ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ИНСТИТУТ ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК»

На правах рукописи

ИГОШИН АЛЕКСАНДР ВЛАДИМИРОВИЧ

ПОЛНОГЕНОМНЫЙ АНАЛИЗ ТЕМПЕРАТУРНОГО ГОМЕОСТАЗА И ХОЛОДОВОЙ АДАПТАЦИИ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В УСЛОВИЯХ СИБИРИ

1.5.7. – генетика

Диссертация на соискание учёной степени

кандидата биологических наук

Научный руководитель:

кандидат биологических наук

Юдин Николай Серафимович

Новосибирск 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

DMH – dorsomedial hypothalamus, дорсомедиальный гипоталамус

FDR – false discovery rate, частота ложноположительных результатов

rMR – rostral medullary raphe, ростральная часть ядер шва продолговатого мозга

rRPa – rostral raphe pallidus, ростральная часть бледного ядра шва продолговатого мозга

SNP – single nucleotide polymorphism, однонуклеотидный полиморфизм

АДФ – аденозиндифосфорная кислота

АТФ – аденозинтрифосфорная кислота

БЖТ – бурая жировая ткань

ВКТ – верхняя критическая температура

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

КРС – крупный рогатый скот

НКТ – нижняя критическая температура

ПГАА – полногеномный анализ ассоциаций

РНК – рибонуклеиновая кислота

ТНЗ – термонейтральная зона

ЧСС – частота сердечных сокращений

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. По данным Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН в настоящее время в мире насчитывается более одной тысячи пород крупного рогатого скота (КРС) различного направления продуктивности [FAO, 2023]. При этом, свойства каждой из пород могут в полной мере реализоваться только в определенном диапазоне условий содержания и разведения. Среди факторов, влияющих на продуктивные качества крупного рогатого скота важнейшее место занимает климат [Adams et al., 1998; Astuti et al., 2024]. Породы, способные в оптимальных условиях проявлять рекордные характеристики, при помещении в неблагоприятную природно-климатическую среду демонстрируют ухудшение по ряду хозяйственно важных признаков – мясной и молочной продуктивности, воспроизводительной функции, устойчивости к заболеваниям [Menjo et al., 2009; Kim, Rothschild, 2014; Ayvazoğlu et al., 2022]. В этой связи, важнейшей задачей селекции и сельскохозяйственной генетики является создание высокопродуктивных пород КРС, адаптированных к локальным климатическим условиям.

Для Российской Федерации эта задача имеет особую актуальность. Обширные пространства в северных районах нашей страны, непригодные или малопригодные для земледелия, в перспективе могут быть использованы для развития скотоводства. По прогнозам климатологов, в течение нескольких ближайших десятилетий в России в результате глобального потепления расширится зона, благоприятная для ведения сельского хозяйства [Иванов, 2009; Hannah et al., 2020], что делает еще более актуальным развитие животноводства северных и арктических территорий. Для реализации таких программ необходимо, в том числе, создание новых пород и внутрипородных типов крупного рогатого скота, адаптированных к холодному климату [Солошенко и др., 2020].

Одним из показателей адаптации к холоду у крупного рогатого скота является способность животных сохранять температурный гомеостаз при понижении температуры окружающей среды [Howard et al., 2014; Silva, Bittar, 2019; DAFF, 2022]. Поддержание температурного гомеостаза в условиях холода у КРС осуществляется за счет ряда адаптивных реакций, приводящих к повышению теплопродукции (химическая терморегуляция) и снижению теплопотерь (физическая терморегуляция) [Раушенбах, 1975а; Shephard, Maloney, 2023].

Недостаточное развитие этих реакций в условиях низких температур приводит к гипотермии – снижению температуры тела, которое ухудшает продуктивность, репродуктивные качества, устойчивость к инфекциям и, в конечном счете, может привести к гибели животного [Khounsy et al., 2012; Silva, Bittar, 2019]. Наиболее опасна гипотермия для телят, являясь у них одной из причин повышенной смертности в первые месяцы жизни, особенно в холодный сезон [Bellows, 1997; Carstens et al., 1997; Lammoglia et al., 1999; Silva, Bittar, 2019; Mota-Rojas et al., 2023].

Для создания новых пород КРС, имеющих высокие продуктивные показатели в условиях экстремального климата, можно применять скрещивание локальных пород с высокопродуктивными коммерческими породами [Романова, 2011; Слепцов и др., 2018; Хайнацкий и др., 2020; Грошева, Левыкин, 2023]. Однако, такой подход длителен, трудоемок и не гарантирует успеха. Поэтому в последние годы, значительную роль в улучшении адаптационных возможностей КРС отводят генетическим технологиям, в частности, геномной и маркер-ориентированной селекции [Deb et al., 2022], а также геномному редактированию [Harrison, 2022]. Для применения этих технологий необходима информация о генах и ДНК-маркерах [однонуклеотидные полиморфизмы (англ. «single nucleotide polymorphism», SNP), инсерции, делеции и др.], вовлечённых в адаптацию КРС.

Для идентификации таких локусов были проведены исследования устойчивых к холоду пород КРС по поиску следов отбора в геномах [Weldenegodguad et al., 2018; Yurchenko et al., 2018; Buggiotti et al., 2021; Ghoreishifar et al., 2020; Yan et al., 2022], анализу вариаций числа копий [Buggiotti et al., 2022], сравнительному транскриптомному анализу [Cao et al., 2017; Pokharel et al., 2019], полногеномному анализу ассоциаций (ПГАА) с адаптивной реакцией на холод [Howard et al., 2014]. Однако, поскольку большинство этих работ было сфокусировано на поиске генов, то число известных на сегодняшний день SNP-кандидатов, ассоциированных с холодовой адаптацией КРС крайне невелико [Юдин и др., 2023].

Перспективным объектом для подобных исследований по поиску кандидатных генов и полиморфизмов холодовой адаптации, являются местные породы КРС [Yudin et al., 2021], в частности, сибирские популяции герефордской и казахской белоголовой пород. Поскольку история разведения герефордов сибирской селекции и казахской белоголовой породы в Сибири составляет более десяти поколений [Дуров, 2002], можно ожидать наличие адаптивных изменений в геномах этих популяций. С помощью сравнения с неадаптированными популяциями и породами можно выявить гены и полиморфизмы важные для процесса адаптации. Вероятно, значительная доля адаптивных аллелей в сибирских популяциях герефордской и казахской белоголовой пород еще не достигла фиксации, что делает их перспективным объектом для проведения полногеномного поиска ассоциаций с фенотипами устойчивости к холоду [Uricchio, 2020]. Полученные результаты позволят выявить новые механизмы генетической адаптации КРС к холоду.

Разводимые в Сибири популяции герефордов и казахской белоголовой породы являются одними из наиболее оптимальных с точки зрения компромисса между холодостойкостью и мясной продуктивностью и, в этой связи, перспективны для разведения на северных территориях РФ [Солошенко и др., 2020]. Поэтому, информация о кандидатных генах и полиморфизмах холодовой адаптации, выявленных в этих популяциях, может быть использована в хозяйствах при селекции на улучшение адаптивных качеств КРС.

Цель работы – выявление генов- и SNP-кандидатов температурного гомеостаза и холодовой адаптации в сибирских популяциях мясных пород крупного рогатого скота.

Задачи:

1. Проведение на выборке герефордов сибирской селекции и породы казахская белоголовая полногеномного анализа ассоциаций выраженности адаптивной реакции на сильный холод на основе данных генотипирования на ДНК-чипах.
2. Поиск генов- и вариантов-кандидатов выраженности адаптивной реакции на сильный холод на основе данных ресеквенирования животных с контрастными фенотипами в вышеупомянутой выборке.
3. Проведение сравнительного анализа частот ДНК-полиморфизмов, ассоциированных с хозяйственно важными признаками, в выборках

адаптированных к холоду герефордов сибирской селекции и зарубежных герефордов.

Научная новизна работы. Впервые проведено исследование генетических основ адаптивной реакции на сильный холод в популяциях герефордов сибирской селекции и породы казахская белоголовая. По итогам этого исследования впервые получены данные, указывающие на возможную адаптивную роль в условиях холода у крупного рогатого скота гена *GRIA4*, который, предположительно, реализует свою функцию путем участия в проведении возбуждающих сигналов в глутаматергических синапсах от центра химической терморегуляции в гипоталамусе. Впервые проведено сравнение частот ДНК-полиморфизмов, ассоциированных с хозяйственно важными признаками, между выборкой адаптированных к холоду герефордов сибирской селекции и выборкой зарубежных герефордов. На основе этого анализа впервые показано, что аллели SNP в генах семейства *STAT*, негативно влияющие на репродуктивные признаки, реже встречаются у герефордов сибирской селекции по сравнению с зарубежными герефордами, что, вероятно, отражает процесс генетической адаптации животных к суровому климату Сибири.

Теоретическая и практическая значимость исследования. Полученные в настоящей работе данные дополняют имеющиеся представления о генах и генетических механизмах, участвующих в адаптации к холоду у КРС. Кандидатные SNP, после подтверждения ассоциаций на независимых выборках, могут быть использованы в маркер-ориентированной и геномной селекции на улучшение адаптации к холоду и на повышение воспроизводительных качеств животных в условиях сурового климата.

Положения, выносимые на защиту:

1. Локус в районе генов *MSANTD4-GRIA4* на хромосоме 15 крупного рогатого скота (КРС) вовлечен в генетический контроль адаптивной реакции на низкие температуры (до -32 °C) у скота мясного направления продуктивности – герефордов сибирской селекции и казахской белоголовой, и при этом не имеет значимой ассоциации с массой тела у этих животных.

2. Однонуклеотидные замены в генах семейства STAT транскрипционных факторов – *STAT1* (rs43705173), *STAT3* (rs110942700) и *STAT5A* (rs208753173) вовлечены в процесс генетической адаптации герефордской породы КРС к условиям Сибири.

