

УДК: 636.2.034

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.2.333

ПОЛНОГЕНОМНЫЙ АССОЦИАТИВНЫЙ АНАЛИЗ РЕПРОДУКТИВНЫХ ПРИЗНАКОВ ЧЕРНО- ПЕСТРОЙ ГОЛШТИНИЗИРОВАННОЙ ПОПУЛЯЦИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В УСЛОВИЯХ СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО РЕГИОНА

Дементьева Н.В.¹ – канд. биол. наук; Щербаков Ю.С.¹ – канд. биол. наук;
Ларкина Т.А.¹ – канд. биол. наук; Ширяев Г.В.^{1*} – канд. с.-х. наук, Никитин Г. С.² –
канд. ветеринар. наук; Рыбаков М.А.¹ – асп.; Якимов Ф.Д.¹ – асп..

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения
сельскохозяйственных животных – филиал Федерального государственного бюджетного
научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ
имени академика Л. К. Эрнста»

² ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины»

* GS-2027@yandex.ru

Ключевые слова: ген, SNP, репродуктивные признаки, крупный рогатый
скот.

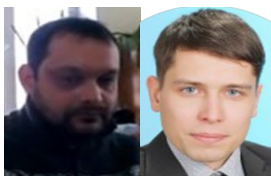
Keywords: gene, SNP, reproductive features, cattle.

Финансирование: Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, про-
ект № 21-76-10042.

Поступила: 25.04.2024

Принята к публикации: 10.06.2024

Опубликована онлайн: 28.06.2024



РЕФЕРАТ

В последние годы геномная оценка и широкое внедрение современных биотехнологических приемов играют ведущую роль в реализации селекционных программ. Долгое время увеличение показателей молочной продуктивности было главной целью селекции. Это привело к значительному снижению воспроизводства в стадах. Репродуктивные показатели маточного поголовья крупного рогатого скота могут в значительной степени снизить общую рентабельность из-за дополнительных затрат на управление стадом, ветеринарную помощь и вынужденную выбраковку. У опытных групп определен генотип с помощью чипа BovineSNP50 v3 BeadChip сформированы из коров черно-пестрой голштинизированной породы. Для исследования были выбраны основные репродуктивные показатели коров: возраст первого осеменения, индексы осеменения перед первой (А), второй (Б), третьей (В), четвертой (Г) лактацией и период между отелами. Анализ ассоциаций по всему геному проводился с использованием программного обеспечения EMMA. Обнаружено 2 значимых SNP и 5 условно значимых. Выявлены кандидатный ген *СМК2D* с показателем возраст при

первом осеменении, гены *TLN2*, *WSCD2*, *GAPT* с показателем количество осеменений и гены *WDR36*, *TDRD10* с межотельным периодом. На основании проведенных исследований предполагаем, что с возрастом происходит изменение генетических факторов влияющих на фертильность животных. Выявленные кандидатные гены влияют как на механизмы созревания фолликулов, так рост и развитие эмбрионов. Полученные результаты могут быть использованы как для отбора животных для улучшения показателей воспроизводства, так и для поиска фундаментальных основ формирования фертильности у крупного рогатого скота.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В последние годы геномная оценка и широкое внедрение современных биотехнологических приемов играют ведущую роль в реализации селекционных программ. Долгое время увеличение показателей молочной продуктивности было главной целью селекции. Это привело к значительному снижению воспроизводства в стадах. Сократился прирост экономической эффективности использования животных. Плохие репродуктивные показатели молочных телок и коров могут в значительной степени снизить эффективность и общую рентабельность молочных стад из-за дополнительных затрат на управление стадом, ветеринарную помощь и вынужденную выбраковку. Поэтому воспроизводству уделяется большое внимание во всем мире. Полигенный характер признаков и отрицательные генетические корреляции с показателями молочной продуктивности тормозят повышение репродуктивной способности. С помощью анализа причинных мутаций или вариантов, находящихся в тесном неравновесном по сцеплению с причинными мутациями, можно повысить надежность прогнозирования племенной ценности и, следовательно, ускорить программу генетического улучшения молочного скота [1, 2]. Однако сложности со сбором достоверной информации по признакам воспроизводства, часто приводят к искажению результатов, и как следствие, точность оценки племенной ценности для фертильности, как правило, низка. Мероприятия, направленные на улучшение репродуктивной функции, стали играть решающую роль в селекционных программах, и уже на сегодняшний день, в развитых странах, доля показателей фер-

тильности в геномной племенной оценке животного значительно возросла, что значительно улучшило воспроизводство стад [3].

Множественные маркеры SNP-чипов внесли большой вклад в развитие исследований по поиску геномных ассоциаций и практическому использованию в геномной селекции [4-6]. Анализ полного генома с объединением SNP, InDels маркеров, импутации генотипов (на основе полногеномного секвенирования контрольных особей для валидации) еще более точно выявляет связанные с фертильностью маркеры [7].

Одним из важных репродуктивных признаков является возраст полового созревания. У различных пород крупного рогатого скота этот показатель сильно различается. Например, у брахманского крупного рогатого скота (порода крупного рогатого скота, произошедшая от *Bos indicus*), по сравнению с другими мясными породами, первый отел задерживается [8].

Достижение полового созревания представляет собой сложную координацию между яичниками, гипоталамусом и гипофизом посредством механизмов отрицательной и положительной обратной связи. Яичники посредством передачи сигналов эстрогена поддерживают отрицательную обратную связь с гипоталамусом, чтобы предотвратить секрецию гонадорелина (GnRH) до полового созревания [9]. В период полового созревания отрицательная обратная связь эстрогена на гипоталамусе превращается в положительную обратную связь, что позволяет производить GnRH. Киспептин, ГАМК-ергические, глутаматергические и холинергические нейроны координируются

с нейронами GnRH, а затем активируются сигнальные каскады передачи сигналов кальция, передачи сигналов цАМФ и передачи сигналов MAPK в нейронах GnRH, чтобы секретировать GnRH. Затем рецептор GnRH (GNRHR) заставляет гипофиз высвобождать фолликулостимулирующий гормон (ФСГ) и лютеинизирующий гормон (ЛГ), что в яичниках способствует росту фолликулов и созреванию ооцитов [8].

Еще одним важным аспектом является изучение генетических основ, влияющих на количество осеменений коров и связанный с этим признаком показатель межотельного периода. Несмотря на значительный прогресс в этом направлении, каждое исследование вносит новые кандидатные гены, влияющие на фертильность животных [10].

