

УДК: 619:636.2.033:577.2:636.2:001.608.1

DOI:10.52419/issn2072-2419.2025.4.508

РАЗРАБОТКА И ОПТИМИЗАЦИЯ ПЦР-МЕТОДОВ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ НАСЛЕДСТВЕННЫХ АНОМАЛИЙ M1 и DL У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА МЯСНЫХ ПОРОД

Мартынов Н.А. – лаборант отдела геномных исследований и селекции животных (ORCID 0000-0001-9251-0056); **Зубарева В.Д.** – мл. науч. сотр. отдела геномных исследований и селекции животных (ORCID 0000-0003-0284-0276); **Бытов М.В.** – мл. науч. сотр. отдела геномных исследований и селекции животных (ORCID 0000-0002-3622-3770); **Безбородова Н.А.** – канд. ветеринар. наук, ст. науч. сотр. отдела геномных исследований и селекции животных (ORCID 0000-0003-2793-5001); **Соколова О.В.** – д-р ветеринар. наук, вед. науч. сотр. отдела геномных исследований и селекции животных (ORCID 0000-0002-1169-4090); **Романов Е.В.** * – мл. науч. сотр. отдела ветеринарной лабораторной диагностики с испытательной лабораторией (ORCID 0009-0006-4980-0481); **Зайцева О.С.** – канд. ветеринар. наук, ст. науч. сотр. отдела геномных исследований и селекции животных (ORCID 0000-0003-0005-2161)

ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук» (ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН)

*romanov.egor.2303@gmail.com

Ключевые слова: наследственные аномалии, генетический мониторинг, ПЦР реально времени, дилутор, гипертрофия мускулатуры, казахская белоголовая порода, абердин-ангусская порода.

Key words: hereditary anomalies, genetic monitoring, real-time PCR, dilutor, muscle hypertrophy, Kazakh white-headed breed, aberdeen angus breed.

Финансирование: Материалы подготовлены в рамках государственного задания Минобрнауки России № 0532–2025-0003 «Разработка высокоточных методов идентификации генетических детерминант устойчивости к заболеваниям для использования в селекции крупного рогатого скота».

Поступила: 25.07.2025

Принята к публикации: 05.12.2025

Опубликована онлайн: 26.12.2025



РЕФЕРАТ

Снижение репродуктивных показателей в мировом скотоводстве, обусловленное накоплением наследственных аномалий, требует разработки эффективных методов генетического мониторинга мутаций. Целью исследований стала разработка и оптимизация методов детекции двух наследственных аномалий крупного рогатого скота мясных пород (казахская белоголовая, абердин-ангусская порода): гипертрофии мускулатуры (M1) и дилутора (DL). В качестве биологического материала использовали цельную кровь, законсервированную в ЭДТА, от крупного рогатого скота казахской белоголовой (n = 54) и абердин-ангусской (n = 35) пород. Выделение ДНК осуществляли с помощью автоматической станции для выделения нуклеиновых кислот Nexor32m (Lepu Medical Technology

Co.,Ltd., Китай), с применением набора «МагноПрайм® ВЕТ» (ООО «НекстБио», Россия). Качество, количество выделенных образцов, оценивали спектрофотометрическим методом с помощью EZdrop 1000 (Blue-Ray Biotech, Тайвань) и флуориметрическим методом с использованием Qubit 4 (ThermoFisher Scientific, США), с использованием набора QuDye HS (Lumiprobe, Россия). Для мутации M1 в гене MSTN был апробирован и оптимизирован известный ПЦР-протокол на выборке абердин-ангусской породы (n=35). Для выявления делеции в гене PMEL (DL) у казахской белоголовой породы была разработана новая ПЦР-система в режиме реального времени с оптимизацией температуры отжига праймеров. В результате скрининга носители аллеля M1 выявлены не были. При апробации разработанного теста на выборке казахской белоголовой породы (n=54) было обнаружено 3 носителя аллеля DL: 2 гетерозиготы (3,7%) и 1 гомозигота (1,85%). Полученные результаты показали эффективность разработанных методов для мониторинга генетических аномалий у крупного рогатого скота молочного направления. Внедрение этих ПЦР-тестов в селекционно-племенную работу позволит осуществлять контроль над распространением нежелательных аллелей и способствовать повышению продуктивности и экономической эффективности мясного скотоводства.

ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

В условиях растущего спроса на животноводческую продукцию ключевой задачей является обеспечение устойчивого роста ее производства. Однако в последние десятилетия в мировом скотоводстве наблюдается стабильная тенденция к снижению репродуктивных показателей, что оказывает влияние на экономическую эффективность отрасли [1, 2, 3]. Данная проблема в равной степени затрагивает как молочное, так и мясное скотоводство и обусловлена комплексом генетических факторов, среди которых ведущая роль отводится интенсивной селекции на повышение продуктивности, часто имеющей отрицательную генетическую корреляцию с фертильностью, накоплению инбредной депрессии и распространению наследственных аномалий [1, 2].

Одной из наиболее значимых проблем в селекции являются рецессивные летальные аллели. Их наличие в гетерозиготном состоянии у фенотипически нормальных животных-носителей приводит к эмбриональной смертности или снижению жизнеспособности потомства в случае образования гомозиготного генотипа [4, 5]. Особую опасность представляет феномен, при котором летальные аллели могут закрепляться в популяции благодаря селективному преимуществу гетерозиготных носителей, например, за счет положительного плеiotропного эффекта на продуктивные признаки [5, 6, 7]. Класси-

ческим примером служат мутации в гене миостатина (*MSTN*), приводящие к синдрому «двойной мускулатуры» и распространенные в ряде мясных пород [8, 9].

Современная селективная практика отвечает на эти вызовы пересмотром приоритетов в сторону сбалансированного отбора, учитывающего как продуктивные, так и репродуктивные признаки. Развитие технологий высокоплотного генотипирования и полногеномного анализа позволяет осуществлять такой комплексный отбор, включая мониторинг нежелательных генетических вариантов [3, 10]. В этом контексте все большее внимание привлекают гены, оказывающие плеiotропное влияние на несколько хозяйственно полезных признаков. Ярким примером является ген PMEL, ответственный за диллатор-фенотип (ослабление пигментации). Последние исследования демонстрируют, что мутации в этом гене не только влияют на масть животных, но и могут ассоциироваться с улучшением качества мяса и показателями роста [11, 12], что указывает на его сложный плеiotропный эффект.

Контроль наследственных аномалий является неотъемлемым элементом современной селекционно-племенной работы. Эта задача приобретает особую актуальность для Уральского региона, где животноводство является структурообразующей отраслью сельского хозяйства, сочетающая молочное и мясо-молочное скотовод-

ство. Интенсификация производства и стратегическая задача повышения продуктивности скота напрямую зависят от сохранения и улучшения его генетического потенциала.

В связи с этим, первоочередной задачей является разработка и внедрение отечественных ПЦР тест-систем для детекции ключевых генетических аномалий. Дальнейшие перспективы – создание отечественных высокопроизводительных диагностических панелей, позволяющих проводить массовый скрининг племенного скота.

Цель исследования – оптимизировать ПЦР протокол для выявления генетически детерминированного заболевания гипертрофии мускулатуры (M1) и разработать метод идентификации носителей рецессивных аллелей дилютора (DL) у крупного рогатого скота мясного направления продуктивности.

MATERIALS AND METHODS / МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования – популяции крупного рогатого скота мясного направления продуктивности. Предмет исследования - генетические маркеры дилютор (DL) и мутация миостатина (M1), ассоциированная с гипертрофией мускулатуры у животных.

