	RYSc	LA	RYSi	TD
Удой (кг)	121	20633	5	523	-	-	-	-	412
Жир (%)	121	20487	5	523	-	-	-	-	412
Белок (%)	121	20623	5	523	-	-	-	-	412
AFC (дней)	-	-	-	270	1361	-	-	-	-
CI (дней)	-	-	-	272	-	1326	364	-	-
OFI (дней)	-	-	-	272	-	1355	365	-	-
FLI (дней)	-	-	-	272	-	-	206	1270	-
DO (дней)	-	-	-	271	-	1356	365	-	-
NS	-	-	-	272	-	-	420	1406	-

* AFC - возраст от первого отёла; CI - межотельного периода; CFI - интервала от отёла до первого осеменения; FLI - интервал от первого до последнего осеменения; DO - сервис-периода; NS - кратность осеменения; A – эффект возраста животных; HYSc - хозяйство-год-сезон отела; L –номер лактации; RYSb –регион-год-сезон рождения; H - хозяйство; RYSc –регион-год-сезон отёла; LA - лактация-возраст животного; RYSi –регион-год-сезон осеменения; TD – номер тестового дня.

Результат расчета компонентов дисперсии признаков фертильности и молочной продуктивности в популяции КРС черно-пестрой породы представлены в таблице 5.

Таблица 5 - Результат расчета компонента аддитивной генетической дисперсии (σ^2_a), дисперсии перманентного влияния среды (σ^2_{pe}) и остаточной дисперсии (σ^2_e) в популяции КРС черно-пестрой породы.

Показатель	Признак	σ^2_a	SE*	σ^2_{pe}	SE *	σ^2_e	SE*
Молочная продуктивность	суточный удой (кг)	4.644	0.783	5.278	0.545	13.536	0.112
	молочный жир (%)	0.108	0.189	0.109	0.130	0.127	0.610
	молочный белок (%)	0.221	0.431	0.261	0.302	0.364	0.172
Фертильность	AFC (дней)	2025	24.12	-	-	7515	19.09
	CI (дней)	215.98	4.896	334.34	4.762	3736.6	4.646
	OFI (дней)	232.02	3.172	147.42	2.569	2187.5	2.375
	FLI (дней)	296.58	5.141	438.19	4.523	4861.7	4.462
	DO (дней)	505.30	9.534	1070.8	8.925	6183.1	6.994
	NS	0.961	0.423	0.522	0.341	0.731	0.254

* стандартная ошибка

Анализ результатов расчета компонентов дисперсии свидетельствует, что уровень изменчивости признаков фертильности и молочной продуктивности в популяции КРС черно-пестрой породы в России достаточно высок, что делает достаточно эффективным ведение направленной селекционной работы по этим признакам.

На основании полученных значений варiances признаков были рассчитаны коэффициенты повторяемости и наследуемости каждого селекционного признака, значения которых представлены в таблице 6.

Таблица 6 - Значения коэффициентов повторяемости (R) и наследуемости (h²) по основным селекционным признакам фертильности и молочной продуктивности в исследуемой популяции.

Показатель	Признак	h ²	R
Молочная продуктивность	суточный удой, кг	0.20	0.42
	молочный жир, %	0.31	0.63
	молочный белок, %	0.26	0.57
Фертильность	AFC (дней)	0.21	-
	CI (дней)	0.05	0.13
	OFI (дней)	0.09	0.15
	FLI (дней)	0.05	0.13
	DO (дней)	0.07	0.2
	NS	0,11	0,19

Коэффициент наследуемости отражает особенности групп животных, которые обуславливают эффективность отбора (вероятность получения лучшего потомства от лучших дочерей- генетическое разнообразие родителей по их способности давать лучших, степень генетической обусловленности данного признака). Принято считать коэффициент наследуемости низким, если он не превышает 0,3, средним до 0,6 и высоким от 0,6 и выше. Значение коэффициента наследуемости составило 0,20 по суточному удою, 0.31 по содержанию жира и 0.26 по содержанию белка в молоке. Таблица 7 также показывает низкие значения коэффициента наследуемости по всем признакам фертильности <0.11 кроме AFC (0.21). Низкие значения показателей наследуемости указывают на низкое генотипическое разнообразие животных и на влияние условий окружающей среды на изменчивость исследуемых признаков в популяции животных. Условия жизни создают паратипическое разнообразие признака. Они влияют, прежде всего, на долю паратипической дисперсии, но поскольку она увеличивает общую фенотипическую дисперсию, это влияние распространяется и на ту долю, которая приходится на генотипическую дисперсию, а, следовательно, и на показатель наследуемости.

Полученные значения коэффициентов наследуемости признаков фертильности и молочной продуктивности в популяции голштинской и черно-пестрой породы свидетельствуют о доминирующем влиянии на их изменчивость эффектов среды, что объясняется существенными различиями в условиях содержания, кормления и использования животных, практикуемых в разных хозяйствах Российской Федерации.

2.3.3 Оценка племенной ценности коров и быков-производителей по признакам фертильности и молочной продуктивности на основе метода ssGBLUP-AM (TD)

Одним из основных этапов селекционной работы в молочном скотоводстве является оценка племенной ценности животных по основным молочным селекционным признакам. На практике, для признаков молочной продуктивности, оценка племенной ценности по потомству основывается на использовании показателей удоя за 305 дней лактации. Удой за 305 дней лактации рассчитывается с использованием ежемесячных суточных измерений объема молока, а также процентного содержания жира и белка в нем. Такие ежемесячные суточные измерения получили название «тестовые дни» [110, 173]. На ряду с некоторыми преимуществами, использование данных молочной продуктивности за 305 дней лактации для оценки племенной ценности по потомству имеет ряд недостатков. Во-первых, процедура расчета удоя за 305 дней лактации основана [197] на применении результатов «тестовых дней» кривой лактации с использованием фиксированных параметров, что приводит к занижению молочной продуктивности в течение первых месяцев лактации и к завышению молочной продуктивности в течение последних месяцев лактации. Эти погрешности могут приводить к некорректному расчету удоя за 305 дней лактации и снижению достоверности оценки племенной ценности по потомству на основании таких первичных данных, а, следовательно, и к снижению достоверности геномной оценки племенной ценности. Во-вторых, при использовании значения «Удой за 305 дней лактации» в математических моделях линейного и нелинейного типа в качестве фиксированного фактора, влияющих на изменчивость этого значения, используется усредненный эффект окружающей среды для этой лактации (эффект стадо-года-сезона отела) подразумевая, что в течение всей лактации этот эффект был

постоянным [137]. На практике, этот эффект может сильно варьироваться от одного дня лактации к другому. Игнорирование вариабельности эффекта окружающей среды на суточную молочную продуктивность приводит к некорректному расчету генетических и паратипических параметров при оценки племенной ценности, и также вносит погрешность в оценку племенной ценности по потомству и по геному. Использование результатов суточной молочной продуктивности напрямую при построении математических моделей оценки племенной ценности позволяет решить все вышеописанные проблемы. Такие математические модели получили название модели тестового дня или TD-модели [163, 182].

Оценка племенной ценности быков-производителей и коров по молочным признакам продуктивности должна проводиться как единая процедура, поскольку оценка быков-производителей основана на использовании информации о фенотипических проявлениях этих признаков у его женских предков и потомков. Также современные методы оценки племенных качеств коров по молочной продуктивности подразумевают включение информации об оценках по качеству потомства их отцов по исследуемым показателям. Многочисленными исследованиями доказано, что метод BLUP, обеспечивает большую достоверность и точность прогноза племенной ценности быков-производителей и коров, поскольку сам метод позволяет максимально использовать всю имеющуюся информацию об оцениваемом животном. Метод BLUP позволяет учитывать различные генетические и негенетические факторы, влияющие на показатели молочной продуктивности таких как генетический эффект коровы; генетический эффект отца; месяц и сезон отела, возраст при отеле; год проведения оценки; качество стада, в котором проводилась оценка. Также Метод BLUP учитывает факторы, которые не оказывают прямого влияния на показатели молочной продуктивности дочерей проверяемых быков, но влияют на оценку быков. Это степень родства между производителями, генетический тренд; генетическое различие между стадами; условия кормления и содержания.

Расчет геномной племенной ценности (GEBV) поголовья КРС черно-пестрой породы проводился с применением метода TD ssGBLUP-AM, который позволяет включить в единичную модель информацию о суточном удое, о генотипе и родословной животных. Расчет был произведен для всех коров и быков, присутствующих в

родословной, с использованием созданных моделей. Результаты оценок геномных племенных качеств всех животных и достоверности оценок приведены в таблице 7.

Необходимо отметить, что средние значения оценок представленных производителей по каждому признаку близки к нулю, а распределение животных относительно этого значения практически симметричное (1:1), то есть 50% животных имеют положительные значения и другие 50% - отрицательные.

Таблица 7 - Значение оценок племенной ценности по основным селекционным признакам фертильности и молочной продуктивности в исследуемой популяции

Признак	EBV (коровы)				EBV (быки)			
	мин	макс	средне е	достоверно сть (среднее)	мин	макс	средне е	достоверно сть (среднее)
Суточный удой (кг)	-11.23	13.98	0.88	0.38	-12.05	15.07	1.03	0.33
Молочный жир (%)	-0.55	0.69	-0.002	0.39	-0.97	0.73	-0.002	0.34
Молочный белок (%)	-0.22	0.31	-0.003	0.37	-0.18	0.30	0.001	0.32
AFC (дней)	-142.66	170.45	-11.35	0.35	-199.83	198.35	-10.67	0.32
CI (дней)	-34.37	49.54	2.76	0.28	-36.68	49.88	3.07	0.26
OFI (дней)	-51.45	56.24	-2.02	0.33	-66.5	73.9	-0.73	0.30
FLI (дней)	-40.38	82.07	5.93	0.30	-48.52	94.69	5.85	0.27
DO (дней)	-53.94	72.18	3.25	0.29	-68.83	106.07	4.14	0.27
NS	-1.03	2.18	0.14	0.23	-1.08	1.66	0.05	0.21

Генетический тренд по основным селекционным признакам фертильности и молочной продуктивности в популяции чёрно-пестрой породы построен с использованием средней рассчитанной племенной ценности животных по году рождения (Рисунок 7-15).



Рисунок 7. Генетический тренд в популяции КРС чёрно-пестрой породы за период с 1975 по 2017 года по признаку суточного удоя, кг



Рисунок 8. Генетический тренд в популяции КРС чёрно-пестрой породы за период с 1975 по 2017 года по признаку суточного молочного жира, %



Рисунок 9. Генетический тренд в популяции КРС чёрно-пестрой породы за период с 1975 по 2017 года по признаку суточного молочного белка, %



Рисунок 10. Генетический тренд в популяции КРС чёрно-пестрой породы за период с 1975 по 2017 года по признаку возраста первого отёла (AFC), дней



Рисунок 11. Генетический тренд в популяции КРС чёрно-пестрой породы за период с 1975 по 2017 года по признаку межотельного периода (CI), дней

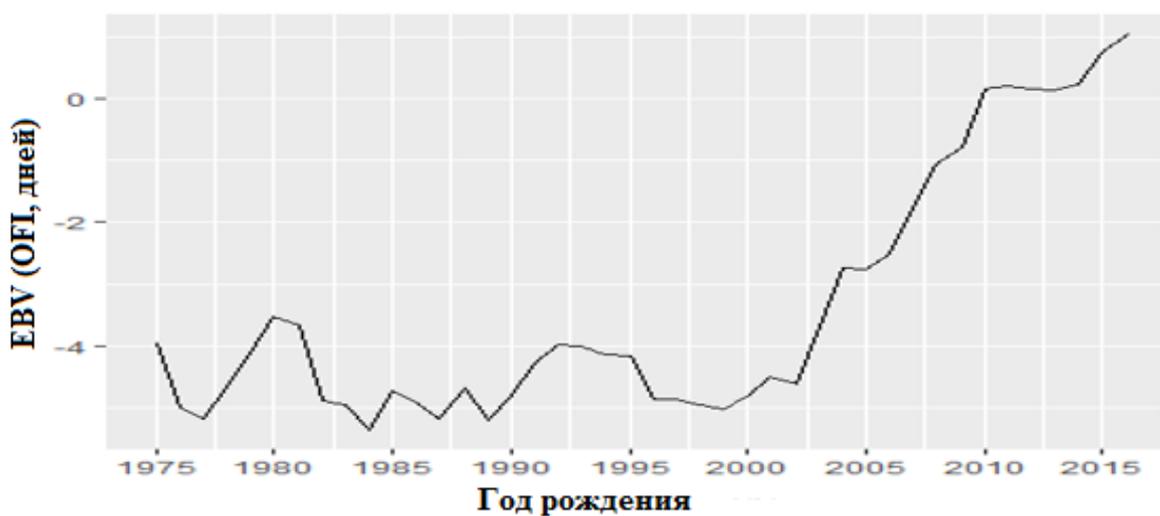


Рисунок 12. Генетический тренд в популяции КРС чёрно-пестрой породы за период с 1975 по 2017 года по признаку интервал от отёла до первого осеменения (OFI), дней

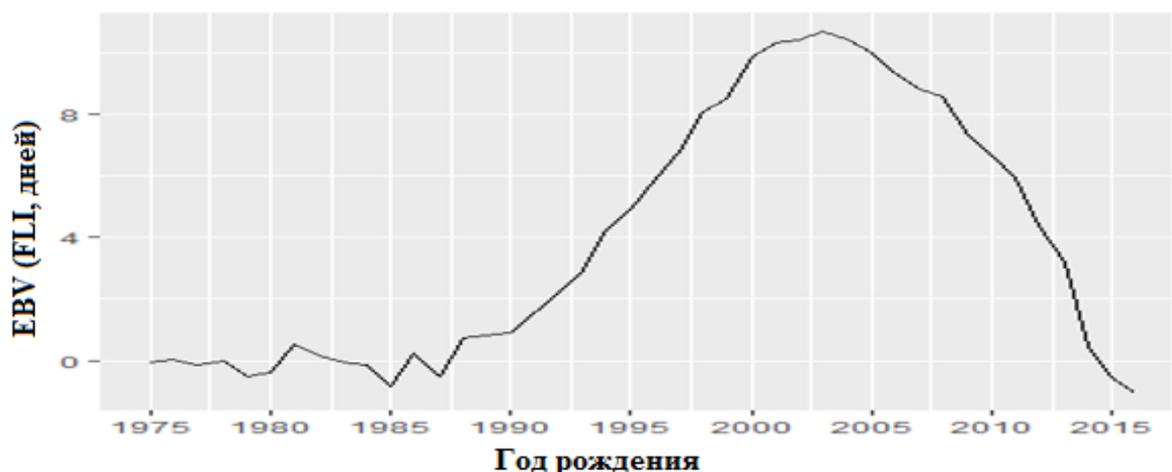


Рисунок 13. Генетический тренд в популяции КРС чёрно-пестрой породы за период с 1975 по 2017 года по признаку интервал от первого до последнего осеменения (FLL), дней



Рисунок 14. Генетический тренд в популяции КРС чёрно-пестрой породы за период с 1975 по 2017 года по признаку длина сервис-периода (DO), дней



Рисунок 15. Генетический тренд в популяции КРС чёрно-пестрой породы за период с 1975 по 2017 года по признаку кратности осеменения (NS)

Средний генетический потенциал составил 0.88 и 1.03 кг по суточному удою, - 0.002 % по содержанию жира в молоке и -0.003 и 0.001% по содержанию белка в молоке у коров и быков, соответственно. Как показано на рисунках (7-15) значительный генетический прогресс по удою (4.4 кг/день) наблюдается у животных за период с 1975 по 2017 года. По содержанию белка в молоке наблюдается снижение генетического потенциала животных на протяжении периода с 1975 до 2002 года. Затем с 2002 по 2017 года среднее значение племенной ценности животных увеличивалось с - 0.006 до 0.002%. До 2010 года генетический тренд по содержанию жира имеет схожий характер. После 2010 года генетический тренд показывает значительное падение до -0.03%. Все показатели фертильности, кроме возраста первого отела, показали деградацию на протяжении периода с 1975 по 2017 года. На данный момент по признакам фертильности не наблюдается значительного генетического прогресса из-за того, что целому ряду этих признаков долгое время не уделялось должного внимания в селекционных программах. Особенное значение геномная оценка племенной ценности имеет для показателей здоровья и фертильности, так как надежность геномной оценки племенной ценности только немного уступает надежности оценки этих показателей по качеству потомства.

2.3.4 Оценка результативности системы геномной оценки племенной ценности

Племенная ценность животных может быть предсказана непосредственно по генетическим маркерам с высокой точностью. Для этого необходима оценка достоверности разработанной системы геномной оценки, другими словами, необходима валидация (подтверждение правильности) оценок эффектов маркеров в референтной популяции с таковыми в основной популяции. Для оценки результативности разработанной в нашем исследовании системы геномной оценки была удалена информация о потомках всех генотипированных животных (427 быков и 217 коров), и затем была рассчитана племенная ценность этих животных только по генотипу (GEBV) - без информации о потомках. Достоверностью геномной оценки племенной ценности послужила степень корреляции между значениями племенной ценности генотипированных животных, рассчитанной по потомству (EBV), и их племенной ценности, рассчитанной по генотипу (GEBV) [150, 155].

Также для генотипированных животных подтвердили породность (голштинской и черно-пестрой) с помощью метода главных компонент (ПЦА). Для этого 15 дополнительных генотипов животных двух разных пород (12 айрширской и 3 джерсейской) были использованы при построении графика ПЦА. График ПЦА построили с помощью программы plink (рисунок 16).

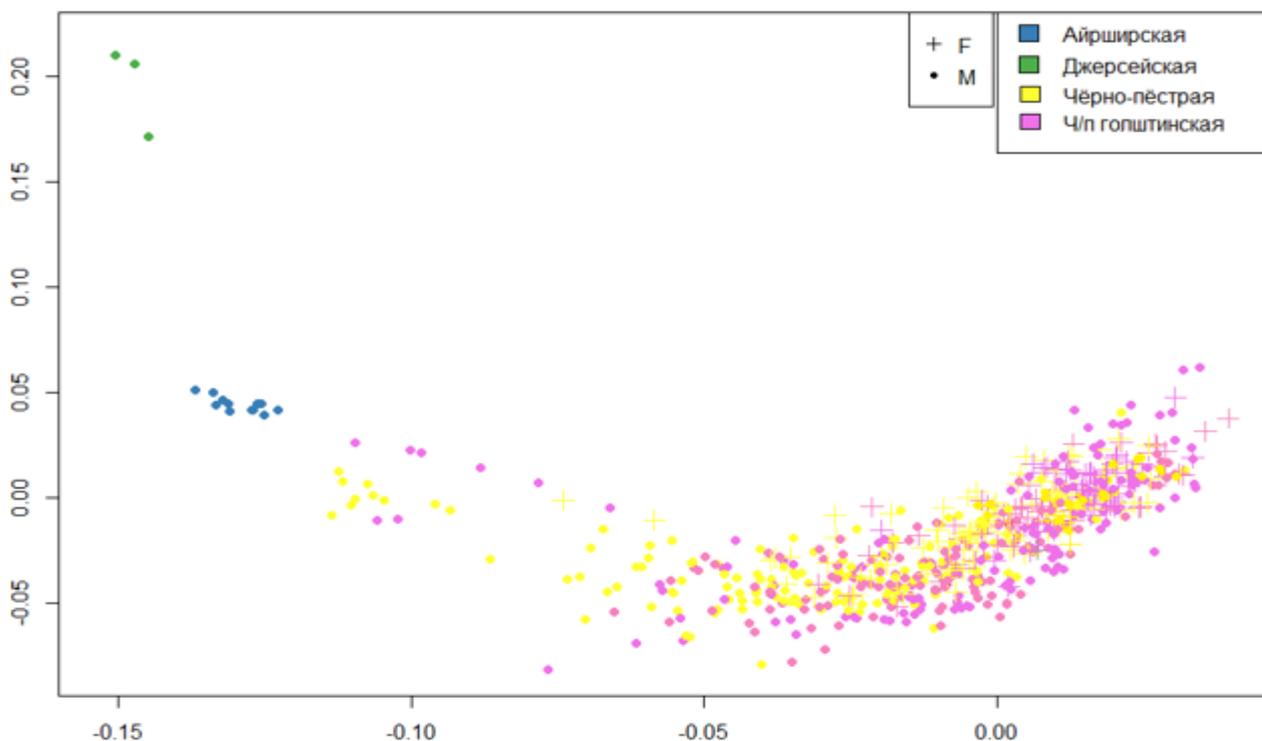


Рисунок 16: Распределение животных разных пород по генотипу на основе метода главных компонент (ПЦА)

Таким образом, на рисунке 16 мы видим четкое разделение животных джерсейской и айрширской породы, а также большой кластер животных из семейства черно-пестрых. Данный метод позволил подтвердить 644 животных (427 быков-производителей и 217 коров), относящихся к голштинской (392) и черно-пестрой (252) породам, которые были использованы для геномной оценки племенной ценности. Эти животные были разделены случайным образом на 11 групп. 10 групп были использованы по очереди для расчета модели. Оставшаяся 11 группа была тестовой - удалены данные о их потомках, и племенная ценность рассчитывалась только по геному (GEBV). После этого, GEBV была сравнена с EBV [61]. Результат оценки достоверности геномного прогноза представлен в таблице 8.