Вклад автора. Все основные научные результаты были получены автором самостоятельно. Эксперимент по исследованию адаптивной реакции КРС на сильный холод проводился при участии автора, совместно с Н.С. Юдиным, Р.Б. Айтназаровым и Д.В. Петровским. VCF-файлы, полученные в результате обработки первичных данных полногеномного секвенирования животных герефордской и казахской белоголовой пород, были любезно предоставлены Д.М. Ларкиным. Генотипирование образцов ДНК КРС на чипах GGPHD150K было проведено в компании GeneSeek (Сан Диего, США). Образцы ДНК КРС были ресеквенированы в компании Novogene (Гонконг, Китай).

Апробация работы. По материалам исследования были представлены доклады на следующих конференциях:

1. Международная конференция по биоинформатике, структуре и регуляции генома (BGRS 2022, г. Новосибирск) (постерный доклад).
2. 38-ая конференция Международного Общества по Генетике животных (ISAG 2021) (виртуальное участие, устный доклад).
3. 37-ая конференция Международного Общества по Генетике животных (ISAG 2019, г. Льейда, Испания) (постерный доклад).
4. Международная конференция по биоинформатике, структуре и регуляции генома (BGRS 2018, г. Новосибирск) (устный доклад).

По материалам диссертационного исследования опубликованы пять статей в журналах, входящих в перечень ВАК и приравненных к ним, а также четыре тезиса конференций:

Публикации:

Юдин Н.С., **Игошин А.В.**, Ларкин Д.М. Молекулярные маркеры адаптации к холодному климату у крупного рогатого скота // Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2023. – Т. 9. – №. 1. – С. 5-14.

Igoshin A.V., Romashov G.A., Chernyaeva E.N., Elatkin N.P., Yudin N.S., Larkin D.M. Comparative analysis of allele frequencies for DNA polymorphisms associated with disease and economically important traits in the genomes of Russian and foreign cattle breeds // Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii=Vavilov Journal of Genetics and Breeding. – 2022. – Vol. 26. – №. 3. – P. 298-307.

Igoshin A.V., Yudin N.S., Aitnazarov R.B., Yurchenko A.A., Larkin D.M. Whole-Genome Resequencing Points to Candidate DNA Loci Affecting Body Temperature under Cold Stress in Siberian Cattle Populations // Life. – 2021. – Vol. 11. – №. 9 – P. 959.

Igoshin A.V., Yurchenko A.A., Belonogova N.M., Petrovsky D.V., Aitnazarov R.B., Soloshenko V.A., Yudin N.S., Larkin D.M. Genome-wide association study and scan for signatures of selection point to candidate genes for body temperature maintenance under the cold stress in Siberian cattle populations // BMC Genetics. – 2019. – Vol. 20. – №.1. – P. 26.

Igoshin A.V., Yudin N.S., Belonogova N.M., Larkin D.M. Genome-wide association study for body weight in cattle populations from Siberia // Animal Genetics. – 2019. – Vol. 50. – №. 3. – P. 250-253.

Тезисы конференций:

Igoshin A.V., Yudin N.S., Larkin D.M. Imputation-based whole-genome analysis identifies candidate variants affecting body temperature under the cold stress in Siberian cattle // Bioinformatics of Genome Regulation and Structure\Systems Biology (BGRS\SB-2022). – 2022.

Igoshin A.V., Yudin N.S., Aitnazarov R.B., Yurchenko A.A., Larkin D.M. Whole-genome resequencing points to candidate variants and genes for body temperature maintenance under the cold stress in Siberian cattle populations // Proceedings of the 38th International Conference on Animal Genetics. – 2021.

Igoshin A.V., Yurchenko A.A., Belonogova N.M., Petrovsky D.V., Aitnazarov R.B., Soloshenko V.A., Yudin N.S., Larkin D.M. Genome-wide tests and sequencing point to candidate gene variants for body temperature maintenance under the cold stress in Siberian cattle population // Proceedings of the 37th International Conference on Animal Genetics. – 2019.

Igoshin A.V., Belonogova N.M., Yurchenko A.A., Yudin N.S., Petrovsky D.V., Larkin D.M. Genome-wide association study for body temperature maintenance under the cold stress in Siberian cattle // Bioinformatics of Genome Regulation and Structure\Systems Biology (BGRS\SB-2018). – 2018.

Финансовая поддержка работы. Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ №16-14-00090 «Популяционная структура и следы адаптации к холодному климату в геномах российских пород крупного рогатого скота и овец» (руководитель – Д.М. Ларкин), гранта РНФ №19-79-20026 «Исследование происхождения и сравнительный анализ следов отбора с использованием отсеквенированных геномов турано-монгольских пород крупного рогатого скота и сибирских пород овец» (руководитель – Д.М. Ларкин), гранта Минобрнауки России № 13.2251.21.0088 «Анализ спектра и частот вредных мутаций в российских породах крупного рогатого скота по данным полногеномного секвенирования» (руководитель – Н.С. Юдин). Биоинформатический анализ данных проводился в ЦКП «Биоинформатика» ИЦиГ СО РАН.

Структура и объем работы. Текст диссертации состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов, обсуждения, заключения, выводов и списка литературы (371 источник). Работа содержит 8 таблиц, 20 рисунков и два приложения. Общий объем диссертационного исследования составляет 129 страниц.

Благодарности. Автор выражает искреннюю благодарность профессору Королевского ветеринарного колледжа (Лондон, Великобритания) Денису Михайловичу Ларкину за помощь в биоинформатическом анализе и при написании статей, а также за организацию научной командировки автора по теме диссертации в Королевский ветеринарный колледж. Автор сердечно благодарит сотрудников ИЦиГ СО РАН: с.н.с. к.б.н. Белоногову Н.М. за консультирование в области статистического анализа, н.с. к.б.н. Айтназарова Р.Б. и с.н.с. к.б.н. Петровского Д.В. за помощь в проведении эксперимента по оценке адаптивной реакции КРС на сильный холод, м.н.с. к.б.н. Юрченко А.А. за помощь в проведении популяционно-генетического анализа. Автор также выражает признательность руководителю научного направления СибНИПТИЖ СФНЦА РАН академику РАН В.А. Солошенко за помощь в организации работ на базе ООО «ФАРМ» (Алтайский край, Целинный р-н, с. Еланда).

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Введение

Согласно определению А.Д. Слонима, адаптация – это совокупность физиологических особенностей, обусловливающих уравновешивание организма с постоянными или изменяющимися условиями среды [Слоним, 1971]. Адаптации живых организмов можно классифицировать по длительности развития адаптивного ответа. Так, Hensel и Hildebrandt [Hensel, Hildebrandt, 1964], выделяют:

1. Кратковременные изменения регуляции функций в ответ на изменение условий внешней или внутренней среды, длящиеся от нескольких секунд до нескольких часов.
2. Непродолжительные адаптивные ответы организма на внешние изменения, длительностью от нескольких часов до нескольких лет. Сюда входят понятия акклимации и акклиматизации.
3. Генетические адаптации, заключающиеся в отборе более адаптированных индивидов в ряду поколений.

Благодаря способности к адаптации, живые организмы имеют возможность осваивать новые местообитания [Edwards, 2020]. Это справедливо и для крупного рогатого скота (*Bos taurus*). КРС возник более 10 тыс. лет назад на Ближнем Востоке в результате доместикации тура (*Bos primigenius*) [Pitt et al., 2019a]. Мигрируя вместе с человеком, он проник практически во все регионы планеты. В процессе этих миграций КРС был вынужден адаптироваться к местным природно-климатическим условиям [Xia et al., 2023]. В районах с суровым климатом, возможность успешно существовать достигается у КРС с помощью ряда адаптаций, включающих адаптивные терморегуляторные реакции на холод и сезонные морфофизиологические изменения [Раушенбах, 1975a; Gaughan et al., 2018; Shephard, Maloney, 2023], а также адаптации на уровне генома [Юдин, Ларкин, 2019; Buggiotti et al., 2021].

1.2. Механизмы температурного гомеостаза у крупного рогатого скота

У КРС, как и у других млекопитающих, для поддержания температуры тела на постоянном уровне необходимо сохранение теплового баланса, который складывается из теплопродукции и теплоотдачи [NRC, 1981]. Если теплоотдача превышает теплопродукцию, то возникает гипотермия – снижение температуры тела, которое у КРС чревато ухудшением продуктивности, репродуктивных качеств, устойчивости к инфекциям и, в экстремальных случаях, гибелью [Young, 1981; Nonnecke et al., 2009; Kim et al., 2023; Wang et al., 2023]. Для поддержания температуры тела в условиях холода животное повышает теплопродукцию (химическая терморегуляция) и ограничивает теплоотдачу (физическая терморегуляция). КРС характеризуется очень широкой внутрипородной и межпородной изменчивостью адаптивной реакции на холод, и относительный вклад химической и физической терморегуляции в сохранение теплового баланса может сильно отличаться у разных животных [Раушенбах, 1975а]. У КРС и других млекопитающих существует область температур, в которой затраты энергии на поддержание температуры тела животного минимальны и почти не меняются (рисунок 1). Эта область называется *термонейтральной зоной* (ТНЗ) и ограничена двумя точками – *нижней* (НКТ) и *верхней* (ВКТ) *критическими* температурами [Шмидт-Нильсен, 1982; Santos Dos et al., 2021].