В качестве биологического материала использовали цельную кровь, законсервированную в ЭДТА, от крупного рогатого скота казахской белоголовой ($n = 54$) и абердин-ангусской ($n = 35$) пород. Выделение ДНК осуществляли с помощью автоматической станции для выделения нуклеиновых кислот Nexor32m (Leru Medical Technology Co.,Ltd., Китай), с применением набора «МагноПрайм® ВЕТ» (ООО «НекстБио», Россия). Качество, количество выделенных образцов, оценивали спектрофотометрическим методом с помощью EZdrop 1000 (Blue-Ray Biotech, Тайвань) и флуориметрическим методом с использованием Qubit 4 (ThermoFisher Scientific, США), с использованием набора QuDye HS (Lumiprobe, Россия).

Аmplификацию нуклеиновых кислот

осуществляли с помощью CFX Opus 96 (Bio-Rad Laboratories, Inc., США). Электрофоретическое разделение продуктов реакции проводили в 3% агарозном геле в камере DYCP-32C (Beijing Liuyi Biotechnology Co.,Ltd, Китай), с визуализацией в гель-документирующих системах CHEM-IDOC XRS+ и Gel Quant Express (Thermo Fisher Scientific, США).

Идентификация носителей мутаций DL и M1.

Для выявления мутации M1, характерной для крупного рогатого скота абердин-ангусской породы, были использованы последовательности праймеров (таблица №1), ранее предложенные Коноваловой Е. с соавторами [13].

Для идентификации носителей DL, ассоциированного с делецией в гене *PMEL* (p.Leu18del), был произведен подбор праймеров и гидролизных зондов, что представлено в Таблице 1. Дизайн олигонуклеотидов выполнен с помощью Primer 3web.

Определение расчётных температур плавления и отжига, а также специфичности праймеров проведено с использованием Primer BLAST. Проверку на наличие димеров праймеров производили с помощью ThermoFisher Multiple Primer Analyzer.

Реакционная смесь включала в себя: экстра-микс для ПЦР HS-Taq(2^X) (diaGene, Россия), праймеры и зонды (0,35 мкМ каждый), 2 мкл исследуемого образца ДНК и H_2O до 25 мкл.

Для подбора оптимальных условий проводили ПЦР с градиентом температур. Условия амплификации: предварительная денатурация – 5 минут, далее 35 циклов денатурация-отжиг-элонгация 20 секунд каждый. Температуры денатурации и элонгации были 95 °C и 72 °C соответственно.

Градиент температур на этапе отжига праймеров был от 64 °C до 56 °C. Считывание уровня флуоресценции, проводилось на этапе элонгации, по каналам FAM и VIC.

Таблица 1 – Последовательности олигонуклеотидов для выявления генетических нарушений M1, DL

Генетический дефект	Название	Последовательность 5'-3'	Температура отжига, °C	Источник
M1	MSTN82 1F	TGAGGTAGGAGAGTGTTTTGGG	62,0	(13)
	MSTN82 1Rn	CCTCTGGGGTTTGCTTGGT		
	MSTN82 1Rm	ACAGCATCGAGAT-TCTGTCACA		
DL	Front	GGATGGATCTGGTGCTGAGA	62,0	Собственная разработка
	Reverse	ATCTTCATGTGGG-GAGGGAG		
	Probe1	TCTGATGGGTGTTCTGGCTGTAG[BHQ-1]		
	Probe2	TCTGATGGGTGTTCTTCTGGCTGTA[BHQ-2]		

РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Для подбора оптимальных условий проводили ПЦР с градиентом температур. Определение оптимальной температуры на данном этапе, позволяет избежать амплификации неспецифичных участков ДНК. Результаты электрофоретического разделения продуктов реакции представлены на Рисунке 1 и 2.

Как видно из электрофореграмм разделения продуктов реакции, снижение температуры на этапе отжига праймеров приводит к появлению неспецифичных продуктов реакции. Таким образом, для последующих экспериментов была уста-

новлена оптимальная и специфичная температура отжига, равная 62°C.