Таким образом, на основные репродуктивные признаки коров, при различных условиях внешней среды, могут влиять особенности генетической регуляции, в которую вовлечены гены, ранее не отнесенные к влияющим на фертильность животных. Наши исследования направлены на изучение репродуктивных показателей генетических ресурсов черно-пестрой голштинизированной популяции животных, адаптированных к условиям Северо-Западного региона.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Описание экспериментальных групп коров. Исследования выполнены с использованием коров черно-пестрой голштинизированной породы из одного племенного хозяйства Ленинградской области. От опытных групп животных (n=303) проводился сбор фенотипической информации по первой, второй и третьей лактации и биологического материала (крови) для дальнейших исследований. Для исследования были выбраны основные репродуктивные показатели коров: возраст первого осеменения, индексы осеменения перед первой (А), второй (Б), третьей (В), четвертой (Г) лактацией и период между отелами. Средние показатели по каждому из признаков представ-

лены в таблице 1. Образцы крови были взяты из яремной вены.

Контроль качества генотипирования. Были получены генотипы с помощью BovineSNP50 v3 BeadChip высокой плотности (Illumina Inc., Сан-Диего, Калифорния, США) [11] подвергались контролю качества с использованием программного обеспечения PLINK [12]. SNP с качеством генотипирования ниже 95%, частотой минорных аллелей ниже 5% или отклонениями от равновесия Харди-Вайнберга ($p < 0,0001$) были исключены из анализа. Кроме того, были удалены животные с уровнем выявления генотипа ниже 95%.

Ассоциативный полногеномный анализ показателей фертильности животных. Анализ ассоциаций по всему геному проводился с использованием программного обеспечения EMMAX [13], которое реализует смешанную линейную модель, которая учитывает структуру популяции и родство между животными. Матрицу геномных связей рассчитывали с использованием метода ВанРадена [14] на основе матрицы IBS (матрица родства). Следующая модель использовалась для оценки влияния SNP на каждый признак:

$$Y = Xb + u + e,$$

где Y – вектор фенотипов; b – эффект SNP; X – матрица плана генотипов SNP; u – представляет собой вектор аддитивных генетических эффектов, который, как предполагается, имеет нормальное распределение со средним значением, равным нулю, и (ко)дисперсией $\sigma^2 aG$, где $\sigma^2 a$ представляет собой аддитивную генетическую дисперсию, а G представляет собой матрицу геномных связей; e – вектор случайных остаточных эффектов.

Порог значимости для ассоциаций SNP определялся путем применения поправки Бонферрони, основанной на количестве эффективных независимых тестов, оцененных методом simpleM в программном обеспечении [15]. Манхэттенские графики были созданы с использованием пакета qqman в R для визуализации результатов общегеномной ассоциации [16]. SNP, которые превышали порог значимо-

сти, были аннотированы с использованием геномных браузеров NCBI и Ensembl для идентификации близлежащих генов и их функций.

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Результаты GWAS дают новое представление о генетической основе показателей фертильности животных в условиях Северо-Западного региона. В таблице 1 приведены данные по анализу фенотипических признаков, с которыми проводился поиск полногеномных ассоциаций. Минимальное значение показателя количество осеменений наблюдалось до первой лактации и составило 1,86, а максимальное значение было после третьей лактации и составило 2,34. Значения показателя межотельный период колебался от 399,11 до 409,54. Минимальное значение этого показателя наблюдалось после третьей лактации, а максимальное после второй лактации.

Поиск полногеномных ассоциаций с показателем возраст при первом осеменении. С показателем возраста при первом осеменении был ассоциирован 1 SNP с суггестивным уровнем значимости, который ассоциирован с показателем возраст при первом осеменении (таблица 3). SNP Нармар54432-rs29022442 (A/G) при $p=1,14 \times 10^{-5}$ расположен в межгенном пространстве на 6 хромосоме, а ближайший к нему ген *CAMK2D*. Ген *CAMK2D* связан с кальциевым обменом, а также регулирует работу сердца (таблица 2, рисунок 1).

Поиск полногеномных ассоциаций с показателем количество осеменений.

Был проведен анализ полногеномных ассоциаций с признаком количество осеменений. Были обнаружены достоверно значимые SNP после первой (Б), второй (В) и третьей (Г) лактациями (таблица 5). При первом осеменении (А) достоверно значимых SNP не было обнаружено. С показателем количество осеменений после первой лактации был выявлен 1 SNP ARS-BFGL-NGS-112309 (A/G) с уровнем достоверности $p=5,39 \times 10^{-7}$, который превысил порог поправки Бонферрони. Данный SNP расположен на 10 хромосоме в межгенном пространстве и ближайший к нему ген *TNL2*. Этот ген играет важную роль в формировании цитоскелета и актиновых нитей, а также в распространении и миграции различных типов клеток, таких как: фибробласты и остеокласты. С показателем количество осеменений после второй лактации (В) был ассоциирован 1 SNP ARS-BFGL-NGS-107698 (A/G) с суггестивным уровнем значимости $p=2,22 \times 10^{-5}$. Данный SNP расположен на 17 хромосоме в интроне гена *WSCD2*. Ген *WSCD2* участвует в формировании клеточной мембраны. Был обнаружен 1 SNP Нармар41764-BTA-118043 (A/G) с суггестивным уровнем значимости, ассоциированный с показателем количество осеменений после третьей лактации (Г). Нармар41764-BTA-118043 расположен на 20 хромосоме в межгенном пространстве, ближайший ген *GAPT*. Данный ген отрицательно регулирует пролиферацию В-клеток. (таблица 4, рисунки 2, 3, 4, 5).