Таблица 8 - Результат расчета достоверности геномной оценки племенной ценности по основным селекционным признакам фертильности и молочной продуктивности в популяции КРС черно-пестрой породы

Признак	Генотипированные коровы (n = 217)			Генотипированные быки (n = 427)		
	количество потомков (среднее)	достоверность EBV	достоверность GEBV*	количество потомков (среднее)	достоверность EBV	достоверность GEBV*
Суточный удой (кг)	1.02	0.59	0.98	583.2	0.93	0.65
Молочный жир (%)	1.02	0.59	0.97	583.2	0.92	0.54
Молочный белок (%)	1.02	0.57	0.97	583.2	0.89	0.54
AFC (дней)	0.08	0.21	0.82	358.2	0.89	0.24
CI (дней)	0.05	0.15	0.87	285.1	0.87	0.60
OFI (дней)	0.08	0.21	0.93	347.1	0.87	0.45
FLI (дней)	0.08	0.20	0.54	219.4	0.86	0.26
DO (дней)	0.08	0.20	0.93	345.5	0.90	0.56
NS	0.09	0.18	0.51	359.1	0.85	0.23

* достоверность оценки по сравнению с оценкой по потомству (квадрат рангового коэффициента корреляции)

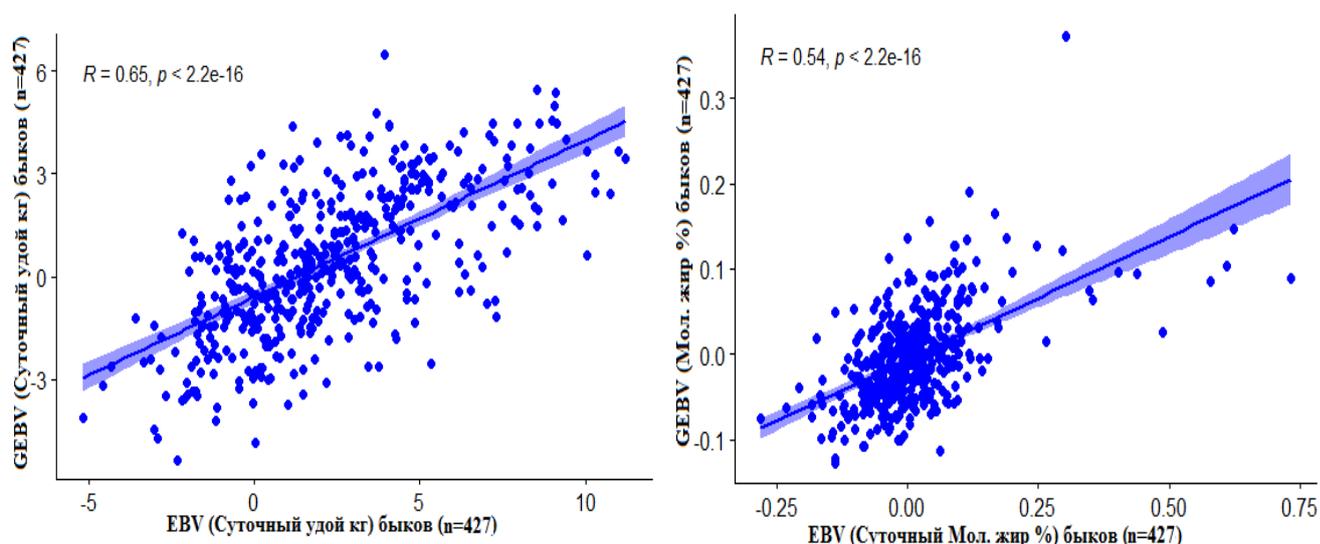
Точность оценки племенной ценности по потомству (EBV) рассчитывали на основе вариационных компонентов и генетической изменчивости признаков методом REML. А точность GEBV – как квадрат рангового коэффициента корреляции между значениями EBV и GEBV, стоит отметить, что у быков-производителей значительно больше потомков, чем у коров. В нашем исследовании среднее количество потомков у генотипированных быков варьировалось от 219.4 для FLI и до 583.2 для признаков молочной продуктивности. У генотипированных коров среднее количество потомков не превышало 1.02 для всех исследуемых признаков, в то время как достоверность EBV зависит в основном от количества потомков. Как показано в таблице 8, достоверность EBV генотипированных коров меньше чем у быков. У генотипированных быков наблюдается высокая точность EBV (>85%) по всем признакам фертильности и молочной продуктивности, а у генотипированных коров достоверность EBV варьировалась от 0.18 по NS до 0.59 по молочному удою и содержанию жира в молоке.

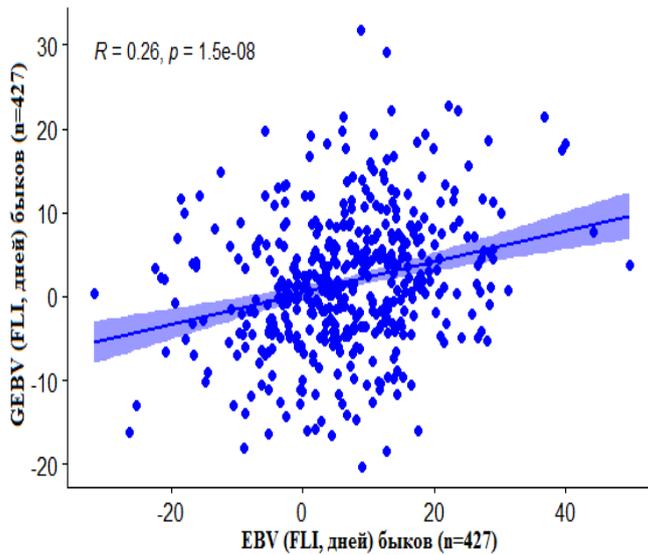
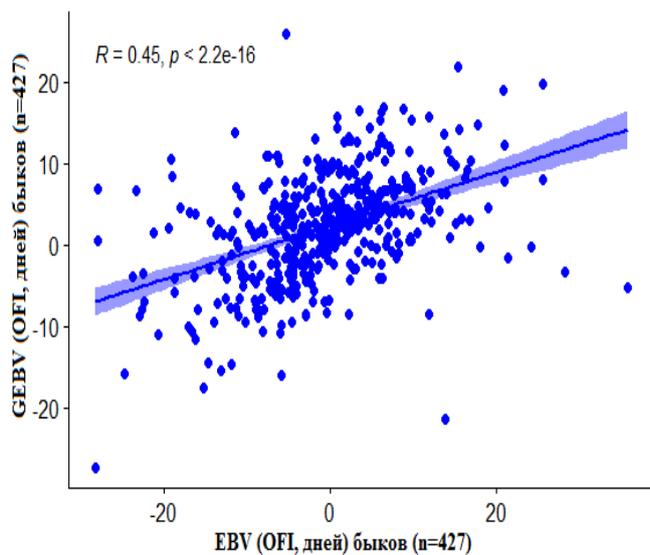
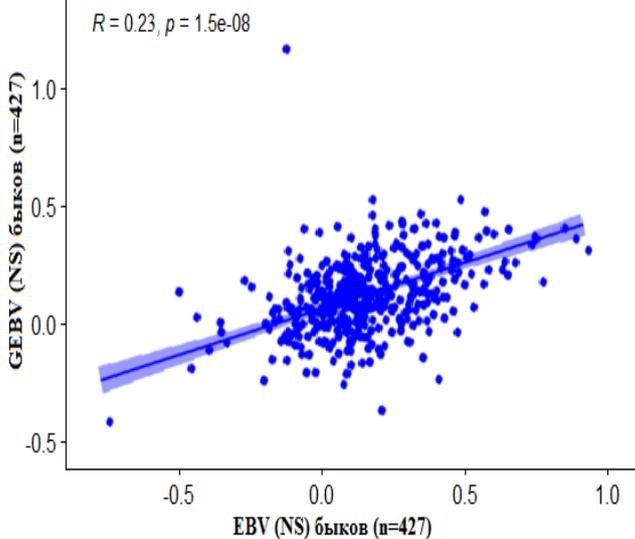
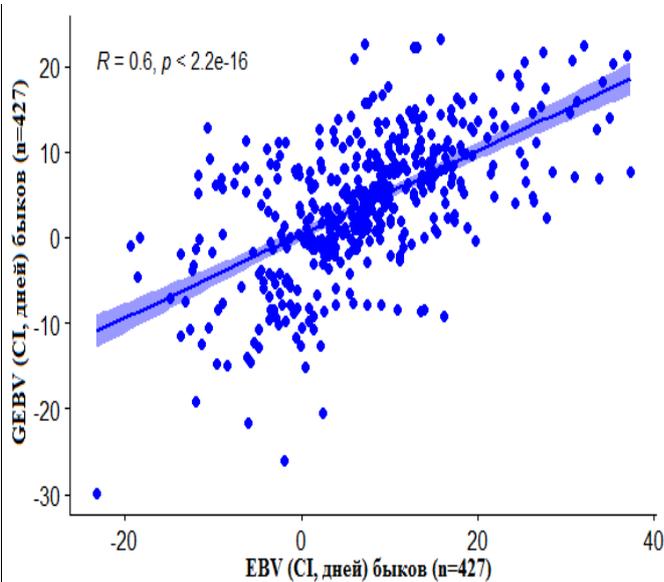
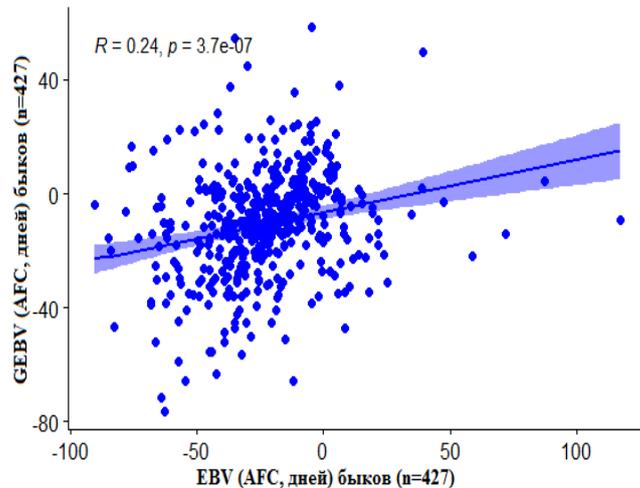
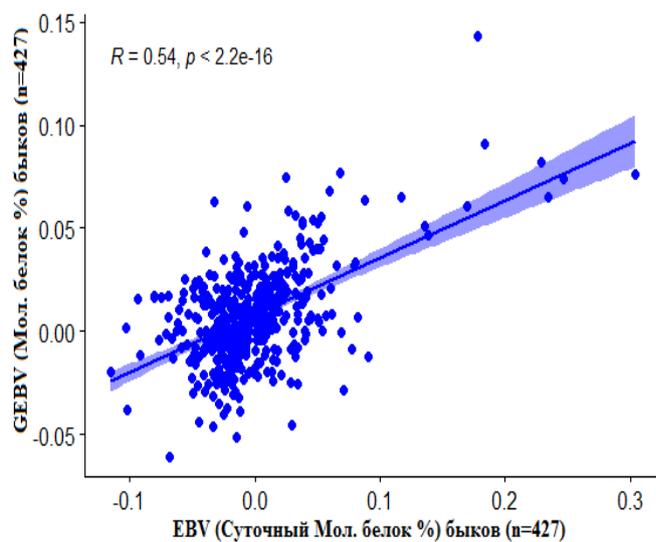
Корреляция EBV и GEBV (достоверность GEBV) составила выше 80% у

генотипированных коров по большинству исследуемых признаков, и по суточному удою достигла 98%.

GEBV была рассчитана таким образом, что данные о потомках генотипированных животных были удалены, а племенную ценность рассчитывали только по генотипу. Так как у генотипированных коров было маленькое количество потомков, то удаление потомков из модели ssGBLUP не произвело большого эффекта на значения EBV животных, и соответственно получается высокая корреляция между EBV и GEBV. Таким образом, в отличие от быков-производителей, достоверность GEBV у генотипированных коров не может отражать результативность системы геномной оценки племенной ценности.

Для генотипированных быков наблюдается средние значения достоверности GEBV по трем признакам молочной продуктивности. Данный результат показывает на возможность проведения оценки племенной ценности поголовья КРС черно-пестрой породы по генотипу с достоверностью до 65% по суточному удою и до 54% по содержанию жира и содержанию белка в молоке. Для признаков CI, DO и OFI была установлена довольно высокая точность GEBV: 60, 54 и 45%, соответственно. Минимальное значение точности GEBV получили для признаков AFC (24%), FLI (26%) и NS (23%). Результат оценки достоверности геномного прогноза генотипированных быков и коров также представлен на рисунках 17 и 18.





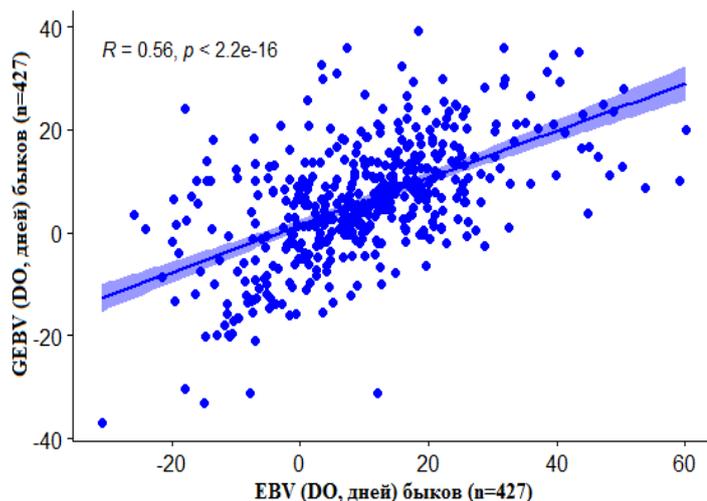
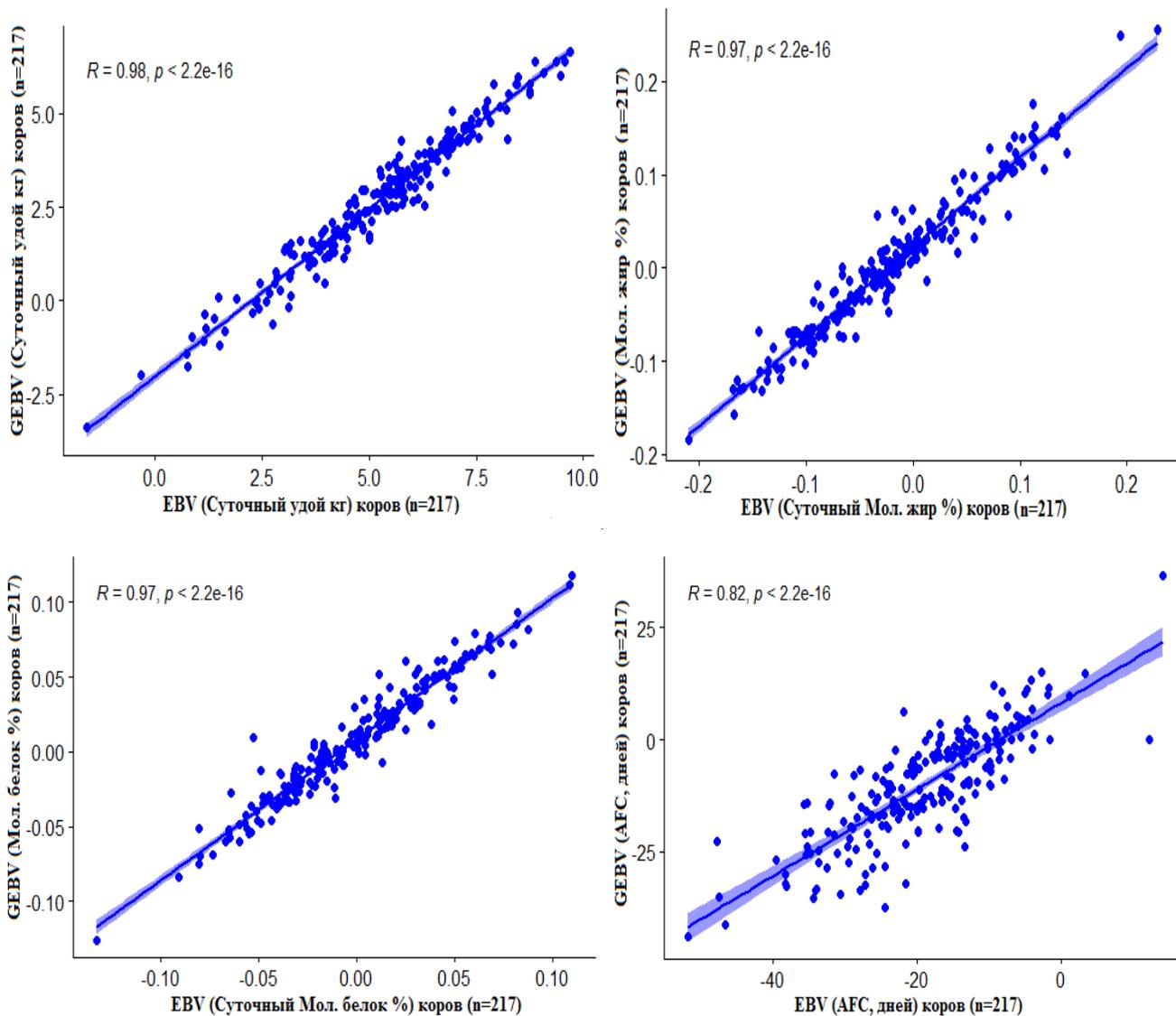


Рисунок 17: Корреляция между значениями племенной ценности быков-производителей по потомству (EBV) и их племенной ценности по генотипу (GEBV) по основным признакам фертильности и молочной продуктивности



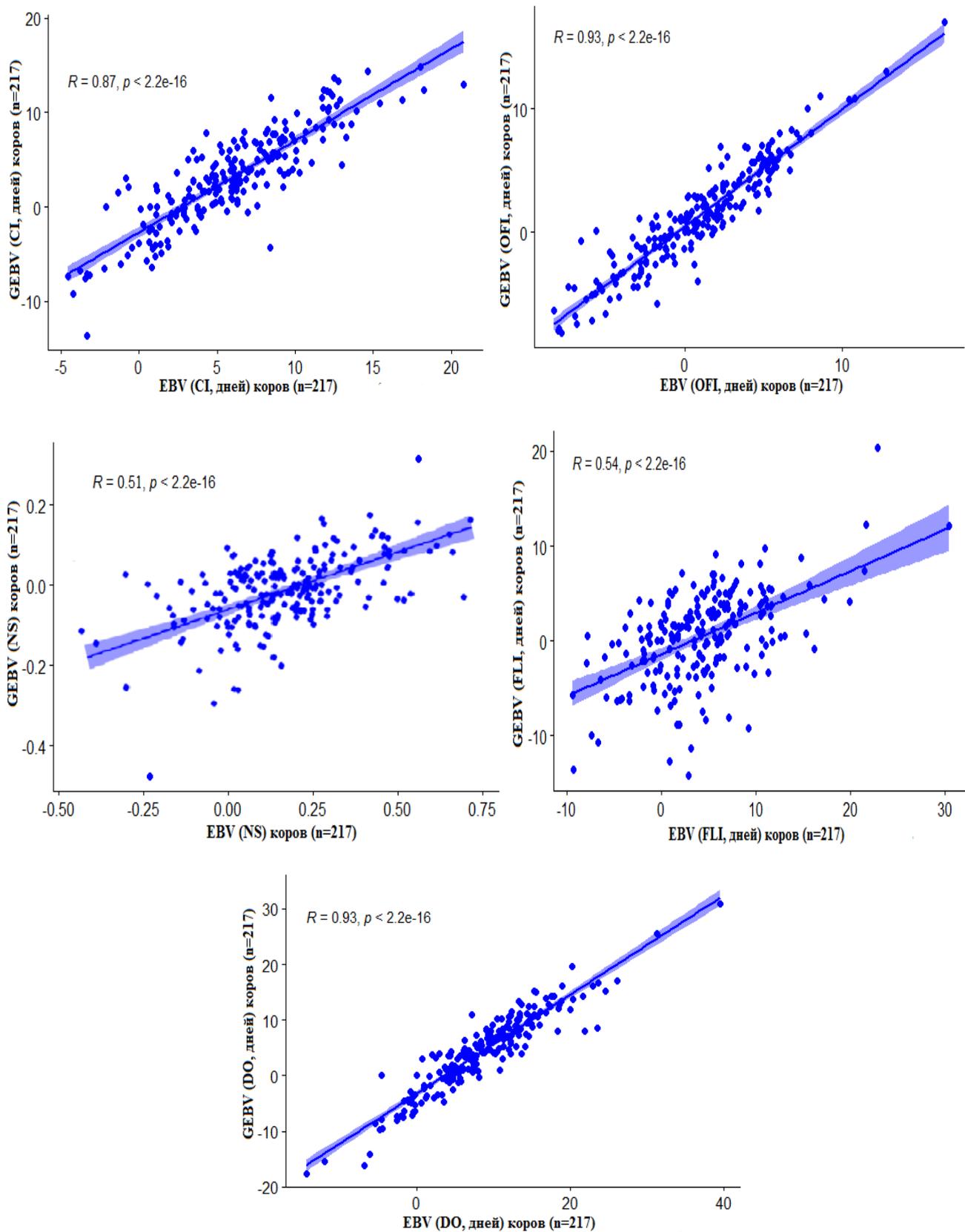


Рисунок 18: Корреляция между значениями племенной ценности генотипированных коров по потомству (EBV) и их племенной ценности по генотипу (GEBV) по основным признакам фертильности и молочной продуктивности

Распределение значений племенной ценности генотипированных животных по признакам молочной продуктивности представлено на рисунке 19.