Для выявления носителей мутации M1, был апробирован протокол, ранее предложенный Коноваловой Е. с соавторами (13) на выборке крупного рогатого скота абердин-ангусской породы (N = 35). В результате исследования носителей рецессивных аллелей выявлено не было.

Разработанные нами олигонуклеотиды для выявления генетически детерминированного заболевания DL-дилютор у казахской белоголовой породы крупного рогатого скота методом ПЦР реального времени представлены на Рис. 3.

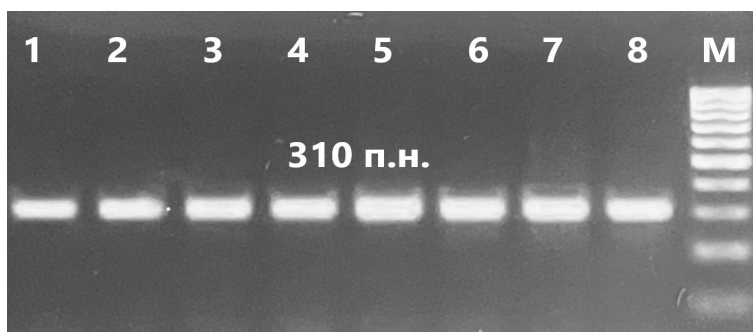


Рисунок 1 – Электрофореграмма продуктов реакции амплификации M1, где 1-8 исследуемые образцы в градиенте температур от 64 °C до 58 °C, M – размерный стандарт шаг 100 п.н.

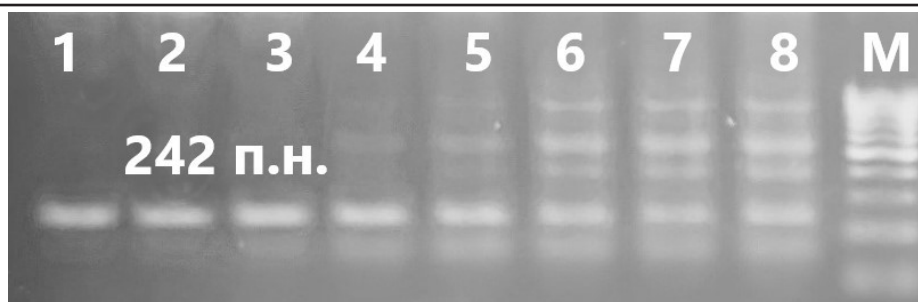


Рисунок 2 – Электрофореграмма продуктов реакции амплификации DL, где 1-8 исследуемые образцы в градиенте температур от 64 °С – 58 °С, М – размерный стандарт шаг 100 п.н.

