

Алматы қ., Қарасай батыр көш., 191 lump A, e-mail: biovet.kaz@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0982-1863>.

Жантелиева Лаура Оразақынқызы – PhD, аға ғылыми қызметкер, "Зоология институты" ШЖҚ РМК, Қазақстан Республикасы, 050060, Алматы қ., Әл-Фараби даңғ, 93, e-mail: laura_18_87@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7564-2089>.

Микниене Зоя – PhD докторы, доцент, Литва денсаулық ғылымдары университеті, Каунас Тильзес көш., 18, e-mail: zoja.mikniene@ismuni.lt, телефон +37061029223 <https://orcid.org/0000-0001-5165-837X>.

Borsynbayeva Assiya Madenovna* – PhD, Senior Researcher, BioVet Research Production Center LLP, Republic of Kazakhstan, 050008, Almaty, 191-A Karasai batyr Str., tel.: +77024081170, e-mail: asiajan@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-2722-2020>.

Turgenbayev Kairat Altynbekovich – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Chief Researcher, BioVet Research Production Center LLP, Republic of Kazakhstan, 050008, Almaty, 191-A Karasai batyr Str., e-mail: biovet.kaz@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0982-1863>.

Zhanteliyeva Laura Orazakynovna – PhD, Senior Researcher, Institute of zoology RSE REM, Republic of Kazakhstan, 050060, Almaty, 93 Al-Farabi Ave., e-mail: laura_18_87@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7564-2089>.

Mikniene Zoja – Associate Professor, PhD, Lithuanian University of Health Sciences, Lithuania, 03154, Kaunas, 18 Tilžės Str., tel.: +37061029223, e-mail: zoja.mikniene@ismuni.lt, <https://orcid.org/0000-0001-5165-837X>.

XFTAP 68.41.57

ӨОЖ 636.22/.28:575.17

<https://doi.org/10.52269/NTDG254112>

ГОЛШТЕИН ТҰҚЫМДАС СИЫРЛАРЫНДА НН6 ФЕРТИЛДІК ГАПЛОТИПІНІҢ БАЛАУ ӘДІСТЕРІН ОҢТАЙЛАНДЫРУ ЖӘНЕ ОНЫҢ ТАРАЛУЫ

Джунусова Р.Ж. – техника ғылымдарының магистрі, «Клиникалық пәндер» кафедрасының докторанты, «Қазақ Ұлттық аграрлық зерттеу университеті» КЕАҚ, Алматы қ., Қазақстан Республикасы.

Иманбаев А.А. – ветеринария ғылымдарының кандидаты, «Клиникалық пәндер» кафедрасының қауымдастырылған профессоры, «Қазақ Ұлттық аграрлық зерттеу университеті» КЕАҚ, Алматы қ., Қазақстан Республикасы.

Турғумбеков А.А. – PhD доктор, КЕАҚ «Қазақ Ұлттық аграрлық зерттеу университетінің «Клиникалық пәндер» кафедрасының аға оқытушысы, Алматы қ., Қазақстан Республикасы.

Усенбеков Е.С.* – биология ғылымдарының кандидаты, КЕАҚ «Қазақ Ұлттық аграрлық зерттеу университетінің «Клиникалық пәндер» кафедрасының профессоры, Алматы қ., Қазақстан Республикасы.

Мақалада авторлар Алматы облысы Іле ауданы, «Междуреченск АГРО» ЖШС сүт фермасындағы голштейн тұқымдас сиырларында НН6 фертилдік гаплотипіне молекулярлық-генетикалық әдіспен балау жасау тәсілдері оңтайландырылған және осы фермаға қарасты 150 шет елдік селекциядағы голштейн тұқымдас сиырларындағы НН6 фертилдік гаплотипі генетикалық ақауының таралуы зерттелген. Шет елдік арнайы әдебиеттерге талдау жасау нәтижесінде сиырларда НН6 фертилдік гаплотипінің генетикалық пайда болу механизмі анықталған, аталған кемтарлық SDE2 генінің ақпараттық бөлігінде зиянды нүктелік мутация (g.29773628 A>G SNP, GTCTCCGCC[A>G]TCTCACCCAGT) нәтижесінде пайда болған. Сондықтан, сиырларда НН6 фертилдік гаплотипінің гетерозиготалы тасымалдаушыларын балауға классикалық ПТР-РФҰП талдауы қолданылды. SDE2 генінің жабайы және мутантты аллелдерін идентификация жасау үшін CCATC(N) тану сайтымен BccI эндонуклеазасымен ПТР өнімін рестрикция жасау тәсілі қолданылды. Электрофореграммада, гомозиготалы дені сау жануарларда фрагмент ішінде BccI эндонуклеазасының сайт рестрикциясы болуына байланысты екі фрагмент анықталды: 278 ж.н. және 246 ж.н., ал гетерозиготалды тасымалдаушы сиырларда үш фрагмент пайда болды: 524 ж.н., 278 ж.н. және 246 ж.н. Қосымша балау әдісі ретінде KASP әдісі қолданылды, дені сау гомозиготалы жануарларда электрофореграммада ұзындығы 88 ж.н. фрагмент пайда болды. Зерттеу тобындағы 150 бас голштейн тұқымдас сиырлардың 7 басында НН6 фертилдік гаплотипінің гетерозиготалы тасымалдаушылары анықталды, аталған генетикалық мутацияның таралуы 4,67% құрады.

Түйінді сөздер: голштейн тұқымы, НН6 фертилдік гаплотипі, SDE2 гені, нүктелік мутация, зиянды генетикалық ақаулар, ПТР-РФҰП талдауы, KASP әдісі.

ОПТИМИЗАЦИЯ СПОСОБОВ ДИАГНОСТИКИ НОСИТЕЛЕЙ ГАПЛОТИПА ФЕРТИЛЬНОСТИ HH6 У КОРОВ ГОЛШТИНСКОЙ ПОРОДЫ И ЕГО РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ

Джунусова Р.Ж. – магистр технических наук, PhD докторант кафедры клинических дисциплин, НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», г. Алматы, Республика Казахстан.

Иманбаев А.А. – кандидат ветеринарных наук, ассоциированный профессор кафедры клинических дисциплин, НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», г. Алматы, Республика Казахстан.

Турғумбеков А.А. – PhD доктор, старший преподаватель кафедры клинических дисциплин, НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», г. Алматы, Республика Казахстан.

Усенбеков Е.С.* – кандидат биологических наук, профессор кафедры клинических дисциплин, НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», г. Алматы, Республика Казахстан.

Авторами статьи были оптимизированы молекулярно-генетические методы диагностики носителей гаплотипа фертильности HH6 у коров голштинской породы ТОО «Междуреченск АГРО», расположенного в Илийском районе Алматинской области, и изучена распространенность гаплотипа фертильности HH6 у 150 коров зарубежной селекции. В результате анализа специальной зарубежной литературы была определена генетическая природа гаплотипа фертильности HH6, который возник в результате точечной мутации в кодирующей части гена SDE2 (g.29773628 A>G SNP, GTCTCCGCC[A>G]TCTCACCCAGT). Поэтому, для диагностики гетерозиготных носителей мутации гаплотипа фертильности HH6 у коров был использован классический метод ПЦР-ПДРФ анализа. Идентификация дикого и мутантного типов аллели гена SDE2 была осуществлена путем рестрикции ПЦР продукта эндонуклеазой BclI с сайтом рестрикции CCATC(N). На электрофореграмме у гомозиготных здоровых животных после рестрикции эндонуклеазой BclI в связи с наличием сайта рестрикции были обнаружены два фрагмента: 278 п.н. и 246 п.н., у гетерозиготных носителей – три фрагмента: 524 п.н., 278 п.н. и 246 п.н. В качестве альтернативного способа диагностики был использован метод KASP, у здоровых гомозиготных особей на электрофореграмме был обнаружен один фрагмент размером 88 п.н. Из протестированных 150 коров голштинской породы выявлены 7 гетерозиготных носителей гаплотипа фертильности HH6, и распространенность данного генетического дефекта составила у исследуемых животных 4,67%.

Ключевые слова: голштеинская порода, гаплотип фертильности HH6, ген SDE2, точечная мутация, вредные генетические дефекты, ПЦР-ПДРФ анализ, метод KASP.

OPTIMIZATION OF DIAGNOSTIC METHODS OF HH6 FERTILITY HAPLOTYPE CARRIERS IN HOLSTEIN COWS AND ITS PREVALENCE

Dzhunussova R.Zh. – Master of Technical Sciences, PhD student of the Department of clinical disciplines, Kazakh National Agrarian Research University NJSC, Almaty, Republic of Kazakhstan.