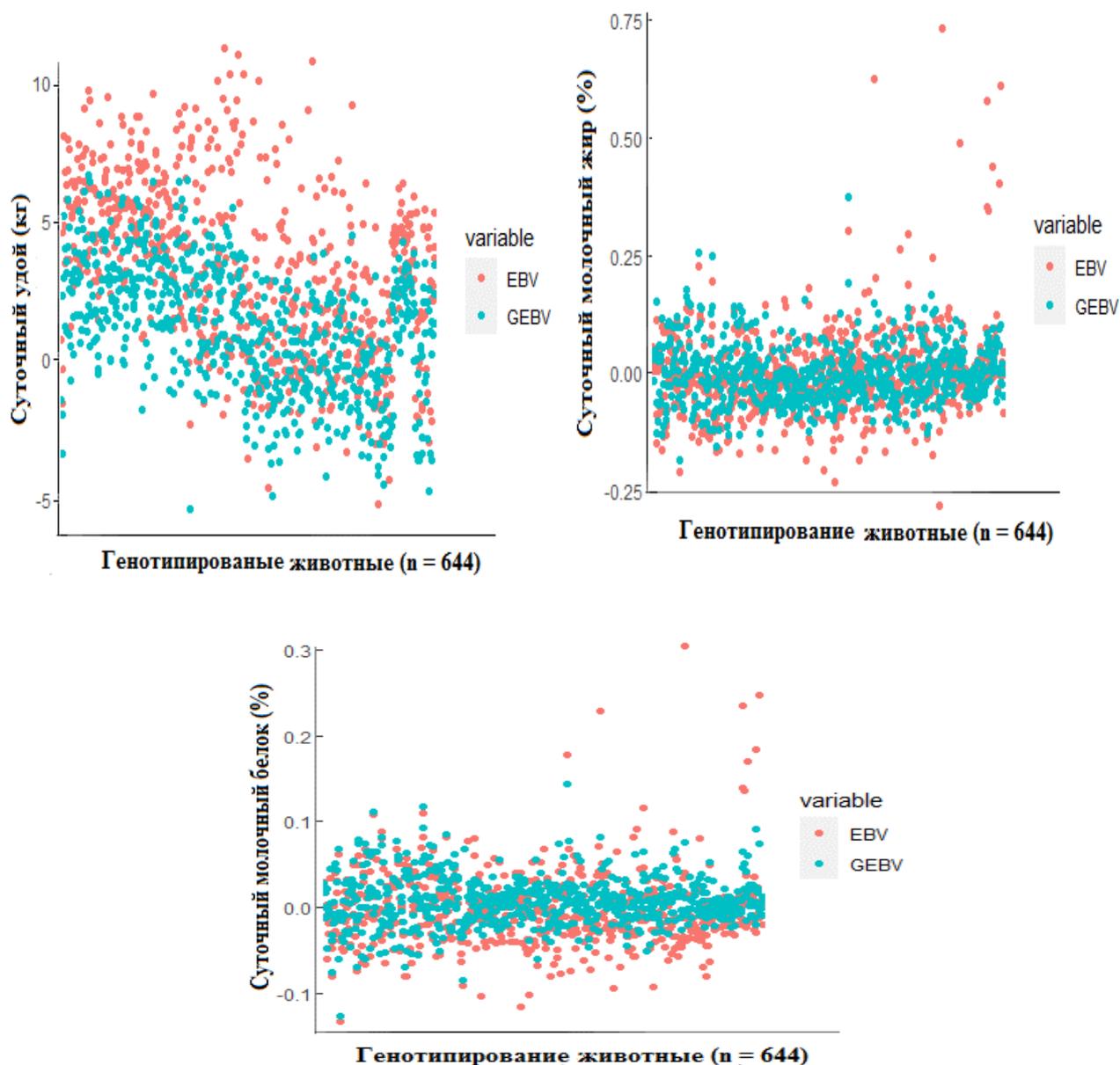


Рисунок 19. Распределение значений племенной ценности быков-производителей по молочному удою (кг), молочному жиру (%) и молочному белку (%)

Достоверность GEBV, полученная в нашем исследовании немного больше чем достоверность, полученная у нордического красно-молочного скота (от 0,22% до 0,31%) для 3-х признаков фертильности: OFI, FLI и количеству плодотворных осеменений по первому разу (NRR) [132]. Похожий результат (достоверность 28,9%) установлен в работе Su G и др. (2016) для оценки племенной ценности по

признакам фертильности у датской джерси с использованием небольшой референсной популяции (1250 датских быков) [181].

Также в нашем исследовании была использована модель тестового дня (TD ssGBLUP-AM) для геномной оценки племенной ценности по молочным признакам. В настоящее время модель тестового дня используется для официальной оценки племенной ценности КРС животных во многих странах, например, она используется для оценки нордического красно-молочного скота (RDC) [118]. Официальные данные по оценке RDC за март 2012 года были получены в ходе генетической оценки крупного рогатого скота северных стран (NAV). Для оценки племенной ценности RDC было отобрано 3 538 966 коров с общим количеством 95,6 млн записей тестовых дней, а общее число животных в родословной RDC составило 4 774 68 (Таблица 9). В сравнение с результатами исследования черно-пксрой молочной породы, которое мы провели ранее, несмотря на почти 2.5 кратное отличие в размере статистической выборки, оценка племенной ценности голштинской черно-пёстрой породы методом TD ssGBLUP-AM имеет довольно высокую достоверность прогноза (порядка 65%).

Результат расчета достоверности геномного прогноза племенной ценности в нашем исследовании также сопоставим с результатом оценки племенной ценности голштинской породы коров в Португалии [179]. Среднее значение достоверности геномной оценки племенной ценности португальских голштинских быков-производителей составило 52% у молодых быков и 72% у быков, имеющих данных по продуктивности дочерей.

Модель тестового дня также используется для геномной оценки племенной ценности 3-х молочных популяций КРС в Канаде (голштинская, айрширская и джерсейская). Достоверность прогноза племенной ценности по молочному удою составила 65%, 39%. 58%, соответственно у голштинской, айрширской и джерсейской породы [150]. В работе Bohlouli и др (2019), 11,4 млн записей тестовых дней были использованы в модели тестового дня для оценки племенной ценности 48 977 голштинских коров в Германии. Достоверность оценки достигала до 88% [61].

Таблица 9. Сравнение оценки черно-пестрой породы с разными породами КРС в мире.

Порода	Количество коров		
	удой (кг)	молочный жир	молочный белок
Черно-пестрая	1,047,224	1,033,839	1,046,148
Nordic RDC	3,538,966	3,538,966	3,538,966
Голштинская (Канада)	5,976,711	5,976,711	5,976,711
Айрширская (Канада)	221,533	221,533	221,533
Джерсейская (Канада)	185,737	185,737	185,737
Португальская голштинская	578,552	-	-
Немецкая голштинская	48,977	-	-
Количество тестовых дней (миллионов)			
	удой (кг)	молочный жир	молочный белок
Черно-пестрая	29.7	26.4	27
Nordic RDC	95.6	95.6	95.6
Голштинская (Канада)	72.4	72.4	72.4
Айрширская (Канада)	2,4	2,4	2,4
Джерсейская (Канада)	1,7	1,7	1,7
Португальская голштинская	11,4	-	-
Немецкая голштинская	0.106		
Достоверность GEBV			
	удой (кг)	молочный жир	молочный белок
Черно-пестрая	65%	54%	54%
Nordic RDC	40%	50%	40%
Голштинская (Канада)	65%	58%	67%
Айрширская (Канада)	39%	43%	54%
Джерсейская (Канада)	58%	62%	68%
Португальская голштинская	52% - 72%	-	-
Немецкая голштинская	81% - 88%	-	-

2.3.5 Результат проведения генотипирования биопсии эмбрионов и достоверность геномной оценки племенной ценности на эмбриональной стадии развития

Внедрение геномной оценки племенной ценности совместно с применением современных технологий искусственного репродуктивного открывает большие возможности в сфере селекции сельскохозяйственных животных [77]. С помощью применения этих технологий вместе можно оценить племенную ценность даже на стадии эмбриона. Такая интеграция даёт возможность оценить множество эмбрионов в сжатые сроки и выбрать для имплантации только эмбрионы с наивысшей племенной ценностью

[78, 111].

При проведении генотипирования и оценки племенной ценности на стадии эмбриона возникает проблема получения достаточного количества биологического материала для генетического анализа на микрочипах [184, 187]. Количество биологического материала ограничено необходимостью сохранить жизнеспособность эмбриона [158]. Приблизительная масса ДНК в одной клетке – 6 пг, в то время как для Illumina BovineSNP50 v2 DNA analysis Bead Chip (Illumina, San Diego CA) требуется около 300 нг ДНК хорошего качества для проведения генетического анализа [65]. Внедрение полногеномной амплификации (ПГА) представляет собой один из способов решения данной проблемы и получения ДНК в достаточном количестве [142, 166]. Однако полногеномная амплификация также имеет ограничения. В частности, многие ошибки в генетическом анализе обусловлены отсутствием идентификации аллелей. Это называется выпадением аллелей, которое происходит во время амплификации и часто обусловлено малым количеством матричной ДНК [65].

В рамках данного исследования было проведено генотипирование ДНК из 200 эмбрионов на микроматрицах ДНК BovineSNP50 v3 DNA, полученных от высокоценных-коров доноров и быков голштинской породы КРС. Средняя концентрация ДНК после проведения полногеномной амплификации (ПГА) для 200 образцов биоптата составляла 277.01 нг/мкл. Из 200 исследуемых эмбрионов, 50 эмбрионов показали низкое качество генотипирования (call rate - CR меньше 85%).

Среднее значение CR для остальных 150 образцов биоптата составило 91,61%. Распределение значений концентраций ДНК и качества генотипирования образцов показано на рисунке 20. Для последующей подсадки были выбраны 60 эмбрионов. Значения CR выбранных эмбрионов варьировались от 80.77% до 95.90%. Из 60 коров-реципиентов, стельность была установлена у 33 коров-реципиентов, соответственно уровень приживляемости составил 55%. Всего было рождено 16 животных – 6 тёлочек и 10 бычков, соответственно уровень рождения живого потомства от стельных коров-реципиентов составил 48.5%.

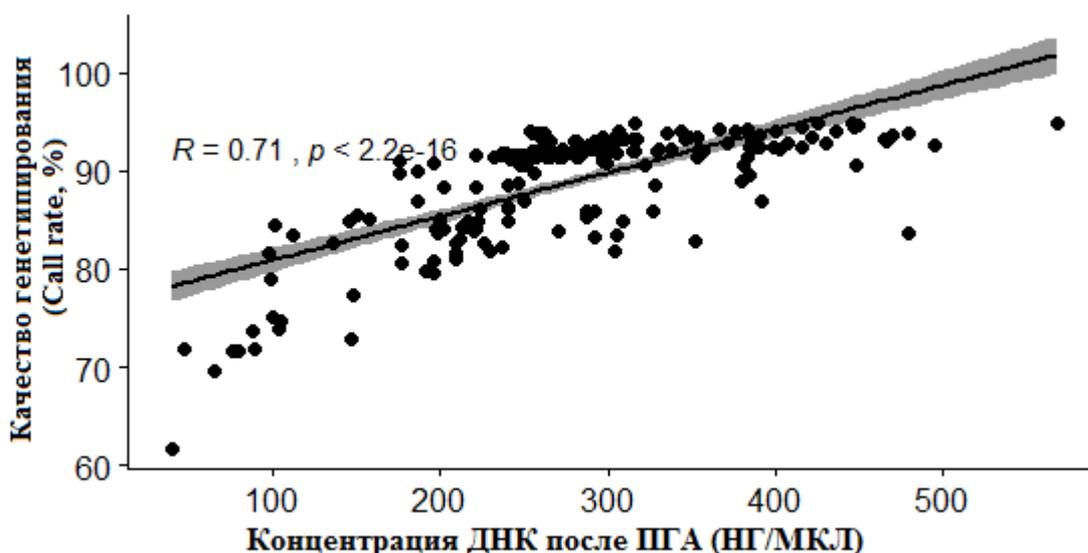


Рисунок 20. Распределение значений концентраций ДНК после ПГА и показателей «call rate». Коэффициент корреляции отразил положительную связь со значением 0.71

На 3 месяц после рождения у животных брали ушной выщип, который использовали для выделения ДНК. Генотипирование ДНК рожденных животных проводили также на микроматрицах ДНК BovineSNP50 BeadChip V3 (Illumina, США). Генотипы рожденных животных были сравнены с генотипами соответствующих биопсий эмбрионов. Значение CR для всех 16 рождённых животных составило более 98%, а для соответствующих эмбрионов варьировалось от 84.78% до 95.50%. Генотипирование рожденных животных показало высокую степень совпадения генотипов (от 84.12% до 95.15%) рожденных животных и соответствующих эмбрионов (таблица 10).

Для того, чтобы оценить степень влияния различий в генотипах биоптата и рожденных животных на значение геномной оценки племенной ценности (GEBV), была рассчитана степень корреляция между GEBVs эмбрионов и GEBVs рождённых животных на основе 3-х признаков молочной продуктивности (суточный удой в кг, молочный жир в %, молочный белок в %) и 3-х признаков фертильности: межотельный период (CI); интервал от отёла до первого осеменения (OFI); длина сервис-периода (DO) (Рисунок 21).

Таблица 10. Значения call rate (CR) у рожденных животных, и соответствующих эмбрионов

№ образца	CR эмбрионов (%)	CR животных (%)	R*
P6.12	84.78	99.32	84,12
P6.13	85.80	99.14	85,55
P6.18	85.99	99.22	85,89
P6.19	86.24	99.29	85,95
P6.22	88.31	99.16	87,98
P7.16	88.37	99.19	88,28
P7.35	88.78	98.78	88,15
P7.38	89.81	98.82	88.40
P7.42	91.20	99.27	90.95
P7.47	91.32	99.15	91.10
P8.19	91.58	98.85	90.98
P8.21	91.94	98.84	91.66
P9.01	92.16	99,26	92.07
P9.11	92.98	99,23	92.50
P9.12	94.05	98,81	93.88
P9.17	95.50	99,24	95.15

* – коэффициент корреляции между генотипами биоптата эмбриона и рождённых животных.

Полученные результаты показывают высокую степень совпадения геномной оценки рождённых животных и эмбрионов. Значение коэффициента корреляции варьировало от 79.2% для признака CI до 89.7 для признака для признака молочного белка (%) (таблица 11). Особенно высокое совпадение геномной оценки с рождёнными животными наблюдается у соответствующих эмбрионов, для которых значение $CR > 91\%$.

Таблица 11. Точность геномной оценки племенной ценности на эмбриональной стадии развития по признакам: удой (кг), молочный жир (%) и молочный белок (%), межотельный период (CI); интервал от отёла до первого осеменения (OFI); длина сервис-периода (DO)

Признак	*Достоверность GEBV эмбрионов КРС (n=16), %
Суточный удой (кг)	87.4
Молочный жир (%)	81.3
Молочный белок (%)	89.7
CI (дней)	79.2
OFI (дней)	86.9
DO (дней)	85.6

* – коэффициент корреляции между GEBVs эмбрионов и GEBVs соответствующих рождённых животных.

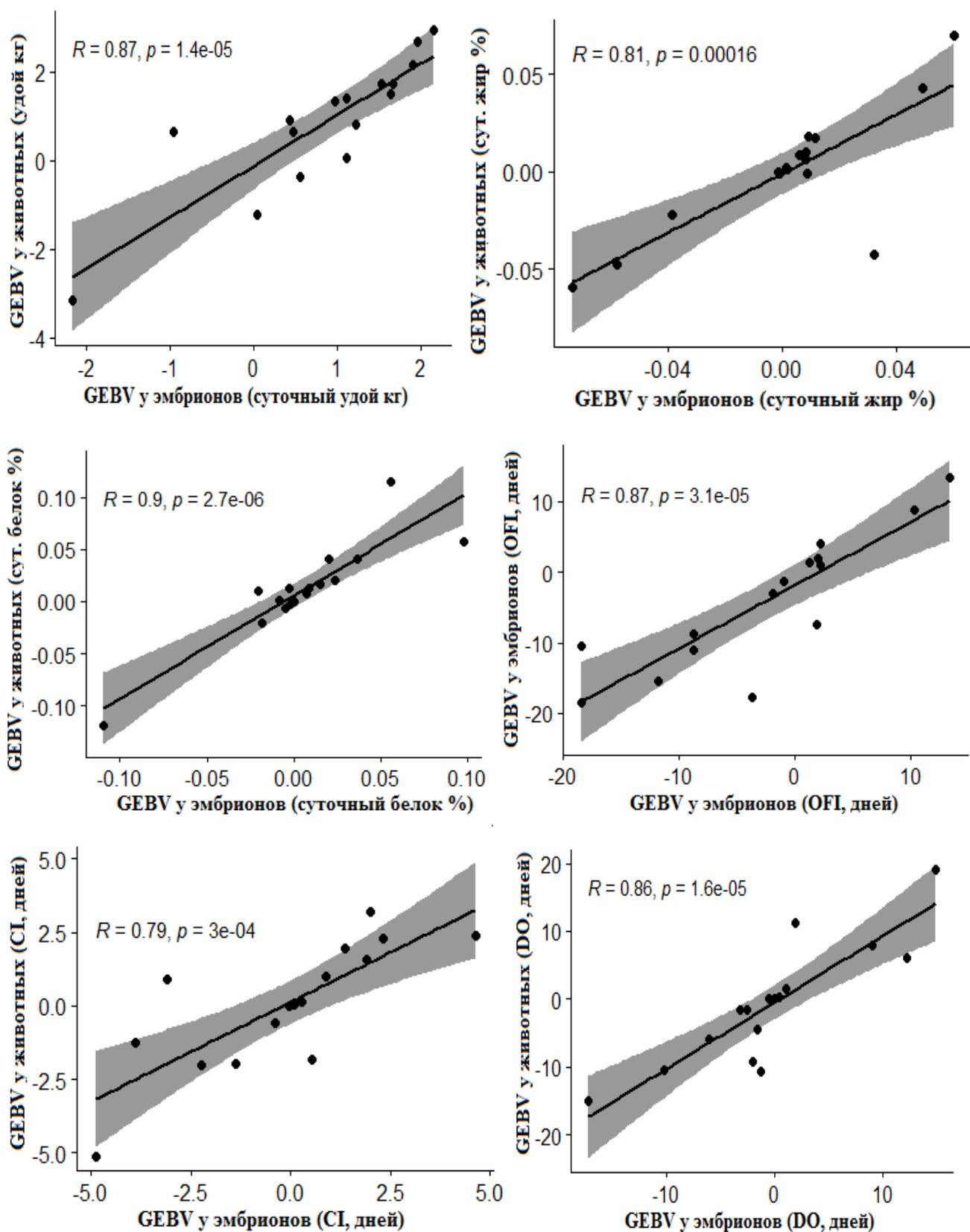


Рисунок 21. Связь между GEBVs эмбрионов и GEBVs рождённых животных по 3-м признакам молочной продуктивности (суточный удой в кг, молочный жир в %, молочный белок в %) и 3-м признакам фертильности: межотельный период (CI); интервал от отёла до первого осеменения (OFI); длина сервис-периода (DO)

В аналогичной работе [144], Mullaar и другие сообщали о том, что племенная ценность, рассчитанная на основе биопсии эмбрионов, достаточно надежна для проведения селекции на стадии эмбрионов. Установлено высокое значение корреляции между значениями геномной оценки племенной ценности биопсии эмбрионов и соответствующих животных по признаку количества белка в молоке. При этом было отмечено, что корреляция была достаточно высокой ($r^2 = 0.95$) у эмбрионов с высоким качеством генотипирования (call rate > 85%). А у эмбрионов с более низкими уровнями генотипирования, корреляция была значительно снижена ($r^2 = 0,71$).

FUJII и другие (2019) показали, что геномная оценка племенной ценности для биопсии эмбрионов по признаку массы туши близко совпадает с геномной оценкой племенной ценности соответствующих рождённых животных, что указывает на возможность применения геномной селекции у эмбрионов по признаку массы туши у породы японского черного скота [84].

Таким образом, полученный в нашей работе результат, и результат аналогичных исследований указывают на возможность использования генотипов биоптата эмбрионов для надежного предсказания племенной ценности на эмбриональной стадии развития.

2.3.6 Определение частоты встречаемости летальных гаплотипов, ассоциированных со снижением фертильности популяции КРС черно-пестрой породы

Было тестировано 1991 животное (1500 быков и 491 коров) КРС черно-пестрой породы на носительство 10 летальных голштинских гаплотипов, связанных с нарушением фертильности: HH0 (BY), HH1, HH2, HH3, HH4, HH5, HCD, HHC (CVM), HHB (BLAD) и HHD (DUMPS). Животные были разделены на две группы: генотипированные и негенотипированные животные. Микроматрицы ДНК BovineSNP50 содержат SNPs, связанные с мутациями BY, HH1, HH3, HH4, BLAD и DUMPS. Таким образом сразу после проведения генотипирования, можно определить статус генотипированных животных на носительство мутаций этих гаплотипов. Для негенотипированных животных был использован метод ПЦР для выявления статуса носительства тех же мутаций. Также метод ПЦР использовался для тестирования всех

животных (генотипированные и негенотипированные) на носительство мутаций HH5, HCD, CVM. Мутация, вызывающая HH2 до сих пор не обнаружена. Таким образом для HH2 определяется статус носительства гаплотипа, а не казуальной мутации. Число протестированных животных и методы тестирования представлены в таблице 12.

Таблица 12: Общее количество животных, тестированных на носительство мутации 10 летальных голштинских гаплотипов

Метод анализа	BY	HH1	HH2*	HH3	HH4	HH5	HCD	CVM	BLAD	DUMPS	всего
Генотипирование	1215	1215	1215	1215	1215	1215	1215	1215	1215	1215	1215
ПЦР	683	306	-	314	274	218	446	482	483	402	776
Всего быков	1411	1114	879	1123	1105	1027	1201	1220	1221	1183	1500
Всего коров	487	407	336	406	384	406	460	477	477	434	491
всего животных	1898	1521	1215	1529	1489	1433	1661	1697	1698	1617	1991

* Казуальная мутация, вызывающая HH2 до сих пор не определена.