Таблица 1 – Средние показатели по тестируемому поголовью

Показатель	N	Ед. измерения	Среднее
Возраст при первом осеменении	280	Мес.	13,85±0,06
Количество осеменений А	278	Раз	1,86±0,07
Количество осеменений Б	277	Раз	2,22±0,10
Количество осеменений В	197	Раз	2,25±0,12
Количество осеменений Г	47	Раз	2,34±0,23
Межотельный период А	256	Дней	400,72±4,74
Межотельный период Б	98	Дней	409,54±7,79
Межотельный период В	26	Дней	399,11±11,88

Таблица 2 – Гены кандидаты возраста при первом осеменении

SNP	Хромо- сома	Позиция на хромосоме	P-value	Поли- мор- физм	Локализация	Канди- датные гены
Нарmap54432- rs29022442 G=0,26986755	6	12119048	1,14E-05	A/G	Межгенное пространство	<i>CAMK2D</i>

Таблица 3 – Генотипы генов-кандидатов возраста при первом осеменении телок

SNP	Генотип	N	Mean±StEr
Нарmap54432- rs29022442	AA	87	13,75±0,12
	AC	143	13,92±0,09
	CC	47	13,89±0,15

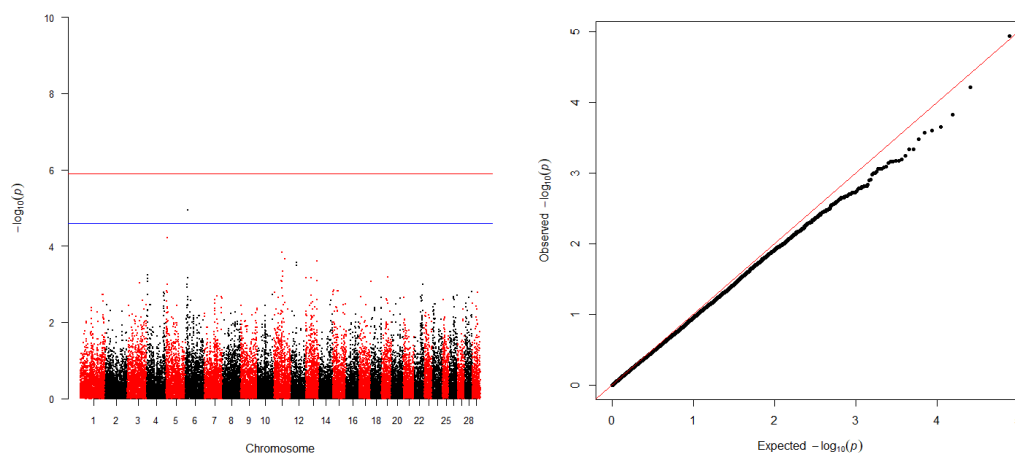


Рисунок 1 – Поиск геномных ассоциаций с возрастом при первом осеменении.

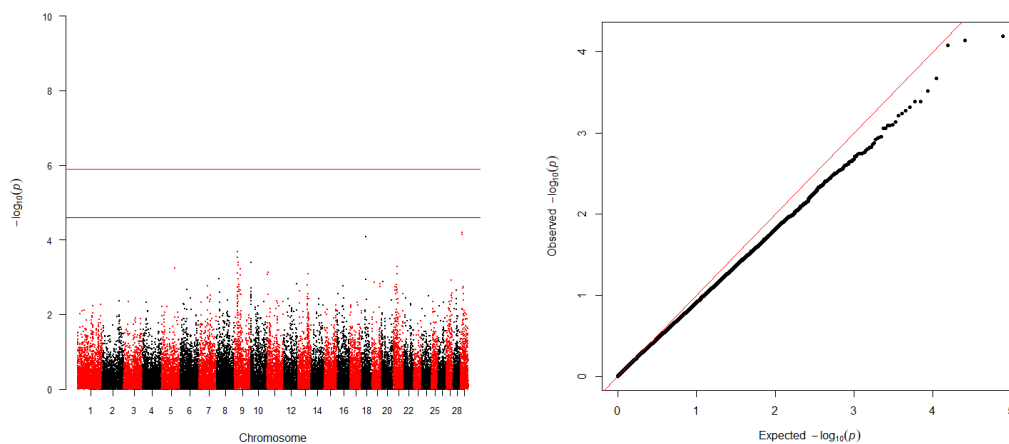


Рисунок 2 – Поиск геномных ассоциаций с индексом осеменения (ИО А) телок.

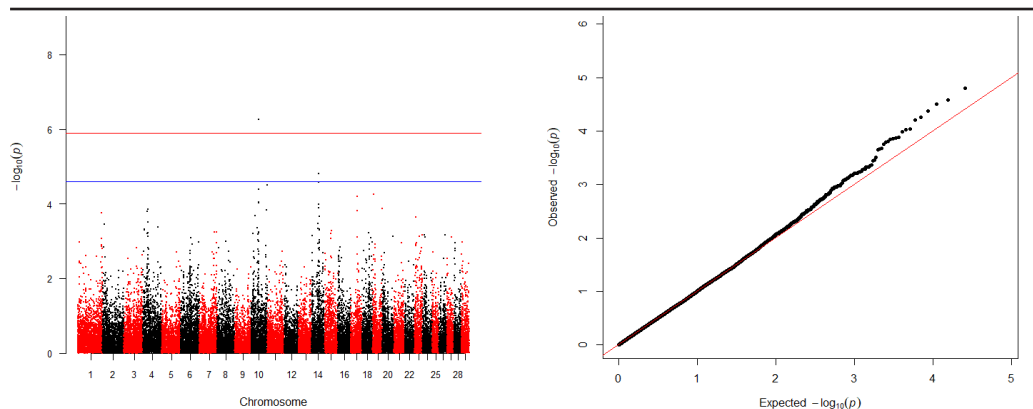


Рисунок 3 – Поиск геномных ассоциаций с индексом осеменения (ИО Б) коров во время первой лактации.

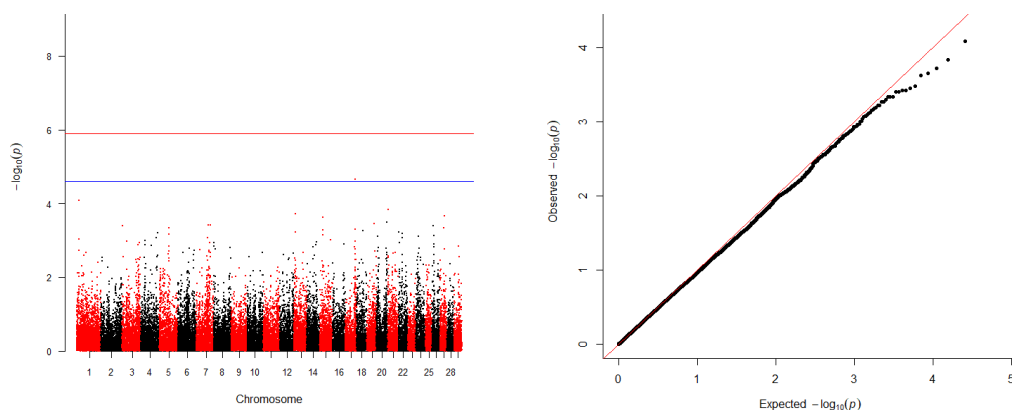


Рисунок 4 – Поиск геномных ассоциаций с индексом осеменения (ИО В) коров во время второй лактации.