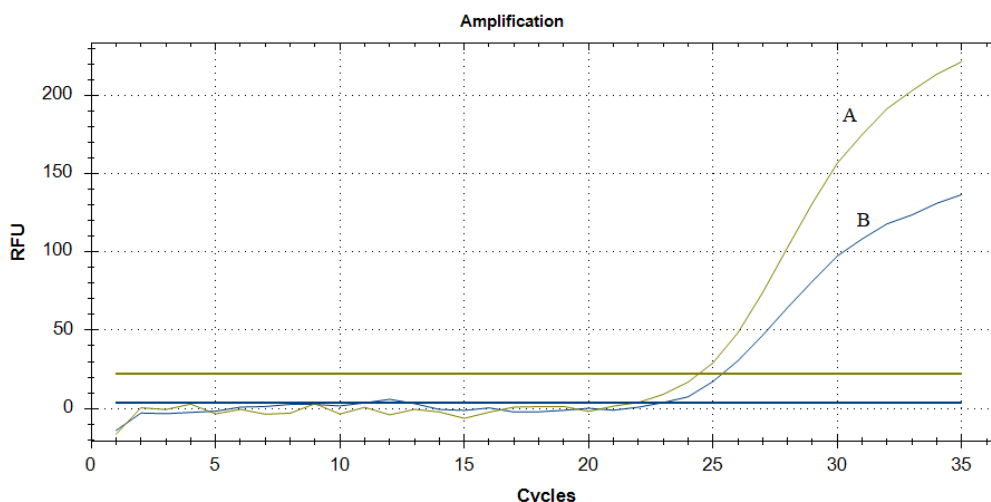


Рисунок 3 – Графики амплификации DL, где А – здоровый аллель (канал детекции VIC), В – рецессивный аллель (канал считывания FAM), RFU – уровень флуоресценции, Cycles – циклы амплификации.

На графике амплификации представлен пример амплификации здорового аллеля по каналу VIC и рецессивного аллеля по каналу FAM. Для апробации разработанных праймеров нами было исследовано 54 особи. В результате обнаружено две гетерозиготы по DL, что составляет 3,7% частоты встречаемости аллеля в нашей выборке и 1 гомозигота по мутантному аллелю – 1,85 %. Следовательно, разработанный метод является эффективным инструментом для генетического мониторинга, а его применение подтвердило наличие аллеля DL в исследованной

популяции казахской белоголовой породы.

ВЫВОДЫ / CONCLUSION

Проведенное исследование было сфокусировано на решении одной из ключевых проблем современной селекции мясного скота – контроле над распространением сублетальных рецессивных аллелей.

Для выявления носителей мутации M1, был апробирован протокол, ранее предложенный Коноваловой Е. с соавторами [13], в исследуемой выборке особей крупного рогатого скота абердин-ангусской породы, носителей рецессивных аллелей выявлено не было.

Результатом работы стала успешная разработка и апробация отечественного ПЦР-протокола для детекции делеции в гене PMEL (p.Leu18del), известной как диллатор (DL). Подобранные нами олигонуклеотиды и гидролизные зонды показали высокую специфичность и эффективность в режиме реального времени, что подтверждается четкой кинетикой амплификации и разделением сигналов по каналам FAM и VIC. Оптимизация температуры отжига на уровне 62°C позволила полностью исключить неспецифичную амплификацию, что является критически важным для использования метода в рутинной диагностике. Применение разработанной ПЦР тест-системы для скрининга популяции казахской белоголовой породы (n=54) позволило выявить присутствие аллеля DL с общей частотой встречаемости 3,7% для гетерозигот и 1,85% для гомозигот. Полученные частоты указывают на необходимость внедрения системного скрининга. Несмотря на то, что диллатор не является летальной аномалией, его плейотропные эффекты, ассоциированные с качеством мяса и показателями роста [11, 12], а также потенциальные проблемы с фотосенсибилизацией у животных со светлой мастью, – требуют проведения контроля за распространением данной мутации в современных селекционных программах.

В дальнейшей работе нами планируется расширение объема выборки животных для проведения скрининга по изучаемым генетическим аномалиям. Увеличение количества исследуемых животных позволит получить статистически достоверные данные о частотах встречаемости аллелей в популяциях, выявить редких носителей наследственных заболеваний в различных хозяйствах мясного направления Уральского региона.

DEVELOPMENT AND OPTIMIZATION OF PCR METHODS FOR DETECTION OF HEREDITARY ABNORMALITIES M1 AND DL IN BEEF CATTLE

Martynov N.A. – Laboratory Assistant at the Department of Genomic Research and

Animal Breeding (ORCID 0000-0001-9251-0056); **Zubareva, V.D.** – Junior Researcher at the Department of Genomic Research and Animal Breeding (ORCID 0000-0003-0284-0276); **Bytov M.V.** – Junior Researcher at the Department of Genomic Research and Animal Breeding (ORCID 0000-0002-3622-3770); **Bezborodova N.A.** – Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher, Department of Genomic Research and Animal Breeding (ORCID 0000-0003-2793-5001); **Sokolova O.V.** – Doctor of Veterinary Sciences, Senior Researcher of the Department of Genomic Research and Animal Breeding (ORCID 0000-0002-1169-4090); **Romanov E.V.** * – Junior Researcher at the Veterinary Diagnostics Department with a testing laboratory (ORCID 0009-0006-4980-0481); **Zaitseva O.S.** – Candidate of Veterinary Sciences, Senior Researcher of the Department of Genomic Research and Animal Breeding (ORCID 0000-0003-0005-2161).