Imanbayev A.A. – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of clinical disciplines, Kazakh National Agrarian Research University NJSC, Almaty, Republic of Kazakhstan.

Turgumbekov A.A. – PhD, Senior Lecturer of the Department of clinical disciplines, Kazakh National Agrarian Research University NJSC, Almaty, Republic of Kazakhstan.

Ussenbekov Y.S.* – Candidate of Biological Sciences, Professor of the Department of clinical disciplines, Kazakh National Agrarian Research University NJSC, Almaty, Republic of Kazakhstan.

The contributors optimized molecular genetic methods for diagnosing carriers of the HH6 fertility haplotype in Holstein cows of the Mezhdurechensk AGRO LLP located in the Ile district of the Almaty region and studied the prevalence of the HH6 fertility haplotype in 150 cows of foreign selection. The results of specialized foreign literature review allowed to identify genetic nature of the HH6 fertility haplotype, which appeared as a result of a point mutation in the coding part of the SDE2 gene (g.29773628 A> G SNP, GTCTCCGCC[A> G]TCTCACCCAGT). Therefore, the classical PCR-RFLP analysis method was used to diagnose heterozygous carriers of the HH6 fertility haplotype mutation in cows. Identification of the wild and mutant types of the SDE2 gene allele was carried out by restriction of the PCR product with BclI endonuclease with the CCATC(N) restriction site. On the electrophoregram of homozygous healthy animals after restriction with BclI endonuclease due to the presence of the restriction site, two fragments were found: 278 bp and 246 bp, in heterozygous carriers three fragments: 524 bp, 278 bp and 246 bp. As an alternative diagnostic method, the KASP method was used and in healthy homozygous individual animals, one 88 bp fragment was found on the electrophoregram. Of the 150 Holstein cows tested, 7 heterozygous carriers of the HH6 fertility haplotype were identified and the prevalence of this genetic defect in the tested animals was 4.67%.

Key words: *Holstein breed, HH6 fertility haplotype, SDE2 gene, point mutation, harmful genetic defects, PCR-RFLP analysis, KASP method.*

Кіріспе. Соңғы уақытта ірі қара малдарында жиі кездесетін тұқым қуалайтын аурулардың саны көбеюде, дегенмен олардың көпшілігін молекулярлық-генетикалық әдістермен анықтауға болады. Негізінен генетикалық ақаулар өнімділігі жоғары асыл тұқымды жануарларда соның ішінде, голштейн, айршир, жерсей тұқымдарында латентті мутациямен сипатталып, сиырлардың эмбриональдік дамуына кері әсерін тигізуде. АҚШ-та жыл сайын осы мутациялар тудыратын аурулардың әсірінен, төлдердің өлі туылуынан өндіріске 11 млн доллардан аса шығын келтірілуде [1]. Қазақстандық ғалымдардың зерттеулері бойынша асыл тұқымды жануарларда тұқым қуалайтын аурулардың таралуын анықтау үшін: ПТР-РФҰП, Реал Тайм ПТР әдістерімен BLAD, CVM, DUMPS, BC, FXID, Brachyspina, HH1, HH3, HH4, HH5, HCD гаплотиптері анықталған [1, б. 128, 2, б. 166, 3, б. 27].

Қазіргі таңда әлем бойынша ірі қара малдарда 693 тұқым қуалайтын аурулары кездеседі, соның ішінде 60 астам генетикалық ақауларды молекулярлы –генетикалық әдістердің көмегімен анықтауға болады. Сонымен қатар жасырын генетикалық ақаулардың көбеюі, әсіресе голштейн, айршир, жерсей, сұр швед тұқымдарында жиі эмбриональдік өліммен сипатталып, ірі қаралардың өнімділігі төмендеуде. Америкалық ғалымдардың зерттеулерінде 9,4 миллион бас сүтті ірі қарада 20 жиі кездесетін ақаулар бар, аталған рецессивті аллельдер шаруашылыққа айтарлықтай экономикалық шығындар әкеледі. Осы аллельдерден болатын төлдердің өлуі туылуынан шаруашылыққа жылына 11 миллион доллар шығын келтірген [4, б. 3].

Қазіргі таңда Қазақстандық ғалымдар ірі қара малдарда кездесетін жасырын генетикалық ақауларды заманауи молекулярлы-генетикалық әдістермен (ПТР, РФҰП, Реал тайм ПТР) балау жасап, келесі тұқым қуалайтын аномалияларды BLAD, CVM, DUMPS, BC, FXID, Brachyspina синдромы, HH1, HH3, HH4, HH5, HCD сиырлардағы фертильділік гаплотиптерін және аталық бұқалардағы субфертильділік синдромын анықтады. Қазақстан Республикасына шетелдік селекциядан әкелінген голштейн тұқымды ірі қара малдарынан холестерин жетіспеушілігі (HCD фертильділік гаплотипті) фертильділік гаплотипінің гетерозиготалы мутация тасымалдаушыларының таралуы 11,8% болғаны анықталған [5, б. 53, 6, б. 72].

Елімізде жоғарғы дәрежелі асыл тұқымды мал басына генетикалық мониторинг жүргізгенде 100% жасырын генетикалық ақаулардың шығуы шаруашылықтар үшін тиімсіз, ол тексерілген мал басына шаққанда 20% құруы тиіс [7, б. 36]. Бізге белгілі болғандай голштейн тұқымды ірі қара малдарында кездесетін жасырын генетикалық ақаулардың басым бөлігі дүниежүзінің 160 елінен, олардың көпшілігі аналық бастардан қолдан ұрықтандыру кезінде, тұқым қуалайтын аномалиялардың таралатындығы анықталды. Шетелдік ғалымдардың зерттеу мәліметтері бойынша голштейн тұқымды ірі қара малдарында фертильділік гаплотипін тасымалдаушылар көрсеткіштері төмендегідей болған: HH1 – 1,6%, HH3 – 3,1%, HH4 – 4,2%, HH5 – 1,8%, HH6 – 2,4%, HH7 – 1,1% құрады. Жоғарыда келтірілген деректерге сәйкес генетикалық мониторинг кезінде фертильділік гаплотипті гетерозиготалы тасымалдаушылар еліміздің агроөнеркәсіптік кешендерінің ветеринариялық шараларына, тұқым қуалайтын аномалияларды детекциялау әдістерінде ветеринария ғылымының маңызды міндеттеріне жатады [8, б. 607].

Қазіргі таңда ғалымдар ірі қара малдардағы жасырын генетикалық ақауларды анықтау үшін заманауи әдістерді, атап айтқанда GeneSeek® Genomic Profiler™ Bovine 50K BeadChip әдісімен зиянды мутацияны тасымалдаушыны дәл және жылдам анықтау үшін осы технологияларды қолдануда. Осы технологияның көмегімен Уругвайда голштейн тұқымды популяциядан жартылай летальді және летальді аллельдерді тасымалдаушыларға синдактилия – 4,18%, брахиспина – 3,39%, холестериннің тапшылығы гаплотипі – 2,61%, омыртқаның кешенді кемтарлығы – 2,09%, BLAD – 1,04%, HH1 – 4,44%, HH3 – 3,13%, HH4 – 1,04%, HH5 – 0,26% таралған тұқым қуалайтын аномалияларды анықтады. Осы фактілер, жасырын генетикалық ақаулар мал басына тұрақты мониторинг жүргізгендігінен белгілі болды [9, б. 7].