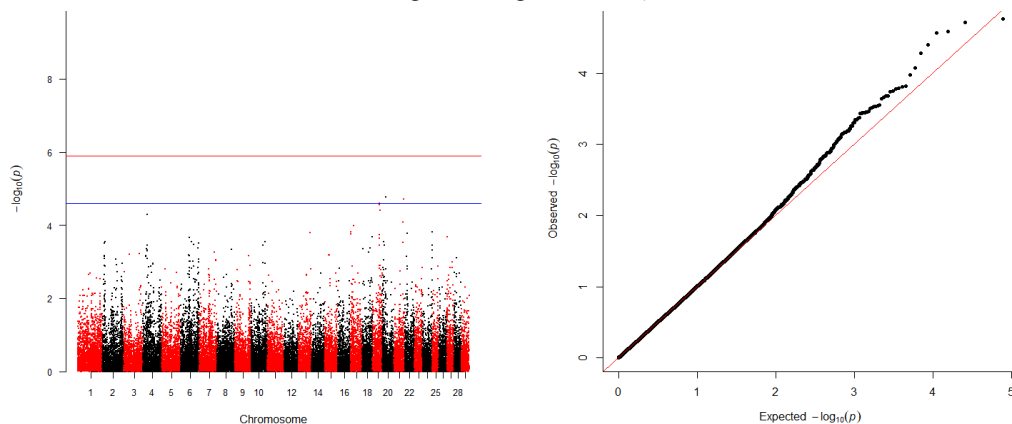


Рисунок 5 – Поиск геномных ассоциаций с индексом осеменения (ИО Г) коров во время третьей лактации.

Таблица 4 – Гены кандидаты по количеству осеменений

Лакта-ция	SNP	Хро-мо-сома	Позиция на хромо-соме	P-value	Поли-мор-физм	Локализа-ция	Канди-датные гены
Б	ARS-BFGL-NGS-112309 A=0,306291391	10	47197199	5,39E-07	A/G	Межген-ное про-странство	<i>TLN2</i>
В	ARS-BFGL-NGS-107698 A=0,42218543	17	64637527	2,22E-05	A/G		<i>WSCD2</i>
Г	Нармар41764-BTA-118043 G=0,109271523	20	20796717	1,70E-05	A/G	Межген-ное про-странство	<i>GAPT</i>

Таблица 5 – Генотипы генов-кандидатов индекса осеменения

SNP	Генотип	N	Mean±StEr
ARS-BFGL-NGS-112309 (ИО Б)	AA	31	2,29±0,30
	AG	123	2,35±0,16
	GG	123	2,06±0,14
ARS-BFGL-NGS-107698 (ИО В)	AA	46	1,67±0,16
	AG	96	2,54±0,19
	GG	55	2,24±0,24
Нармар41764-BTA-118043 (ИО Г)	AA	4	1,25±0,25
	AG	20	2,25±0,32
	GG	23	2,61±0,35

Животные, имеющие генотип GG по SNP ARS-BFGL-NGS-112309 (ассоциированный с показателем ИО Б), превосходили по эффективности осеменения (2,06±0,14) коров с генотипами AG и AA. По SNP ARS-BFGL-NGS-107698 особи с генотипом AA имели наименьший индекс осеменения В, по сравнению с коровами, имеющими другие генотипы. Животные с генотипом AA по SNP Нармар41764-BTA-118043 имели самый низкий показатель индекса осеменения Г, по сравнению с остальными генотипами.

Поиск полногеномных ассоциаций с показателем межотельный период. С показателем межотельный период (таблица 7) после первой лактации (А) был обнаружен 1 SNP ARS-BFGL-NGS-20486 (A/G) на 10 хромосоме с суггестивным уровнем значимости с уровнем достоверности $p=3,20E-06$. Данный SNP расположен в межгенном пространстве, рядом с геном *WDR36*. Данный ген участвует в различных клеточных процессах, включая регуляцию клеточного цикла, передачу сигналов и апоптоз. На 6 хромосоме был обнаружен 1 SNP BTB-

01652367 (A/G) $p=2,39E-05$ с суггестивным уровнем значимости, ассоциированный с межотельным периодом после второй лактации (Б). Данный SNP расположен на 4 хромосоме и находится в межгенном пространстве (ближайший ген ENSBTAG00000064948). С межотельным периодом после третьей (В) лактации был связан также 1 SNP, расположенный на 3 хромосоме, Нармар39423-BTA-69854 (A/C) $p=8,55E-07$ у которого уровень достоверности перешел порог поправки Бонферрони. Данный SNP локализован в интроне гена *TDRD10*. Предполагается, что он обеспечивает РНК-связывающую активность (таблица 6, рисунки 6, 7, 8).

Мы выявили существенные связи между определенными генетическими вариантами и возрастом первого осеменения, количеством осеменений перед второй, третьей и четвертой лактациями и межотельными периодами до 4 лактации. Эти данные предоставляют ценную информацию о генетической архитектуре фертильных качеств животных чернопестрой голштинизированной популяции скота Северо-Западного региона.

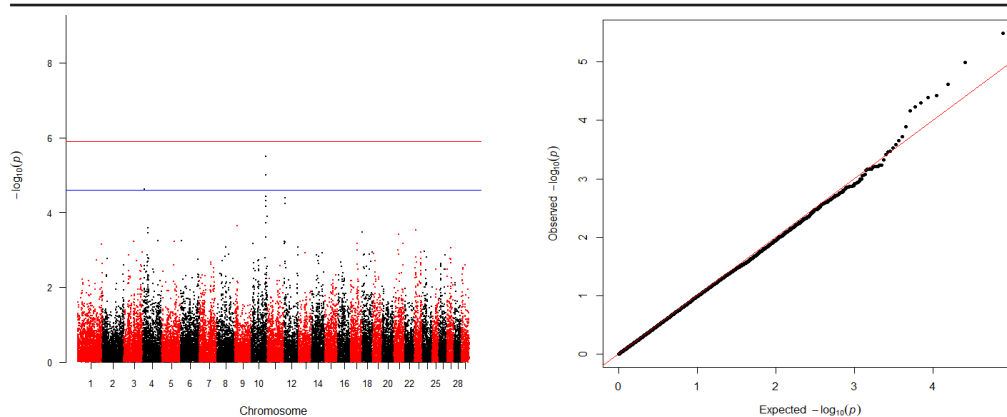


Рисунок 6 – Поиск геномных ассоциаций с межотельным периодом (А) коров.