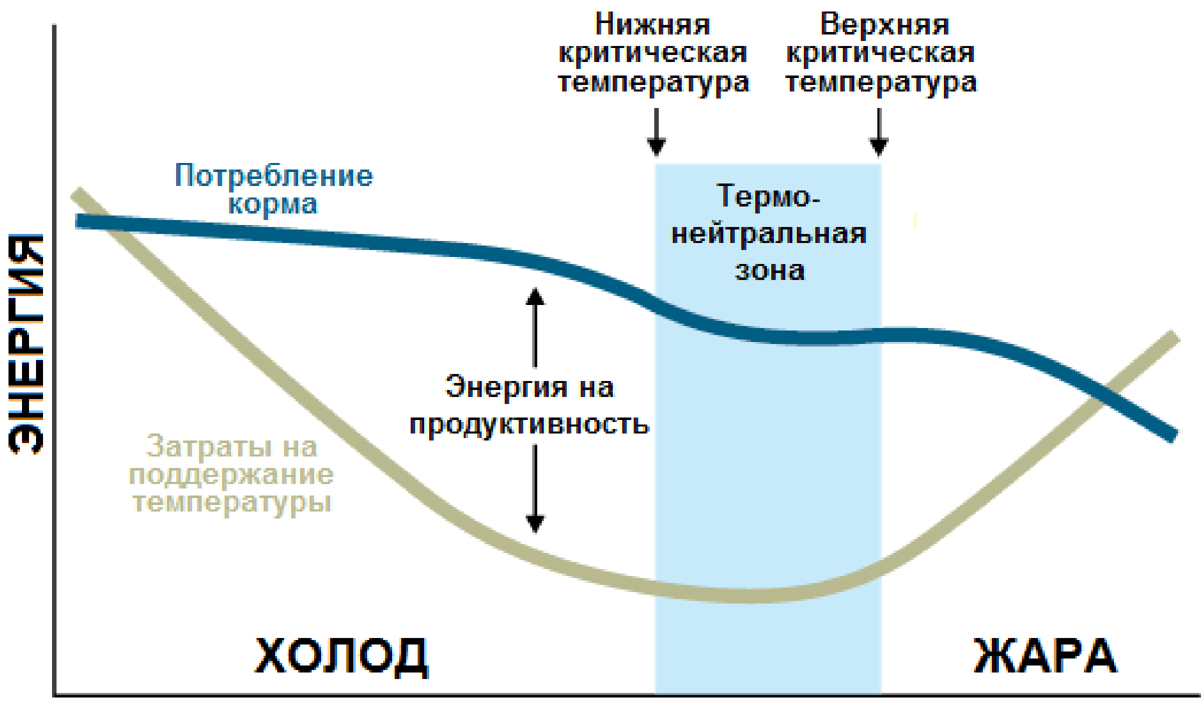

Рисунок 1. Зависимость между температурой окружающей среды и энергетическими затратами на поддержание постоянства температуры тела у крупного рогатого скота (взято с изменениями из Anderson et al., 2011).

В термонейтральной зоне животное регулирует температуру тела с помощью механизмов физической терморегуляции [Kingma et al., 2012; Лучаков и др., 2014]. Если внешняя температура опускается ниже НКТ, организм животного дополнительно задействует энергозатратные механизмы химической терморегуляции, на которые расходуется дополнительная энергия. При этом, чем значительнее снижение температуры, тем больше энергии необходимо. Возросшие энергозатраты компенсируются усиленным потреблением корма. Разность между количеством энергии поступающей с пищей и затратами на поддержание температуры тела может быть израсходована на продуктивные качества животных (удой, привес и т.д.). Как видно из рисунка 1, эта разность достигает наибольшего значения в термонейтральной зоне. Таким образом животное, находящееся в ТНЗ имеет наивысшие продуктивные показатели [Ames, 1980]. С другой стороны, при снижении температуры среды эта разность уменьшается, несмотря на усиление питания, в связи с чем на холоде продуктивность крупного рогатого скота падает [Roland et al., 2016].

При повышении температуры среды выше ВКТ затраты энергии также возрастают, что связано с усилением механизмов теплоотдачи, например, учащением дыхания, сопровождающимся работой межреберных мышц [Ерохин, 1975]. Жаркие условия снижают потребление корма и, соответственно, продуктивность животных [Lees et al., 2019]. Поскольку адаптивные реакции КРС на высокую температуру не связаны с темой диссертации, мы не будем подробно их разбирать.

Термонейтральная зона отличается у разных пород. У холодостойких она сдвинута влево, у жаростойких – вправо. Например, у сравнительно устойчивой к умеренному холоду голштинской породы ТНЗ, по разным оценкам, представлена диапазоном температур от -5-+10 °С до +21-+25 °С, в зависимости от возраста животных [Wathes et al., 1983; Johnson, 1986]. У жаростойкого индицинного скота термонейтральная зона лежит в пределах от +10 °С до +27 °С [Santos et al., 2005].

Химическая терморегуляция основана на усилении продукции тепла и разделяется на: *сократительный* и *несократительный термогенез* [Florez-Duquet, McDonald, 1998; Nakamura, Morrison, 2011]. Сократительный термогенез связан с непроизвольными мышечными сокращениями – холодовой мышечной дрожью. При холодовой мышечной дрожи возникают непроизвольные сокращения мышечных волокон, что приводит к расходованию АТФ и, соответственно, к генерации тепла [Hohtola, 2004; Nakamura, Morrison, 2011]. Данный механизм присутствует у животных всех возрастов, но наиболее важную роль он играет у телят [Carstens, 1994; Dietz et al., 2003]. Это связано с необходимостью компенсации высоких теплопотерь, которые, в свою очередь, имеют у них место из-за большей относительной площади поверхности тела по сравнению со взрослыми животными, тонкой кожи, слабого развития волосяного покрова, малого количества подкожного жира, плохо выраженных сосудистых реакций кожи [Olson et al., 1980].

Другой механизм химической терморегуляции – несократительный термогенез, связан с генерацией тепла митохондриями в бурой жировой ткани (БЖТ). При окислении энергетических субстратов происходит перенос электронов по электрон-транспортной цепи, сопровождающийся перекачкой протонов из матрикса митохондрии в межмембранное пространство (рисунок 2).

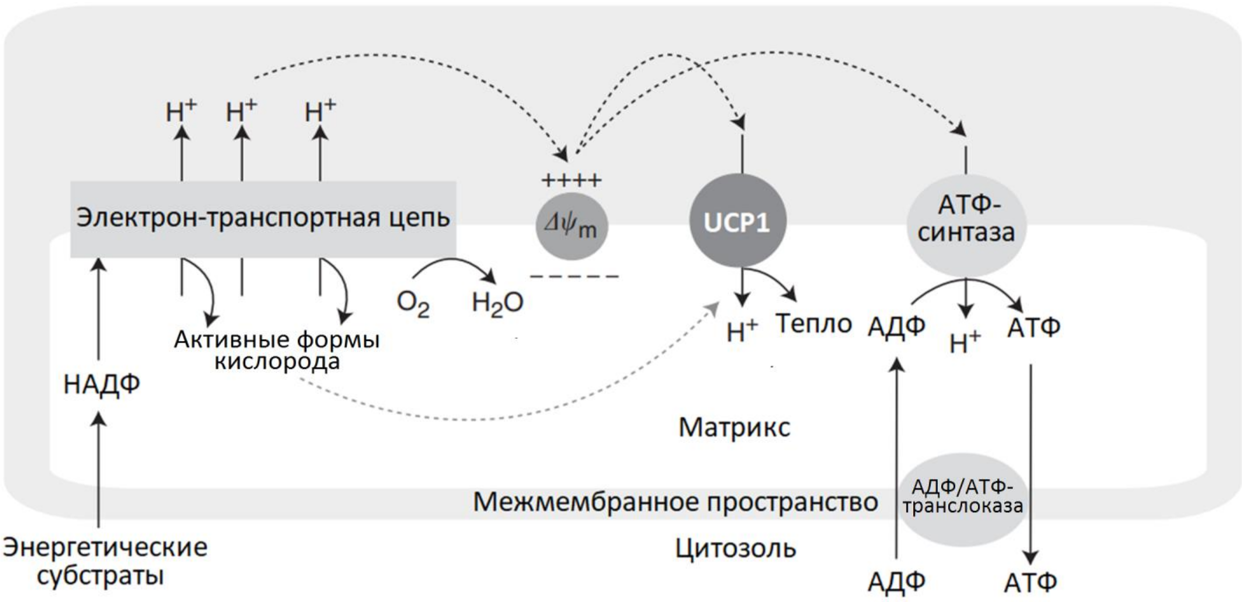

Рисунок 2. Механизм теплопродукции в митохондриях бурой жировой ткани (взято с изменениями из Baffy et al., 2011). $\Delta\psi_m$ – электрохимический градиент на внутренней митохондриальной мембране.

Таким образом, на внутренней мембране формируется электрохимический протонный градиент. За счет обратного тока протонов через АТФ-синтазный комплекс осуществляется синтез АТФ путем фосфорилирования АДФ. Однако, при наличии на внутренней митохондриальной мембране особых белков-разобщителей, или термогенинов (в первую очередь UCP1), протонный ток осуществляется в обход АТФ-синтазных комплексов, и энергия электрохимического градиента рассеивается в виде тепла [Zhao et al., 2019a].

Локализация бурой жировой ткани несколько варьирует у разных млекопитающих [Symonds et al., 2012; Cohen, Kajimura, 2021]. У крупного рогатого скота характерные признаки БЖТ (большое число митохондрий, высокая экспрессия *UCP1* и др.) в основном присутствуют в околопочечном, околосердечном и перитонеальном жире [Smith, Carstens, 2005]. Как и сократительный, несократительный термогенез также особенно важен для новорожденных телят [Carstens et al., 1997; Silva, Bittar, 2019]. По оценкам Alexander и соавторов, бурая жировая ткань у них составляет около 2% от массы тела [Alexander et al., 1975]. Заметим, что именно дефицит термогенной функции в значительной мере рассматривается как причина повышенной смертности телят в первые месяцы после рождения, особенно в холодный сезон [Bellows, 1997; Carstens et al., 1997; Lammoglia et al., 1999; Silva, Bittar, 2019].