Қазіргі таңда голштейн тұқымды ірі қараларда 10 (HCD, HH0, HH1, HH2, HH3, HH4, HH5, HH6, HH7, HH8) фертильділік гаплотиптері тіркелген, олардың көпшілігі ұрықтандыруға (өнімділігіне байланысты) немесе эмбриональдік және ерте постэмбриональдік дамудың әртүрлі кезеңдерінде өліммен байланысты 0,01 ден 2,95 % көрсеткіштерге ие болып келеді. Осы жағымсыз гаплотиптер Солтүстік Американың голштейн тұқымды ірі қаралар популяцияда ұрықтандыруды төмендетіп, күйлеу кезеңінде жасырын гаплотиптерді тасымалдаушы ретінде буаздықты тоқтатуға 1,0-9,9% кері әсерін тигізген [10, б. 94, 11, б. 2]. HH6 голштейн фертильділік гаплотипі – бұл голштейн тұқымды ірі қара малдардағы жаңа аутосомды рецессивті ақау болып табылады (OMIA 002149-9913). Ірі қара малдар буаздығының 35 күндігінде рецессивті гомозиготалы генотипті эмбриондар өліп қалады [12, б. 599, 13, б. 6220]. HH6 фертильділік гаплотипінің генетикалық ақауы 1987 жылы туылған MOUNTAIN USAM000002070579 асыл тұқымды бұқасында кездесті. Бұл мутация авторлардың зерттеулерінде g.29773628 A>G мутациясы ретінде NCBI деректер қорында Nrs434666183 тіркелген. HH6 мутациясын тасымалдаушы классикалық ПТР-РФҰП талдауларымен жүргізілген [14, б. 627]. HH6 фертильділік гаплотипін тасымалдаушы g.29773628A>G; SDE2 генінің missense мутацияның кодтау бөлігінде келесі праймерлермен WD:

GTTCCGCGACTGGGTGAGAT, МТ: GTTCCGCGACTGGGTGAGAC және CR: GAACCACACCACACCGCC TT қолданылды. KASP талдауын қолдану арқылы сиырлардың ДНҚ үлгілерін генотиптеу жабайы типті және мутантты түрдегі аллельдері үшін орташа флуоресценттік контрасттың ((FAM-HEX)/(FAM+HEX)) сәйкесінше 0,673 және 0,086 болғанын көрсетті. Айта кету керек, бұл екі генотипті олардың флуоресценттік сигналдарын салыстыру арқылы ажыратуға болады. Генетикалық скрининг нәтижесінде НН6 фертильділік гаплотипінің гетерозиготалы тасымалдаушылары 0,72% құрады. Ғалымдардың зерттеулері бойынша голштейн тұқымында НН6 фертилдік гаплотипі кезінде SDE2 ген құрамында пайда болған нүктелік мутацияның орналасуы анықталған: GTCTCCGCC[A>G]TCTCACCCAGT [15,б.1728].

Голштейн тұқымды ірі қаралар популяциясына талдау жасағанда, олардың өнімділігіне бірден бір әсер ететін генетикалық фактор болып саналады. Соңғы онжылдықта көптеген мәліметтер бойынша геномды рецессивті мутациялар ДНҚ тізбегіне, жануарлардың өнімділігімен байланысты гомозиготалы күйіне әсерін тигізіп, эмбриональді өлімге әкелуде. Осыған байланысты асыл тұқымды ірі қаралардың фертильділік гаплотиптерінің популяциясын анықтау мен идентификациялау маңызды бөлігі болып табылады. Көбеюге кері әсерін тигізетін шешуші фактор бұл популяциядағы зиянды мутациялардың жоғары жиілігінен туындайтын генетикалық фактор болып табылады. Әдебиеттерден алынған талдаулардан белгілі болғандай, голштин тұқымы популяцияда жасырын геномды мутациялардың көпшілігі сәйкес геннің экзонды бөлігінде кездесіп, гомозиготалы нұсқада сиырлардың өнімділігін төмендетеді. Өнімділігі жоғары бұқалардың санын шектемей, кең көлемде ұрықтандыруға пайдалану генетикалық полиморфизм деңгейін төмендетті. Ғалымдар Свердлов облысының 2 шаруашылығынан генетикалық ақауларды тасымалдаушыларды анықтау мақсатында голштин тұқымды 584 бас сиырға ДНҚ сынамаларын жүргізіп НН0, НН1, НН3, НН4, НН5, НН6, НН7, ННВ, BLAD, ННС, RABGGTB, RNF20, TTF1 анықтады [16, б.921].

Қазіргі таңда голштейн тұқымды ірі қаралар үшін жеті летальді гаплотиптер: НН1, НН2, НН3, НН4, НН5, ННД, ННО (брахиспина) белгілі болды. Тағы бір жаңа гаплотип – НН6 (Fritz et al., 2018) зерттелуде. Асыл тұқымды жануарларды геномды күйін бағалау үшін летальді гаплотиптерді тасымалдаушылар жатқызылмайды. Сондықтан жануарларды моногеномды ауру тасымалдауда және гаплотиптеріне генетикалық мониторинг жүргізу өте маңызды болып табылады. Осыған байланысты шаруашылықтардағы ірі қараларға жан-жақты генетикалық мониторинг жүргізіліп, олардың генетикалық ауруларды тасымалдаушылығы, летальді гаплотиптеріне, сүттегі белоктар генінің аллельді құрамына қарай тексеріледі [17, б.489]. Алғашқыда өнімділіктің сапасы туғаннан кейінгі болатын клиникалық аурулармен, сонымен қатар метаболикалық стресспен, сүттілік кезеңімен сипатталса, қазіргі таңда осы шараларды төмендету үшін генетикалық факторлар қарастырылады [18, б.3]. Голштейн тұқымды популяцияда, өнімділігі жоғары аталықтардың аз басынан, қолдан ұрықтандыру кезінде, сонымен қатар инбридинген біржақты селекцияны, тек сүтті бағыттағы өнімділікті белсенді қолданған кезде генетикалық ауруларға көңіл аударылады. Голштейн тұқымды ірі қараларда тұқым қуалайтын аурулар экономикалық зиян келтірумен қатар, өнімділікті азайтып, перинатальді және постнатальді шығындарға әкеледі [19,б.2]. Екіншіке орай, соңғы жылдары негізгі ауқымды мәселелердің бірі ірі қара малдарының барлық тұқымдарында зиянды летальді рецессивті мутациялар таралып, жаңа ақаулар пайда болып, қайталануда [20,б.52]. Фертильділік жануарлардың өнімділік көрсеткіштерімен күтіміне байланысты маңызды қасиет. Летальді аллельдер эмбриональді өлім, түсік тастау және өлі туу арқылы фертильділікке әсер етеді [21,б.3]. Екі мутант геннің тұқым қуалауы (біреуі өкеден, екіншісі анадан) ұрпаққа жағымсыз белгілердің көрінуіне әкеледі. Тұқым қуалайтын ауытқулардың көптеген тасымалдаушылары тек зақымданған ДНҚ құрылымын молекулярлық технологияның көмегімен анықтауға болады [22,б.111]. Осыған байланысты маңызды практикалық аспект голштейндік ірі қара малдарда анықталған рецессивті летальді мутацияларды зерттеу және олардың популяциялар арасында таралу жиілігін бағалау болып табылады. Өртүрлі кариотиптік ауытқуларды, олардың пайда болу жиілігін зерттеу, генетикалық ақаулары бар малдарды анықтау, олардың көбею жүйесін жою репродуктивті ауытқулардың жиілігін азайтады [23,б.92]. Генетикалық бұзылулар ДНҚ-да кодталған тұқым қуалайтын ақпараттың өзгеруінен туындайды, бұл организмдердің күш қуаты мен өміршеңдігі үшін теріс салдарға жеткізеді. Кейбір мутациялар буаздықтың кез келген кезеңінде эмбриональді өлімге әкелуі мүмкін [24,б.1052]. Зерттеу 78 884 голштейн-фриз сиырынан және 691 бұқадан алынған генотип деректеріне негізделген. Зерттеулер Illumina Infinium микрочиптері арқылы жүргізілді. Бұқалар мен сиырлар арасында ең жоғарғы тасымалдаушы көрсеткіш НН5 (тиісінше 6,7% және 5,4%) анықталды. Тасымалдаушылардың ең төменгі тарифтері DUMPS, XI фактор және ННМ табылды [25,б.3170]. 2018 жылы гомозиготалық жоғалған аймақтарды анықтау әдісін қолдану арқылы SDE2 геніндегі голштейн тұқымды ірі қара малда жаңа генетикалық аномалия (g.29773628A>G; rs434666183) анықталды. Ол гетерозиготалы күйде НН6 гаплотипін тасымалдаушы, гомозиготалы жағдайда эмбрионның өсуінің баяулауын және буаздықтың 56-шы күніне дейін өздігінен түсік тастауды тудырады. Қазіргі голштейн популяциясында НН6 гаплотипін тасымалдаушылардың пайда болу жиілігі шамамен 1,2% құрайды [26,б.8].

Зерттеудің мақсаты. «Междуреченск АГРО» жауапкершілігі шектеулі серіктестігінің сүт фермасындағы голштейн тұқымды сиырларында НН6 фертилдік гаплотипінің таралуын зерттеу және осы генетикалық ақаудың молекулярлық генетикалық балау әдісін оңтайластыру.

Зерттеу міндеттері – «Междуреченск Агро» сүт фермасында 150 бас голштейн сиырларынан зерттеу тобын құру, олардан қан үлгілерін алу, қан үлгілерінен ДНҚ бөліп алып, оның сапасын тексеру, HH6 фертильділік гаплотипіне ПТР-РФҰП, KASP әдістерімен мониторинг жүргізу, гетерозиготалы тасымалдаушы сиырларды анықтау.