В ходе исследования были обнаружены 355 животных носителей летальных гаплотипов, что составляет 17,8% от общего числа исследуемых животных. Из них 306 - носителей по одному летальному гаплотипу, а 49 - по двум. Визуализация ПЦР-продуктов методом электрофореза для выявления носителей мутаций BY, HH5 и HCD, а также анализ ПЦР продуктов после ферментативного расщепления для HH1, HH3, CVM, BLAD и DUMPS представлены на рисунке 22.

Общее количество протестированных животных на носительство мутаций: BY, HH1, HH2, HH3, HH4, HH5, HCD, CVM, BLAD и DUMPS составляло 1898, 1521, 1215, 1529, 1489, 1433, 1661, 1697, 1698 и 1617 соответственно. Было выявлено 78, 45, 12, 44, 17, 32, 94, 17 и 16 носителей мутаций BY, HH1, HH2, HH3, HH4, HH5, HCD, CVM и BLAD, соответственно. Носителей мутации DUMPS не обнаружено. Доля носителей в поголовье черно-пестрой породы составила 4,11, 2,96, 0,99, 2,88, 1,14, 2,23, 5,66, 1,00 и 0,94 и 0,0 % соответственно. Частота встречаемости мутантного аллеля составляла 2,05, 1,48, 0,49, 1,44, 0,57, 1,12, 2,83, 0,50, 0,47 и 0,0 % соответственно для BY, HH1, HH2, HH3, HH4, HH5, HCD, CVM, BLAD и DUMPS (таблица 13).

Доля носителей среди быков составила 3,97, 1,71, 1,14, 3,83, 1,36, 2,36, 6,83, 0,57, 0,16 и 0,0 % для мутаций BY, HH1, HH2, HH3, HH4, HH5, HCD, CVM, BLAD и DUMPS,

соответственно. В то же время, среди коров доля носителей составила 4,52, 6,39, 0,60, 1,48, 0,52, 1,23, 2,61, 2,10, 2,94 и 0,0 %, соответственно.

Частота мутантного аллеля среди быков составила 1,98, 0,85, 0,57, 1,69, 0,68, 1,31, 3,41, 0,29, 0,08 и 0,0 % для ВУ, НН1, НН2, НН3, НН4, НН5, НСD, СVМ, ВLAD и DUMPS, соответственно, в то время как среди коров доля составила 2,26, 3,19, 0,30, 0,74, 0,26, 0,62, 1,30, 1,05, 1,47 и 0,0 % соответственно.

Таблица 13: Частота встречаемости летальных голштинских гаплотипов в популяции КРС черно-пестрой породы

Показатель	ВУ	НН1	НН2	НН3	НН4	НН5	НСD	СVМ	ВLAD	DUMPS
Общее количество животных	1898	1521	1215	1529	1489	1433	1661	1697	1698	1617
Общее носителей	78	45	12	44	17	32	94	17	16	0
Быков-носителей	56	19	10	38	15	27	82	7	2	0
Коров-носителей	22	26	2	6	2	5	12	10	14	0
Доля носителей %	4.11	2.96	0.99	2.88	1.14	2.23	5.66	1.00	0.94	0.00
Частота мутантного аллеля в популяции %	2.05	1.48	0.49	1.44	0.57	1.12	2.83	0.50	0.47	0.00
Доля быков-носителей	3.97	1.71	1.14	3.38	1.36	2.63	6.83	0.57	0.16	0.00
Частота мутантного аллеля среди быков %	1.98	0.85	0.57	1.69	0.68	1.31	3.41	0.29	0.08	0.00
Доля коров-носителей	4.52	6.39	0.60	1.48	0.52	1.23	2.61	2.10	2.94	0.00
Частота мутантного аллеля среди коров %	2.26	3.19	0.30	0.74	0.26	0.62	1.30	1.05	1.47	0.00

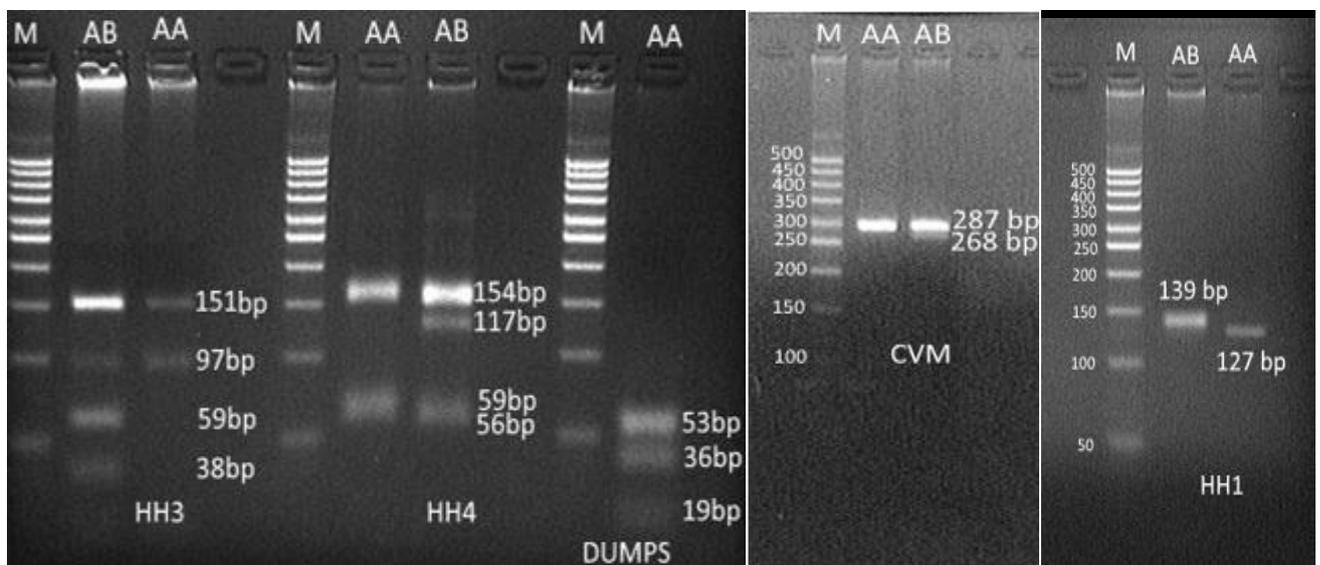
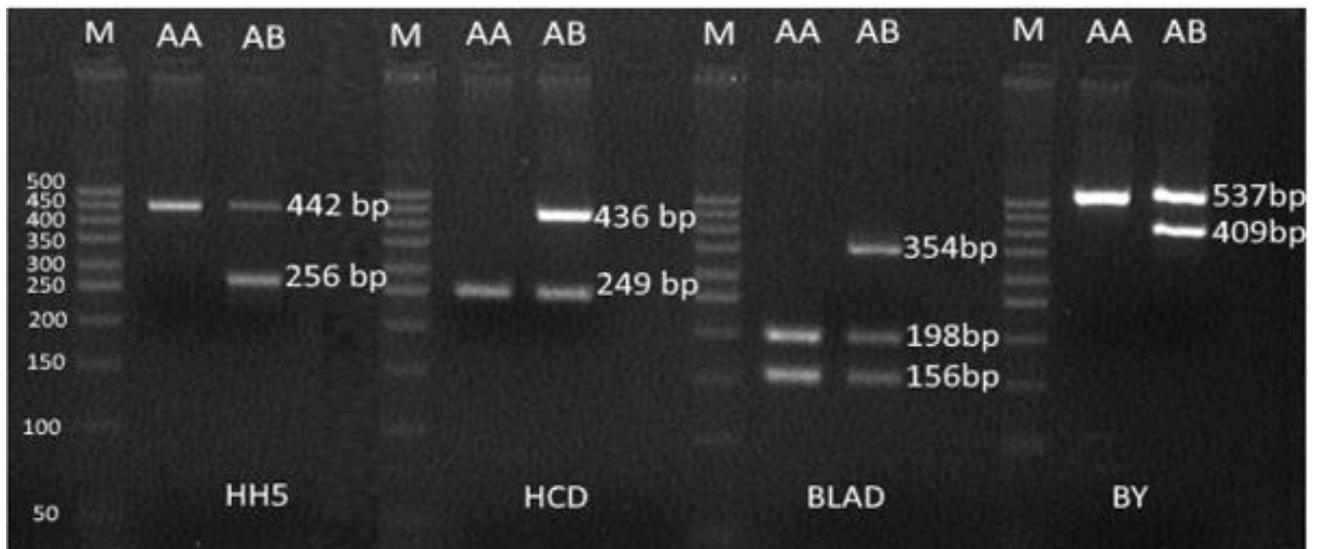


Рисунок 22. Гель-электрофорез ПЦР-продуктов BY, HH5 и HCD, а также ПЦР продуктов после ферментативного расщепления для HH1, HH3, CVM, BLAD и DUMPS (M – ДНК Лэддер 50 пн; AB – носитель мутации; AA – не носитель. Для DUMPS не было обнаружено носителей)

2.3.7 Результат полногеномного анализа ассоциаций с признаками фертильности и молочной продуктивности

Полногеномный анализ ассоциаций (GWAS) представляет собой исследование на уровне всего генома для определения генетических вариантов, связанных с проявлением исследуемых признаков. GWAS является развитие метода маркер-зависимой селекции, когда используемые генетические маркеры распределены по всему геному так, что все QTL находятся в неравновесном сцеплении по меньшей мере с одним из них.

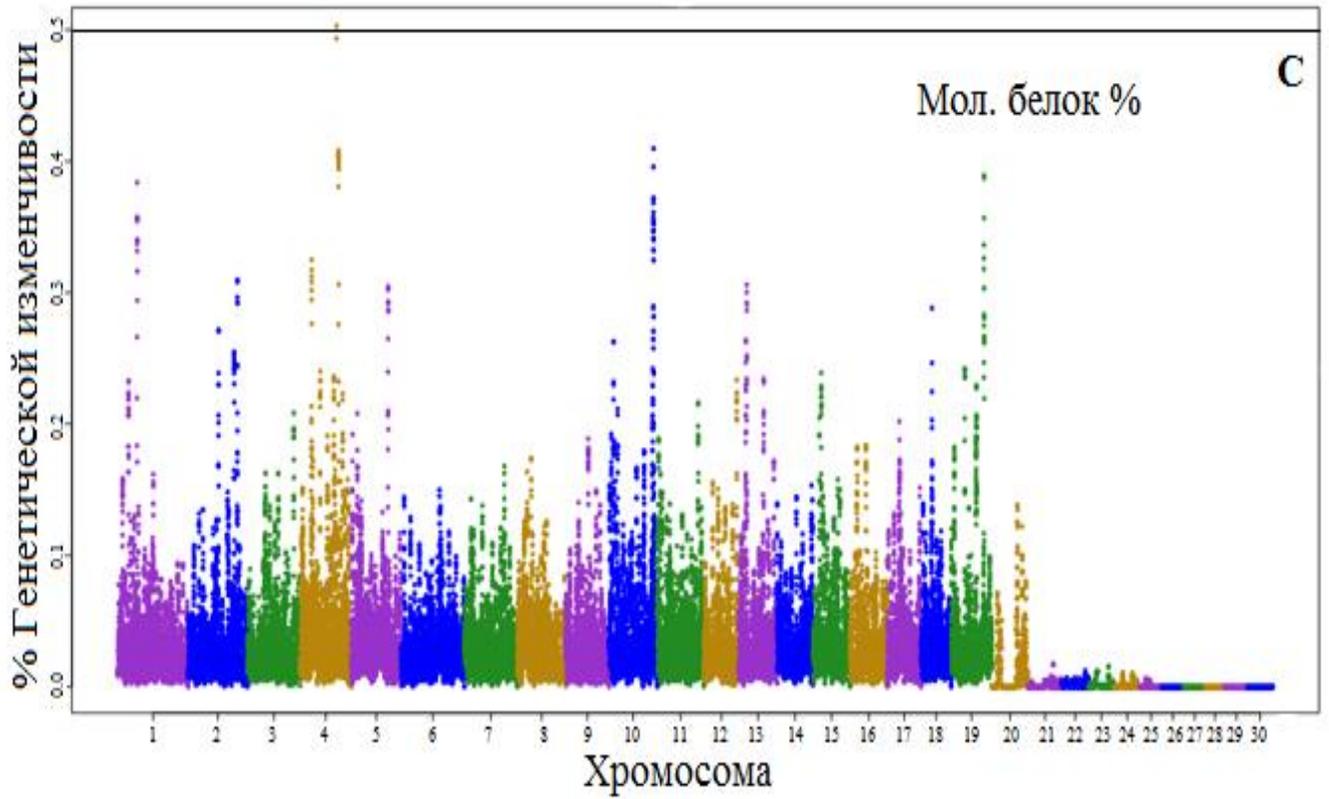
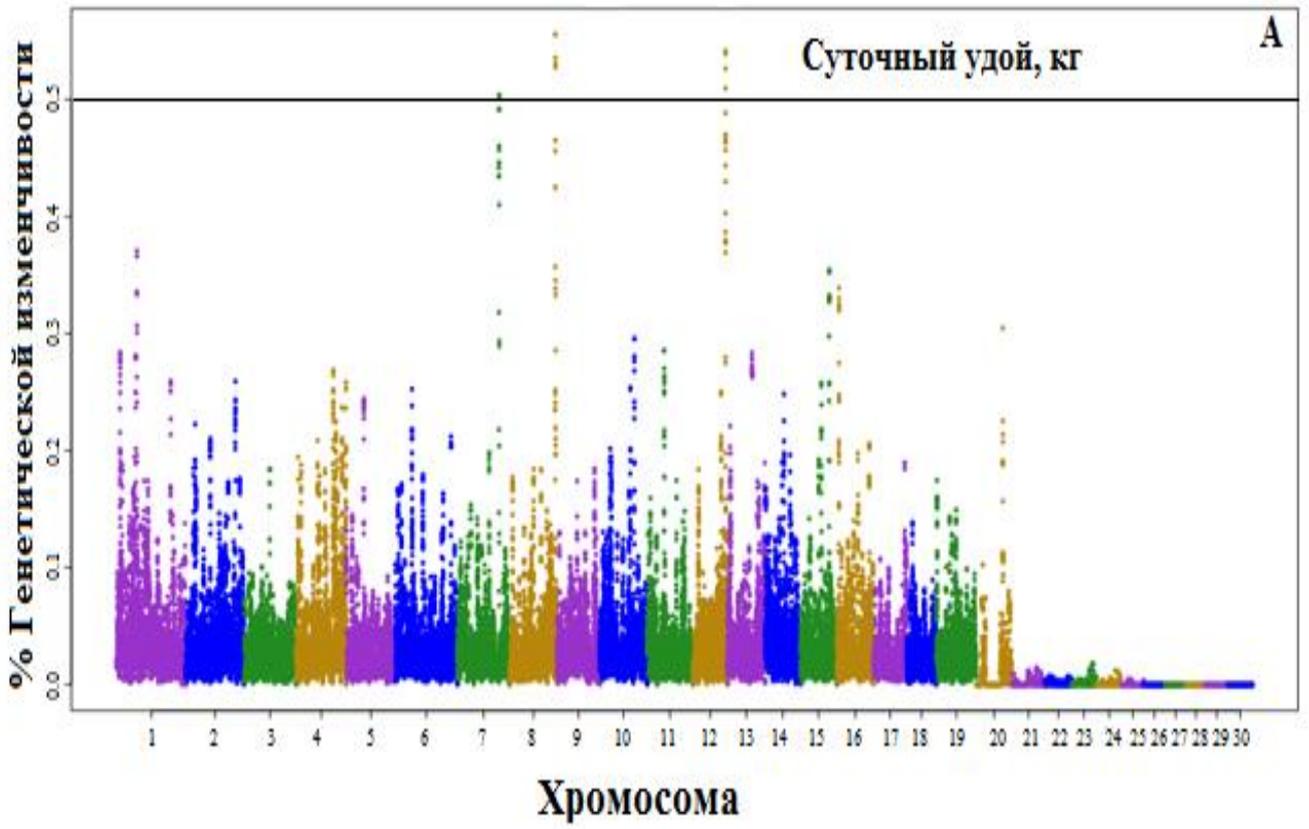
GWAS позволяет выявить области генома, прямо или опосредованно связанные с хозяйственно-полезными признаками сельскохозяйственных животных.

Такие исследования напрямую связаны с повышением экономической эффективности, поскольку позволяют выявлять и исключать из селекционного процесса животных-носителей нежелательных генов, фенотип которых может не проявляться [39].

Для идентификации геномных областей, связанных с признаками фертильности и молочной продуктивности у животных черно-пестрой породы, был проведен GWAS со значениями племенной ценности для 217 генотипированных коров и 427 генотипированных быков. После проведения контроля качества для анализа было отобрано 38054 эффективных SNP-маркёров. Оценка влияния SNP-маркёров проводилась с использованием программного пакета BLUPF90. Оценка влияния каждого SNP при GWAS происходит одновременно с другими остальными маркерами. Каждый SNP несет определенную долю компоненты генетической изменчивости. Один маркёр усиливает, а другие ослабляют проявления признака и при этом допускается, что суммарный эффект всех маркёров должен быть слабым. Это обстоятельство, однако, не препятствует получению ясной картины ассоциаций по изучаемым показателям [35].

Результаты исследования представлены на рисунках 23 и 24. Каждая точка в Манхэттенском графике соответствует доле генетической изменчивости, которая обусловлена окном на хромосоме, состоящим из 20 смежных SNP. По результатам исследования были обнаружены 12 окон, связанных с наибольшей генетической изменчивостью ($> 0.5\%$) суточного удоя, и 1 окно, связанное с наибольшей изменчивостью содержания белка в молоке. Также были обнаружены 6 неперекрывающихся окон (5 на 10-ой и 1 на 14-ой хромосоме), ассоциированных с наибольшей генетической изменчивостью содержания жира в молоке ($>0.5\%$).

Проведение GWAS также позволило определить 35 генетических регионов, расположенных на 4 хромосомах (3, 4, 10 и 11) и связанных с наибольшей генетической изменчивостью ($>0.5\%$) признаков фертильности. Для AFC и CI установлены, соответственно, 3 и 4 окна на 10-ой и 3-ей хромосоме. Для OFI, FLI и DO получены 8, 1 и 13 окон, расположенных на 3-ей, 4-ой и 11-ой хромосоме (рисунок 24). Результаты GWAS также представлены в таблице 14.