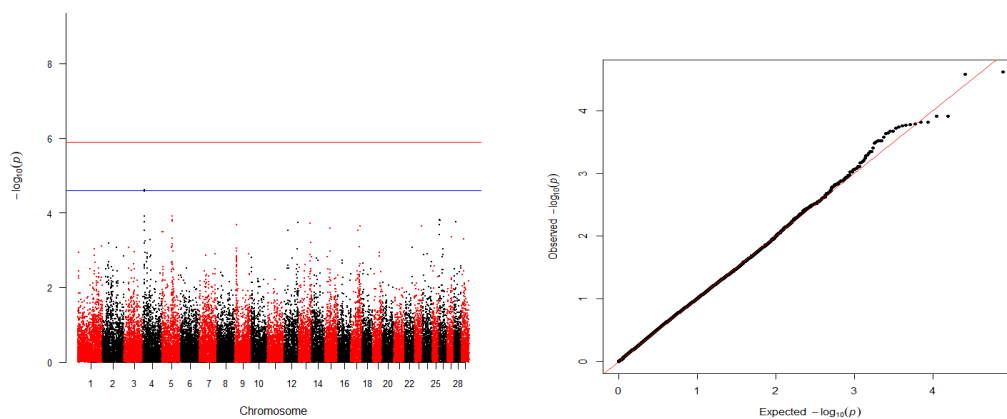


Рисунок 7 – Поиск геномных ассоциаций с межотельным периодом (Б) коров.

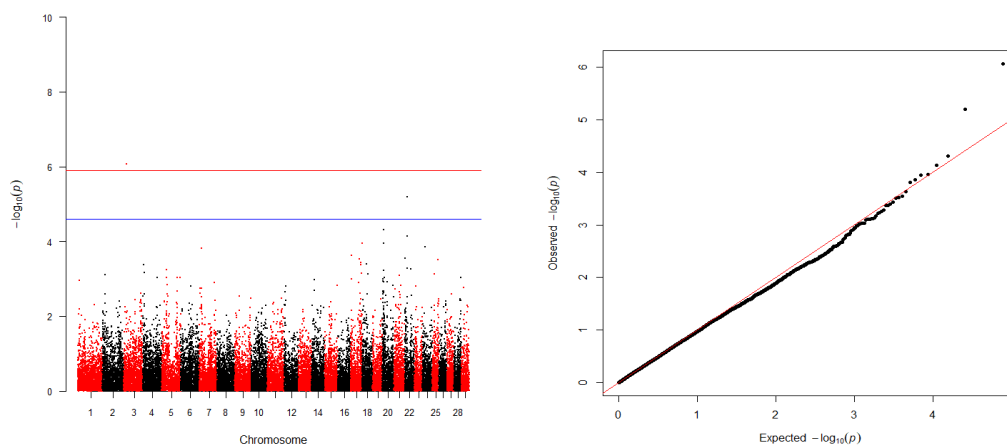


Рисунок 8 – Поиск геномных ассоциаций с межотельным периодом (В) коров.

Таблица 6 – Гены-кандидаты по межотельному периоду

Лак- та- ция	SNP	Хро-мо- сома	Позиция на хромо- соме	P-value	По-ли- морфи- зм	Локализа- ция	Кандидат- ные гены
А	ARS-BFGL-NGS-20486 A=0,293046358	10	93946634	3,20E-06	A/G	Межгенное простран- ство	<i>WDR36</i>
Б	BTB-01652367 A=0,332781457	4	8991180	2,39E-05	A/G	Межгенное простран- ство	<i>ENSBTAG</i> <i>000000649</i> <i>48</i>
В	Нармар39423-BTA- 69854 C=0,413907285	3	16072682	8,55E-07	A/C		<i>TDRD10</i>

Таблица 7 – Генотипы генов-кандидатов межотельного периода

SNP	Генотип	N	Mean±StEr
ARS-BFGL-NGS-20486 Меж- отельный А	AA	23	391,69±13,26
	AG	106	401,93±7,42
	GG	125	401,65±6,99
BTB-01652367 Межотель- ный Б	AA	15	398,07±20,34
	AG	49	415,57±12,27
	GG	33	405,88±11,16
Нармар39423-BTA-69854 Межотельный В	AA	19	394,37±13,41
	AG	7	412,00±26,13
	GG	0	-

Экономическая составляющая фертильности животных в наибольшей степени зависит от затрат на осеменение животных. На возраст первого осеменения в первую очередь влияет половое созревание телок. В этом исследовании мы провели GWAS с возрастом первого осеменения, количеством осеменений до наступления стельности и межотельным периодом.

В мета анализе мы получили информацию по гену-кандидатам возраста при первом осеменении, локализованному на хромосоме 6 в межгенном пространстве вблизи от гена *CAMK2D*. Продукт этого гена принадлежит к семейству серин/треониновых протеинкиназ и подсемейству Ca(2+)/кальмодулинзависимых протеинкиназ и участвует в механизмах передачи сигналов кальция, которые действуют на гипотиз для секреции гонадотропинов. Гены, связанные с передачей сигналов кальция, могут влиять на фертильность коров, поскольку они участвуют в механизмах секреции GnRH посредством передачи сигналов кальция [8].

Эстральный цикл крупного рогатого скота связан с формированием желтого

тела (CL) после оплодотворения. В путях регуляции образования CL задействован ген *TLN2*. В наших исследованиях *TLN2* был обнаружен как кандидатный ген признака индекса осеменения коров во время первой лактации.

Talin2 (*TLN2*) представляет собой большой димерный белок цитоскелета, регулирующий сродство интегрин с лигандами внеклеточного матрикса, и играет ключевую роль в клеточной адгезии, миграции, пролиферации и дифференциации. Все эти процессы происходят в результате развития и регрессии желтого тела [17]. *TLN2* высоко экспрессируется в CL. На циклическое развитие желтого тела и его структур в течение продолжительности жизни, влияет окружающая среда (условия содержания, кормления, заболевания) [18, 19].

Выявленный в нашем исследовании кандидатный ген – *WSCD2* (домен WSC, содержащий 2), является неотъемлемым компонентом мембраны. Другими авторами было выявлено дифференциальное метилирование региона, содержащего ген *WSCD2* в плаценте человека, больного сахарным диабетом, однако нарушений,

связанных со здоровьем плода, выявлено не было [20].

Нами высказывается предположение влияния гена *WSCD2* на формирование плаценты плода, с чем связана успешность осеменения коровы.