Материалдар мен зерттеу әдістері. Зерттеуге материалы ретінде шет елдік селекциядағы «Междуреченск Агро» сүт фермасына қарасты голштейн сиырларының қатырылған 150 бастан алынған қан үлгілерін қолдандық. Жануарлардан қан күре тамырынан немесе кейбір жағдайларда құйрық вена-сынан ЭДТА бар вакуумдық пробиркаларға алынды. Диаметрі G18 бір реттік инелер пайдаланылды. Қан үлгілері мұздатқышта минус 18-20 градус температурада сақталды. HH6 фертильділік гаплотипін тасымалдаушылардың ПТР балауы үшін 150 сынама үлгілері қолданылды. Қатырылған қаннан геномдық ДНҚ алу жұмыстары Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университетінің, Қазақстан-Жапон инновациялық орталығының «Жасыл биотехнология және жасушалық инженерия зертханасында» екі әдіспен: классикалық фенол әдісімен және өндірушінің нұсқауларына сәйкес коммерциялық PureLink™ геномдық ДНҚ шағын жинағы арқылы жүргізілді. ДНҚ бөліп алу үшін 100 мкл қан пайдаланылады. Қаннан ДНҚ алу хаттамасы: 100 мкл толық қан + 100 мкл Digestion Buffer + 20 мкл протеиназа K қыздыру үшін 56° С температурада 20 минут бойы ұсталынды. 200 мкл лизис буферін алдық және 15 мкл Rnase қосып және 70°С температурада 10 минут инкубацияладық. 200 мкл этанол 96-100% пайдаландық. Сүзілген пробиркаға шамамен 700 мкл қосып, 8000 айналымда 2 мин центрифугаладық. ДНҚ үлгілерін жудық. WB1 500 мкл центрифугада 8000 айналым 2 мин, WB2 500 мкл центрифугада 13000 айналымда 1 мин центрифугаланды. Содан кейін 50 мкл Elution buffer 2 минутқа қосып, 70°С температурада қыздырып, 13000 айналымда 1 минут центрифугаладық. Сүзілген 1,5 мл ерітіндіні алып, қалғанын қайтадан құйып және 13000 айн/мин жылдамдықпен 1 мин центрифугаладық. Сүзгілерді алып тастадық. Қалғаны бөлінген ДНҚ. ДНҚ үлгілерін 2-5 минут ішінде сорғыштың астында кептіріліп, TE буферінде ерітілді. Бөлінген ДНҚ сапасы микроспектрофотометриялық талдау (NanoDrop™ 2000) көмегімен концентрацияны өлшеу арқылы бағаланды, ДНҚ тазарту дәрежесі A260/A280 индикаторларының арақатынасы бойынша анықталды.

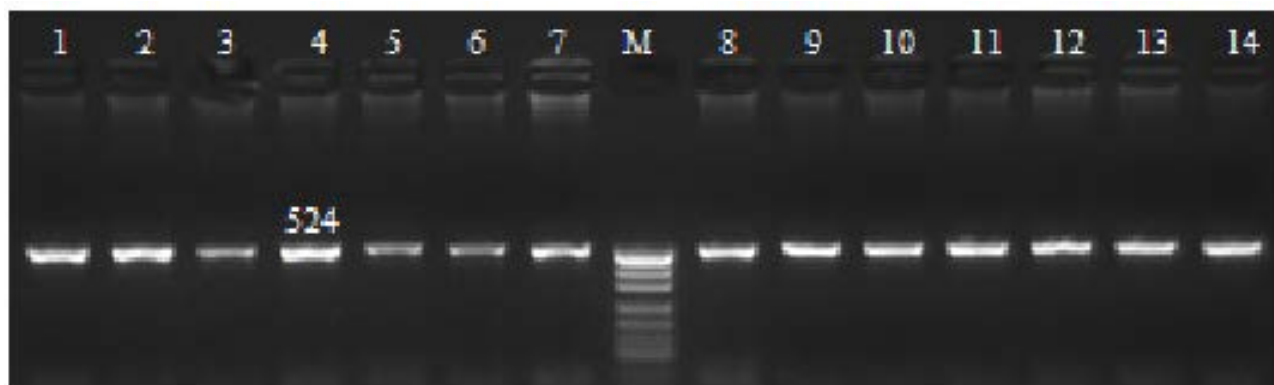
Сиырлардың HH6 фертилдік гаплотипіне генетикалық мониторингі үшін авторлардың жұмысында сипатталған тура F-5'-GACGGAAGCCCCCTCACTATCA-3' және кері R-5'-CTTCTCTTAGCAACGCCTCG-3' праймерлері пайдаланылды, алынған амплификат ұзындығы 524 ж.н. SDE2 генінің аллельдерінің жабайы және мутантты түрлерін анықтау CCATC(N) тану сайтымен BclI эндонуклеазасымен ПТР өнімін рестрикция жасау арқылы жүзеге асырылды.

Балама зерттеу әдісі ретінде, сонымен қатар, HH6 фертилдік гаплотипіне балау жасау үшін келесі праймерлер қолданылды: тура праймер жабайы типке сәйкес WD F-5'-GTTCCGCGACTTGGGTGAGAT-3' және тура праймер мутантты аллелге сәйкес MT – F-5'- GTTCCGCGACTGGGTGAGAC-3', жалпы кері праймер – CR – R-5'- GAACGAACACACACACCGCCTT-3'. SDE2 генінің фрагменті және кері праймерлердің орналасуы: GCGACTGGGTGAGATGGCGGAGACGGCGCGCTGGTGTGGCTTCGGGGCCCT GGCTTCGGGTGCAAGGCGGTGTGGTGTGGTTC. [15, с. 1728]. Айта кету керек, SDE2 генінің амплификация жасаған фрагментінің ұзындығы 524 ж.н. алайда, FASTA форматындағы NCBI веб-сайтындағы ақпаратты пайдалана отырып, SDE2 генінің ұзындығы 84 ж.н. бөлігінің ретін анықтау мүмкін болды; шамамен, бұл ген тізбегінің қалған бөлігі көрсетілген геннің 5'- фланкирлеуші немесе промоторлық бөлігінде орналасқан. HH6 фертилдік гаплотипіне балау жасау үшін амплификация жүргізудің температуралық параметрлері мен үрдістің ұзақтықтары кесте 1 берілген.

Кесте 1 – HH6 фертильділік гаплотипінің гетерозиготалы тасымалдаушыларын анықтау үшін екі түрлі әдістермен амплификация жүргізу шарттары

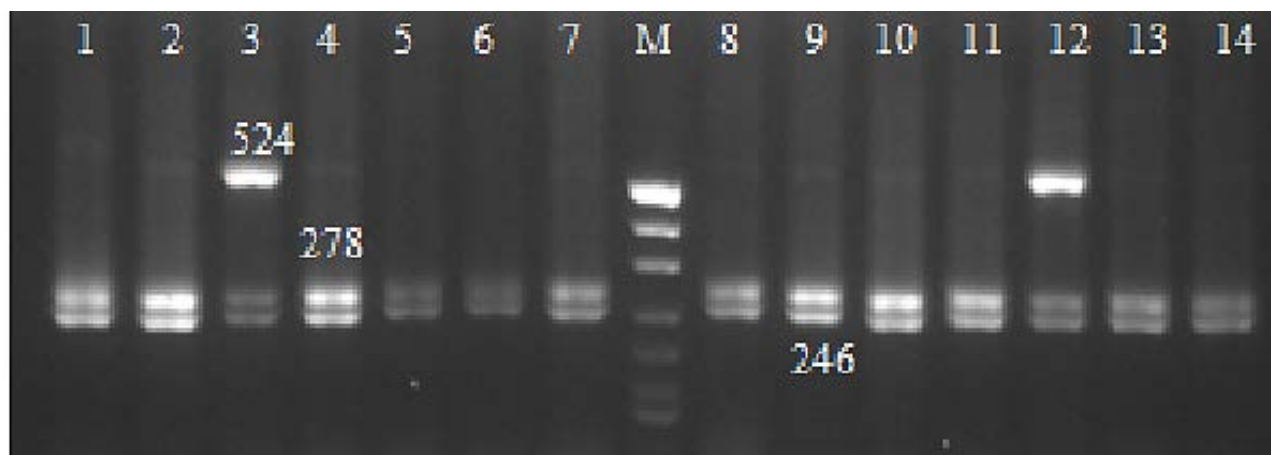
Амплификация жүргізу шарттары	HH6 фертилдік гаплотипі	
I саты алғашқы денатурация 1 цикл	95°С – 3 мин	95°С – 5 мин
II саты: денатурация праймерлердің жабысуы элонгация	94°С – 30 с 61°С – 30 с 72°С – 30 с	94°С – 30 с 62°С – 30 с 72°С – 30 с
III саты: аяқтаушы синтез 1 цикл	72°С -5 мин	72°С -5 мин
Циклдер саны	35	35
Зерттеу әдісі	ПТР-РФҰП талдауы	KASP әдісі
Программаның атауы	SDE2	SDE2
Қолданылған эндонуклеаза және сайт рестрикциясы	BclI CCATC	Қолданылмайды

Нәтижелер және оларды талқылау. Зерттеу жұмысы көлемінде Алматы облысы Іле ауданына қарасты «Междуреченск АГРО» сүт фермасындағы голштейн тұқымдас сиырларына ПТР-РФҰП және KASP әдістерінің көмегімен HH6 фертильдік гаплотипіне генетикалық мониторинг жүргізілді.