Стоит отметить величину возрастания энергозатрат у скота в связи с активацией механизмов термогенеза. Наиболее распространенный способ оценки расхода энергии основан на измерении количества потребляемого кислорода. В эксперименте Thompson и Clough, пять взрослых бычков (точный возраст не указан) айрширской породы повергали попеременной 2-часовой экспозиции при +15 °C и при -20 °C. При помещении в холод животные увеличивали потребление кислорода на 32% [Thompson, Clough, 1972]. В другой работе, также проведенной на пяти годовалых айрширских бычках, животные после пребывания в термонейтральной зоне (14-20 °C) были на несколько дней помещены в условия умеренного холода (0-1.5 °C). В результате, к 5 часам пребывания при низкой температуре потребление кислорода увеличилось на 46% [Bell et al., 1975]. Позднее, авторы этой работы провели еще одно исследование на группе из пяти 9-12 месячных айрширских бычков в котором животных переводили из зоны нейтральных температур (13-17 °C) в зону умеренного холода (-1-+1 °C) [Bell, Thompson, 1979]. Эксперимент проводили в нескольких повторностях, причем в одних случаях на «голодных» животных (22 часа после кормления), а в других на «сытых» (5-6 часов после кормления). В группе «голодных» бычков после помещения в холод общее потребление кислорода в расчете на животное возросло в течение дня на 74%. В группе «сытых» – на 54%.

Другой путь сохранения теплового баланса, наряду с повышением теплопродукции, это механизмы физической терморегуляции, которые связаны с ограничением теплопотерь. У крупного рогатого скота они включают *регуляцию дыхания*, *сосудистые реакции кожи* и *пиломоторную реакцию* [Раушенбах, 1975a]. Регуляция дыхания в условиях холода связана с понижением его частоты (олигопноэ), что приводит к снижению минутного объема легочной вентиляции, и помогает снизить теплоотдачу. В качестве примера можно привести результаты эксперимента Раушенбаха и Кушнира, в котором несколько животных адаптированной к экстремальному холоду аборигенной якутской породы после экспозиции при +10 °С были помещены в -20 °С [Раушенбах, Кушнир, 1975]. При более низкой температуре частота дыхания у них снизилась, что привело к уменьшению объема легочной вентиляции.

Показателен в отношении эффективности снижения частоты дыхания при холоде эксперимент Diesel с соавторами проведенный на четырех телятах (бычках) голштинской породы в возрасте 1-3 месяца [Diesel et al., 1990]. После содержания при 22-25 °С авторы подвергали животных четырем температурным режимам: 16-18 °С, 12-14 °С, 8-10 °С и 4-6 °С. По мере снижения температуры значимо снижалась и частота дыхания. Авторы измерили долю обменной энергии, теряемую с дыханием при разных режимах. По мере понижения температуры она также снижалась.

Имеются также сравнительные данные по частоте дыхания у КРС в разные сезоны. Так, у холодостойкой китайской породы саньхэ (Sanhe) частота дыхания зимой была значимо ниже чем весной [Bai, 2017]. В другой работе проведенной на симментальской породе, в группе бычков выращиваемых зимой этот показатель также был достоверно ниже чем в группе выращиваемых осенью [Wang et al., 2023].

Другая важная адаптивная реакция крупного рогатого скота на охлаждение – это пиломоторная регуляция глубины волосяного покрова, которая обусловлена способностью увеличивать угол наклона волос по отношению к поверхности кожи [Shephard, Maloney, 2023]. По данным Киселева, в двух различающихся по эффективности физической терморегуляции группах животных черно-пестрой породы, содержащихся в термонейтральной зоне, после понижения температуры до -24.5 °C происходило увеличение толщины шерстного покрова на 59-87%. [Киселев, 1975]. В работе Gonzalez-Jimenez и Blaxter, исследовалось изменение глубины волосяного покрова путем пиломоторной реакции у теленка айрширской породы в разных частях тела [Gonzalez-Jimenez, Blaxter, 1962]. При понижении температуры среды с 23 °C до 3 °C, этот показатель в среднем возрастал на 91%, что позволило животному существенно увеличить величину теплоизоляции.

В адаптивный ответ на холод у крупного рогатого скота также вовлечены сосудистые реакции кожи. Как уже упоминалось, температура у КРС варьирует в разных частях тела. В целом, у млекопитающих для сохранения жизнеспособности наиболее критичным является поддержание температурного гомеостаза внутренних органов (ядро тела), тогда как температура мышц и кожи (периферия тела) может сильно варьировать в зависимости от внешних условий. В условиях холода, при сбалансированном теплообмене, температура поверхности тела всегда ниже чем внутренних органов [Шмидт-Нильсен, 1982]. Это справедливо и для крупного рогатого скота [Poole et al., 2018; Iwasaki et al., 2019]. В условиях холода у КРС, как и у других млекопитающих, происходит сужение сосудов кожи – вазоконстрикция [Mota-Rojas et al., 2021; Wang et al., 2023]. Благодаря этому снижается температура кожи и, таким образом, сокращается температурный градиент между внешней средой и поверхностью тела, что позволяет уменьшить теплоотдачу. О выраженности сосудистой реакции можно судить по степени снижения температуры кожи в условиях холода. По данным Киселева, при перемещении из термонейтральной (+10 °C) зоны в холод (-15 °C) это снижение достигает 2.8 °C и 3.3 °C, для животных (КРС) с более развитой химической и физической терморегуляцией, соответственно [Киселев, 1975].

Следует отметить, что у крупного рогатого скота структура адаптивной реакции на снижение температуры сильно варьирует как между породами, так и в пределах одной породы. Некоторые животные реагируют на холод преимущественно активируя механизмы химической терморегуляции (что выражается в увеличении потребления кислорода), другие же в основном используют физическую терморегуляцию, а теплопродукция у них возрастает незначительно (или даже сокращается, как у якутской породы) [Раушенбах, 1975a;

Выставной, Кушнир, 2008]. Также стоит отметить, что температура у крупного рогатого скота, как и у других млекопитающих, отличается в разных частях тела [Lees et al., 2018]. У КРС наиболее часто измеряют ректальную температуру, которая в термонейтральной зоне в норме составляет 38.5-39.0 °C [Pires et al., 2022].

Механизмы химической и физической терморегуляции у крупного рогатого скота, как и у других млекопитающих, находятся под контролем нервной системы. Основную роль в терморегуляции играет гипоталамус, который получает температурную информацию от расположенных в коже и внутренних органах сенсорных окончаний афферентных нейронов [Fealey, 2013]. На молекулярном уровне, рецепция температурных стимулов осуществляется за счет расположенных в этих сенсорных окончаниях специализированных термочувствительных ионных каналов (терморецепторов). В частности, восприятие холодовых сигналов происходит с помощью терморецепторов TRPM8 и TRPA1 [McKemy, 2005; Winter et al., 2017]. После обработки сенсорной информации в центрах терморегуляции в гипоталамусе, к соответствующим тканям (бурая жировая ткань, гладкая мускулатура сосудов и т.д.) поступают по нервам эфферентные сигналы, приводя к соответствующим адаптивным реакциям [Morrison, Nakamura, 2011].

Важную роль в поддержании температурного гомеостаза играют также гуморальные факторы [Pääkkönen, Leppäluoto, 2002; Tsibulnikov et al., 2020]. Так, значимое участие в адаптивной реакции на холод принимает тиреотропная ось. В обычных условиях, гипоталамус выделяет тиреотропин-рилизинг-гормон (тиролиберин), который поступает в гипофиз, что в свою очередь, вызывает секрецию последним тиреотропного гормона (тиреотропина). Под действием тиреотропина щитовидная железа продуцирует тиреоидные гормоны – тироксин и трийодтиронин, которые, по механизму отрицательной обратной связи, угнетают секрецию тиролиберина и тиреотропина. Воздействие холода стимулирует дополнительную секрецию тиролиберина гипоталамусом, что в итоге повышает концентрацию тиреоидных гормонов в крови. Тиреоидные гормоны способствуют как повышению уровня основного обмена, так и усилению адаптивного термогенеза в бурой жировой ткани [Mullur et al., 2014; Iwen et al., 2018].

Также важную роль в терморегуляции играют катехоламины. В частности, активация термогенеза в бурой жировой ткани происходит под действием норадреналина, выделяемого симпатическими нервными окончаниями [Cannon, Nedergaard, 2004] и адреналина, выделяемого в кровь надпочечниками [Wang et al., 2011].

В терморегуляции в условиях холода принимает участие инсулин. Адаптивный термогенез в БЖТ сопровождается увеличением поступления в эту ткань свободных жирных кислот и глюкозы из крови. При этом, глюкоза также используется бурыми адипоцитами для синтеза жирных кислот. Жирные кислоты, в свою очередь, как синтезированные, так и транспортированные из крови, не утилизируются бурой жировой тканью напрямую, а используются для пополнения внутриклеточных запасов жиров [Hankir, Klingenspor, 2018; Silhavy et al., 2023]. В условиях холода, в белой жировой ткани активируется липолиз, который, в свою очередь, стимулирует секрецию инсулина, что способствует как транспорту глюкозы, так и жирных кислот клетками БЖТ, и, соответственно, покрытию энергозатрат на теплопродукцию [Heine et al., 2018]. Также, инсулин способен усиливать термогенез в бурой жировой ткани за счет своего активирующего действия на симпатическую нервную систему [Maliszewska, Kretowski, 2021].

1.3. Адаптация крупного рогатого скота к длительному нахождению в условиях холода

Крупному рогатому скоту присущи эволюционно выработанные адаптивные сезонные морфофизиологические изменения. Одним из ярко выраженных изменений является сезонная смена волосяного покрова. Высокоширотные породы скота линяют два раза в год, адаптируясь к жаркой температуре летом и к холоду зимой. Отмечается, соответственно, два пика линьки: март-апрель и август-сентябрь [Прасолова, 1975a].