Исследования транскриптома в ооцитах и клетках гранулезы, во время развития фолликула яичника овцы, выявили регуляторы транскрипции и специфически экспрессируемые гены, которые, вероятно, играют важную роль в раннем фолликулогенезе. Одним из кандидатных генов, был ген *GAPT*. Продуктом этого гена является GRB2-связывающий трансмембранный адаптерный белок, предполагается, что он участвует в гомеостазе В-клеток и пролиферации В-клеток, участвующих в иммунном ответе. Исследования транскриптома в ооцитах и гранулезных клетках, во время развития фолликула яичника овцы, выявили экспрессию *GAPT* только в ооцитах [21].

Экспрессия *GAPT* тесно связана с воспалением, иммунитетом и взаимодействием цитокинов. Коэкспрессия, включающая гены *CLEC4A*, *COTL1*, *EV12B*, *FCER1G*, *GAPT*, *HCST*, *NCF2*, *PILRA*, *TLR8* и *TYROBP*, имела высокую корреляцию с иммунным ответом на воспаление сердечной мышцы [22].

В результате поиска полногеномных ассоциаций, были найдены кандидатные гены по связи с межотельным периодом (таблица 4). Ген *WDR36* кодирует белок – повторный домен WD 36. Повторы WD представляют собой минимально консервативные области примерно из 40 аминокислот, которые могут способствовать образованию гетеротримерных или мультибелковых комплексов. Члены этого семейства участвуют во множестве клеточных процессов, включая развитие клеточного цикла, передачу сигналов, апоптоз и регуляцию генов. Исследования на мышцах показало, что *WDR36* защищает раннее эмбриональное развитие, а гомозиготный нокаут *WDR36* приводит к эмбриональной летальности [23, 24].

Ген *TDRD10* – кодирует белок, содержащий домены Tudor (TDRD), которые

распознают и связываются с симметричными метилированными остатками аргинина. Эти белки влияют на широкий спектр процессов, включая дифференцировку, стабильность генома и гаметогенез [25].

В наших исследованиях мы нашли высоко достоверные ($p < 8,55E-07$) маркеры в гене *TDRD10*, которые были ассоциированы с межотельным периодом В, которые в дальнейшем можно будет использовать для отбора животных на репродуктивное долголетие.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Исходя из анализа наших исследований и литературных данных, можно предположить, что с возрастом происходит изменение генетических факторов влияющих на фертильность животных. Выявленные кандидатные гены влияют как на механизмы созревания фолликулов, так рост и развитие эмбрионов. Полученные результаты могут быть использованы как для отбора животных для улучшения показателей воспроизводства, так и для поиска фундаментальных основ формирования фертильности у крупного рогатого скота.

A GENOME-WIDE ASSOCIATION STUDIES OF REPRODUCTIVE TRAITS OF A BLACK-AND-WHITE HOLSTEINIZED POPULATION OF CATTLE IN THE NORTHWESTERN REGION

Dementieva N. B.¹ – PhD (Biol. Sci.); Shcherbakov Yu. S.¹ – PhD (Biol. Sci.), Larkina T. A.¹ – PhD (Biol. Sci.), Shiryayev G. V.^{1*} – PhD (Agr. Sci.), Nikitin G.S. – PhD (Vet. Sci.), Rybakov M. A.¹ – graduate student, Yakimov F. D.¹ – graduate student.

*GS-2027@yandex.ru

Financing: The work was carried out with the financial support of the RNF, project No. 21-76-10042.

ABSTRACT

In recent years, genomic assessment and the widespread introduction of modern bio-

technological techniques have played a leading role in the implementation of breeding programs. For a long time, increasing milk productivity has been the main goal of breeding. This led to a significant decrease in reproduction in herds. The reproductive indicators of the uterine livestock of cattle can largely reduce the total profitability due to additional costs for manual, veterinary assistance and forced culling. Experienced groups are genotyped using the Bovinesnp50 V3 Beadchip chip are formed from the cows of black-and-white holsteinized breed. For the study, the main reproductive traits of cows were chosen: the age of the first insemination, the insemination indices in front of the first (a), the second (b), the third (c), fourth (d) lactation and the period between hotels. Analysis of associations throughout the genome was carried out using EMMAX software. 2 significant SNP and 5 conditionally significant were found. The *CAMK2D* candidate gene with the age at the first insemination, the *TLN2*, *WSCD2*, *GAPT* genes with the indicator, the number of insemination and genes *WDR36*, *TDRD10* with the inter-suffering period was identified. Based on the studies, we assume that with age there is a change in the genetic factors affecting animal fertility. The identified candidate genes affect the mechanisms of maturation of follicles, so the growth and development of embryos. The results can be used both for the selection of animals to improve reproduction indicators, and for the search for the fundamental foundations of the formation of fertility in cattle.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Ma L. Symposium review: Genetics, genome-wide association study, and genetic improvement of dairy fertility traits / L. Ma, J. B. Cole, Y. Da, P. M. VanRaden // *J. Dairy Sci.* – 2019. – № 102(4). – P. 3735-3743. DOI: 10.3168/jds.2018-15269.
2. Olasege B. S. Correlation scan: identifying genomic regions that affect genetic correlations applied to fertility traits / B. S. Olasege, L. R. Porto-Neto, M. S. Tahir et al. // *BMC Genomics.* – 2022. – № 23(1). – P. 684. DOI: 10.1186/s12864-022-08898-7.
3. Chebel R. C. Reproduction in the era of genomics and automation / R. C. Chebel, R. S. Bisinotto, J. Giordano, A. Maggiolino, P. de Palo // *Reprod Fertil Dev.* – 2023. – № 36(2). – P. 51-65. DOI: 10.1071/RD23173.
4. Rocha R. F. B. Single-step genome-wide association studies and post-GWAS analyses for the number of oocytes and embryos in Gir cattle / R. F. B. Rocha, A. O. Garcia, P. I. Otto et al. // *Mamm Genome.* – 2023. – № 34(3). – P. 497-508. DOI: 10.1007/s00335-023-10009-0.
5. Gangwar M. Identification of genetic variants affecting reproduction traits in Vrindavani cattle / M. Gangwar, S. Kumar, S. F. Ahmad et al. // *Mamm Genome.* – 2024. – № 35(1). – P. 99-111. DOI: 10.1007/s00335-023-10023-2.
6. Weller J. I. Genetic and genomic analysis of age at first insemination in Israeli dairy cattle / J. I. Weller, E. Ezra, M. Gershoni // *J. Dairy Sci.* – 2022. – № 105(6). – P. 5192-5205. DOI: 10.3168/jds.2021-21528.
7. VanRaden P. M. Selecting sequence variants to improve genomic predictions for dairy cattle / P. M. VanRaden, M. E. Tooker, J. R. O'Connell, J. B. Cole, D. M. Bickhart // *Genet Sel Evol.* – 2017. – № 49(1). – P. 32. DOI: 10.1186/s12711-017-0307-4.
8. Tahir M. S. Meta-Analysis of Heifer Traits Identified Reproductive Pathways in Bos indicus Cattle / M. S. Tahir, L. R. Porto-Neto, C. Gondro et al. // *Genes (Basel).* – 2021. – № 12(5). – P. 768. DOI: 10.3390/genes12050768.
9. Dubois S. L. Estradiol Restrains Prepubertal Gonadotropin Secretion in Female Mice via Activation of ER α in Kisspeptin Neurons / S. L. Dubois, A. Wolfe, S. Radovick, U. Boehm, J. E. Levine // *Endocrinology.* – 2016. – № 157(4). – P. 1546-1554. DOI: 10.1210/en.2015-1923.
10. Liang Z. A Million-Cow Genome-Wide Association Study of Three Fertility Traits in U.S. Holstein Cows / Z. Liang, D. Prakapenka, P. M. VanRaden, J. Jiang, L. Ma, Y. Da // *Int J Mol Sci.* – 2023. – № 24(13). – P. 10496. DOI: 10.3390/ijms241310496.
11. Illumina BovineSNP50 v3 BeadChip. Ref. 370-2007-029-B. 2020. [(accessed on