1 сурет – SDE2 гені амплификатының электроферограммасы, фрагментінің ұзындығы 524 ж.н., М-ДНҚ маркер рUC19/MspI

Ірі қара малдарының HH6 фертильділік гаплотипінің генетикалық ақауы SDE2 генінің кодтау бөлігіндегі g.29773628 A>G позициясында нүктелік мутация нәтижесінде пайда болғаны белгілі, сондықтан осы генетикалық ақаудың гетерозиготалы тасымалдаушыларын балау үшін классикалық ПТР-РФҰП әдісі таңдалды, тура F-5'-GACGGAAGCCCCTCACTATCA-3' және кері R-5'-CTTCTCTTAGCAACGCCTCG-3' праймерлерді қолдану нәтижесінде алынған ПТР өнімінің ұзындығы 524 ж.н. құрады (сурет 1). SDE2 генінің аллельдерінің жабайы және мутантты түрлерін идентификация үшін BclI рестриктазасы ферментімен гидролизденді, нәтижесінде дені сау гомозиготалы сиырларда электроферограммада ұзындықтары 278 ж.н. және 246 ж.н. фрагменттері түзіледі (ұяшықтар 1-2, 4-7, 8-11, 13-14), ал гетерозиготалы тасымалдаушы жануарларда электроферограммада үш фрагменттер пайда болады: 524 ж.н., 278 ж.н. және 246 ж.н. (ұяшықтар 3,12) (сурет 2).



2 сурет – SDE2 гені амплификатының BclI эндонуклеазасымен рестрикциядан кейінгі электроферограммасы, 1-2, 4-7, 8-11, 13-14 ұяшықтар гомозиготалы дені сау жануарлар, фрагменттер – 278 ж.н., 246 ж.н., 3,12 ұяшықтар гетерозиготалы тасымалдаушылар, фрагменттер – 524 ж.н., 278 ж.н., 246 ж.н., М-ДНҚ маркері рUC19/MspI

Шет ел мамандары HH6 фертильдік гаплотипіне балау жасау үшін келесі праймерлердің көмегімен WD F-5'-GTTCCGCGACTTGGGTGAGAT-3' және тура праймер мутантты аллелге сәйкес MT – F-5'-GTTCCGCGACTGGGTGAGAC-3', жалпы кері праймер – CR – R-5'- GAACGAACCACACCACCCGCCTT-3' KASP әдісін қолдана отырып генетикалық мониторинг жүргізген [15,с.1728]. Біздің зерттеу жұмысында қосымша балау әдісі ретінде KASP әдісінің көмегімен балау жүргізілген. Аталған әдіспен балау жасау нәтижесінде дені сау гомозиготалы жануарларда электроферограммада тек бір фрагмент пайда болады, ұзындығы 88 ж.н. (сурет 3). Тексерілген барлық сиырлардың генотипі гомозиготалы болғаны анықталды.



3 сурет – SDE2 гені амплификатының KASP әдісінің көмегімен амплификация жасау нәтижесінде түзілген амплификат электрофореграммасы, 1-8, 9-14 ұяшықтар гомозиготалы дені сау жануарлар, фрагменттер – 88 ж.н., М-ДНК маркері pUC19/MspI

Зерттеуді жүзеге асыру шеңберінде екі маңызды міндет орындалды: голштейн сиырларындағы HH6 фертильділік гаплотипінің гетерозиготалы тасымалдаушыларын балау әдістерін оңтайландырылды. HH6 фертильділік гаплотипінің тасымалдаушыларын балауға ПТР-РФҰП әдісін қолданудың тиімділігі көрсетілді, алынған SDE2 генінің ПТР өнімі BclI рестриктазасымен кесу арқылы осы геннің жабайы және мутантты аллелдері идентификацияланды. «Междуреченск АГРО» ЖШС сүт фермасының 150 бас голштейн сиырларына ДНҚ тексеру жүргізіліп, HH6 фертильділік гаплотипінің таралуы анықталды, сиырларда бұл гаплотиптің кездесу жиілігі аса жоғары болмады және ол көрсеткіш 4,67% құрады.

2 кесте – «Междуреченск АГРО» сүт фермасындағы голштейн тұқымды сиырларда HH6 фертильділік гаплотипін гетерозиготалы тасымалдаушыларының таралуы

Генетикалық ақаудың және геннің атауы, анықтау әдісі	Тұқымы, жынысы және жануарлардың саны
	Голштейн тұқымы, сиыр (n=150)
HH6 фертильділік гаплотипі, SDE2 гені, ПТР-РФҰП әдісі	
wt/wt (гомозиготалы генотип)	143/95,33%
wt/mt (гетерозиготалы генотип)	7/4,67%
mt /mt (гомозиготалы генотип)	0

Асыл тұқымды малдардағы тұқым қуалайтын аномалиялардың таралуын бақылау үшін, әсіресе асыл тұқымды сиырларды генетикалық скринингтен өткізу қажет деп есептейміз. Сиырларда HH6 фертильділік гаплотипінің тасымалдаушыларын балау үшін қосымша балау тәсілі ретінде KASP әдісін қолдануға болады, үлгілер гомозиготалы дені сау жануарларда электрофореграммада ұзындығы 84 ж.н. фрагмент пайда болады.

Қорытынды. Шет ел әдебиеттеріне талдау жасау нәтижесінде голштейн тұқымдас сиырларда HH6 фертильділік гаплотипінің пайда болу механизмі анықталды, аталған генетикалық кемтарлық голштейн тұқымында SDE2 генінің ақпараттық бөлігінде келесі позициясында g.29773628A>G нүктелік мутацияның нәтижесінде пайда болғаны анықталды (A>G). Зерттеу жұмысында HH6 фертильділік гаплотипінің генетикалық пайда болу табиғатына сәйкес балау жасау үшін классикалық ПТР-РФҰП әдісі қолданылды. SDE2 генінің ақпараттық бөлігінде орналасқан g.29773628A>G SNP полиморфизмін детекция жасау үшін алынған ПТР өнімін тану сайты CCATC(N) тізбектерінен тұратын BclI эндонуклеаза-сын пайдаландық. Нәтижесінде, дені сау гомозиготалы жануарларда электрофореграммада ұзындықтары 278 ж.н., 246 ж.н. тұратын фрагменттер, ал гетерозиготалы тасымалдаушы жануарларда ұзындықтары 524 ж.н., 278 ж.н., 246 ж.н. тұратын үш фрагменттердің болатыны анықталды. Сиырларда HH6 фертильділік гаплотипінің гетерозиготалы тасымалдаушыларын балауға қосымша KASP әдісінің қолданылды және дені сау гомозиготалы сиырларда электрофореграммада тек бір, ұзындығы 88 ж.н. тұратын фрагмент пайда болды. Аталған әдістер сиырларға HH6 фертильділік гаплотипіне балау жасауға мүмкіндік береді. Алматы облысы Іле ауданы «Междуреченск АГРО» сүт фермасындағы шет елдік селекциядағы 150 бас сиырлардағы HH6 фертильділік гаплотипінің гетерозиготалы тасымалдаушылар үлесі жоғары болмады және 4,67% құрады.

ӘДЕБИЕТТЕР:

1. Усенбеков Е.С., Яковлев А.Ф., Акимжан Н.А. Результаты мониторинга быков-производителей на носительство генетических дефектов [Текст] / Е.С. Усенбеков, А.Ф. Яковлев, Н.А. Акимжан // КазНУ Вестник серия биологическая. – Алматы. – 2016. – №2 (67). – С. 128-139.