Ural Federal Agrarian Research Center of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences

(FSBI URFANITS Ural Branch of the Russian Academy of Sciences)

*romanov.egor.2303@gmail.com

Financing: *The materials were prepared within the framework of the state assignment of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation No. 0532-2025-0003 "Development of high-precision methods for identifying genetic determinants of disease resistance for use in cattle breeding".*

ABSTRACT

The decline in reproductive performance in global cattle breeding, due to the accumulation of hereditary anomalies, requires the development of effective methods for genetic monitoring of mutations. The aim of the research was to develop and optimize methods for detecting two hereditary anomalies of beef cattle (Kazakh white-headed, Aberdeen Angus breed): muscle hypertrophy (M1) and dilutor (DL). For the M1 mutation in the MSTN gene, the well-known PCR

protocol was tested and optimized on a sample of the Aberdeen Angus breed (n=35). Whole blood preserved in EDTA from Kazakh Whitehead (n = 54) and Aberdeen Angus (n = 35) cattle was used as biological material. DNA extraction was performed using a Nexor32m automated nucleic acid extraction station (Lepu Medical Technology Co., Ltd., China) and the MagnoPrime® VET kit (NextBio LLC, Russia). The quality and quantity of the isolated samples were assessed spectrophotometrically using an EZdrop 1000 (Blue-Ray Biotech, Taiwan) and fluorimetrically using a Qubit 4 (ThermoFisher Scientific, USA) and the QuDye HS kit (Lumiprobe, Russia). To detect a deletion in the PMEL (DL) gene in the Kazakh white-headed breed, a new real-time PCR system was developed with optimization of the primer annealing temperature. As a result of the screening, no carriers of the M1 allele were identified. When testing the developed test on a sample of the Kazakh white-headed breed (n=54), 3 carriers of the DL allele were found: 2 heterozygotes (3.7%) and 1 homozygote (1.85%). The results showed the effectiveness of the developed methods for monitoring genetic abnormalities in dairy cattle. The introduction of these PCR tests into breeding work will allow controlling the spread of undesirable alleles and contribute to increasing the productivity and economic efficiency of beef cattle breeding.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Состояние мясного скотоводства в Российской Федерации / И. М. Дунин, Д. В. Бутусов, Г. И. Шичкин [и др.] // Ежегодник по племенной работе в мясном скотоводстве в хозяйствах Российской Федерации (2019 год). – пос. Лесные Поляны: ФГБНУ "Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела", 2020. – С. 3-16.

2. Bytov M. V. Assessing the Genetic Diversity of Five Cattle Breeds Using SNP Markers Associated with Health / M. V. Bytov, V. D. Zubareva, S. V. Volskaya [et al.] // Russian Journal of Genetics. – 2024. – Vol. 60, No. 6. – P. 747-753. – DOI

10.1134/s1022795424700182.

3. Зими́на А.А., Рома́ненкова О.С. Генетические аномалии голштинизированных симменталов. В книге: Генетика, селекция, биотехнология: интеграция науки и практики в животноводстве. Материалы международной научно-практической конференции. Пушкин, 2021. С. 58-59.

4. Cole J.B., VanRaden P.M., O'Connell J.R., Van Tassell C.P., Sonstegard T.S., Schnabel R.D., Taylor J.F., Wiggans G.R. Discovery of mutations for recessive lethal genetic defects in cattle using a haplotype-based approach // Journal of Animal Science. 2016. Vol. 94, № 1. P. 21-31. DOI: 10.2527/jas.2015-9671.