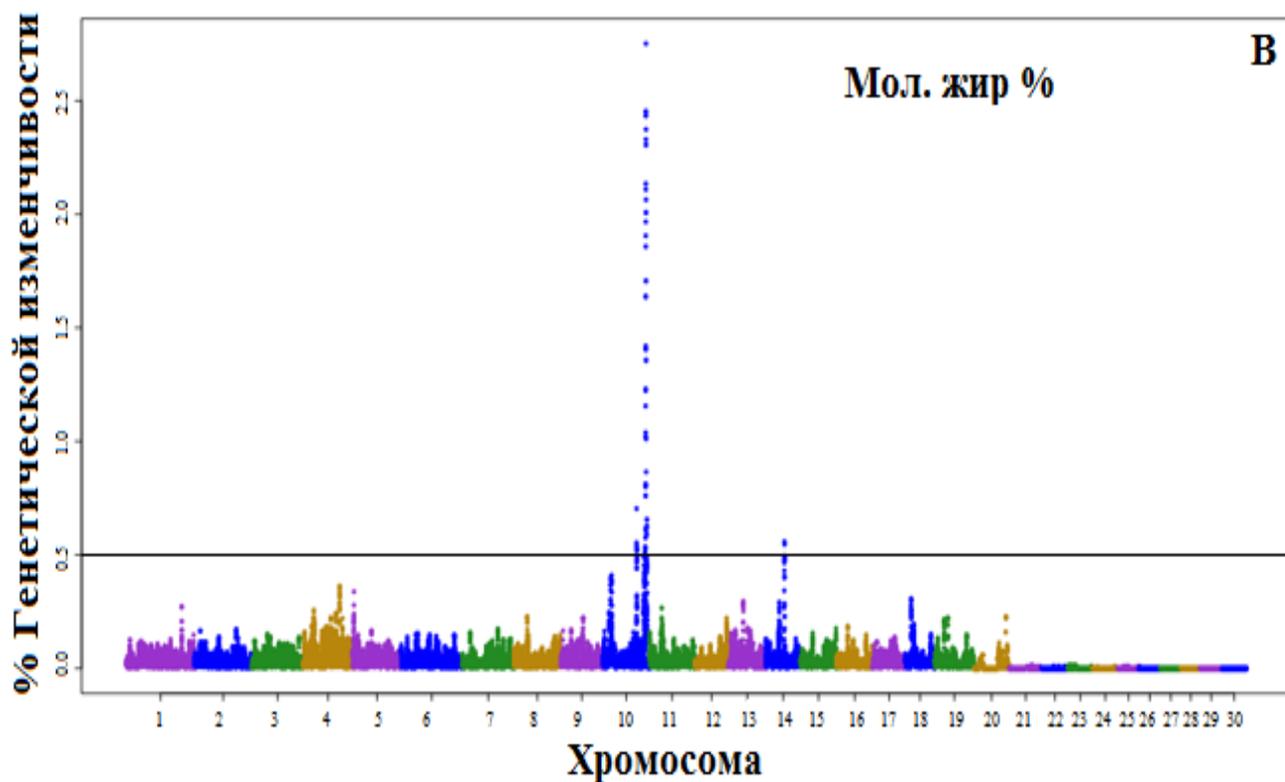
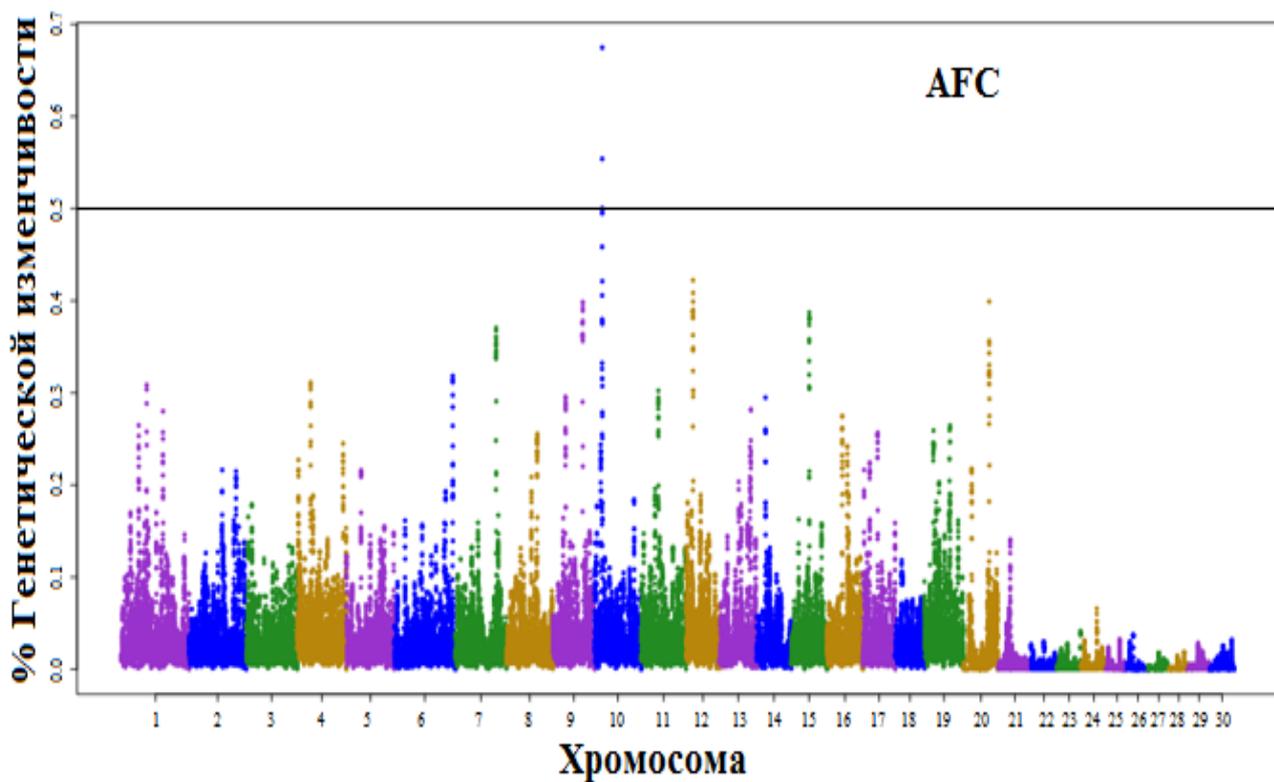
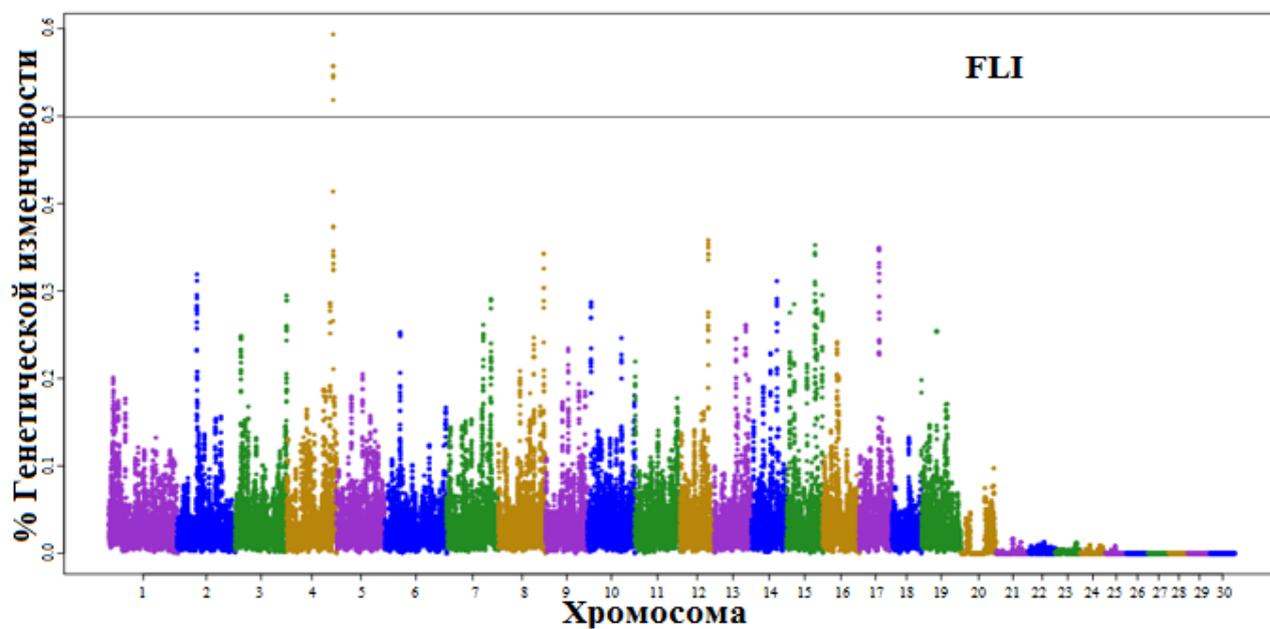
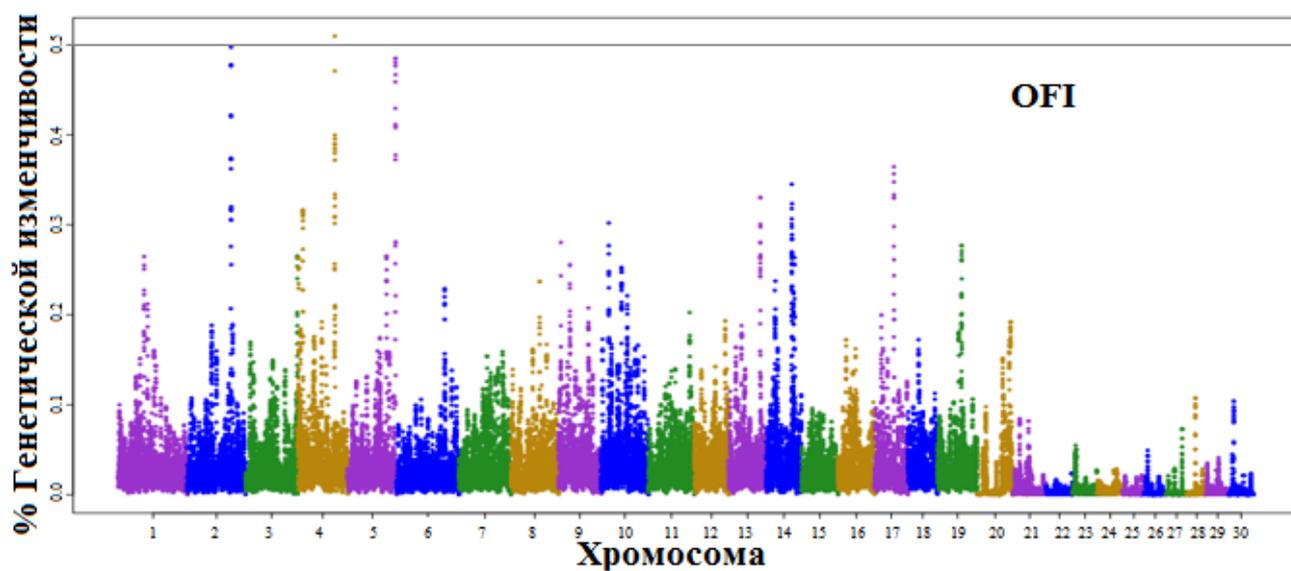
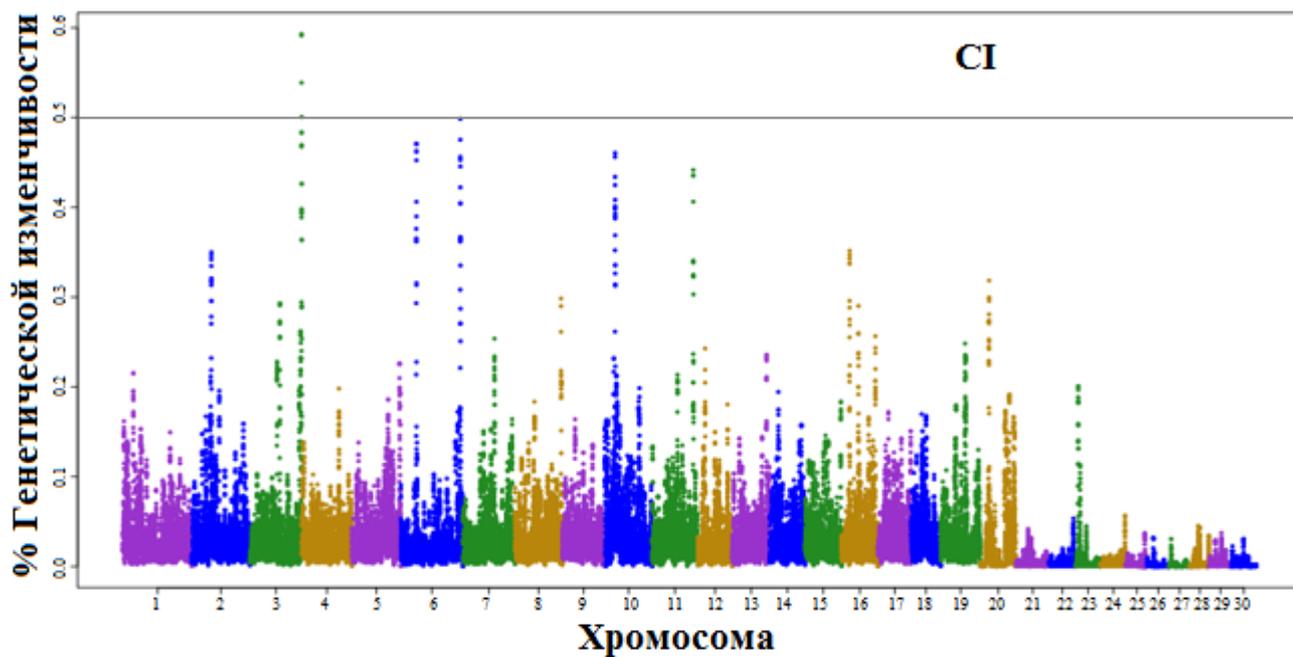


Рисунок 23. Результат GWAS и соответствующая доля аддитивной генетической изменчивости по суточному удою (А), содержанию жира (В) и содержанию белка в молоке (С).





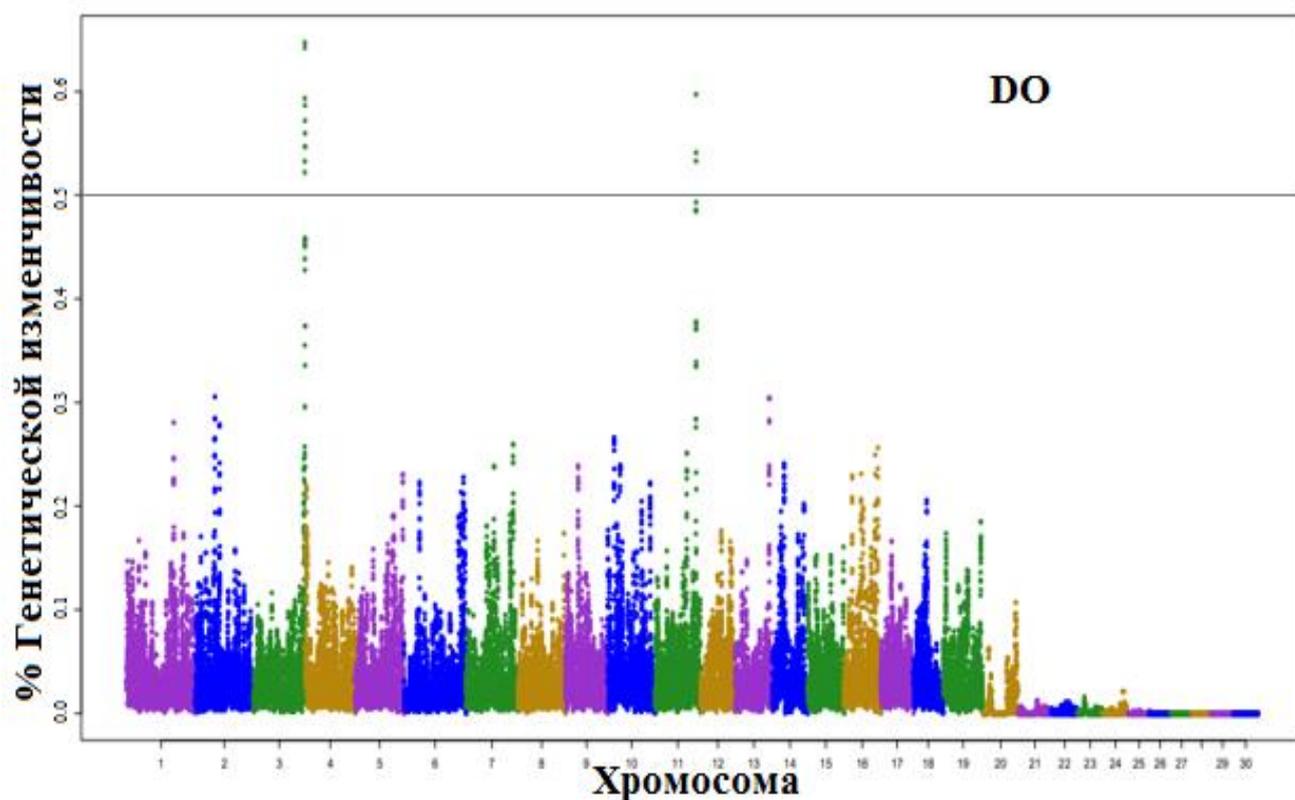


Рисунок 24. Результат GWAS и соответствующая доля аддитивной генетической изменчивости для возраста первого отёла (AFC), межотельного периода (CI), интервала от отёла до первого осеменения (OFI), интервал от первого до последнего осеменения (FLI) и длины сервис-периода (DO)

Анализ генетических регионов, сопряженных с оценкой количественных признаков молочной продуктивности и фертильности скота черно-пестрой популяции, выявил ряд генов, участвующих в различных биологических процессах (таблица 14).

Таблица 14 - Достоверные ассоциации генетических регионов, сопряженных с оценкой количественных признаков фертильности и молочной продуктивности, их геномная локализация и доля генетической изменчивости

Признак	ВТА	Локализация окна	Колическ во SNP	Генетическая изменчивость %	Ген	Локализация гена
Удой (кг)	7	Chr7:85277486-85930083	20	0.50	<i>XRCC4</i>	chr7:85267807-85556934
		Chr7:85298955-85957647	20	0.50	<i>VCAN</i>	chr7:85666058-85782896
		Chr7:85337935-85971257	20	0.50	<i>HAPLN1</i>	chr7:85845448-85924686
	8	Chr8:109008801-109737722	20	0.56	-	-
		Chr8:109059409-109770679	20	0.56	-	-

Продолжение таблицы 14

Удой (кг)	8	Chr8:109112032 -109815182	20	0.54	-	-
		Chr8:109159075 -109836761	20	0.53	-	-
		Chr8:109218761 -109923217	20	0.53	-	-
	12	Chr12:87554080 -88319342	20	0.54	<i>ABHD13</i>	chr12:87630477- 87631579
		Chr12:87468430 -88278660	20	0.54	<i>LIG4</i>	chr12:87606118- 87613800
		Chr12:87672871 -88394447	20	0.53	<i>LOC10713 1142</i>	chr12:87654333- 87671972
		Chr12:87579030 -88347846	20	0.51	<i>TNFSF13B</i>	chr12:87654130- 87671972
Молочн ый белок (%)	4	Chr4:92588608- 93248011	20	0.51	<i>GCC1</i>	chr4:92617109- 92620507
					<i>ZNF800</i>	chr4:92423262- 92444888
					<i>ARF5</i>	chr4:92624397- 92627378
					<i>SND1</i>	chr4:92679169- 93108508
					<i>LRRC4</i>	chr4:92953572- 93043887
					<i>MIR129-1</i>	chr4:93220889- 93220960
<i>LEP</i>	chr4:93249874- 93266621					
Молочн ый жир (%)*	10	Chr10:95629821 -96695555	20	2,75	-	-
		Chr10:94786066 -95524114	20	1,02	-	-
		Chr10:74479448 -75685400	20	0.71	<i>MGC14831 8</i>	chr10:74517288- 74532706
					<i>KCNH5</i>	chr10:75235434- 75637242
		Chr10:98230479 -98840028	20	0.66	-	-
		Chr10:93958415 -94515340	20	0.54	<i>SEL1L</i>	chr10:93900621- 93965136
	14	Chr14:41696729 -42550365	20	0.59	<i>ZFHX4</i>	chr14:41988047- 42189777
					<i>PEX2</i>	chr14:42315032- 42330374
AFC	10	Chr10:10659761 -11294250	20	0.67	<i>THBS4</i>	chr10:10945425- 10999246
		Chr10:10658216 -11252642	20	0.55	<i>CMYA5</i>	chr10:10613900- 10711992
		Chr10:10585717 -11177371	20	0.50	<i>TENT2</i>	chr10:10549964- 10609979

Продолжение таблицы 14

CI	3	Chr3:120647330 -121179950	20	0.59	<i>AGXT</i>	chr3:120634569- 120644627
		Chr3:120622998 -121143331	20	0.59	<i>MTERF4</i>	chr3:120809686- 120815366
		Chr3:120647449 -121203750	20	0.54	<i>PPP1R7</i>	chr3:120853355- 120869391
		Chr3:120891162 -121374825	20	0.50	<i>SEPTIN2</i>	chr3:120961236- 120989665
FLI	4	Chr4:114193481 -114540598	20	0.59	<i>TMEM176 B</i>	chr4:114199461- 114207377
		Chr4:114211077 -114565961	20	0.56	<i>TMEM176 A</i>	chr4:114207064- 114212313
		Chr4:114260289 -114595553	20	0.57	<i>AOC1</i>	chr4:114249782- 114262315
		Chr4:114280862 -114603252	20	0.57	<i>KCNH2</i>	chr4:114329663- 114357980
		Chr4:114326665 -114665143	20	0.55	<i>ASIC3</i>	chr4:114424078- 114428038
		Chr4:114302482 -114640077	20	0.55	<i>NOS3</i>	chr4:114375967- 114394483
		Chr4:114327157 -114688732	20	0.54	<i>CDK5</i>	chr4:114429163- 114433469
		Chr4:114350936 -114713614	20	0.59	<i>SLC4A2</i>	chr4:114438015- 114450607
					<i>FASTK</i>	chr4:114450705- 114455203
					<i>MIR6525</i>	chr4:114451861- 114451945
					<i>TMUB1</i>	chr4:114455522- 114457946
					<i>ABCF2</i>	chr4:114587369- 114602056
					<i>CHPF2</i>	chr4:114610856- 114615301
<i>MIR671</i>	chr4:114614902- 114615019					
<i>SMARCD3</i>	chr4:114615443- 114621742					
<i>NUB1</i>	chr4:114689767- 114725191					
<i>WDR86</i>	chr4:114729894- 114755250					
<i>RHEB</i>	chr4:114803157- 114855282					
OFI	4	Chr4:91498875- 92364428	20	0.52	<i>GRM8</i>	chr4:91470676- 92316363
					<i>MIR592</i>	chr4:92126804- 92126899

Продолжение таблицы 14

DO	3	Chr3:120647330 -121179950	20	0.65	<i>AGXT</i>	chr3:120634569- 120644627
		Chr3:120622998 -121143331	20	0.65	<i>MTERF4</i>	chr3:120809686- 120815366
		Chr3:120647449 -121203750	20	0.59	<i>SEPTIN2</i>	chr3:120961236- 120989665
		Chr3:120905034 -121403393	20	0.59	<i>STK25</i>	chr3:121065646- 121074619
		Chr3:120891162 -121374825	20	0.58	<i>BOK</i>	chr3:121098866- 121111324
		Chr3:120860510 -121332868	20	0.56	<i>THAP4</i>	chr3:121118652- 121153702
		Chr3:120969369 -121403393	20	0.55	<i>DTYMK</i>	chr3:121173763- 121182302
		Chr3:120983307 -121403393	20	0.55	<i>D2HGDH</i>	chr3:121212557- 121237816
		Chr3:120689753 -121226077	20	0.53	<i>PPP1R7</i>	chr3:120853355- 120869391
		Chr3:120573628 -121128372	20	0.52	<i>ATG4B</i>	chr3:121162791- 121170613
	11	Chr11:10092409 9-101522062	20	0.60	<i>EXOSC2</i>	chr11:100997647- 101006483
		Chr11:10097925 1-101602103	20	0.54	<i>FUBP3</i>	chr11:100903350- 100952802
		Chr11:10094602 5-101565248	20	0.53	<i>PRDM12</i>	chr11:100972721- 100988364
					<i>ABL1</i>	chr11:101011169- 101152856
					<i>QRFP</i>	chr11:101158278- 101158682
					<i>AIF1L</i>	chr11:101335452- 101346202
					<i>NUP214</i>	chr11:101347687- 101438628
	<i>PLPP7</i>	chr11:101502265- 101517589				
	<i>FAM78A</i>	chr11:101477218- 101489266				

*Для признака молочного жира (%) представлены только неперекрывающиеся окна

Как показано на рисунке 23 и в таблице 14, на 7-ой хромосоме обнаружены три окна (от 85277486 до 85971257), связанные с молочным удоом. Эти окна содержат 3 гена. Ген *VCAN* связан с синтезом матрикса и метаболизмом. Он вовлечен в процесс клеточной адгезии, а также принимает участие в пролиферации и миграции клеток, ангиогенезе и играет ключевую роль в построении тканей и стабилизации белков внеклеточного матрикса.