2. Усенбеков Е.С., Жансеркенова О.О., Касымбекова Ш.Н., Акимжан Н.А., Бименова Ж.Ж., Мухитдинова Ж.Е., Азизов К.А. **REAL-TIME PCR SNPs диагностика синдрома BRACHYSPINA у племенных быков-производителей** [Текст] / Е.С. Усенбеков, О.О. Жансеркенова, Ш.Н. Касымбекова, Н.А. Акимжан, Ж.Ж. Бименова, Ж.Е. Мухитдинова, К.А. Азизов // XX Международная научно-практическая конференция аспирантов и молодых ученых «Инновационные направления развития АПК и повышение конкурентоспособности предприятий, отраслей и комплексов – вклад молодых ученых». – Ярославская ГСХА. – 2017. – С. 166-169.
3. Ussenbekov Y., Bagdat A., Bimenova Zh., Orynkhanov K., Przemyslaw S., Samardžija M., Chandra S.P., Attila D. **Identification of monomorphic and polymorphic genes associated with recessive fertility defects in Holstein cows reared in Kazakhstan** [Text] / Y. Ussenbekov, A. Bagdat, Zh. Bimenova, K. Orynkhanov, S. Przemyslaw, M. Samardžija, S.P. Chandra, D. Attila // Veterinarski Arhiv. – Zagreb. – 2022. – №92 (1). – P.27-35. DOI: 10.24099/vet.arhiv.1390.
4. Cole J.B., VanRaden P.M., Null D.J., Hutchison J.L., Hubbard S.M., AIP Research Report **GENOMIC 5: Haplotype tests for recessive disorders that affect fertility and other 346 traits**. [Text] / J. B. Cole, P. M. VanRaden, D. J. Null, J. L. Hutchison, S. M. Hubbard // Animal Improvement Program, Animal Genomics and Improvement Laboratory, Agricultural Research Service. – USDA, Beltsville. – 2021.
5. Усенбеков Е.С., Касымбекова Ш.Н., Соломадин М.В. **Альтернативные методы детекции комплексного уродства позвоночника (CVM) у племенных животных** [Текст] / Е.С. Усенбеков, Ш.Н. Касымбекова, М.В. Соломадин // Известия НАН РК. – Алматы. – 2016. – № 4(34). – С. 53-57.
6. Ертелеева М.У., Омарбекова Г.К., Усенбеков Е.С. **Детекция генетических дефектов BLAD, CVM и DUMPS у коров методом полимеразной цепной реакции**. [Текст] / М.У. Ертелеева, Г.К. Омарбекова, Е.С. Усенбеков // Материалы международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знание молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны». – Санкт-Петербург, 2017. – С. 72-73.
7. Lindsay R.U., Brian P.K., Michael D.M., Alison L.V.E. **Management of lethal recessive alleles in beef cattle through the use of mate selection software** [Text] / R.U. Lindsay, P.K. Brian, D.M. Michael, L.V.E. Alison // Genet Sel Evol. – Iowa State University, United States. – 2019. – №51. – 36 p. <https://doi.org/10.1186/s12711-019-0477-3>.
8. Hozé C., Escoufflaire C., Mesbah-Uddin M., Barbat A., Boussaha M., Deloche M. C., Boichard D., Fritz S., Capitan A. **Short communication: A splice site mutation in CENPU is associated with recessive embryonic lethality in Holstein cattle** [Text] / C. Hozé, C. Escoufflaire, M. Mesbah-Uddin, A. Barbat, M. Boussaha, M.C. Deloche, D. Boichard, S. Fritz, A. Capitan // Journal of Dairy Science – 2020. – №103. – P.607–612. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17056>.
9. Carolina B.-R., Agustín R., Silvia L.Í, Andrea B.S., María T., Federici R., Federico G., Rubén D. C., Carlos O. Sch., María L. C., Fernando D. Q. **Lethal and semi-lethal mutations in Holstein calves in Uruguay** [Text] / B.-R. Carolina, R. Agustín, L.Í. Silvia, B.S. Andrea, T. María, R. Federici, G. Federico, D.C. Rubén, O. Sch. Carlos, L.C. María, D.Q. Fernando // Ciência Rural, Santa Maria. – 2021. – Vol.51. – 7 p.
10. Van Raden P.M., Olson K.M., Null D.J., Hutchison J.L. **Harmful recessive effects on fertility detected by absence of homozygous haplotypes**. [Text] / P.M. Van Raden, K.M. Olson, D.J. Null, J.L. Hutchison // Journal of Dairy Science. – 2011. – №94. – P.6153- 6161 DOI: 10.3168/jds.2011-4624.
11. Fritz S., Capitan A., Djari A., Rodriguez S.C., Barbat A., Baur A., Grohs C., Weiss B., Boussaha M., Esquerre D., Klopp C., Rocha D., Boichard D. D. **Detection of haplotypes associated with prenatal death in dairy cattle and identification of deleterious mutations in GART, SHBG and SLC37A2**. [Text] / S. Fritz, A. Capitan, A. Djari, S.C. Rodriguez, A. Barbat, A. Baur, C. Grohs, B. Weiss, M. Boussaha, D. Esquerre, C. Klopp, D. Rocha, D.D. Boichard // PLoS One. – 2013. – 8(6): <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065550>.
12. Ruan Felipe V.M., Camila A.O. **Guidelines for the Tetra-Primer ARMS-PCR Technique Development** [Text] / V.M. Ruan Felipe, A.O. Camila // Mol Biotechnol. – 2014. – №56. – P.599–608. DOI 10.1007/s12033-014-9734-4
13. Fritz S., Hoze C., Rebours E., Barbat A., Bizard M., Chamberlain A., Escoufflaire C., Vander J.C., Boussaha M., Grohs C., Allais-Bonnet A., Phillippe M., Vallee A., Amigues Y., Hayes B.J., Boichard D., Capitan A. **An initiator codon mutation in SDE2 causes recessive embryonic lethality in Holstein cattle** [Text] / S. Fritz, C. E. Hoze, A. Rebours, Barbat, M. Bizard, etc. // Journal of Dairy Science. – 2018. – №101. – P.6220-6231.
14. Kamiński S. **Missense mutation in SDE2 gene – new lethal defect transmitted into Polish Holstein-Friesian cattle** [Text] / S. Kamiński // Polish Journal of Veterinary Sciences. – 2019. – Vol. 22, №3. – P.627–630. DOI 10.24425/pjvs.2019.129974.
15. Md. Yousuf A.Kh., Abdullah O., Yuwei H., Shaohu Ch., Shengli Zh., Wei X., Yi Zh. **Prevalence of nine genetic defects in Chinese Holstein cattle** [Text] / A.Kh. Md. Yousuf, O. Abdullah, H. Yuwei, Ch. Shaohu, Zh. Shengli, X. Wei, Zh. Yi // Vet Med Sci. – Tokyo. – 2021. – №7. – P.1728–1735. DOI: 10.1002/vms3.525.
16. Степанов А.В., Быкова О.А., Костюнина О.В., Зырянова А.А., Шевкунов О.А. **Идентификация гаплотипов фертильности крупного рогатого скота** [Текст] / А.В. Степанов, О.А. Быкова, О.В.

Костюнина, А.А. Зырянова, О.А. Шевкунов // Аграрный вестник Урала. – 2024. – Т. 24, №7. – С. 921–931. <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2024-24-06-921-931>.

17. **Пантюх К.С., Рукин И.В., Портнов С.М., Хатиб А., Пантелеев С.Л., Мазур А.М. Применение полногеномной амплификации для генетической оценки эмбрионов коров.** [Текст] / К.С. Пантюх, И.В. Рукин, С.М. Портнов, А. Хатиб, С.Л. Пантелеев, А.М. Мазур // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2019, Т.23. – №4 – С. 489-495. <https://doi.org/10.18699/VJ19.518>.

18. **Шевкунов О.А., Костюнина О.В., Быкова О.А., Зырянова А.А. Идентификация гапоблоков, потенциально ассоциированных с эмбриональной смертностью крупного рогатого скота черно-пестрого корня.** [Текст] / О.А. Шевкунов, О. В. Костюнина, О. А. Быкова, А. А. Зырянова // Аграрный вестник Урала. – 2024, Т. 24 – № 08. – С.1082-1095 <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2024-24-08-1082-1092>.

19. **Кожуховская В.В., Зайцева О.С., Мартынов Н.А., Зубарева В.Д. Летальные гаплотипы в популяции голштинского крупного рогатого скота и их роль в воспроизводстве.** [Текст] / В.В. Кожуховская, О.С. Зайцева, Н.А. Мартынов, В.Д. Зубарева // Животноводство и кормопроизводство. – 2021, Т.104 – №3. – С.155-163 DOI: 10.33284/2658-3135-104-3-155.