5. VanRaden P.M., Tooker M.E., O'Connell J.R., Cole J.B., Bickhart D.M. Selecting sequence variants to improve genomic predictions for dairy cattle // Genetics Selection Evolution. 2019. Vol. 51. Art. № 42. 9 p. DOI: 10.1186/s12711-019-0452-z.

6. McClure M.C., Bickhart D., Null D., VanRaden P., Xu L., Wiggans G., Liu G., Schroeder S., Glasscock J., Armstrong J., Cole J.B., Van Tassell C.P., Sonstegard T.S. Bovine exome sequence analysis and targeted SNP genotyping of recessive fertility defects BH1, HH2, and HH3 reveal a putative causative mutation in SMC2 for HH3 // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2014. Vol. 111, № 19. P. 7103-7108. DOI: 10.1073/pnas.1403754111.

7. Brenneman R.A., Sanders J.O., Davis S.K., Burns B.M. MC1R and coat defects in cattle // Journal of Animal Science. 2016. Vol. 94, No 5. P. 789-800. DOI: 10.2527/jas.2015-0123

8. Климанова Е.А., Александрова Д.А., Кочнев Н.Н. Полиморфизмы гена миостатина у животных (обзор). Вестник НГАУ (Новосибирский государственный аграрный университет). 2024;(2):209-219. <https://doi.org/10.31677/2072-6724-2024-71-2-209-219>

9. Vasyukova OV, Kasyanova YV, Okorokov PL, Bezlepkina OB. [Myokines and adipomyokines: inflammatory mediators or unique molecules of targeted therapy for obesity?]. Probl Endokrinol (Mosk). 2021 Aug 10;67(4):36-45. Russian. doi: 10.14341/

probl12779

10. Jenko, J., McClure, M.C., Matthews, D. et al. Analysis of a large dataset reveals haplotypes carrying putatively recessive lethal and semi-lethal alleles with pleiotropic effects on economically important traits in beef cattle. *Genet Sel Evol* 51, 9 (2019). DOI: 10.1186/s12711-019-0452-z

11. Kimura, S., Hatakeyama, T., Koutaka, T., Kubo, K., Morita, S., Eguchi, K., Saitoh, K., Yamauchi, K., Imai, S., Kashimura, A., Inenaga, T., Matsumoto, H. :PMEL p.Leu18del dilutes coat color of Kumamoto sub-breed of Japanese Brown cattle. *BMC Genomics* 23:694, 2022. Pubmed reference: 36207673. DOI: 10.1186/s12864-022-08916-8

12. Wei, J., Brophy, B., Cole, S.A., Leath, S., Oback, B., Boch, J., Wells, D.N., Laible, G. :Production of light-coloured, low heat-absorbing Holstein Friesian cattle by precise embryo-mediated genome editing. *Reprod Fertil Dev* 36:112-123, 2023. Pubmed reference: 38064192. DOI: 10.1071/RD23163.

13. Konovalova E. et al. The molecular bases study of the inherited diseases for the health maintenance of the beef cattle // *Genes*. – 2021. – T. 12. – №. 5. – С. 678. doi.org/10.3390/genes12050678

REFERENCES

1. The state of beef cattle breeding in the Russian Federation / I. M. Dunin, D. V. Butusov, G. I. Shichkin [et al.] // Yearbook on breeding work in beef cattle breeding in farms of the Russian Federation (2019). – village Lesnye Polyany: All-Russian Scientific Research Institute of Breeding, 2020, pp. 3-16 (In Russ.)

2. Bytovsky M. V. Assessment of the genetic diversity of five cattle breeds using SNP markers associated with health / M. V. Bytovsky, V. D. Zubareva, S. V. Volskaya [et al.] // *Russian Journal of Genetics*. – 2024. – Volume 60, No. 6. – pp. 747-753. – DOI 10.1134/s1022795424700182 (In Russ.)