- 12 December 2023)]. pp. 1–3. Available online: https://www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/datasheet_bovine_snp50.pdf.
12. Purcell S. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses / S. Purcell, B. Neale, K. Todd-Brown et al. // *Am J Hum Genet.* – 2007. – № 81(3). – P. 559-575. DOI: 10.1086/519795.
13. Kang H. M. Variance component model to account for sample structure in genome-wide association studies / H. M. Kang, J. H. Sul, S. K. Service et al. // *Nat Genet.* – 2010. – № 42(4). – P. 348-354. DOI: 10.1038/ng.548.
14. VanRaden P. M. Efficient methods to compute genomic predictions / P. M. VanRaden // *J. Dairy Sci.* – 2008. – № 91(11). – P. 4414-4423. DOI: 10.3168/jds.2007-0980.
15. Gao X. Multiple testing corrections for imputed SNPs / X. Gao // *Genet Epidemiol.* – 2011. – № 35(3). – P. 154-158. DOI: 10.1002/gepi.20563.
16. Turner S. D. qqman: An R package for visualizing GWAS results using Q-Q and manhattan plots / S. D. Turner // *J. Open Source Softw.* – 2018. – № 3. – P. 731. DOI: 10.21105/joss.00731.
17. Ellis S. J. Talin autoinhibition is required for morphogenesis / S. J. Ellis, B. T. Goult, M. J. Fairchild et al. // *Curr Biol.* – 2013. – № 23(18). – P. 1825-1833. DOI: 10.1016/j.cub.2013.07.054.
18. Curry T. E. Jr. Impact of extracellular matrix remodeling on ovulation and the folliculo-luteal transition / T. E. Jr. Curry, M. F. Smith // *Semin Reprod Med.* – 2006. – № 24(4). – P. 228-241. DOI: 10.1055/s-2006-948552.
19. Dai L. Characterization of miR-126-3p and its target talin2 in the bovine corpus luteum during the oestrus cycle / L. Dai, J. Xu, S. Liu et al. // *Reprod Domest Anim.* – 2014. – № 49(6). – P. 913-919. DOI: 10.1111/rda.12400.
20. Wang W. J. Genome-Wide Placental Gene Methylation in Gestational Diabetes Mellitus, Fetal Growth and Metabolic Health Biomarkers in Cord Blood / W. J. Wang, R. Huang, T. Zheng et al. // *Front Endocrinol (Lausanne).* – 2022. – № 13. – P. 875180. DOI: 10.3389/fendo.2022.875180.
21. Bonnet A. An overview of gene expression dynamics during early ovarian folliculogenesis: specificity of follicular compartments and bi-directional dialog / A. Bonnet, C. Cabau, O. Bouchez, J. Sarry, N. Marsaud, S. Foissac, F. Woloszyn, P. Mulsant, B. Mandon-Pepin // *BMC Genomics.* – 2013. – № 14. – P. 904. DOI: 10.1186/1471-2164-14-904.
22. Shi W. PILRA is associated with immune cells infiltration in atrial fibrillation based on bioinformatics and experiment validation / Shi W., Li X., Su Y. et al. // *Front Cardiovasc Med.* – 2023. – № 10. – P. 1082015. DOI: 10.3389/fcvm.2023.1082015).
23. An S. WDR36 Safeguards Self-Renewal and Pluripotency of Human Extended Pluripotent Stem Cells / S. An, D. Yao, W. Zhang et al. // *Front Genet.* – 2022. – № 13. – P. 905395. DOI: 10.3389/fgene.2022.905395.
24. Gallenberger M. Heterozygote Wdr36-deficient mice do not develop glaucoma / M. Gallenberger, M. Kroeber, L. März et al. // *Exp Eye Res.* – 2014. – № 28. – P. 83-91. DOI: 10.1016/j.exer.2014.09.008.
25. Cong P. Molecular analysis of porcine TDRD10 gene: a novel member of the TDRD family / P. Cong, A. Li, Q. Ji, Y. Chen, D. Mo // *Gene.* – 2014. – № 548(2). – P. 190-197. DOI: 10.1016/j.gene.2014.07.026.

REFERENCES

1. Ma L. Symposium review: Genetics, genome-wide association study, and genetic improvement of dairy fertility traits / L. Ma, J. B. Cole, Y. Da, P. M. VanRaden // *J. Dairy Sci.* – 2019. – № 102(4). – P. 3735-3743. DOI: 10.3168/jds.2018-15269.
2. Olasege B. S. Correlation scan: identifying genomic regions that affect genetic correlations applied to fertility traits / B. S. Olasege, L. R. Porto-Neto, M. S. Tahir et al. // *BMC Genomics.* – 2022. – № 23(1). – P. 684. DOI: 10.1186/s12864-022-08898-7.
3. Chebel R. C. Reproduction in the era of