Ген *HAPLN1* кодирует белок "гиалуронан/протеогликан-связывающий белок 1" и отвечает за механизм связывания гиалуроновой кислоты, которая может связывать до 1000 крат своей массы в воде и заполняет внеклеточный матрикс тканей. Ген *XRCC4* участвует в репарации ДНК и клеточном цикле.

Также с молочным удоем были определены 4 связанных гена, расположенные на 12-ой хромосоме: *ABHD13*, *LIG4*, *LOC107131142* и *TNFSF13B*. Ген *ABHD13* играет роль в метаболизме [124]. В научных исследованиях I. Mastranestasis [131] установлено достоверное влияние этого гена на молочную продуктивность у овец.

Один регион на 4-ой хромосоме (Chr4:92588608-93248011) связан с молочным белком. Внутри него обнаружили 5 генов: *GCC1*, *ZNF800*, *ARF5*, *SND1*, *LRR4*, *MIR129-1* и *LEP*. Три из этих генов были ранее ассоциированы с молочной продуктивностью у КРС. Ген *SND1* кодирует высоко консервативный ядерный фактор транскрипции *SND1*, который присутствует в ядрах эпителиальных клеток молочной железы. В проведенных ранее исследованиях было установлено, что количество *SND1* увеличивается в ткани молочной железы во время лактации. Исследователи отмечали что *SND1* способствует экспрессии гена белка молока β -казеина. По данным Л. Лимин, *SND1* может быть очень важным фактором транскрипции для синтеза молока [127].

Ген *LEP* кодирует гормон лептин, который играет существенную роль в регуляции энергетического баланса, фертильности и молочной продуктивности у КРС [70, 87, 151, 168]. По данным J. Citek, аллель MM гена *LEP* была ассоциирована с более низким процентом белка в молоке, а аллель W - с более высоким процентом ($p < 0,05$) [70].

LRR4 (Белок 4, богатый лейцином повтор-содержащий) ранее был ассоциирован с молочным удоем за 305 дней. В нашем исследовании этот ген идентифицировали как ген-кандидат по признаку содержания белка в молоке [151].

Пять генов были ассоциированы с процентом жира в молоке: *MGC148318*, *KCNH5*, *SEL1L*, *ZFH4* и *PEX2*. Исследование L.P. Ignatieva [108] подтверждает влияние гена *ZFH4* на этот признак у КРС симментальской породы, а в работе Z. Cai [64] установлено, что ген *SEL1L* связан с признаком содержания белка в молоке.

Также в нашем исследовании установлено, что ген *KCNH5* ассоциирован с процентом жира в молоке. Этот ген участвует в важных биологических процессах. Он

кодирует семейство потенциал-зависимых калиевых каналов, функция которых включает регулирование высвобождения нейромедиаторов, частоты сердечных сокращений, возбудимости нейронов, транспорта электролитов эпителия, сокращения гладких мышц и объема клеток. Они также регулируют клеточные процессы, такие как секреция гормонов (например, выделение инсулина из бета-клеток поджелудочной железы). В исследованиях В. Buitenhuis [62] установлено, что этот ген лежит в основе генетической изменчивости биосинтеза молочного жира у двух разных пород КРС - датской голштинской (DH) и датской джерсейской (DJ).

Фертильность – сложная многофакторная система, в осуществлении которой принимают участие все функции организма. В рамках нашего исследования были обнаружены 3 гена, ассоциативные с признаком AFC, и 4 гена, ассоциативные с CI. В исследованиях L. Grigoletto [93] установлено, что ген *THBS4* связан с уровнем антимюллеровского гормона. Этот гормон обеспечивает дифференцировку пола у эмбриона, а также участвует в сперматогенезе и созревании фолликула. Он служит индикатором функции половых желез, и его используют, чтобы выяснить причину нарушения дифференцировки пола, мужского и женского бесплодия. В рамках данной работы этот ген был ассоциирован с признаком фертильности AFC.

Ген *PPP1R7* расположен на 3-ей хромосоме и связан с межтельным периодом. В ряде исследований на мышах установлено, что этот ген играет роль в развитии и созревании сперматозоидов в мужском организме [73].

На хромосоме BTA4 обнаружены 18 и 2 гена, связанные, соответственно с признаками FLI и OFI. В исследованиях многих ученых указывается влияние ряда из этих генов на показатели фертильности. Ген *NOS3* влияет на созревание ооцитов и участвует в регуляции секреции стероидных гормонов гранулезными клетками [128]. В работе D.C. Purfield и др. [164] на популяции животных Абердин-ангусской породы установлена связь между геном *KCNH2* и признаком фертильности CI. Также в исследованиях J.N. Kiser [116] было выявлено влияние гена *GRM8* на способность оплодотворения животных голштинской породы.

Также в рамках данной работы были определены 19 генов, связанных с признаком фертильности DO. Эти гены расположены на 3-ей и 11-ой хромосоме.

Полученные в нашем исследовании результаты по картированию локусов QTL количественных признаков фертильности и молочной продуктивности могут быть использованы при разработке селекционных программ, направленных на улучшение поголовья КРС черно-пёстрой породы.

3. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Геномная селекция представляется самой эффективной технологией повышения генетического прогресса в схемах молочного скотоводства по всему миру. Главное её преимущество состоит в том, что можно точно идентифицировать генетически элитных животных в очень молодом возрасте благодаря оценке генетических достоинств, полученных из информации о ДНК всего генома. Эти геномные значения размножения значительно более точные, чем традиционно используемые племенные индексы для молодых животных, основанные исключительно на информации о генетике фенотипических признаков. В нашем исследовании впервые в России была рассчитана геномная оценка племенной ценности для популяции КРС черно-пестрой породы по совокупности признаков фертильности и молочной продуктивности. В результате исследования было установлено среднее значение достоверности GEBV для признаков фертильности CI (60%), DO (54%) и OFI (45%). Для остальных признаков фертильности достоверность GEBV составила: AFC (24 %), FLI (26%) и NS (23 %).

Также в нашем исследовании была использована модель тестового дня (TD ssGBLUP-AM) для оценки племенной ценности по молочным признакам. В настоящее время модель тестового дня используется для официальной оценки племенной ценности КРС животных во многих странах: в Канаде [150], в Германии [61], в Португалии [179] и в северных странах (Дания, Финляндия и Швеция) [118]. В нашей работе несмотря на маленькое число быков-производителей в референсной популяции, для которых проводилось генотипирование, оценка племенной ценности черно-пестрой породы методом TD ssGBLUP-AM имеет довольно высокую достоверность (порядка 65%). Достоверность GEBV может быть повышена за счет увеличения числа генотипированных животных в референсной популяции.

Важной особенностью геномной селекции является возможность сокращения срока смены генераций, особенно при подключении технологий трансплантации эмбрионов. Полученные в нашей работе результаты указывают на возможность использования генотипов биоптата эмбрионов для надежного предсказания племенной ценности. Применение подхода геномной оценки племенной ценности эмбрионов позволяет ускорить генетическое улучшение маточного поголовья КРС в Российской

Федерации.

Развитие полногеномных методов открыло новые возможности в идентификации участков генома, ассоциированных с генами наследственных заболеваний. В рамках выполнения диссертационной работы нами были тестированы животные КРС черно-пестрой породы на наличие LoF-мутаций, ассоциированных с разными гаплотипами фертильности. Анализ позволил выявить 17,8% носителей разных LoF-мутаций: BY, HH1, HH2, HH3, HH4, HH5, HCD, CVM и VLAD. Принимая во внимание наличие летальных гаплотипов в популяции черно-пестрой породы, в селекционно-племенной работе при спаривании животных необходимо учитывать их генотип по LoF-мутациям с целью снижения распространения мутантных аллелей и генетически обусловленных эмбриональных потерь.

Выявление генетических регионов, связанных с желательными хозяйственно-селекционными признаками, позволит проводить селекцию животных на уровне ДНК. В ходе полногеномного анализа ассоциаций в нашем исследовании были обнаружены разные генетические регионы, ассоциированные с наибольшей генетической изменчивостью признаков фертильности и молочной продуктивности. Анализ этих регионов позволил определить ряд генов, участвующих в различных биологических процессах. Полученные нами данные могут быть использованы при разработке селекционных программ, направленных на улучшение поголовья КРС по признакам фертильности и молочной продуктивности.

4. ВЫВОДЫ

1. Была сформирована единая база фенотипических данных племенных животных КРС черно-пестрой породы по 3-м признакам молочной продуктивности (молочный удой кг, содержание жира % и содержание белка % в молоке) и 6-и признакам фертильности: AFC, CI, OFI, FLI, DO и NS. Также была сформирована единая база данных о происхождении животных (файл родства) для 523 предприятий, внесенных в реестр племенных организаций Министерства сельского хозяйства Российской Федерации.

2. Анализ результатов компонента вариации свидетельствует, что уровень вариабельности исследуемых признаков фертильности и молочной продуктивности в популяции КРС черно-пестрой породы позволяет делать достаточно эффективным ведение направленной селекционной работы по этим признакам.

3. Коэффициент наследуемости составил 0.20, 0.31 и 0.26 по суточному удою, содержанию жира и содержанию белка в молоке, соответственно. Выявлены низкие значения коэффициента наследуемости (<0.11) для всех признаков фертильности кроме AFC (0.21), что указывает на низкое генотипическое разнообразие животных КРС черно-пестрой породы по этим признакам.

4. Выявлено повышение генетического потенциала животных, рождённых между 1975 и 2017 годами для двух из признаков молочной продуктивности (суточный удой и содержание жира в молоке). Средний генетический прогресс составил: +4.4 кг/день для молочного удоя и + 0.002% для содержания жира в молоке. По содержанию белка в молоке и по всем признакам фертильности кроме AFC выявлено снижение генетического потенциала животных на протяжении периода с 1975 по 2017 года.

5. Достоверность GEBV для генотипированных быков составила: суточный удой (65%), молочный жир (54%), молочный белок (54%), AFC (24%), CI (60%), OFI (45%), FLI (26%), DO (56 %) и NS (23%). Данный результат показывает на возможность проведения оценки племенной ценности поголовья КРС черно-пестрой породы по генотипу с довольно высокой достоверностью для молочных

признаков и для признаков CI, DO и OFI.

6. Выявлена высокая степень корреляция между GEBVs эмбрионов и GEBVs рождённых животных на основе 3-х признаков молочной продуктивности (суточный удой в кг, молочный жир в %, молочный белок в %) и 3-х признаков фертильности: CI, OFI и DO, что указывает на возможность использования генотипов биоптата эмбрионов для надежного предсказания племенной ценности животных на стадии эмбрионального развития.

7. Анализ генетических дефектов позволил выявить 17,8% носителей разных летальных гаплотипов, связанных с нарушением фертильности у поголовья КРС черно-пестрой породы. Частота встречаемости мутантного аллеля составляла 2,05, 1,48, 0,49, 1,44, 0,57, 1,12, 2,83, 0,50 и 0,47 %, соответственно для ВУ, НН1, НН2, НН3, НН4, НН5, НСD, СVМ и ВLAD. Носителей мутации DUMPS не обнаружено.

8. В ходе полногеномного анализа ассоциаций были обнаружены 19 генов, ассоциативных с признаками молочной продуктивности, и 46 генов, ассоциативных с признаками фертильности. Определение этих генов может способствовать проведению селекции животных КРС на геномном уровне.

5. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аграрная наука на современном этапе: состояние, проблемы, перспективы : материалы III науч.-практ. конф. с междунар. участием, г. Вологда, 28 февраля 2020 г. – Вологда : ФГБУН ВолНЦ РАН, 2020. – 429 с.
2. Арапова, О. оценка быков-производителей методом "дочери сверстницы" в СПК" племзавод" разлив" курганской области/ О. Арапова, К. Хатанов// Молодежь и наука. — 2018. № 2. — С. 55-55.
3. Баженова, И. Влияние геномной оценки быков-производителей на продуктивные качества их дочерей/ И. Баженова// Молодежь и наука. — 2019. № 4. — С. 22-22.
4. Борисенко, Е. Разведение сельскохозяйственных животных/ Е. Борисенко// «КОЛОС» Москва —1967. — 464 с.
5. Введение в математическую статистику [Текст] : [учебник] / Г. И. Ивченко, Ю. И. Медведев. - Изд. стер. - Москва : URSS : ЛКИ, 2014. - 599 с.
6. Ветеринарная генетика: краткий курс лекций для обучающихся по специальности 36.05.01 «Ветеринария» / О.И. Бирюков // ФГОУ ВО Саратовский ГАУ – Саратов, 2017. – 43 с.
7. Гетманцева, Л. В. исследование гаплотипов фертильности у голштинских коров голландского происхождения, разводимых в ростовской области/ Л. В. Гетманцева, О. С. Романенкова, О. В. Костюнина, В. С. Шевцова, М. А. Колосова// Научная жизнь. — 2019. — Т. 14, № 5. — С. 724-729.
8. Глазко, В. Проблемы «селекции с помощью маркеров»(MAS)/ В. Глазко// Farm animals. — 2013. № 2 (3).
9. Драгавцев, В. Новые подходы к экспрессной оценке генотипической и генетической (аддитивной) дисперсий свойств продуктивности растений/ В. Драгавцев, Г. Макарова, А. Кочетов, Г. Мирская, Н. Синявина// Вавиловский журнал генетики и селекции. — 2014. — Т. 16, № 2. — С. 427-436.

10. Егоров, В. Оценка племенных качеств быковпроизводителей австрийской селекции/ В. Егоров, В. Бабушкин, В. Сушков// Достижения науки и техники АПК. — 2011. № 7.
11. Епишко, О. Определение рецессивных мутаций VLAD, SVM И BS в популяции крупного рогатого скота молочного направления Республики Беларусь/ О. Епишко, В. Пестис, Л. Танана, Т. Кузьмина, Е. Чебуранова, М. Шевченко, А. Петрова, Н. Глинская, Р. Трахимчик//. — 2017.
12. Зиновьева, Н. Гаплотипы фертильности голштинского скота/ Н. Зиновьева// Сельскохозяйственная биология. — 2016. — Т. 51, № 4.
13. Зиновьева Н.А. Биотехнологические методы в зоотехнии и ветеринарии/ Н.А. Зиновьева, П.М. Кленовицкий, Е.Ф. Гладырь, Л.Г. Моисейкина, О.Б. Генджиева // Элиста. КГУ – «Джангар». – 2014. – 256 с.
14. Зиновьева, Н. Современные методы генетического контроля селекционных процессов и сертификация племенного материала в животноводстве: Учеб. пособие/ Н. Зиновьева, П. Кленовицкий, Е. Гладырь, А. Никишов// М.: РУДН. — 2008.- 329 с.
15. Иванов, В. Сравнительный анализ результатов оценки быков-производителей с использованием разных методов/ В. Иванов, Н. Попов, Н. Марзанов// Проблемы биологии продуктивных животных. — 2016. № 4. — С. 69-80.
16. Иванова, Е. ГЕНОМНАЯ СЕЛЕКЦИЯ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ/ Е. Иванова, А. Шкляева// Молодежь и наука. — 2019. № 3. — С. 25-25.
17. Калашников, А. Составление простых линейных моделей для прогноза племенной ценности животных/ А. Калашников, А. КОЧЕТКОВ, Т. АХМЕТОВ, Р. ШАЙДУЛЛИН, Е. БОЙКО, Л. КАЛАШНИКОВА, А. НОВИКОВ// Молочное и мясное скотоводство. — 2020. № 4. — С. 13-16.
18. Комлацкий В. И. Селекция свиней : учеб. пособие / В. И. Комлацкий, Л. Ф. Величко. - Краснодар : КубГАУ, 2019. - 192 с.
19. Крюков В.И. Генетика. Часть 14. Генетика количественных признаков.

- Генетические основы селекции: Учебное пособие для вузов. - Орёл: Изд-во ОрёлГАУ, 2011. - 134 с.
20. Кузнецов, В. Генетическая оценка молочного скота методом BLUP/ В. Кузнецов// Зоотехния. — 1995. — Т. 11. — С. 8-15.
 21. Кузнецов, В. Племенная оценка животных: прошлое, настоящее, будущее/ В. Кузнецов// Проблемы биологии продуктивных животных. — 2012. № 4. — С. 18-57.
 22. Кузнецов, В. Стратегия развития генетической оценки животных в XXI веке // Здоровье-питание-биологические ресурсы»: Материалы международной научнопрактической конференции, посвященной —, 2002. – С. 299-310.
 23. Кузнецов, В. Оценка племенной ценности молочного скота методом BLUP/ В. Кузнецов// Зоотехния. — 1995. — Т. 11. — С. 8-15.
 24. Кузнецов, В. М. Методы племенной оценки животных с введением в теорию BLUP/ В. М. Кузнецов// Зон. НИИСХ Северо-Востока. — 2003.
 25. Лешонок, О. Комплексная оценка быков-производителей в племенных организациях Свердловской области/ О. Лешонок, С. Гридина// Аграрный вестник Урала. — 2015. № 7 (137).
 26. Лукьянов, К. Мировые тенденции в селекции молочного скота/ К. Лукьянов, В. А. Солошенко, И. И. Клименок, Н. С. Юдин// Генетика и разведение животных. — 2015. № 3. — С. 63-69.
 27. Ляшенко, В. Продуктивность голштинских коров-первотелок разной селекции/ В. Ляшенко, И. Ситникова// Нива Поволжья. — 2014. № 3 (32).
 28. Мамонтова, А. Сравнение эффективности применения различных модификаций метода BLUP для оценки племенной ценности быков по качеству потомства на примере симментальской породы/ А. Мамонтова, С. Никитин, А. Сермягин, Е. Мельникова// Новости науки в АПК. — 2019. № 3. — С. 229-234.
 29. Мельникова, Е. Е. Сравнительная эффективность методов формирования

- селекционных групп коров черно-пестрой и голштинской пород с использованием методологий BLUP и построения селекционного индекса: дис. ...доктора с.-х. наук: 06.02.07// Мельникова Екатерина Евгеньевна; науч. руководитель И.Н. ЯНЧУКОВ. – Дубровицы. – 2017.- 178 с.
30. Нардин, Д. С. Функциональные возможности программного продукта для зоотехнического и племенного учета «СЕЛЭКС-Молочный»/ Д. С. Нардин, А. И. Малинина// Электронный научно-методический журнал Омского ГАУ. — 2015. № 3 (3).
 31. Панькова, С. Оценка племенной ценности птицы с использованием BLUP // Инновационное обеспечение яичного и мясного птицеводства России: материалы XVIII Междунар. конференции. Сергиев Посад —, 2015. – С. 77-79.
 32. Паронян, И. А. Генофонд домашних животных России/ И. А. Паронян, П. Н. Прохоренко// СПб.: Лань. — 2008. — С. 352.
 33. Происхождение сельскохозяйственных животных: Учебное пособие /В.А.Баранов, М.А. Сушенцова, Н.М. Каналина. – Казань: Издательство центра информационных технологий ФГБОУ ВО КГАВМ, 2019. - 54 с
 34. Селионова, М. Геномные технологии в селекции сельскохозяйственных животных/ М. Селионова, А.-М. Айбазов// Сельскохозяйственный журнал. — 2014. — Т. 1, № 7 (1).
 35. Сермягин, А. Полногеномный анализ ассоциаций с продуктивными и репродуктивными признаками у молочного скота в российской популяции голштинской породы/ А. Сермягин, Е. А. Гладырь, С. Н. Харитонов, А. Ермилов, Н. Стрекозов, Г. Брем, Н. Зиновьева// Сельскохозяйственная биология. — 2016. — Т. 51, № 2.
 36. А Сермягин, А. Генетический и геномный прогноз племенной ценности быков-производителей черно-пестрой и голштинской пород в России/ А. Сермягин, Н. Зиновьева// Достижения науки и техники АПК. — 2019. — Т. 33, № 12.
 37. Смарагдов, М. Тотальная геномная селекция с помощью SNP как возможный

- ускоритель традиционной селекции/ М. Смарагдов// Генетика. — 2009. — Т. 45, № 6. — С. 725-728.
38. Столповский, Ю. Последние тенденции и возможные пути развития/ Ю. Столповский, А. Пискунов, Г. Свищева// Генетика. — 2020. — Т. 56, № 9. — С. 1006-1017.
39. Траспов, А. Полногеномные ассоциативные исследования распространения пороков развития и других селекционно значимых качественных признаков у потомства хряков крупной белой породы российской селекции/ А. Траспов, О. Костюнина, А. Белоус, Т. Карпушкина, Н. Свеженцева, Н. Зиновьева // Vavilov Journal of Genetics and Breeding. — 2020. — Т. 24, № 2. — С. 185.
40. Трухачев, В. Методические рекомендации по подбору быков-производителей в зависимости от фактического проявления фенотипических признаков коров/ В. Трухачев, С. Олейник, Н. Злыднев, В. Морозов, Т. Антоненко// Ставропольский ГАУ. Ставрополь. — 2017.— 74 с.
41. Трухачев, В. И. ДНК-диагностика наследственных заболеваний молочного скота/ В. И. Трухачев, М. И. Селионова, Л. Н. Чижова, Н. З. Злыднев, С. А. Олейник, Г. Т. Бобрышова// Вестник АПК Ставрополя. — 2017. № 2. — С. 120-125.
42. Улимбашев М.Б., Кулинцев В.В., Селионова М.И., Улимбашева Р.А., Абилов Б.Т., Алагирова Ж.Т. Рациональное использование генофонда ценных пород животных с целью сохранения биологического разнообразия / М. Б. Улимбашев, М.И Селионова, Р.А. Улимбашева, Б.Т Абилов, Ж.Т. Алагирова// Юг России: экология, развитие. 2018. Т.13, N2. С.165- 183.
43. Устьянцева, А. сравнение методов оценки племенной ценности жеребцов-производителей ахалтекинской породы по работоспособности приплода в гладких скачках/ А. Устьянцева// [www. issledo. ru](http://www.issledo.ru) Редакционная коллегия. — 2017. — С. 95.
44. Федоренко, В. Ф. Анализ состояния и перспективы улучшения генетического