Зимний покров КРС отличается от летнего рядом существенных для теплоизоляции признаков, в первую очередь: длиной и плотностью размещения волос, соотношением фракций (ость, переходный волос, пух). Зимой длина и плотность волос выше, преобладает пух. Например, летом у якутской породы скота средняя длина волос на шее составляет 9.2 мм, при плотности в 854 штук/см^2. Преобладает переходный волос (59.7%), доля пуха заметно меньше (26.1%). Зимой длина и плотность увеличиваются, соответственно, до 25.3 мм и 1107 штук/см^2. При этом, доля пуховой фракции повышается до 83% [Прасолова, 1975b]. Интересны сравнительные данные Г.Д. Кацы по длине волос нескольких пород КРС в разные сезоны года [Кацы, 2014]. Зимой длина волос, состриженных на боку, увеличилась у всех исследованных пород: у серой украинской (с 11-14 мм до 33-36 мм), аквитанской светлой (с 13 мм до 36 мм), украинской мясной (с 17 мм до 39 мм), шароле (с 22 мм до 37 мм), симментальской (с 15 мм до 43 мм), черно-пестрой (с 17 мм до 24 мм), красной степной (с 24 мм до 34 мм). При этом, как отмечает автор, сезонные изменения длины более выражены у мясных (и комбинированных) пород, по сравнению с молочными. Говоря о сезонных изменениях волосяного покрова стоит отметить, что определяющим фактором для них в большей степени является не температура окружающей среды, а условия светового режима [Прасолова, 1975a].

Также у крупного рогатого скота, по всей видимости, происходят адаптивные сезонные изменения толщины кожи. По данным Поздняковой и соавторов, у трех исследованных пород зимой (январь) по сравнению с осенью (ноябрь) наблюдается ее утолщение [Позднякова и др., 2015]. Осенью у ангусов толщина кожи на шее, на вершине локтевого сустава и на середине последнего ребра составляет 3.7 мм, 2.5 мм и 5.4 мм, соответственно. Зимой эти показатели возрастают до 4 мм, 2.7 мм и 6.3 мм. Соответствующие значения для голштинской породы: 2.8/2.3/4.7 мм осенью против 3/2.4/5.3 мм зимой; для гибридов ангус×голштин: 3.8/2.6/5.5 осенью против 4/3/6.2 зимой. Это подтверждает полученные ранее данные Nay и Hayman по сравнительной морфометрии кожи летом (июль) и зимой (январь) у пяти европейских пород [Nay, Hayman, 1963]. Общая толщина кожи у айрширской породы увеличилась с 5.6 мм до 5.8 мм зимой, у гернзейской – с 5.2 мм до 5.4 мм, у австралийских шортгорнов – с 5.6 мм до 6.2 мм, у джерсейской – с 5.1 мм до 5.6 мм. Исключение составила голштинская порода, у которой эти показатели сократились с 5.9 мм до 5.5 мм.

Как упоминалось ранее, у млекопитающих существует специализированная термогенная ткань – бурый жир. Однако, под действием холода отдельные участки белой жировой ткани, представленной висцеральным жиром (обволакивает органы брюшной полости) и подкожной жировой клетчаткой, начинают приобретать фенотип бурой ткани (большое число митохондрий, специфический транскрипционный профиль) и соответствующую способность к теплопродукции.

Такие участки называют бежевой жировой тканью. Фенотип клеток бежевой жировой ткани занимает промежуточное положение между белой и бурой (рисунок 3) [Liu, Kuang, 2013].

Рисунок 3. Морфология трех типов клеток жировой ткани млекопитающих (взято с изменениями из Pfeifer, Hoffmann, 2015).

Данные последних лет свидетельствуют о том, что под длительным влиянием холода, независимо от сезона года, у КРС также происходят адаптивные изменения жировой ткани. Cao с соавторами сравнили уровни экспрессии ряда генов-маркеров в паховом жире (белая жировая ткань) в двух группах животных голштинской породы содержавшихся в течение 24 дней при температурах +11–+16 °C и −3.5 °C, соответственно [Cao et al., 2017]. В результате было обнаружено, что у животных содержавшихся на холоде паховый жир имел статистически значимо более высокий уровень экспрессии генов термогенеза (*CIDEA*, *COX7A1*, *UCP1*), биогенеза митохондрий (*NRF1*, *NRF2*, *TFAM*), транскрипционного регулятора *PGC1α* (маркер бурых и бежевых адипоцитов) и, что важно, маркеров, специфичных только для бежевого жира (*CITED1*, *TBX1*). В другой работе исследователи сравнили экспрессию генов-маркеров бурой жировой ткани в подкожной жировой клетчатке у бычков породы Jinjiang забиваемых осенью и зимой [Li et al., 2023b]. В результате было выявлено, что у «зимних» бычков значимо повышена экспрессия генов *UCP1*, *PRDM16*, and *PGC1α*. В этой же работе авторы также исследовали культуры клеток подкожной жировой клетчатки взятых от животных симментальской породы. Клетки культивировали при 37 °C и 31 °C. В культуре, содержащейся при более низкой температуре, наблюдалось ингибирование дифференцировки белых адипоцитов и повышение экспрессии генов-маркеров бурой ткани и маркеров митохондриального биогенеза. Таким образом, благодаря образованию бежевого жира, в условиях холода у КРС возрастает способность к теплопродукции.

1.4. Подходы, используемые для выявления генетических основ адаптаций

Один из методов поиска генов, вовлеченных в адаптацию – полногеномный анализ ассоциаций (ПГАА) с адаптивными признаками [Franks, Hoffmann, 2012]. Его суть сводится к поиску ассоциаций между генотипами и изучаемым фенотипом, который выполняется для множества локусов генома. В типичном случае, ПГАА проводится для нескольких десятков или сотен тысяч однонуклеотидных полиморфизмов, генотипированных с помощью технологии ДНК-чипов [Bumgarner, 2013].

Чаще всего используемые статистические тесты подразумевают аддитивную модель кодирования признака, в соответствии с которой значения фенотипа связаны линейной зависимостью с дозой аллеля (рисунок 4). Чем сильнее наклон линии регрессии (т.е. больше размер эффекта β), и чем меньше разброс значений фенотипа относительно нее (т.е. меньше стандартная ошибка – $s.e.(\beta)$), тем более значима ассоциация. В простейшем случае используется статистика $T = \beta/s.e.(\beta)$, которой при заданном числе степеней свободы соответствует определенное *p*-значение (*p*-value). *P*-значение представляет собой вероятность получить значение тестовой статистики (в рассматриваемом случае это *T*-статистика) равное наблюдаемому или более экстремальное по сравнению с наблюдаемым, при условии справедливости нулевой гипотезы [Thiese et al., 2016]. Стоит отметить, что на практике обычно используются более сложные статистические тесты, основанные на смешанных линейных моделях, которые при анализе позволяют учитывать различия в степени родства между индивидами и популяционную структуру [Zhang et al., 2010].

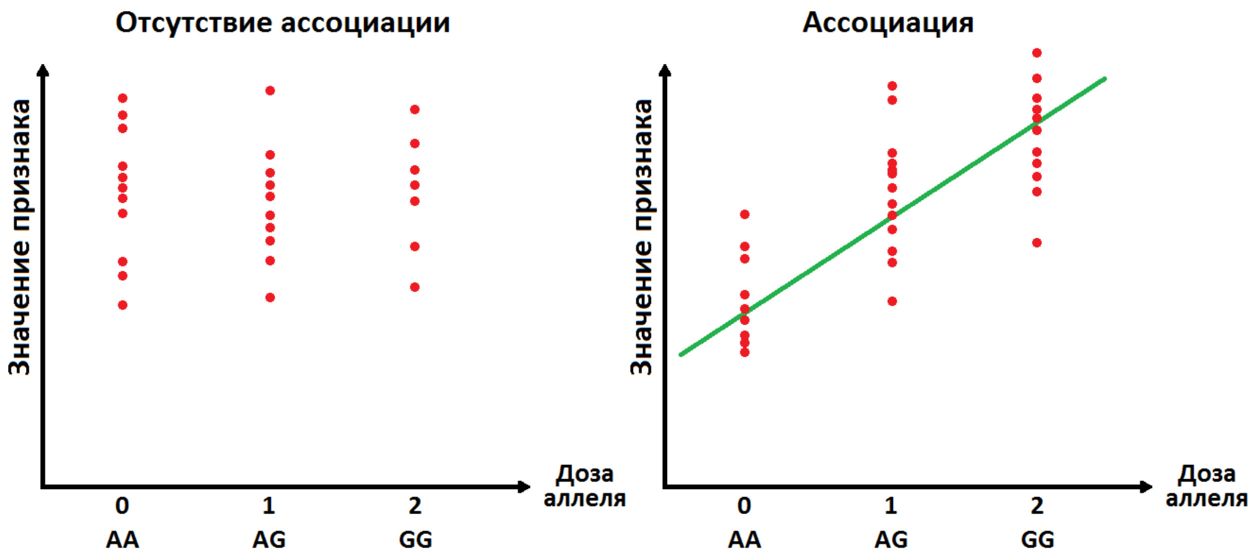

Рисунок 4. Пример ассоциации в случае аддитивного вклада аллеля в кодируемый признак.

В случае единичного теста, статистически значимым обычно считается *p*-значение, не превышающее порога α=0.05. Однако, если в исследовании присутствует множество тестов, то на уровне α=0.05, в среднем каждый двадцатый тест (т.е. 5%) будет случайным образом иметь $p < 0.05$. Данная проблема называется «проблемой множественных сравнений» [Chen et al., 2017]. Для полногеномных исследований ассоциации, где проводятся десятки и сотни тысяч тестов, она особенно актуальна. В этой связи в исследованиях ПГАА применяются различного рода поправки. Одна из наиболее используемых – поправка Бонферрони [Bonferroni, 1936]. При использовании этой поправки *p*-значение умножается на общее количество тестов, т.е. на количество полиморфизмов. Если скорректированное *p*-значение тестируемого локуса не превышает порог α=0.05, то нулевая гипотеза отклоняется.