20. **Трухачев В.И., Злыднев Н.З., Олейник С.А., Селионова М.И., Чижова Л.Н., Бобрышова Г.Т. ДНК-диагностика наследственных заболеваний молочного скота** [Текст] / В.И.Трухачев, Н.З. Злыднев, С.А. Олейник, М.И. Селионова, Л.Н. Чижова, Г.Т. Бобрышова // Фермер. Черноземье. – 2018. – № 9(18). – С. 52–56.

21. **Sudhakar A., Nayee N., Saha S. et al. Role of genetic introgression in introducing mutant alleles in Bos indicus cattle and prevalence of lethal genetic disorders in Bos taurus × Bos indicus and Bos indicus cattle in India** [Text] / A. Sudhakar, N.Nayee, S.Saha et al. // Tropical Animal Health and Production. – 2023. – Vol. 55. Article number 399. DOI: 10.1007/s11250-023-03798-8.

22. **Суханова О.Г. Анализ некоторых генетических заболеваний крупного рогатого скота голштинской породы** [Текст] / О. Г. Суханова // Приоритетные векторы развития промышленности и сельского хозяйства: материалы III Международной научно-практической конференции. Макеевка: Донбасская аграрная академия, 2020. – С.111–114.

23. **Саприкина Т.Ю., Криворучко А.Ю., Скокова А.В. Генетические аномалии крупного рогатого скота (обзор)** [Текст] / Т.Ю. Саприкина, А.Ю. Криворучко, А.В. Скокова // Сельскохозяйственный журнал. 2022. – № 2 (15). – С.92–102. DOI: 10.25930/2687-1254/011.2.15.2022.

24. **Gozdek M., Mucha S., Prostek A., Sadkowski T. Selected Monogenic Genetic Diseases in Holstein Cattle** [Text] / M. Gozdek, S. Mucha, A. Prostek, T. Sadkowski // A Review. Genes. – 2024, Т.15 – №8. – 1052p. <https://doi.org/10.3390/genes15081052>.

25. **Gozdek M., Mucha S., Prostek A., Kamola D., Sadkowski T. Distribution of Recessive Genetic Defect Carriers in Holstein Friesian Cattle: A Polish Perspective.** [Текст] / M. Gozdek, S. Mucha, A. Prostek, D.Kamola, T.Sadkowski // Animals. – 2024. – №14, 3170. <https://doi.org/10.3390/ani14223170>.

26. **Ковалюк Н.В., Сацук В.Ф., Мачульская Е.В., Шахназарова Ю.Ю. Нвый гаплотип фертильности крупного рогатого скота голштинской породы** [Текст] / Н.В. Ковалюк, В.Ф.Сацук, Е.В. Мачульская, Ю.Ю.Шахназарова // Молочное и мясное скотоводство. – 2020. – №4, Р.8–9 DOI 10.33943/MMS.2020.27.45.002.

REFERENCES:

1. **Usenbekov E.S., Yakovlev A.F., Akimzhan N.A. Rezul'taty' monitoringa by'kov-proizvoditelej na nositel'stvo geneticheskikh defektov** [Results of monitoring servicing bulls for carriage of genetic deficits]. *KazNU Vestnik. Seriya biologicheskaya*, 2016, no. 2 (67), pp. 128-139. (In Russian)

2. **Usenbekov E.S., Zhanserkenova O.O., Kasymbekova Sh.N., et al. REAL-TIME PCR SNPs diagnostika sindroma BRACHYSPINA u plemenny'h by'kov-proizvoditelej** [REAL-TIME PCR SNPs diagnostics of BRACHYSPINA syndrome in servicing bulls]. *XX Mezhdunarodnaya nauchno-prakticheskaya konferenciya aspirantov i molody'h ucheny'h «Innovacionny'e napravleniya razvitiya APK i povы'shenie konkurentosposobnosti predpriyatij, otraslej i kompleksov – vklad molody'h ucheny'h»*, Yaroslavl'skaya GSHA, 2017, pp. 166-169. (In Russian)

3. **Ussenbekov Y., Bagdat A., Bimenova Zh., et al. Identification of monomorphic and polymorphic genes associated with recessive fertility defects in Holstein cows reared in Kazakhstan.** *Veterinarski Arhiv*, 2022, vol. 92, no. 1, pp. 27-35. DOI: 10.24099/vet.arhiv.1390.

4. **Cole J.B., VanRaden P.M., Null D.J., Hutchison J.L., Hubbard S. M., AIP Research Report GENOMIC 5: Haplotype tests for recessive disorders that affect fertility and other 346 traits.** Animal Improvement Program, Animal Genomics and Improvement Laboratory, Agricultural Research Service. – USDA, Beltsville, 2021.

5. **Usenbekov E.S., Kasymbekova Sh.N, Solomadin M.V. Al'ternativny'e metody' detekcii kompleksnogo urodstva pozvonochnika (CVM) u plemenny'h zhivotny'h** [Alternative methods for detecting complex vertebral malformations (CVM) in breeding animals]. *Izvestiya NAN RK*, Almaty, 2016, no. 4(34), pp. 53-57. (In Russian)

6. Erteleva M.U., Omarbekova G.K., Usenbekov E.S. **Detekciya geneticheskikh defektov BLAD, CVM i DUMPS u korov metodom polimeraznoj cepnoj reakcii** [Detection of BLAD, CVM, and DUMPS genetic deficits in cows using polymerase chain reaction]. *Materialy' mezhdunarodnoj konferencii studentov, aspirantov i molody'h ucheny'h «Znanie molody'h dlya razvitiya veterinarnoj mediciny' i APK strany»*, Saint Petersburg, 2017, pp. 72-73. (In Russian)
7. Lindsay R.U., Brian P.K., Michael D.M., Alison L.V.E. **Management of lethal recessive alleles in beef cattle through the use of mate selection software**. *Genetics Selection Evolution*, 2019, no. 51, art. 36. <https://doi.org/10.1186/s12711-019-0477-3>.
8. Hozé C., Escoufflaire C., Mesbah-Uddin M., et al. **Short communication: A splice site mutation in CENPU is associated with recessive embryonic lethality in Holstein cattle**. *Journal of Dairy Science*, 2020, no. 103, iss. 1, pp. 607–612. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17056>.
9. Carolina B.-R., Agustín R., Silvia L.Í, et al. **Fernando Dutra Quintela. Lethal and semi-lethal mutations in Holstein calves in Uruguay**. *Ciência Rural*, Santa Maria, 2021, vol. 51, 7 p.
10. Van Raden P.M., Olson K.M., Null D.J., Hutchison J.L. **Harmful recessive effects on fertility detected by absence of homozygous haplotypes**. *Journal of Dairy Science*, 2011, vol. 94, iss. 12, pp. 6153-6161. DOI: 10.3168/jds.2011-4624.
11. Fritz S., Capitan A., Djari A., et al. **Detection of haplotypes associated with prenatal death in dairy cattle and identification of deleterious mutations in GART, SHBG and SLC37A2**. *PLoS ONE*, 2013, 8(6), art. e65550. DOI: 10.1371/journal.pone.0065550.
12. Ruan Felipe V.M., Camila A.O. **Guidelines for the Tetra-Primer ARMS-PCR Technique Development**. *Mol Biotechnol*, 2014, no. 56, pp. 599–608. DOI: 10.1007/s12033-014-9734-4.
13. Fritz S., Hoze C., Rebours E., et al. **An initiator codon mutation in SDE2 causes recessive embryonic lethality in Holstein cattle**. *Journal of Dairy Science*, 2018, vol. 101, iss. 7, pp. 6220-6231. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14119>.
14. Kamiński S. **Missense mutation in SDE2 gene – new lethal defect transmitted into Polish Holstein-Friesian cattle**. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 2019, vol. 22, no. 3, pp. 627–630. DOI 10.24425/pjvs.2019.129974.
15. Md. Yousuf A.Kh., Abdullah O., Yuwei H., Shaohu Ch., Shengli Zh., Wei X., Yi Zh. **Prevalence of nine genetic defects in Chinese Holstein cattle**. *Veterinary Medicine and Science*, 2021, no. 7, pp. 1728–1735. DOI: 10.1002/vms3.525.
16. Stepanov A.V., Bykova O.A., Kostyunina O.V., Zyryanova A.A., Shevkunov O.A. **Identifikaciya gaplotipov fertil'nosti krupnogo rogatogo skota** [Identification of fertility haplotypes in cattle]. *Agrarny'j vestnik Urala*, 2024, vol. 24, no. 7, pp. 921–931. <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2024-24-06-921-931>. (In Russian)
17. Pantyuh K.S., Rukin I.V., Portnov S.M., et al. **The use of whole genome amplification for genomic evaluation of bovine embryos**. *Vavilovskij zhurnal genetiki i selekcii*, 2019, vol. 23, no. 4, pp. 489-495. DOI: 10.18699/VJ19.518.
18. Shevkunov O.A., Kostyunina O.V., Bykova O.A., Zyryanova A.A. **Identifikaciya gaploblokov, potencial'no associirovanny'h s e'mbrional'noj smertnost'yu krupnogo rogatogo skota cherno-pestrogo kornya** [Identification of haploblocks potentially associated with embryonic mortality in black and white cattle]. *Agrarny'j vestnik Urala*, 2024, vol. 24, no. 08, pp. 1082–1092. <https://doi.org/10.32417/1997-4868-2024-24-08-1082-1092>. (In Russian)
19. Kozhuhovskaya V.V., Zajceva O.S., Martynov N.A., Zubareva V.D. **Letal'ny'e gaplotipy' v populyacii golshtinskogo krupnogo rogatogo skota i ih rol' v vosproizvodstve** [Lethal haplotypes in the Holstein cattle population and their role in reproduction]. *Zhivotnovodstvo i kormoproizvodstvo*, 2021, vol. 104, no. 3, pp. 155-163. DOI: 10.33284/2658-3135-104-3-155. (In Russian)
20. Truhachev V.I., Zlydnev N.Z., Olejnik S.A., et al. **DNK-dagnostika nasledstvenny'h zabojevanij molochnogo skota** [DNA diagnostics of hereditary diseases in dairy cattle]. *Fermer. Chernozem'e*, 2018, no. 9 (18), pp. 52–56. (In Russian)
21. Sudhakar A., Nayee N., Saha S. et al. **Role of genetic introgression in introducing mutant alleles in Bos indicus cattle and prevalence of lethal genetic disorders in Bos taurus × Bos indicus and Bos indicus cattle in India**. *Tropical Animal Health and Production*, 2023, vol. 55, art. 399. DOI: 10.1007/s11250-023-03798-8.
22. Suhanova O.G. **Analiz nekotory'h geneticheskikh zabojevanij krupnogo rogatogo skota golshtinskoj porody'** [Analysis of some genetic diseases in Holstein cattle]. *Prioritetny'e vektory' razvitiya promy'shlennosti i sel'skogo hozyajstva: materialy' III Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii, Makeevka, Donbasskaya agrarnaya akademiya*, 2020, pp. 111–114. (In Russian)
23. Saprikina T.Yu., Krivoruchko A.Yu., Skokova A.V. **Geneticheskie anomalii krupnogo rogatogo skota (obzor)** [Genetic abnormalities in cattle (review)]. *Sel'skohozyajstvenny'j zhurnal*, 2022, no. 2 (15), pp. 92–102. DOI: 10.25930/2687-1254/011.2.15.2022. (In Russian)
24. Marta Gozdek, Sebastian Mucha, Adam Prostek and Tomasz Sadkowski. **Selected Monogenic Genetic Diseases in Holstein Cattle. A Review**. *Genes*, 2024, vol. 15, iss. 8, art. 1052. <https://doi.org/10.3390/genes15081052>.