- genomics and automation / R. C. Chebel, R. S. Bisinotto, J. Giordano, A. Maggiolino, P. de Palo // *Reprod Fertil Dev.* – 2023. – № 36 (2). – P. 51-65. DOI: 10.1071/RD23173.
4. Rocha R. F. B. Single-step genome-wide association studies and post-GWAS analyses for the number of oocytes and embryos in Gir cattle / R. F. B. Rocha, A. O. Garcia, P. I. Otto et al. // *Mamm Genome.* – 2023. – № 34(3). – P. 497-508. DOI: 10.1007/s00335-023-10009-0.
5. Gangwar M. Identification of genetic variants affecting reproduction traits in Vrindavani cattle / M. Gangwar, S. Kumar, S. F. Ahmad et al. // *Mamm Genome.* – 2024. – № 35(1). – P. 99-111. DOI: 10.1007/s00335-023-10023-2.
6. Weller J. I. Genetic and genomic analysis of age at first insemination in Israeli dairy cattle / J. I. Weller, E. Ezra, M. Gershoni // *J. Dairy Sci.* – 2022. – № 105(6). – P. 5192-5205. DOI: 10.3168/jds.2021-21528.
7. VanRaden P. M. Selecting sequence variants to improve genomic predictions for dairy cattle / P. M. VanRaden, M. E. Tooker, J. R. O'Connell, J. B. Cole, D. M. Bickhart // *Genet Sel Evol.* – 2017. – № 49(1). – P. 32. DOI: 10.1186/s12711-017-0307-4.
8. Tahir M. S. Meta-Analysis of Heifer Traits Identified Reproductive Pathways in Bos indicus Cattle / M. S. Tahir, L. R. Porto-Neto, C. Gondro et al. // *Genes (Basel).* – 2021. – № 12(5). – P. 768. DOI: 10.3390/genes12050768.
9. Dubois S. L. Estradiol Restrains Prepubertal Gonadotropin Secretion in Female Mice via Activation of ER α in Kisspeptin Neurons / S. L. Dubois, A. Wolfe, S. Radovick, U. Boehm, J. E. Levine // *Endocrinology.* – 2016. – № 157(4). – P. 1546-1554. DOI: 10.1210/en.2015-1923.
10. Liang Z. A Million-Cow Genome-Wide Association Study of Three Fertility Traits in U.S. Holstein Cows / Z. Liang, D. Prakapenka, P. M. VanRaden, J. Jiang, L. Ma, Y. Da // *Int J Mol Sci.* – 2023. – № 24 (13). – P. 10496. DOI: 10.3390/ijms241310496.
11. Illumina BovineSNP50 v3 BeadChip. Ref. 370-2007-029-B. 2020. [(accessed on 12 December 2023)]. pp. 1–3. Available online: https://www.illumina.com/content/dam/illumina-marketing/documents/products/datasheets/datasheet_bovine_snp50.pdf.
12. Purcell S. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses / S. Purcell, B. Neale, K. Todd-Brown et al. // *Am J Hum Genet.* – 2007. – № 81(3). – P. 559-575. DOI: 10.1086/519795.
13. Kang H. M. Variance component model to account for sample structure in genome-wide association studies / H. M. Kang, J. H. Sul, S. K. Service et al. // *Nat Genet.* – 2010. – № 42(4). – P. 348-354. DOI: 10.1038/ng.548.
14. VanRaden P. M. Efficient methods to compute genomic predictions / P. M. VanRaden // *J. Dairy Sci.* – 2008. – № 91(11). – P. 4414-4423. DOI: 10.3168/jds.2007-0980.
15. Gao X. Multiple testing corrections for imputed SNPs / X. Gao // *Genet Epidemiol.* – 2011. – № 35(3). – P. 154-158. DOI: 10.1002/gepi.20563.
16. Turner S. D. qqman: An R package for visualizing GWAS results using Q-Q and manhattan plots / S. D. Turner // *J. Open Source Softw.* – 2018. – № 3. – P. 731. DOI: 10.21105/joss.00731.
17. Ellis S. J. Talin autoinhibition is required for morphogenesis / S. J. Ellis, B. T. Goult, M. J. Fairchild et al. // *Curr Biol.* – 2013. – № 23(18). – P. 1825-1833. DOI: 10.1016/j.cub.2013.07.054.
18. Curry T. E. Jr. Impact of extracellular matrix remodeling on ovulation and the folliculo-luteal transition / T. E. Jr. Curry, M. F. Smith // *Semin Reprod Med.* – 2006. – № 24 (4). – P. 228-241. DOI: 10.1055/s-2006-948552.
19. Dai L. Characterization of miR-126-3p and its target talin2 in the bovine corpus luteum during the oestrus cycle / L. Dai, J. Xu, S. Liu et al. // *Reprod Domest Anim.* – 2014. – № 49(6). – P. 913-919. DOI: 10.1111/rda.12400.
20. Wang W. J. Genome-Wide Placental Gene Methylations in Gestational Diabetes Mellitus, Fetal Growth and Metabolic Health Biomarkers in Cord Blood / W. J. Wang, R. Huang, T. Zheng et al. // *Front Endocrinol*

- (Lausanne). – 2022. – № 13. – P. 875180. DOI: 10.3389/fendo.2022.875180.
21. Bonnet A. An overview of gene expression dynamics during early ovarian folliculogenesis: specificity of follicular compartments and bi-directional dialog / A. Bonnet, C. Cabau, O. Bouchez, J. Sarry, N. Marsaud, S. Foissac, F. Woloszyn, P. Mulsant, B. Mandon-Pepin // BMC Genomics. – 2013. – № 14. – P. 904. DOI: 10.1186/1471-2164-14-904.
22. Shi W. PILRA is associated with immune cells infiltration in atrial fibrillation based on bioinformatics and experiment validation / Shi W., Li X., Su Y. et al. // Front Cardiovasc Med. – 2023. – № 10. – P. 1082015. DOI: 10.3389/fcvm.2023.1082015).
23. An S. WDR36 Safeguards Self-Renewal and Pluripotency of Human Extended Pluripotent Stem Cells / S. An, D. Yao, W. Zhang et al. // Front Genet. – 2022. – № 13. – P. 905395. DOI: 10.3389/fgene.2022.905395.
24. Gallenberger M. Heterozygote Wdr36-deficient mice do not develop glaucoma / M. Gallenberger, M. Kroeber, L. März et al. // Exp Eye Res. – 2014. – № 28. – P. 83-91. DOI: 10.1016/j.exer.2014.09.008.
25. Cong P. Molecular analysis of porcine TDRD10 gene: a novel member of the TDRD family / P. Cong, A. Li, Q. Ji, Y. Chen, D. Mo // Gene. – 2014. – № 548(2). – P. 190-197. DOI: 10.1016/j.gene.2014.07.026.