- потенциала крупного рогатого скота молочных пород/ В. Ф. Федоренко, Н. П. Мишуров, Т. Е. Маринченко, А. И. Тихомиров// ФГБНУ «Росинформагротех», 2019. – с.108.
45. Четвертакова, Е.В. Теоретические основы селекции: метод. указания к практ. занятиям / Е.В. Четвертакова; Краснояр. гос. аграр. ун-т. – Красноярск, 2014. – 74 с.
46. Шайдуллин, Р. Характер распространения летальных генов у молочного скота/ Р. Шайдуллин, Т. Фаизов, А. Ганиев// Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. НЭ Баумана. — 2015. — Т. 222, № 2.
47. Шацкий, М. Метод сверстниц (СС) и аддитивный тип наследования в оценке племенной ценности быков по удою дочерей // Сельское хозяйство-проблемы и перспективы, 2018. — С. 289-297.
48. Шукюрова, Е. Б. VLAD-синдром у крупного рогатого скота черно-пестрого корня, разводимого в Хабаровском крае/ Е. Б. Шукюрова// Евразийский Союз Ученых. — 2014. № 8-10.
49. Юдин, Н. Применение репродуктивных технологий для повышения эффективности геномной селекции молочного крупного рогатого скота/ Н. Юдин, К. Лукьянов, М. Воевода, Н. Колчанов// Вавиловский журнал генетики и селекции. — 2015. — Т. 19, № 3. — С. 277-285.
50. Янчуков, И. Роль геномной оценки в разведении молочного скота/ И. Янчуков, А. Ермилов, С. Харитонов, М. Глущенко// Молочное и мясное скотоводство. — 2013. № 8. — С. 6-7.
51. Adams, H. A. Identification of a nonsense mutation in APAF1 that is likely causal for a decrease in reproductive efficiency in Holstein dairy cattle/ H. A. Adams, T. S. Sonstegard, P. M. VanRaden, D. J. Null, C. P. Van Tassell, D. M. Larkin, H. A. Lewin// Journal of dairy science. — 2016. — Т. 99, № 8. — С. 6693-6701.
52. Aguilar, I. Effects of ignoring inbreeding in model-based accuracy for BLUP and

- SSGBLUP/ I. Aguilar, E. N. Fernandez, A. Blasco, O. Ravagnolo, A. Legarra// Journal of Animal Breeding and Genetics. — 2020. — T. 137, № 4. — C. 356-364.
53. Aguilar, I. Efficient computation of the genomic relationship matrix and other matrices used in single-step evaluation/ I. Aguilar, I. Misztal, A. Legarra, S. Tsuruta// Journal of Animal Breeding and Genetics. — 2011. — T. 128, № 6. — C. 422-428.
54. Anderson, J. The evolution of quantitative traits in complex environments/ J. Anderson, M. Wagner, C. Rushworth, K. Prasad, T. Mitchell-Olds// Heredity. — 2014. — T. 112, № 1. — C. 4-12.
55. Ayalew, W. Estimation of genetic parameters of the productive and reproductive traits in Ethiopian Holstein using multi-trait models/ W. Ayalew, M. Aliy, E. Negussie// Asian-Australasian journal of animal sciences. — 2017. — T. 30, № 11. — C. 1550.
56. Bahrami, A. Synthetic animal: trends in animal breeding and genetics/ A. Bahrami, A. Najafi// Insights Biol Med. — 2019. — T. 3. — C. 7-25.
57. Basavarajaiah, D. M. Advances in Genetic Statistics: Law of Hardy Weinberg Equilibrium Revisited /eBooks2go Incorporated, 2017. — 347 c.
58. Baye, T. M. Genotype–environment interactions and their translational implications/ T. M. Baye, T. Abebe, R. A. Wilke// Personalized medicine. — 2011. — T. 8, № 1. — C. 59-70.
59. Beja-Pereira, A. The origin of European cattle: evidence from modern and ancient DNA/ A. Beja-Pereira, D. Caramelli, C. Lalueza-Fox, C. Vernesi, N. Ferrand, A. Casoli, F. Goyache, L. J. Royo, S. Conti, M. Lari// Proceedings of the National Academy of Sciences. — 2006. — T. 103, № 21. — C. 8113-8118.
60. Boa-Amponsem, K. The state of development of biotechnologies as they relate to the management of animal genetic resources and their potential application in developing countries/ K. Boa-Amponsem, G. Minozzi// Background Study Paper. — 2006. — T. 33.

61. Bohlouli, M. Prediction accuracies and genetic parameters for test-day traits from genomic and pedigree-based random regression models with or without heat stress interactions/ M. Bohlouli, S. Alijani, S. Naderi, T. Yin, & S. König// *Journal of dairy science*. — 2019. — T. 4, № 102(1). — C. 488-502.
62. Buitenhuis, B. Genome-wide association and biological pathway analysis for milk-fat composition in Danish Holstein and Danish Jersey cattle/ B. Buitenhuis, L. L. Janss, N. A. Poulsen, L. B. Larsen, M. K. Larsen, P. Sørensen // *BMC genomics*. — 2014. — T. 15, № 1. — C. 1-11.
63. Butler, M. L. Selection for bull fertility: a review/ M. L. Butler, J. M. Bormann, R. L. Weaber, D. M. Grieger, M. M. Rolf// *Translational Animal Science*. — 2020. — T. 4, № 1. — C. 423-441.
64. Cai, Z. Distinguishing pleiotropy from linked QTL between milk production traits and mastitis resistance in Nordic Holstein cattle/ Z. Cai, M. Dusza, B. Guldbrandtsen, M. S. Lund, G. Sahana// *Genetics Selection Evolution*. — 2020. — T. 52, № 1. — C. 1-15.
65. Campos-Chillon, F. Progress in genotyping in vitro-produced embryos: are we close/ F. Campos-Chillon, J. Mancino, M. Barcelo-Fimbres, J. L. Altermatt, L. AniCell Biotech// *Proceedings, Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle*. — 2015. — T. 17. — C. 258-265. C.
66. Charlier, C. A deletion in the bovine FANCI gene compromises fertility by causing fetal death and brachyspina/ C. Charlier, J. S. Agerholm, W. Coppieters, P. Karlskov-Mortensen, W. Li, G. De Jong, C. Fasquelle, L. Karim, S. Cirera, N. Cambisano// *PLoS ONE*. — 2012. — C. 7(8): e43085.
67. Charlier, C. NGS-based reverse genetic screen reveals loss-of-function variants compromising fertility in cattle // *Vancouver: 10th World Congress on genetics Applied to Livestock Production* —, 2014. — C. 17-22.
68. Chen, N. Whole-genome resequencing reveals world-wide ancestry and adaptive introgression events of domesticated cattle in East Asia/ N. Chen, Y. Cai, Q. Chen,

- R. Li, K. Wang, Y. Huang, S. Hu, S. Huang, H. Zhang, Z. Zheng// *Nature Communications*. — 2018. — T. 9, № 1. — C. 1-13.
69. Choudhary, K. *Advances in reproductive biotechnologies/ K. Choudhary, K. Kavya, A. Jerome, R. Sharma// Veterinary world*. — 2016. — T. 9, № 4. — C. 388.
70. Čítek, J. *Gene polymorphisms influencing yield, composition and technological properties of milk from Czech Simmental and Holstein cows/ J. Čítek, M. Brzáková, L. Hanusová, O. Hanuš, L. Večerek, E. Samková, Z. Křížová, I. Hoštičková, T. Kávová, K. Straková // Animal bioscience*. — 2021. — T. 34, № 1. — C. 2.
71. Cole, J. *Phenotypic and genetic effects of recessive haplotypes on yield, longevity, and fertility/ J. Cole, D. Null, P. VanRaden// Journal of dairy science*. — 2016. — T. 99, № 9. — C. 7274-7288.
72. Dash, S. *Assessment of expected breeding values for fertility traits of Murrah buffaloes under subtropical climate/ S. Dash, A. Chakravarty, A. Singh, P. R. Shivahre, A. Upadhyay, V. Sah, K. M. Singh// Veterinary world*. — 2015. — T. 8, № 3. — C. 320.
73. Duifhuis Rivera, T. *Complex vertebral malformation: relationship between carrier status and milk yield in three holstein herds in western Mexico/ T. Duifhuis Rivera, M. Á. Ayala Valdovinos, C. Lemus Flores, J. Galindo García, D. R. Sánchez Chiprés// Acta universitaria*. — 2019. — T. 29.
74. Ellis, T. N. *Mendel's pea crosses: varieties, traits and statistics/ T. N. Ellis, J. M. Hofer, M. T. Swain, P. J. van Dijk// Hereditas*. — 2019. — T. 156, № 1. — C. 1-11.
75. Fang, L. *Identification of brachyspina syndrome carriers in Chinese Holstein cattle/ L. Fang, Y. Li, Y. Zhang, D. Sun, L. Liu, Y. Zhang, S. Zhang// Journal of veterinary diagnostic investigation*. — 2013. — T. 25, № 4. — C. 508-510.
76. Finot, L. *Mammary epithelial cell lineage changes during cow's life/ L. Finot, E. Chanat, F. Dessauge// Journal of mammary gland biology and neoplasia*. — 2019. — T. 24, № 2. — C. 185-197.
77. Fisher, P. *Brief communication: potential for genomic selection of bovine embryos /*

- P. Fisher, D. Hyndman, M. Bixley, F. Oback, L. Popovic, L. McGowan, M. Berg, D.
// Proc. NZ Soc. Anim. Prod. – T. 72 –, 2012. – C. 156-158.
78. Fleming, A. Invited review: Reproductive and genomic technologies to optimize breeding strategies for genetic progress in dairy cattle/ A. Fleming, E. A. Abdalla, C. Maltecca, C. F. Baes// Archives Animal Breeding. — 2018. — T. 61, № 1. — C. 43-57.
79. Forni, S. Different genomic relationship matrices for single-step analysis using phenotypic, pedigree and genomic information/ S. Forni, I. Aguilar, I. Misztal// Genetics Selection Evolution. — 2011. — T. 43, № 1. — C. 1-7.
80. Freeman, A. CR Henderson: Contributions to the dairy industry/ A. Freeman// Journal of dairy science. — 1991. — T. 74, № 11. — C. 4045-4051.
81. Friedberg, E. C. The Writing Life of James D Watson: Writing and Publishing The Double Helix/ E. C. Friedberg// Adler Museum of Medicine. — 2007. — C. 3.
82. Fritz, S. Detection of haplotypes associated with prenatal death in dairy cattle and identification of deleterious mutations in GART, SHBG and SLC37A2/ S. Fritz, A. Capitan, A. Djari, S. C. Rodriguez, A. Barbat, A. Baur, C. Grohs, B. Weiss, M. Boussaha, D. Esquerre// PloS one. — 2013. — T. 8, № 6. — C. e65550.
83. Fritz, S. An initiator codon mutation in SDE2 causes recessive embryonic lethality in Holstein cattle/ S. Fritz, C. Hoze, E. Rebours, A. Barbat, M. Bizard, A. Chamberlain, C. Escouflaire, C. Vander Jagt, M. Boussaha, C. Grohs// Journal of dairy science. — 2018. — T. 101, № 7. — C. 6220-6231.
84. Fujii, T. Potential of preimplantation genomic selection for carcass traits in Japanese Black cattle/ T. Fujii, A. Naito, H. Hirayama, M. Kashima, H. Yoshino, T. Hanamura, Y. Domon, H. Hayakawa, T. Watanabe, S. Moriyasu// Journal of Reproduction and Development. — 2019.
85. Gianola, D. Prediction of complex traits: robust alternatives to best linear unbiased prediction/ D. Gianola, A. Cecchinato, H. Naya, C.-C. Schön// Frontiers in genetics. — 2018. — T. 9. — C. 195.

86. Gianola, D. One hundred years of statistical developments in animal breeding/ D. Gianola, G. J. Rosa// *Annu. Rev. Anim. Biosci.* — 2015. — T. 3, № 1. — C. 19-56.
87. Giblin, L. Association of bovine leptin polymorphisms with energy output and energy storage traits in progeny tested Holstein-Friesian dairy cattle sires/ L. Giblin, S. T. Butler, B. M. Kearney, S. M. Waters, M. J. Callanan, D. P. Berry // *BMC genetics.* — 2010. — T. 11, № 1. — C. 1-10.
88. Goddard, M. Genomic selection/ M. Goddard, B. Hayes// *Journal of Animal breeding and Genetics.* — 2007. — T. 124, № 6. — C. 323-330.
89. Goddard, M. E. Mapping genes for complex traits in domestic animals and their use in breeding programmes/ M. E. Goddard, B. J. Hayes// *Nature Reviews Genetics.* — 2009. — T. 10, № 6. — C. 381-391.
90. Goddard, M. E. Genomic selection in livestock populations/ M. E. Goddard, B. J. Hayes, T. H. Meuwissen// *Genetics research.* — 2010. — T. 92, № 5-6. — C. 413-421.
91. Gregory, T. R. Artificial selection and domestication: modern lessons from Darwin's enduring analogy/ T. R. Gregory// *Evolution: Education and Outreach.* — 2009. — T. 2, № 1. — C. 5-27.
92. Grigg, D. The industrial revolution and land transformation. In *Land Transformation in Agriculture*, ed. MG Wolman, FGA Fournier / D. Grigg// Chichester, UK: John Wiley & Sons, 1987. — c. 79-109.
93. Grigoletto, L. Genetic parameters and genome-wide association studies for anti-müllerian hormone levels and antral follicle populations measured after estrus synchronization in nellore cattle/ L. Grigoletto, M. H. A. Santana, F. F. Bressan, J. P. Eler, M. F. G. Nogueira, H. N. Kadarmideen, P. S. Baruselli, J. B. S. Ferraz, L. F. Brito // *Animals.* — 2020. — T. 10, № 7. — C. 1185.
94. Guarini, A. Comparison of genomic predictions for lowly heritable traits using multi-step and single-step genomic best linear unbiased predictor in Holstein cattle/ A. Guarini, D. Lourenco, L. Brito, M. Sargolzaei, C. F. Baes, F. Miglior, I. Misztal, F.

- Schenkel// *Journal of dairy science*. — 2018. — T. 101, № 9. — C. 8076-8086.
95. Hadfield, J. D. The misuse of BLUP in ecology and evolution/ J. D. Hadfield, A. J. Wilson, D. Garant, B. C. Sheldon, L. E. Kruuk// *The American Naturalist*. — 2010. — T. 175, № 1. — C. 116-125.
96. Hastie, T. 8.5 the em algorithm. *The Elements of Statistical Learning* / T. Hastie // Springer, 2001. — c. 236-243.
97. Hayes, B. The distribution of the effects of genes affecting quantitative traits in livestock/ B. Hayes, M. E. Goddard// *Genetics Selection Evolution*. — 2001. — T. 33, № 3. — C. 1-21.
98. Hayes, B. J. Invited review: Genomic selection in dairy cattle: Progress and challenges/ B. J. Hayes, P. J. Bowman, A. J. Chamberlain, M. E. Goddard// *Journal of dairy science*. — 2009. — T. 92, № 2. — C. 433-443.
99. Henderson, C. Best linear unbiased prediction of breeding values not in the model for records/ C. Henderson// *Journal of Dairy Science*. — 1977. — T. 60, № 5. — C. 783-787.
100. Henderson, C. Theoretical basis and computational methods for a number of different animal models/ C. Henderson// *Journal of Dairy Science*. — 1988. — T. 71. — C. 1-16.
101. Henderson, C. Use of all relatives in intraherd prediction of breeding values and producing abilities/ C. Henderson// *Journal of Dairy Science*. — 1975. — T. 58, № 12. — C. 1910-1916.
102. Henderson, C. R. Comparison of alternative sire evaluation methods/ C. R. Henderson// *Journal of Animal Science*. — 1975. — T. 41, № 3. — C. 760-770.
103. Henderson, C. R. A simple method for computing the inverse of a numerator relationship matrix used in prediction of breeding values/ C. R. Henderson// *Biometrics*. — 1976. — C. 69-83.
104. Hill, W. G. Applications of population genetics to animal breeding, from Wright,

- Fisher and Lush to genomic prediction/ W. G. Hill// *Genetics*. — 2014. — T. 196, № 1. — C. 1-16.
105. Hoze, C. A splice site mutation in CENPU is associated with recessive embryonic lethality in Holstein cattle/ C. Hoze, C. Escouflaire, M. Mesbah-Uddin, A. Barbat, M. Boussaha, M. C. Deloche, D. Boichard, S. Fritz, A. Capitan// *Journal of dairy science*. — 2020. — T. 103, № 1. — C. 607-612.
106. Humblot, P. Reproductive technologies and genomic selection in cattle/ P. Humblot, D. Le Bourhis, S. Fritz, J. J. Colleau, C. Gonzalez, C. Guyader Joly, A. Malafosse, Y. Heyman, Y. Amigues, M. Tissier// *Veterinary Medicine International*. — 2010. — T. 2010.
107. Hutu, I. O. Chapter II. 1. Introduction to animal breeding/ I. O. Hutu, Kor; Waaij, Liesbeth// 10.13140/RG.2.2.16553.72809. — C. 15.
108. Ignatieva, L. P. PSXI-2 Genome-Wide association study and possibilities for genomic selection of Simmental cattle breed in Russia/ L. P. Ignatieva, A. A. Sermyagin, S. Nikitin, A. Conte, E. Naryshkina, N. A. Zinovieva // *Journal of Animal Science*. — 2021. — T. 99, № Supplement_3. — C. 246-247.
109. Jagannath, T. A. Advance Methodologies in Sire Evaluation/ T. A. Jagannath, W. P. Ramesh, K. Suhas, A. Ganesh//. 2020. — C. 89-107.
110. Jamrozik, J. Genetic evaluation of dairy cattle using test day yields and random regression model/ J. Jamrozik, L. Schaeffer, J. Dekkers// *Journal of Dairy Science*. — 1997. — T. 80, № 6. — C. 1217-1226.
111. Kadarmideen, H. Genomic selection of in vitro produced and somatic cell nuclear transfer embryos for rapid genetic improvement in cattle production/ H. Kadarmideen, G. Mazzoni, Y. Watanabe, L. Strøbech, P. Baruselli, F. Meirelles, H. Callesen, P. Hyttel, J. Ferraz, M. Nogueira// *Animal Reproduction (AR)*. — 2018. — T. 12, № 3. — C. 389-396.
112. Kearney, J. Changes to US genetic evaluations of dairy cattle/ J. Kearney, M. Schutz//. — 2000.

113. Kennedy, B. Genetic properties of animal models/ B. Kennedy, L. Schaeffer, D. Sorensen// *Journal of Dairy Science*. — 1988. — T. 71. — C. 17-26.
114. Kiplagat, S. K. Genetic improvement of livestock for milk production/ S. K. Kiplagat, M. K. Limo, I. S. Kosgey// *Milk Production—Advanced Genetic Traits, Cellular Mechanism, Animal Management and Health*. — 2012. — C. 77-96.
115. Kipp, S. A new Holstein haplotype affecting calf survival/ S. Kipp, D. Segelke, F. Reinhardt, R. Reents, S. Schierenbeck, C. Wurmser, H. Pausch, R. Fries, G. Thaller, J. Tetens// *Interbull Bulletin*. — 2015. № 49.
116. Kiser, J. N. Validation of 46 loci associated with female fertility traits in cattle/ J. N. Kiser, E. M. Keuter, C. M. Seabury, M. Neupane, J. G. Moraes, J. Dalton, G. W. Burns, T. E. Spencer, H. L. Neibergs // *BMC genomics*. — 2019. — T. 20, № 1. — C. 1-13.
117. Koivula, M. Single-step genomic evaluation using multitrait random regression model and test-day data/ M. Koivula, I. Strandén, J. Pösö, G. Aamand, E. Mäntysaari// *Journal of Dairy Science*. — 2015. — T. 98, № 4. — C. 2775-2784.
118. Koivula, M. Single step genomic evaluations for the Nordic Red Dairy cattle test day data/ M. Koivula, I. Strandén, J. Pösö, G. P. Aamand, E. A. Mäntysaari// *Interbull Bulletin*. — 2012. № 46.
119. Krupová, Z. Current challenges for trait economic values in animal breeding/ Z. Krupová, E. Krupa, L. Zavadilová, E. Kašná, E. Žáková// *Czech Journal of Animal Science*. — 2020. — T. 65, № 12. — C. 454-462.
120. Legarra, A. A relationship matrix including full pedigree and genomic information/ A. Legarra, I. Aguilar, I. Misztal// *Journal of dairy science*. — 2009. — T. 92, № 9. — C. 4656-4663.
121. Legarra, A. Single Step, a general approach for genomic selection/ A. Legarra, O. F. Christensen, I. Aguilar, I. Misztal// *Livestock Science*. — 2014. — T. 166. — C. 54-65.
122. Legarra, A. Computational strategies for national integration of phenotypic,

- genomic, and pedigree data in a single-step best linear unbiased prediction/ / A. Legarra, V. Ducrocq// *Journal of dairy Science*. — 2012. — T. 95, № 8. — C. 4629-4645.
123. Li, H. Genomic selection and its application/ H. Li, Z. Bao, X. Sun// *Yi Chuan= Hereditas*. — 2011. — T. 33, № 12. — C. 1308-1316.
124. Lord, C. C. Mammalian alpha beta hydrolase domain (ABHD) proteins: Lipid metabolizing enzymes at the interface of cell signaling and energy metabolism/ C. C. Lord, G. Thomas, J. M. Brown// *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)- Molecular and Cell Biology of Lipids*. — 2013. — T. 1831, № 4. — C. 792-802.
125. Lourenco, D. Single-step genomic evaluations from theory to practice: using SNP chips and sequence data in BLUPF90/ D. Lourenco, A. Legarra, S. Tsuruta, Y. Masuda, I. Aguilar, I. Misztal// *Genes*. — 2020. — T. 11, № 7. — C. 790.
126. Lourenco, D. Genetic evaluation using single-step genomic best linear unbiased predictor in American Angus/ D. Lourenco, S. Tsuruta, B. Fragomeni, Y. Masuda, I. Aguilar, A. Legarra, J. Bertrand, T. Amen, L. Wang, D. Moser// *Journal of animal science*. — 2015. — T. 93, № 6. — C. 2653-2662.
127. Lu, L. Comparative phosphoproteomics analysis of the effects of L-methionine on dairy cow mammary epithelial cells/ L. Lu, X. Gao, Q. Li, J. Huang, R. Liu, H. Li// *Canadian Journal of Animal Science*. — 2012. — T. 92, № 4. — C. 433-442.
128. Luo, Y. Roles of Nitric Oxide in the Regulation of Reproduction: A Review/ Y. Luo, Y. Zhu, W. Basang, X. Wang, C. Li, X. Zhou // *Frontiers in endocrinology*. — 2021. — T. 12.
129. MacArthur, D. G. Loss-of-function variants in the genomes of healthy humans/ D. G. MacArthur, C. Tyler-Smith// *Human molecular genetics*. — 2010. — T. 19, № R2. — C. R125-R130.
130. Magalhaes, A. F. Genome-wide association study of meat quality traits in Nellore cattle/ A. F. Magalhaes, G. M. de Camargo, G. A. Fernandes, D. G. Gordo, R. L. Tonussi, R. B. Costa, R. Espigolan, R. M. d. O. Silva, T. Bresolin, W. B. de Andrade

// PLoS One. — 2016. — T. 11, № 6. — C. e0157845.