Другой подход основан на расчете ожидаемой доли ложноположительных результатов среди всех отклоненных нулевых гипотез – FDR (англ. «false discovery rate»). Наиболее распространенный способ оценки FDR – метод Бенджамини и Хохберга [Benjamini, Hochberg, 1995]. Упрощенно, данная процедура проводится путем ранжирования *p*-значений в возрастающем порядке, умножении каждого из них на общее число тестов и делении на соответствующий ранг. Полученное таким образом для какого-либо полиморфизма *q*-значение (*q*-value) будет являться оценкой доли ложноположительных результатов в списке, включающем данный полиморфизм и все локусы с более высоким рангом (т.е. меньшим *p*-значением). Чаще всего, в исследованиях, в качестве порога FDR используют q=0.01 или q=0.05, что принимается статистически значимым. Иногда, используется порог q=0.10 или q=0.20, что называется предполагаемым уровнем значимости (англ. «suggestive significance level»).

Еще одна заметная проблема при проведении полногеномных исследований ассоциации – инфляция тестовой статистики. Суть данного явления заключается в том, что при некоторых факторах, таких как структурированность выборки, родство между изучаемыми индивидами, ошибки генотипирования, значения статистики теста для исследуемых локусов имеют тенденцию к завышению [Yang et al., 2011]. Это приводит к «переоценке» статистической значимости, и, как следствие, более высокой частоте ложноположительных результатов. Визуально инфляцию можно наблюдать с помощью графиков «QQ-plot» (англ. «quantile-quantile plot»), на которых на логарифмической шкале наблюдаемые *p*-значения отложены против ожидаемых (рисунок 5).

При условии, что нулевая гипотеза справедлива для подавляющего числа локусов, ожидаемое распределение *p*-значений будет близко к равномерному на интервале от нуля до единицы. Однако, при наличии статистической инфляции, распределение *p*-значений будет «сдвинуто» ближе к нулю, что и можно наблюдать на графике.

Величину статистической инфляции можно оценить численно, например, с помощью фактора инфляции λ. Он основан на аппроксимации тестовой статистики распределением χ^2 с одной степенью свободы. Значение λ получают делением наблюдаемой медианы полученного распределения χ^2 на ожидаемую. Как правило, значения $\lambda<1.05$ говорят об отсутствии инфляции [Price et al., 2010]. Если же λ превышает 1.05, то для коррекции можно применить метод геномного контроля, который заключается в делении наблюдаемых значений χ^2 на λ [Dadd et al., 2009].

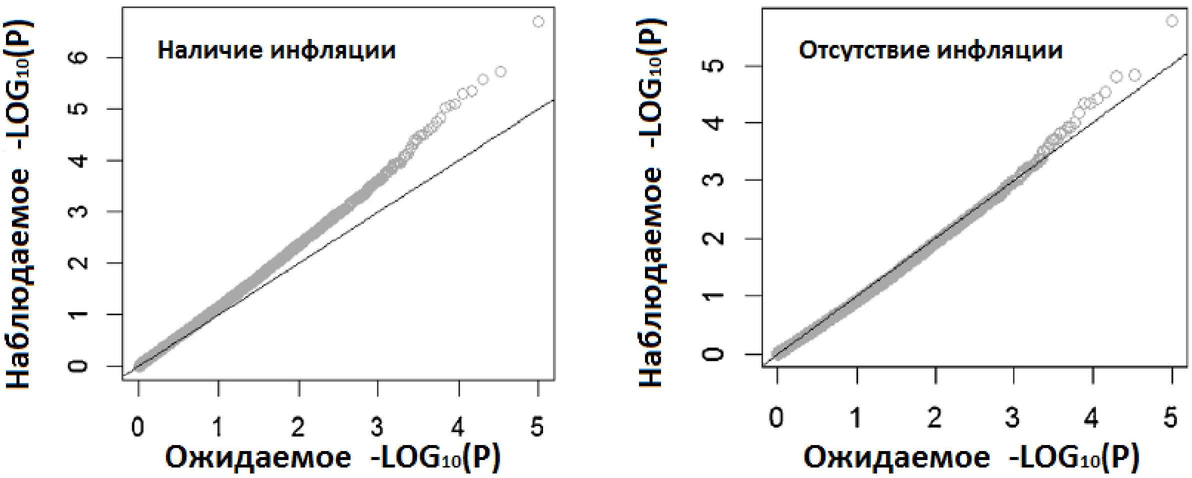

Рисунок 5. Примеры графиков «QQ-plot» при наличии и отсутствии статистической инфляции.

Кроме анализа ассоциаций по отдельным SNP, применяется анализ с использованием гаплотипов. Считается что, такой анализ имеет большую статистическую мощность, по сравнению с «одноточечным» анализом [He et al., 2011; Sehgal et al., 2020]. Это связано с тем, что SNP, идентифицированные в ПГАА, как правило, не являются каузативными (причинными, непосредственно влияющими на признак), а находятся с ними в неравновесии по сцеплению. Гаплотипы же, могут иметь более сильную связь с аллелями каузативного полиморфизма (рисунок 6).

	Гаплотип 1				Гаплотип 2				Гаплотип 3			
SNP на чипе	T	T	T	T	C	C	C	C	C	C	C	C
Каузативный SNP	G	G	G	G	A	A	A	A	G	G	G	G
SNP на чипе	C	C	C	C	C	C	C	C	A	A	A	A

Рисунок 6. Пример преимущества анализа ассоциаций с использованием гаплотипов. Гаплотип №2 (CAC) включает в себя аллель A причинного SNP, который не присутствует на ДНК-чипе.

Для исследования генетических основ адаптаций также часто используют индекс фиксации F_{st} [Porto-Neto et al., 2013]. Индекс F_{st} отражает степень генетической дифференциации между двумя субпопуляциями по заданному локусу и варьирует от нуля до единицы. Нулевое значение F_{st} соответствует отсутствию различий по частоте аллеля, в то время как единичное – фиксации в исследуемых субпопуляциях двух различных аллелей. Наивысшие значения индекса F_{st} могут указывать на районы генома с максимальными различиями по частотам аллелей между исследуемыми выборками, что может интерпретироваться как результат естественного или искусственного отбора. Обычно при полногеномном сканировании в качестве кандидатных выбираются 0.1%, 0.5% или 1% процент локусов с наивысшими значениями F_{st} (рисунок 7).

Рисунок 7. Иллюстрация поиска районов-кандидатов с помощью индекса F_{st} (взято с изменениями из Fan et al., 2016).

Ряд подходов к поиску генетических основ адаптивных признаков основан на детекции участков генома с протяженными районами гомозиготности. Такие районы возникают в результате явления «выметания отбором» (англ. «selective sweep»), когда рекомбинация не успевает разрушить сцепление между отбираемым аллелем и аллелями соседних локусов, и в результате гомозиготизация локуса на который действует отбор приводит также к гомозиготизации близлежащих сайтов и удлинению гаплотипов. Различают две основные модели (см. рисунок 8) – «hard sweep» и «soft sweep» [Harris et al., 2018].

Первая реализуется, когда отбор действует на *de novo* мутантный аллель, обладающий селективными преимуществами. Вторая – когда отбор начинает внезапно, обычно из-за изменения условий внешней среды, действовать на прежде нейтральный полиморфизм. В последнем случае, отбираемый аллель изначально включен в состав нескольких различных гаплотипов, вследствие чего отбор вызывает менее выраженную гомозиготизацию.

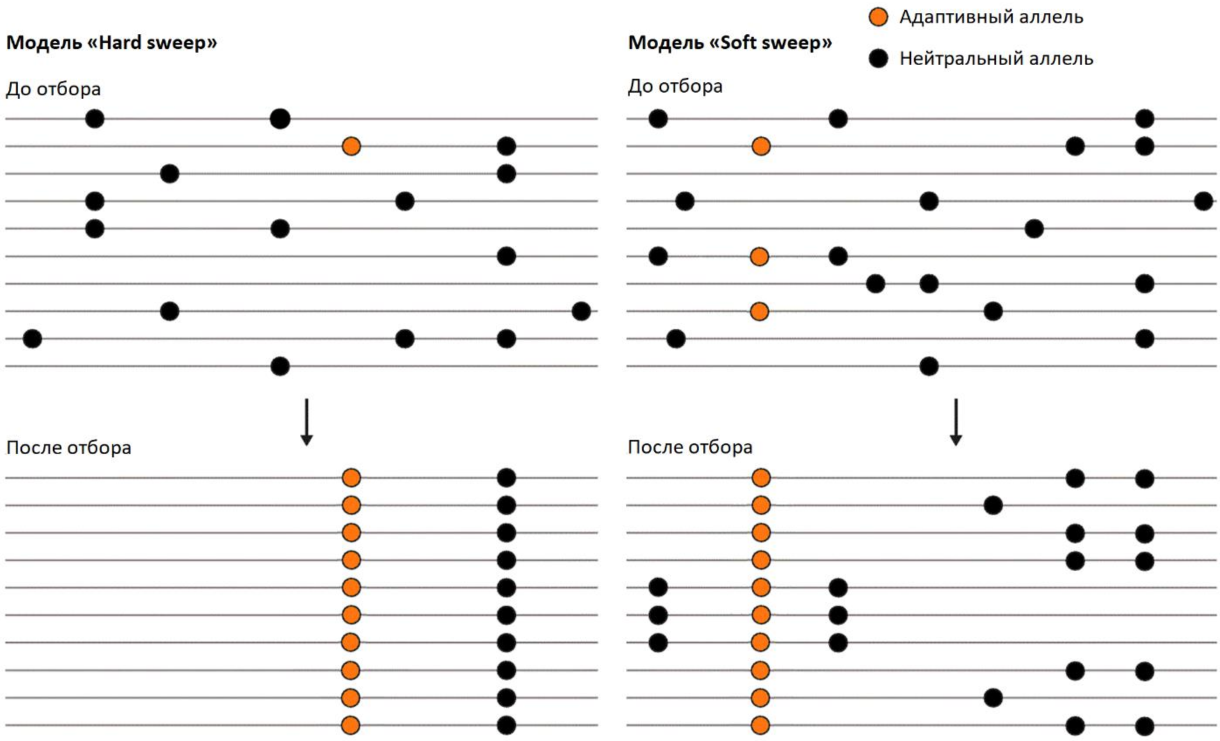

Рисунок 8. Две модели «выметания отбором» (взято с изменениями из McCoy, Akey, 2017).