3. Zimina A.A., Romanenkova O.S. Genetic anomalies of Holstein simmentals. In the book: *Genetics, breeding, biotechnology: the integration of science and practice in animal*

husbandry. Materials of the international scientific and practical conference. Pushkin, 2021. pp. 58-59 (In Russ.)

4. Cole J.B., Vanraden P.M., O'Connell J.R., Van Tassell K.P., Sonstegaard T.S., Schnabel R.D., Taylor J.F., Wiggans G.R. Detection of mutations causing recessive lethal genetic defects in cattle using an approach based on Haplotypes // *Journal of Animal Science*. 2016. Vol. 94, No. 1. pp. 21-31. DOI: 10.2527/jas.2015-9671.

5. Vanraden P.M., Tooker M.E., O'Connell J.R., Cole J.B., Bickhart D.M. Sequence selection for improving genomic predictions of dairy cattle // *The evolution of genetic breeding*. 2019. Volume 51. Article No. 42. 9 p. DOI: 10.1186/s12711-019-0452-h.

6. McClure M.S., Bickhart D., Null D., Vanraden P., Xu L., Wiggans G., Liu G., Schroeder S., Glascock J., Armstrong J., Cole J.B., Van Tassell K.P., Sonstegaard T.S. Cattle exome sequence analysis and targeted SNP genotyping recessive fertility defects BH1, HH2., and HH3 reveal a suspected causal mutation in SMC2 for HH3 // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2014. Volume 111, No. 19. pp. 7103-7108. DOI: 10.1073/pnas.1403754111.

7. Brenneman R.A., Sanders J.O., Davis S.K., Burns B.M. MC1R and wool defects in cattle // *Journal of Animal Science*. 2016. Volume 94, No. 5. pp. 789-800. DOI: 10.2527/jas.2015-0123

8. Klimanova E.A., Alexandrova D.A., Kochnev N.N. Polymorphisms of the myostatin gene in animals (review). *Bulletin of NAGAU (Novosibirsk State Agrarian University)*. 2024;(2):209-219. <https://doi.org/10.31677/2072-6724-2024-71-2-209-219> (In Russ.)

9. Vasyukova O.V., Kasyanova Yu.V., Okorokov P.L., Bezlepina O.B. Myokines and adipomyokines: inflammatory mediators or unique molecules of targeted therapy for obesity?. *The Endocrinol problem (Moscow)*. August 10, 2021;67(4):36-45. Russian. doi: 10.14341/issue 12779

10. Jenko J., McClure M.S., Mathews D. et al. Analysis of a large data set revealed haplotypes carrying presumably recessive lethal and semi-lethal alleles that have a pleiotropic

effect on economically important traits of beef cattle. *The genetic code of evolution* 51, 9 (2019). DOI: 10.1186/s12711-019-0452-z

11. Kimura, S., Hatakeyama, T., Kutaka, T., Kubo, K., Morita, S., Eguchi, K., Saito, K., Yamauchi, K., Imai, S., Kashimura, A., Inenaga, T., Matsumoto, H. :PMEL p.Leu18del dilutes the coat color of the Kumamoto subcontinent.- a breed of Japanese brown cattle. *BMC Genomics* 23:694, 2022. Link to the publication: 36207673. DOI: 10.1186/s12864-022-08916-8

12. Wei, J., Brophy, B., Cole, S.A., Lit, S., Obak, B., Boh, J., Wells, D.N., Lyble, G. Obtaining light-colored Holstein-Frisian cattle with low heat absorption by precise editing of the genome mediated by embryos. Updated in version 36:112-123, 2023. Link to the publication: 38064192. DOI: 10.1071/RD23163.

13. Konovalova E. I. et al. The study of the molecular basis of hereditary diseases for maintaining the health of beef cattle // *Genes*. – 2021. – vol. 12. – No. 5. – p. 678. doi.org/10.3390/genes12050678 (In Russ.)