131. Mastranestasis, I. Associations between genetic polymorphisms and phenotypic traits in the Lesvos dairy sheep/ I. Mastranestasis, A. Kominakis, A. Hager-Theodorides, L. Ekateriniadou, C. Ligda, K // Small Ruminant Research. — 2016. — T. 144. — C. 205-210.
132. Matilainen, K. Single step genomic evaluation for female fertility in Nordic Red dairy cattle/ K. Matilainen, I. Strandén, G. P. Aamand, E. A. Mäntysaari// Journal of Animal Breeding and Genetics. — 2018. — T. 135, № 5. — C. 337-348.
133. McClure, M. C. Bovine exome sequence analysis and targeted SNP genotyping of recessive fertility defects BH1, HH2, and HH3 reveal a putative causative mutation in SMC2 for HH3/ M. C. McClure, D. Bickhart, D. Null, P. VanRaden, L. Xu, G. Wiggans, G. Liu, S. Schroeder, J. Glasscock, J. Armstrong// PloS one. — 2014. — T. 9, № 3. — C. e92769.
134. Meier, S. Implementation of an Economic Lifetime Net Merit for the Dual-Purpose German Black Pied Cattle Breed/ S. Meier, D. Arends, P. Korcuć, S. Kipp, D. Segelke, G. Filler, G. A. Brockmann// Agriculture. — 2021. — T. 11, № 1. — C. 41.
135. Menzi, F. A transposable element insertion in APOB causes cholesterol deficiency in Holstein cattle/ F. Menzi, N. Besuchet-Schmutz, M. Fragnière, S. Hofstetter, V. Jagannathan, T. Mock, A. Raemy, E. Studer, K. Mehinagic, N. Regenscheit// Animal genetics. — 2016. — T. 47, № 2. — C. 253-257.
136. Merton, J. Factors affecting oocyte quality and quantity in commercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry/ J. Merton, A. De Roos, E. Mullaart, L. De Ruigh, L. Kaal, P. Vos, S. Dieleman// Theriogenology. — 2003. — T. 59, № 2. — C. 651-674.
137. Meseret, S. Genetic analysis of milk yield in first-lactation Holstein Friesian in Ethiopia: A lactation average vs random regression test-day model analysis/ S. Meseret, B. Tamir, G. Gebreyohannes, M. Lidauer, E. Negussie// Asian-

- Australasian journal of animal sciences. — 2015. — T. 28, № 9. — C. 1226.
138. Meuwissen, T. H. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps/ T. H. Meuwissen, B. J. Hayes, M. E. Goddard// Genetics. — 2001. — T. 157, № 4. — C. 1819-1829.
139. Mirle, C. The industrialization of animal agriculture: Implications for small farmers, rural communities, the environment, and animals in the developing world // The 10th European International Farming Systems Association Symposium in Aarhus, Denmark, July –Citeseer, 2012. – C. 1-4.
140. Misztal, I. BLUPF90 and related programs (BGF90)/ I. Misztal // Proceedings of the 7th world congress on genetics applied to livestock production. – T. 28 –Montpellier, – 2002. – T. 28. – №. 07.
141. Misztal, I. BLUPF90 and related programs (BGF90)/ I. Misztal, S. Tsuruta, T. Strabel, B. Auvray, T. Druet, D. Lee // Proceedings of the 7th world congress on genetics applied to livestock production.– 2002. – T. 28. – №. 07.
142. Moghaddaszadeh-Ahrabi, S. A short and simple improved-primer extension preamplification (I-PEP) procedure for whole genome amplification (WGA) of bovine cells/ S. Moghaddaszadeh-Ahrabi, S. Farajnia, G. Rahimi-Mianji, A. Nejati-Javaremi// Animal biotechnology. — 2012. — T. 23, № 1. — C. 24-42.
143. Moser, G.A comparison of five methods to predict genomic breeding values of dairy bulls from genome-wide SNP markers/ G. Moser, B. Tier, R. E. Crump, M. S. Khatkar, H. W. Raadsma// Genetics Selection Evolution. — 2009. — T. 41, № 1. — C. 1-16.
144. Mullaart, E. Embryo biopsies for genomic selection/ E. Mullaart, D. Wells// Animal Biotechnology 2. — 2018. — C. 81-94.
145. Navarro Gonzalez, J. The UCSC genome browser database: 2021 update/ J. Navarro Gonzalez, A. S. Zweig, M. L. Speir, D. Schmelter, K. R. Rosenbloom, B. J. Raney, C. C. Powell, L. R. Nassar, N. D. Maulding, C. M. Lee // Nucleic acids research. — 2021. — T. 49, № D1. — C. D1046-D1057.

146. Newfeld, S. New field Modern Genetic Analysis: Integrating Genes and Genomes / S. Newfeld//JSTOR, 2002. — C. 456-457.
147. Nilforooshan, M. A. Contemporary grouping in mixed-size dairy herds experiencing four seasons/ M. A. Nilforooshan// Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences. — 2010. — T. 34, № 2. — C. 129-135.
148. Nwogwugwu, C. P. Review on the genetic improvement and application of genomic selection in Korean Hanwoo cattle/ C. P. Nwogwugwu, Y. Kim, E. H. Ugbo, J. H. Lee, S.-H. Lee// Journal of Animal Breeding and Genomics Vol. — 2020. — T. 4, № 2.
149. Oldenbroek, K. Textbook animal breeding: animal breeding and genetics for BSc students/ K. Oldenbroek, L. van der Waaij// Animal Breeding and Genomics Centre (ABGC) of Wageningen UR (University and Research Centre). — 2014. — C. 311.
150. Oliveira, H. Application of single-step genomic evaluation using multiple-trait random regression test-day models in dairy cattle/ H. Oliveira, D. Lourenco, Y. Masuda, I. Misztal, S. Tsuruta, J. Jamrozik, L. Brito, F. Silva, F. Schenkel// Journal of dairy science. — 2019. — T. 102, № 3. — C. 2365-2377.
151. Otto, P. I. Single-step genome-wide association studies (GWAS) and post-GWAS analyses to identify genomic regions and candidate genes for milk yield in Brazilian Girolando cattle/ P. I. Otto, S. E. Guimarães, M. P. Calus, J. Vandenplas, M. A. Machado, J. C. C. Panetto, M. V. G. da Silva // Journal of Dairy Science. — 2020. — T. 103, № 11. — C. 10347-10360.
152. Pagel, K. A. When loss-of-function is loss of function: assessing mutational signatures and impact of loss-of-function genetic variants/ K. A. Pagel, V. Pejaver, G. N. Lin, H.-J. Nam, M. Mort, D. N. Cooper, J. Sebat, L. M. Iakoucheva, S. D. Mooney, P. Radivojac// Bioinformatics. — 2017. — T. 33, № 14. — C. i389-i398.
153. Pagnacco, G. animal breeding from infinitesimal model to mas: the case of a backcross design in dairy sheep (sarda x lacaune) and its possible impact on selection // workshop entitled" Marker assisted selection: A fast track to increase genetic gain

- in plant and animal breeding –, 2003.
154. Pang, H. Animal model and multiple trait BLUP applied in poultry genetic evaluation/ H. Pang, C. Wu, Y. Zhang, G. Gong, Y. Bi// Yi chuan xue bao= Acta genetica Sinica. — 1989. — T. 16, № 4. — C. 291-298.
 155. Park, M. N. Genomic selection through single-step genomic best linear unbiased prediction improves the accuracy of evaluation in Hanwoo cattle/ M. N. Park, M. Alam, S. Kim, B. Park, S. H. Lee, S. S. Lee// Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. — 2020. — T. 33, № 10. — C. 1544.
 156. Piepho, H.-P. Best linear unbiased prediction (BLUP) for regional yield trials: a comparison to additive main effects and multiplicative interaction (AMMI) analysis/ H.-P. Piepho// Theoretical and Applied Genetics. — 1994. — T. 89, № 5. — C. 647-654.
 157. Piepho, H. BLUP for phenotypic selection in plant breeding and variety testing/ H. Piepho, J. Möhring, A. Melchinger, A. Büchse// Euphytica. — 2008. — T. 161, № 1. — C. 209-228.
 158. Polisseni, J. Post-biopsy bovine embryo viability and whole genome amplification in preimplantation genetic diagnosis/ J. Polisseni, W. F. de Sá, M. de Oliveira Guerra, M. A. Machado, R. V. Serapião, B. C. de Carvalho, L. S. de Almeida Camargo, V. M. Peters// Fertility and sterility. — 2010. — T. 93, № 3. — C. 783-788.
 159. Popescu, A. research on the breeding value estimation for beef traits by a simplified mixed model/ a. popescu// scientific papers. — 2014. — T. 15, № 16. — C. 271.
 160. Portin, P. The evolving definition of the term “gene”/ P. Portin, A. Wilkins// Genetics. — 2017. — T. 205, № 4. — C. 1353-1364.
 161. Postma, E. Implications of the difference between true and predicted breeding values for the study of natural selection and micro-evolution/ E. Postma// Journal of evolutionary biology. — 2006. — T. 19, № 2. — C. 309-320.
 162. Pryce, J. Designing dairy cattle breeding schemes under genomic selection: a review

- of international research/ J. Pryce, H. Daetwyler// *Animal Production Science*. — 2011. — T. 52, № 3. — C. 107-114.
163. Ptak, E. Use of test day yields for genetic evaluation of dairy sires and cows/ E. Ptak, L. Schaeffer// *Livestock Production Science*. — 1993. — T. 34, № 1-2. — C. 23-34.
164. Purfield, D. C. Genomic regions associated with gestation length detected using whole-genome sequence data differ between dairy and beef cattle/ D. C. Purfield, R. D. Evans, T. R. Carthy, D. P. Berry // *Frontiers in genetics*. — 2019. — C. 1068.
165. Robinson, G. K. That BLUP is a good thing: the estimation of random effects/ G. K. Robinson// *Statistical science*. — 1991. — T. 6, № 1. — C. 15-32.
166. Saadi, H. A. S. Impact of whole-genome amplification on the reliability of pre-transfer cattle embryo breeding value estimates/ H. A. S. Saadi, C. Vigneault, M. Sargolzaei, D. Gagné, É. Fournier, B. de Montera, J. Chesnais, P. Blondin, C. Robert// *BMC genomics*. — 2014. — T. 15, № 1. — C. 1-16.
167. Sackton, T. B. Genotypic context and epistasis in individuals and populations/ T. B. Sackton, D. L. Hartl// *Cell*. — 2016. — T. 166, № 2. — C. 279-287.
168. Safina, N. Association of LEP gene polymorphism with biochemical parameters of lipid metabolism and milk productivity of Holstein cattle // *E3S Web of Conferences*. — T. 254 –EDP Sciences, 2021. — C. 01007.
169. Sarkar, S. The founders of theoretical evolutionary genetics: Editor's introduction / N. Safina, G. Sharafutdinov, T. Akhmetov, R. Ravilov, F. Vafin // *The founders of evolutionary genetics*. — Springer, Dordrecht, 1992. — C. 1-22.
170. Sathwara, R. Sire evaluation models for estimating breeding values of Mehsana buffaloes/ R. Sathwara, J. Gupta, J. Chaudhari, B. Prajapati, A. Srivastava, H. Chauhan, P. Patel// *Indian Journal of Animal Sciences*. — 2019. — T. 89, № 4. — C. 448-452.
171. Schaeffer, L. Strategy for applying genome-wide selection in dairy cattle/ L. Schaeffer// *Journal of animal Breeding and genetics*. — 2006. — T. 123, № 4. — C.

218-223.

172. Schaeffer, L. Necessary changes to improve animal models/ L. Schaeffer// *Journal of Animal Breeding and Genetics*. — 2018. — T. 135, № 2. — C. 124-131.
173. Schaeffer, L. Experience with a test-day model/ L. Schaeffer, J. Jamrozik, G. Kistemaker, J. Van Doormaal// *Journal of Dairy Science*. — 2000. — T. 83, № 5. — C. 1135-1144.
174. Scherf, B. D. Scherf World watch list for domestic animal diversity// *Food and Agriculture Organization (FAO)*, 2000. — №. Ed. 3.
175. Schütz, E. 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/ E. Schütz, C. Wehrhahn, M. Wanjek, R. Bortfeld, W. E. Wemheuer, J. Beck, B. Brenig// *PloS one*. — 2016. — T. 11, № 4. — C. e0154602.
176. Schwenger, B. DUMPS cattle carry a point mutation in the uridine monophosphate synthase gene/ B. Schwenger, S. Schöber, D. Simon// *Genomics*. — 1993. — T. 16, № 1. — C. 241-244.
177. Shook, G. Breeding, Selection and Somatic Cell Counts-Where Are We Today? // *Annual meeting-national mastitis council incorporated*. — T. 40 —National Mastitis Council; 1999, 2001. — C. 113-127.
178. Shuster, D. E. Identification and prevalence of a genetic defect that causes leukocyte adhesion deficiency in Holstein cattle/ D. E. Shuster, M. E. Kehrli, M. R. Ackermann, R. O. Gilbert// *Proceedings of the National Academy of Sciences*. — 1992. — T. 89, № 19. — C. 9225-9229.
179. Silva, A. Autoregressive single-step test-day model for genomic evaluations of Portuguese Holstein cattle/ A. Silva, D. Silva, F. Silva, C. Costa, P. Lopes, A. Caetano, G. Thompson, J. Carvalheira// *Journal of dairy science*. — 2019. — T. 102, № 7. — C. 6330-6339.
180. Spike, P. L. Estimating breeding values of Holstein cows accounting for genetic

- differences among herds/ P. L. Spike// Iowa State University, — 1975.
181. Su, G. Sharing reference data and including cows in the reference population improve genomic predictions in Danish Jersey/ G. Su, P. Ma, U. Nielsen, G. Aamand, G. Wiggans, B. Guldbandsen, M. Lund// *Animal*. — 2016. — T. 10, № 6. — C. 1067-1075.
 182. Swalve, H. Test day models in the analysis of dairy production data-a review/ H. Swalve// *Archiv für Tierzucht*. — 1995.
 183. Taylor, J. F. Genomics of bull fertility/ J. F. Taylor, R. D. Schnabel, P. Sutovsky// *Animal*. — 2018. — T. 12, № s1. — C. s172-s183.
 184. Taylor, J. F. Holsteins are the genomic selection poster cows/ J. F. Taylor, K. H. Taylor, J. E. Decker// *Proceedings of the National Academy of Sciences*. — 2016. — T. 113, № 28. — C. 7690-7692.
 185. Thomas, B. Encyclopedia of applied plant sciences / B. Thomas, D. J. Murphy, B. G. Murray // Academic Press, 2016. — 577 c.
 186. Thomasen, J. Reproductive technologies combine well with genomic selection in dairy breeding programs/ J. Thomasen, A. Willam, C. Egger-Danner, A. Sørensen// *Journal of dairy science*. — 2016. — T. 99, № 2. — C. 1331-1340.
 187. Turner, K. J. Karyomapping for simultaneous genomic evaluation and aneuploidy screening of preimplantation bovine embryos: the first live-born calves/ K. J. Turner, G. Silvestri, D. H. Black, G. Dobson, C. Smith, A. H. Handyside, K. D. Sinclair, D. K. Griffin// *Theriogenology*. — 2019. — T. 125. — C. 249-258.
 188. Uemoto, Y. Effect of genotyped cows in the reference population on the genomic evaluation of Holstein cattle/ Y. Uemoto, T. Osawa, J. Saburi// *Animal*. — 2017. — T. 11, № 3. — C. 382-393.
 189. Van Vleck, L. Evaluation of dairy cattle breeding programs: specialized milk production/ L. Van Vleck// *3rd World Congress on Genetics Applied to Livestock Production* — 1986.

190. VanRaden, P. Methods to combine estimated breeding values obtained from separate sources/ P. VanRaden// Journal of Dairy Science. — 2001. — T. 84. — C. E47-E55.
191. VanRaden, P. Harmful recessive effects on fertility detected by absence of homozygous haplotypes/ P. VanRaden, K. Olson, D. Null, J. Hutchison// Journal of dairy science. — 2011. — T. 94, № 12. — C. 6153-6161.
192. VanRaden, P. M. Efficient methods to compute genomic predictions/ P. M. VanRaden// Journal of dairy science. — 2008. — T. 91, № 11. — C. 4414-4423.
193. Wagner, W. Understanding and Using Sire Summaries/ W. Wagner, J. Gibb, J. Farmer, D. Strohbehn// Leaflet/Texas Agricultural Extension Service; no. 2166. — 1985.
194. Wang, H. Genome-wide association mapping including phenotypes from relatives without genotypes/ H. Wang, I. Misztal, I. Aguilar, A. Legarra, W. Muir // Genetics Research. — 2012. — T. 94, № 2. — C. 73-83.
195. Weigel, K. A 100-Year Review: Methods and impact of genetic selection in dairy cattle—From daughter–dam comparisons to deep learning algorithms/ K. Weigel, P. VanRaden, H. Norman, H. Grosu// Journal of dairy science. — 2017. — T. 100, № 12. — C. 10234-10250.
196. Weigel, K. A. Genomic selection of dairy cattle: a review of methods, strategies, and impact/ K. A. Weigel// J Anim Breed Genet. — 2017. — T. 1, № 1. — C. 1-15.
197. Wiggans, G. A computationally feasible test day model for genetic evaluation of yield traits in the United States/ G. Wiggans, M. Goddard// Journal of Dairy Science. — 1997. — T. 80, № 8. — C. 1795-1800.
198. Wilmink, J. Adjustment of test-day milk, fat and protein yield for age, season and stage of lactation/ J. Wilmink// Livestock Production Science. — 1987. — T. 16, № 4. — C. 335-348.
199. Wolc, A. Breeding value prediction for production traits in layer chickens using pedigree or genomic relationships in a reduced animal model/ A. Wolc, C. Stricker,

- J. Arango, P. Settar, J. E. Fulton, N. P. O'Sullivan, R. Preisinger, D. Habier, R. Fernando, D. J. Garrick// *Genetics Selection Evolution*. — 2011. — T. 43, № 1. — C. 1-9.
200. Wood, P. Algebraic model of the lactation curve in cattle/ P. Wood// *Nature*. — 1967. — T. 216, № 5111. — C. 164-165.
201. Yum, S.-Y. Development of genome engineering technologies in cattle: from random to specific/ S.-Y. Yum, K.-Y. Youn, W.-J. Choi, G. Jang// *Journal of animal science and biotechnology*. — 2018. — T. 9, № 1. — C. 1-9.
202. Zambrano A, J. Estimation and comparison of conventional and genomic breeding values in Holstein cattle of Antioquia, Colombia/ J. Zambrano A, J. Rincón F, A. López H, J. Echeverri Z// *Revista MVZ Córdoba*. — 2015. — T. 20, № 3. — C. 4739-4753.
203. Zapata-Valenzuela, J. Genomic estimated breeding values using genomic relationship matrices in a cloned population of loblolly pine/ J. Zapata-Valenzuela, R. W. Whetten, D. Neale, S. McKeand, F. Isik// *G3: Genes, Genomes, Genetics*. — 2013. — T. 3, № 5. — C. 909-916.
204. Zhang, K. Evolution and domestication of the Bovini species/ K. Zhang, J. Lenstra, S. Zhang, W. Liu, J. Liu// *Animal Genetics*. — 2020. — T. 51, № 5. — C. 637-657.