Распространенные тесты, детектирующие области повышенной гомозиготности – iHS [Voight et al., 2006], EHH [Sabeti et al., 2002], H1 [Garud et al., 2015] и их модификации. Однако следует отметить, что «selective sweep» характерен для тех случаев, когда отбор ведется по одному гену или же сравнительно небольшому числу генов. Если же имеет место полигенная адаптация, то признаки «selective sweep» могут отсутствовать [Pritchard et al., 2010].

Поиск генов, вовлеченных в адаптацию можно осуществлять также на основе межвидовых сравнений. Известны случаи, когда у филогенетически удаленных, но обитающих в сходных условиях среды, видов независимо (не будучи унаследованными от общего предка) закрепляются одинаковые мутации, т.е. имеет место конвергентная эволюция на уровне нуклеотидов и аминокислот (рисунок 9) [Parker et al., 2013; Buggiotti et al., 2021]. С увеличением числа видов, для которых была проведена сборка и аннотация генома, расширяются возможности по поиску таких событий, разрабатываются соответствующие алгоритмы [Rey et al., 2018; Barteri et al., 2023].

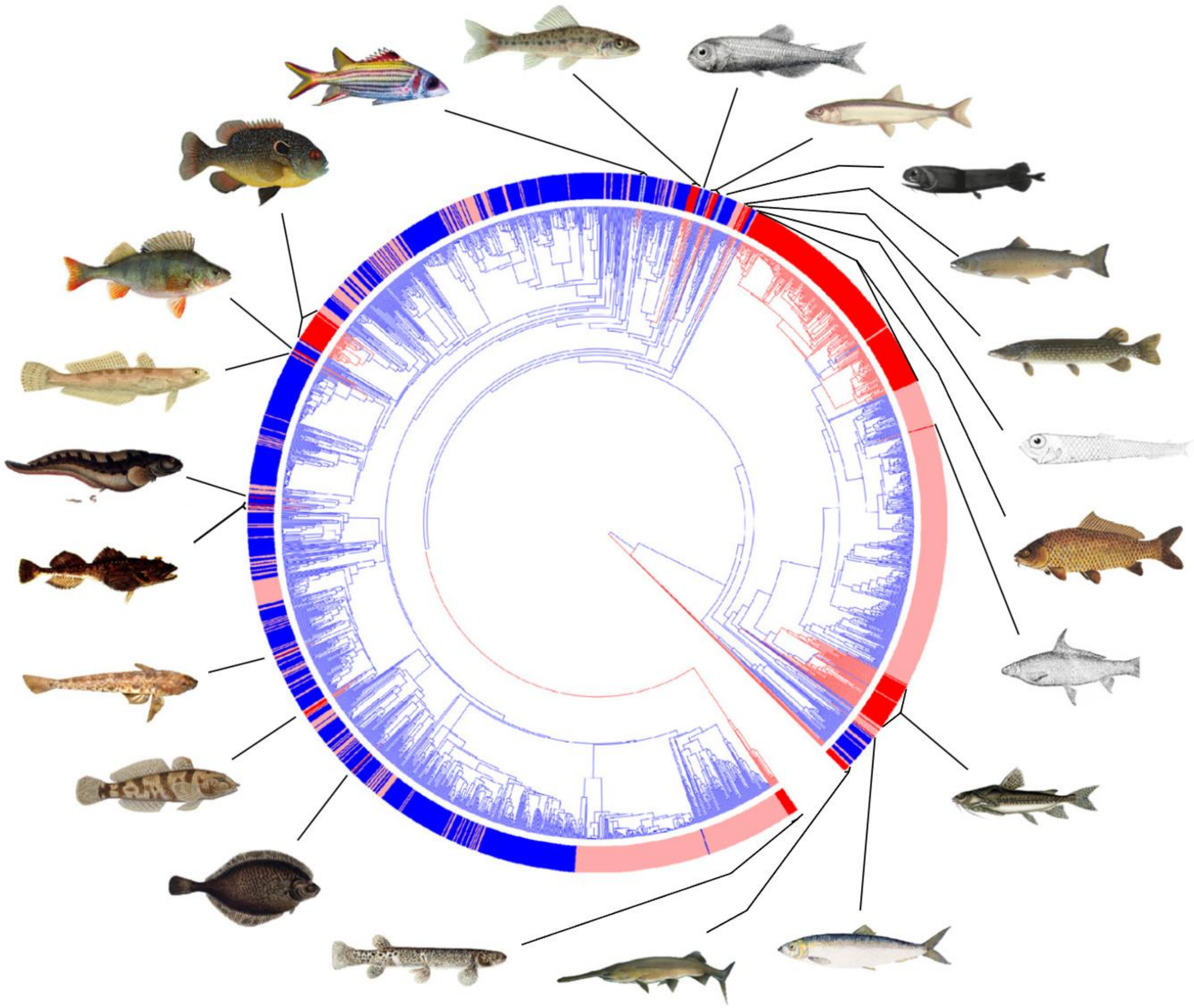

Рисунок 9. Пример конвергентной эволюции на уровне аминокислот (взято с изменениями из Hill et al., 2019): в ряде эволюционных линий рыб, обитающих в пресной или солоноватой воде, независимо произошла мутация Phe261Tyr в белке родопсина (красные ветви дерева). Во внешнем круге синий цвет соответствует морским видам, розовый\красный – пресноводным или обитающим в солоноватой воде.

Вышеописанные методы основаны на использовании данных геномики. Также, для поиска генов-кандидатов вовлеченных в адаптацию используют сравнение транскриптомов близкородственных видов, подвидов или популяций, обитающих в различающихся условиях. Найденные различия в экспрессии определенных генов могут быть связаны с соответствующими адаптациями [Xu et al., 2016].

1.5. Молекулярно-генетические основы адаптации к холоду у крупного рогатого скота

1.5.1. Гены- и SNP-кандидаты

Гены, кодирующие митохондриальные белки-разобщители и их регуляторы. Основным митохондриальным белком-разобщителем ответственным за термогенез в бурой и бежевой жировой тканях является UCP1 [Jastroch, Seebacher, 2020]. На сегодняшний день, следы отбора непосредственно в гене *UCP1* (полные названия генов приведены в приложении 1), приуроченные холодовой адаптации, выявлены в основном в популяциях человека [Hancock et al., 2011; Nishimura et al., 2017; Nikanorova et al., 2021]. Однако, у холодостойких пород КРС, по-видимому, могут подвергаться отбору гены, влияющие на экспрессию *UCP1*. Так, Yan и соавторы выявили у китайских холодостойких пород следы отбора в гене-регуляторе *UCP1 – PRDM16* [Yan et al., 2022]. Yurchenko и соавторы, анализируя следы отбора в российских породах КРС, обнаружили у черно-пестрой и холодостойкой холмогорской пород сигнал в гене *SYK*, регулирующем экспрессию *UCP1* [Yurchenko et al., 2018].

Гены, контролирующие дифференцировку и метаболизм адипоцитов. Вышеупомянутый ген *PRDM16*, кроме регуляции экспрессии *UCP1,* также участвует в адипогенезе и дифференцировке адипоцитов. В работе Yan и соавторов было показано, что аминокислотная замена P779L в гене *PRDM16* стимулирует образование бежевых адипоцитов [Yan et al., 2022]. Некоторые гены, вовлеченные в контроль дифференцировки адипоцитов и запуск в них термогенной программы, вероятно подвергались отбору в российских породах крупного рогатого скота. Так, следы отбора были выявлены в гене *HDAC3* (якутская порода) и ранее упомянутом гене *SYK* (холмогорская и черно-пестрая породы) [Yurchenko et al., 2018]. Ген *HDAC3* способен индуцировать образование бежевых адипоцитов [Ong et al., 2020], а *SYK*, по всей видимости, необходим для нормального развития бурой жировой ткани у млекопитающих, а также поддержания ее термогенной функции [Knoll et al., 2017]. Shen и соавторы осуществили поиск следов отбора у холодостойкой породы яньбянь и обнаружили сигналы в гене *CD36*, что связывается авторами с его адаптивной ролью в условиях холода [Shen et al., 2020]. Этот ген кодирует трансмембранный рецептор CD36, являющийся важным регулятором поглощения жирных кислот бурой жировой тканью в условиях холода [Bartelt et al., 2011].

Гены, вовлеченные в адаптацию к холоду сердечно-сосудистой системы. В ранее упомянутой работе Shen и соавторов по поиску следов отбора у холодостойкой породы яньбянь, были обнаружены сигналы в генах вовлеченных в контрактильную функцию гладкой мускулатуры сосудов, которая важна для сосудистых реакций кожи: *PRKG1*, *GNAS*, *ACTA2*, *PRKCB*, *PRKCA*, *GNA13*, *CYP4A11*, *GNAQ*, *ADCY2*, *ADCY5*, *CALCRL*, *ARHGEF12*, *EDNRA*, *PPP1R12A*, *GUCY1A2* и *PLCB1*. Из них, наиболее известен ген *PRKG1*, контролирующий экспрессию контрактильных белков в гладкомышечных клетках сосудов, и соответственно влияющий на процессы вазоконстрикции (сужение) и вазодилатации (расширение) [Schwappacher et al., 2013; Zhang et al., 2018]. Также следы естественного отбора в гене *PRKG1* были обнаружены у якутской породы лошадей, адаптированной к экстремально низким зимним температурам [Librado et al., 2015] и в ряде северных популяций человека (чукчи, эскимосы, коряки, якуты, эвенки) [Cardona et al., 2014].