25. Marta Gozdek, Sebastian Mucha, Adam Prostek, Dariusz Kamola and Tomasz Sadkowski. **Distribution of Recessive Genetic Defect Carriers in Holstein Friesian Cattle: A Polish Perspective.** *Animals*, 2024, vol. 14, iss. 22, art. 3170. <https://doi.org/10.3390/ani14223170>.

26. Kovalyuk N.V., Satsuk V.F., Machulskaya E.V., Shakhnazarova Y. **Novy'j gaplotip fertil'nosti krupnogo rogatogo skota golshtinskoj porody'** [New haplotype of Holstein cattle fertility]. *Molochnoe i myasnoe skotovodstvo*, 2020, no. 4, pp. 8–9, DOI 10.33943/MMS.2020.27.45.002. (In Russian)

Авторлар туралы мәліметтер:

Джунусова Райхан Жексенбаевна – техника ғылымдарының магистрі, «Клиникалық пәндер» кафедрасының докторанты, «Қазақ Ұлттық аграрлық зерттеу университеті» КЕАҚ, Қазақстан Республикасы, 041609, Алматы облысы, Талғар ауданы, Бесағаш ауылы, Райымбек батыр көш, 276, тел.: +77029823201, e-mail: raikhan.junusova@kaznaru.edu.kz.

Иманбаев Айткали Альмурзаевич – ветеринария ғылымдарының кандидаты, «Клиникалық пәндер» кафедрасының қауымдастырылған профессоры, «Қазақ Ұлттық аграрлық зерттеу университеті» КЕАҚ, Қазақстан Республикасы, 050006, Алматы қ, Өжет ықшам ауданы, Қабан жырау көш, 16, тел.: +77017228572, e-mail: aitkali.imanbayev@kaznaru.edu.kz.

Турғумбеков Асет Абдымаратович – PhD докторы, «Клиникалық пәндер» кафедрасының аға оқытушысы, «Қазақ Ұлттық аграрлық зерттеу университеті» КЕАҚ, Қазақстан Республикасы, 041600, Алматы облысы, Талғар ауданы, Арқабай ауылы, Бұхаржырау көш, 5, тел.: +77783579723, e-mail: asset.turgumbekov@kaznaru.edu.kz.

Усенбеков Есенғали Серикович* – биология ғылымдарының кандидаты, Клиникалық пәндер» кафедрасының профессоры, «Қазақ Ұлттық аграрлық зерттеу университеті» КЕАҚ, Қазақстан Республикасы, 050006, Алматы қ, Калкаман 2 ықшам ауданы, Абилов көш, 21 тел.: +77059160272, e-mail: yessengali.ussenbekov@kaznaru.edu.kz.

Джунусова Райхан Жексенбаевна – магистр технических наук, докторант кафедры клинических дисциплин, НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», Республика Казахстан, 041609, Алматинская область, Талгарский район, поселок Бесағаш, ул. Райымбек батыр 276, тел.: +77029823201, e-mail: raikhan.junusova@kaznaru.edu.kz.

Иманбаев Айткали Альмурзаевич – кандидат ветеринарных наук, ассоциированный профессор кафедры клинических дисциплин, НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», Республика Казахстан, 050006, г. Алматы, микрорайон Ужет, ул.Кабан жырау 16, тел.: +77017228572, e-mail: aitkali.imanbayev@kaznaru.edu.kz.

Турғумбеков Асет Абдымаратович – PhD доктор, старший преподаватель кафедры клинических дисциплин, НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», Республика Казахстан, 041600, Алматинская область, Талгарский район, поселок Арқабай, ул. Бухар жырау 5, тел.: +77783579723, e-mail: asset.turgumbekov@kaznaru.edu.kz.

Усенбеков Есенғали Серикович* – кандидат биологических наук, профессор кафедры клинических дисциплин, НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», Республика Казахстан, 050006, г. Алматы, микрорайон Калкаман-2, ул.Абилова 21, тел.: +77059160272, e-mail: yessengali.ussenbekov@kaznaru.edu.kz.

Dzhunussova Raikhan Zheksenbayevna – Master of Technical Sciences, PhD student of the Department of clinical disciplines, Kazakh National Agrarian Research University NJSC, Republic of Kazakhstan, 041609, Almaty region, Talgar district, Bessagash village, 276 Raimbek batyr Str., tel.: +77029823201, e-mail: raikhan.junusova@kaznaru.edu.kz.

Imanbayev Aitkali Almurzayevich – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor of the Department of clinical disciplines, Kazakh National Agrarian Research University NJSC, Republic of Kazakhstan, 050026, Almaty, Uzheth micro district, 16 Kaban Zhyrau Str., tel.: +77017228572, e-mail: aitkali.imanbayev@kaznaru.edu.kz.

Turgumbekov Asset Abdymaratovich – PhD, Senior Lecturer of the Department of clinical disciplines, Kazakh National Agrarian Research University NJSC, Republic of Kazakhstan, 041600, Almaty region, Talgar district, Arkabay village, 5 Bukhar zhyrau Str., tel.: +77086533257, e-mail: asset.turgumbekov@kaznaru.edu.kz.

Ussenbekov Yessengali Serikovich* – Candidate of Biological Sciences, Professor of the Department of clinical disciplines, Kazakh National Agrarian Research University NJSC, Republic of Kazakhstan, 050026, Almaty, Kalkaman-2 micro district, 21 Abilov Str, tel.: +77059160272, e-mail: yessengali.ussenbekov@kaznaru.edu.kz.