Вероятно, генетическая адаптация к холоду у КРС затрагивает функцию сердца. Так, в работе Buggiotti и соавторов по анализу генома якутской породы КРС с использованием данных полногеномного ресеквенирования были выявлены следы отбора и уникальная породоспецифичная аминокислотная замена H100Q в связанном с функцией сердечной мышцы гене *NRAP*, которая отсутствует у всех индивидов в проекте «1000 геномов быков» [Buggiotti et al., 2021]. Авторы предполагают, что адаптивный эффект данной замены связан с необходимостью адаптации сократительной функции сердца к условиям холода.

Гены, отвечающие за рост и характеристики волосяного покрова. Один из ключевых регуляторов цикла развития волоса – ген *FGF5*. Его соответствующая функция была установлена на множестве видов, включая человека [Higgins et al., 2014], мышей [Hébert et al., 1994], собак [Housley, Venta, 2006; Dierks et al., 2013], кошек [Drögemüller et al., 2007], кроликов [Xu et al., 2020], яков [Bao et al., 2020] и морских свинок [Yu et al., 2018]. По всей видимости, *FGF5* играет адаптивную роль в условиях холода также и у крупного рогатого скота. В упомянутом ранее полногеномном поиске следов отбора у устойчивой к холоду породы яньбянь [Shen et al., 2020], один из наиболее значимых сигналов отбора был детектирован именно в районе *FGF5*. Яньбянь обладает относительно длинной и плотной шерстью, что помогает ей снижать теплоотдачу в условиях низких температур. В этой связи, авторы предполагают, что природа следов отбора в гене *FGF5* у данной породы связана именно с адаптацией к холоду.

Другой ген-кандидат – *DVL2*. Этот ген вовлечен в регуляцию цикла развития волосяного фолликула и ассоциирован с морфологией волос [Millar et al., 1999; Khaveh et al., 2023]. Mei и соавторы провели поиск следов отбора у холодостойкого монгольского скота, и обнаружили сигнал в районе гена *DVL2* [Mei et al., 2021]. С учетом функции этого гена, авторы сделали предположение о его участии в адаптации к холоду у монгольского скота.

Гены белков теплового шока и их регуляторы. Данная категория генов в условиях низких температур играет защитную роль. Белки теплового шока (англ. «heat shock proteins», HSP) – эволюционно древняя и консервативная группа стрессовых белков-шаперонов, представленная практически у всех живых организмов [Ponomarenko et al., 2013]. Первоначально, они были идентифицированы в качестве белков ответа на тепловой стресс, чему и обязаны своим названием [Ritossa, 1962]. Однако, впоследствии было установлено их участие в ответе на холодовой и другие виды стресса [Fujita, 1999]. Защитная роль HSP в ответе на холод может быть связана с тремя основными функциями: рефолдинг белков, растворение белковых агрегатов, и мечение неподлежащих восстановлению поврежденных белков для их последующей деградации [Zhang, Guy, 2006; Singh et al., 2013].

На участие генов белков теплового шока в генетической адаптации к низким температурам у крупного рогатого скота указывают результаты поиска следов отбора в геномах адаптированных к холоду пород. Так, в работе, посвященной холодостойким шведским породам КРС были найдены следы отбора в гене *HSPB8* и генах семейства DnaJ/Hsp40 – *DNAJB13* и *DNAJC28* [Ghoreishifar et al., 2020].

Известна также сезонная вариация экспрессии генов белков теплового шока и регулирующего их экспрессию транскрипционного фактора HSF1 у КРС. Pawar и соавторы, изучая экспрессию в клетках крови ряда кандидатных генов у азиатского буйвола (*Bubalus bubalis*) в разные времена года, показали повышение уровня транскрипции *HSF1* и генов семейства HSP70 в начале января и середине сентября (самый холодный и самый жаркий периоды, соответственно) по сравнению с более умеренными сезонами [Pawar et al., 2014]. В аналогичном исследовании Kumar et al., авторы изучали сезонные вариации экспрессии генов семейства HSP70, а также генов *HSP10*, *HSP60*, *HSP90* и *HSF1* у индицинного скота (*Bos taurus indicus*) и азиатских буйволов. Все указанные гены демонстрировали повышение транскрипции как в январе, так и в июне, по сравнению с мартом (термонейтральным месяцем) у *Bos taurus indicus* и у *Bubalus bubalis* [Kumar et al., 2015b].

Кроме работ по изучению экспрессии отдельных кандидатных генов, на участие HSP в холодовой адаптации указывает полнотранскриптомное исследование Pokharel и соавторов [Pokharel et al., 2019]. В нем сравнивали экспрессионные профили крови в зимний период у трех пород крупного рогатого скота – якутской, северной финской и голштинов. Из них, якутская и северная финская, в отличие от голштинов, адаптированы к холодному климату. При сопоставлении якутской породы и голштинов были выявлены различия в экспрессии генов белков теплового шока. Гены *HSPB2*, *HSPA13*, *DNAJB9* демонстрировали значимое 3-4-кратное снижение уровня транскрипции у якутской породы, в то время как *HSP90AB1* – двукратное повышение. Хорошо известны ассоциации полиморфизмов гена *HSP90AB1* с ректальной температурой у крупного рогатого скота в условиях теплового стресса [Charoensook et al., 2012; Sailo et al., 2015]. В этой связи, возможно также предположить участие данного гена в контроле температуры тела и в холодных условиях.

SNP-кандидаты. Известны ряд SNP-кандидатов холодовой адаптации КРС [Юдин и др., 2023] (таблица 1).

Таблица 1. Молекулярные маркеры адаптации к холоду у КРС.

Ген	Маркер	Локализация	Ассоциированный признак	Ссылка
HSP70	–42– (C/T)	Промотор	Трийодтиронин в крови	[Hu et al., 2019a]
	–105+ (G/T)	5’-нетранслируемая область	Трийодтиронин и тироксин в крови	[Hu et al., 2019a]

Продолжение таблицы 1.

Ген	Маркер	Локализация	Ассоциированный признак	Ссылка
HSP70	–181+ (C/T)	5’-нетранслируемая область	Трийодтиронин в крови	[Hu et al., 2019a]
	–205+ (C/T)	5’-нетранслируемая область	Трийодтиронин в крови	[Hu et al., 2019a]
	A-12G	5’-фланкирующая область	Дофамин в крови	[Abbas et al., 2020]
	C131G	5’-фланкирующая область	Супероксиддисмутаза в крови	[Abbas et al., 2020]
NRAP	Chr26:34131393 (G>T) (p.His100Glu)	Экзон (миссенс-замена)	Врожденная устойчивость к холоду	[Buggiotti et al., 2021]
PRDM16	c.2336 T>C, p.Leu779Pro	Экзон (миссенс-замена)	Врожденная устойчивость к холоду	[Yan et al., 2022]
CD36	c.638 A>G, p.Lys213Arg	Экзон (миссенс-замена)	Врожденная устойчивость к холоду	[Shen et al., 2020]
FGF5	c.191 C>T, p.Ser64Phe	Экзон (миссенс-замена)	Врожденная устойчивость к холоду	[Shen et al., 2020]
CORT	c.86 G>A, p.Pro29His	Экзон (миссенс-замена)	Врожденная устойчивость к холоду	[Shen et al., 2020]
	c.112 C>T, p.Pro38Ser	Экзон (миссенс-замена)	Врожденная устойчивость к холоду	[Shen et al., 2020]
	c.251 A>G, p.Glu84Gly	Экзон (миссенс-замена)	Врожденная устойчивость к холоду	[Shen et al., 2020]
	c.269 C>T, p.Lys90Ile	Экзон (миссенс-замена)	Врожденная устойчивость к холоду	[Shen et al., 2020]
DVL2	Chr19:27574636 (A>G)	Экзон (синонимичная замена)	Врожденная устойчивость к холоду	[Mei et al., 2021]
	Chr19:27574810 (G>A)	Экзон (синонимичная замена)	Врожденная устойчивость к холоду	[Mei et al., 2021]
	Chr19:27578136 (G>A)	Экзон (синонимичная замена)	Врожденная устойчивость к холоду	[Mei et al., 2021]

Hu и соавторы секвенировали 5’-фланкирующий район гена белка теплового шока *HSP70* у животных породы саньхэ и провели анализ ассоциаций с уровнем гормонов в крови после кратковременного холодового воздействия (3 часа при − 32 °C). В итоге, SNP-42- в промоторной области гена, и SNP-105+, -181+ и -205+ в 5’-нетранслируемой области, были значимо ассоциированы с повышением уровня трийодтиронина, а SNP-105+ был также связан с уровнем тироксина [Hu et al., 2019a]. Другие авторы также секвенировали 5’-фланкирующий район *HSP70* у животных голштинской породы и выявили ассоциацию SNP A-12G и C131G, соответственно, с концентрацией дофамина и активностью супероксиддисмутазы в крови при умеренном холодовом стрессе [Abbas et al., 2020]. По мнению авторов, эти показатели могут выступать биомаркерами устойчивости КРС к холоду.

В работе Buggiotti и соавторов по анализу генома якутской породы КРС с использованием данных полногеномного ресеквенирования был выявлен уникальный породоспецифичный аллель в связанном с функцией сердечной мышцы гене *NRAP*, приводящий к аминокислотной замене H100Q [Buggiotti et al., 2021]. Кроме якутского скота, вариант гистидина (Q) встречается у, по крайней мере, 16 видов гибернирующих/холодостойких видов млекопитающих относящихся к шести отрядам, что по мнению авторов, вероятно, является примером конвергентной эволюции на уровне аминокислот. Авторы предполагают, что адаптивный эффект данной замены может быть связан с необходимостью адаптации сократительной функции сердца в условиях холода.

Yan и соавторы обнаружили адаптивную замену (P779L) в гене *PRDM16* регулирующем экспрессию *UCP1*. Вариант лейцина представлен в высокой частоте у северных китайских пород скота, и в низкой у южных [Yan et al., 2022]. В эксперименте на клеточных культурах авторы показали, что наличие данного варианта значимо повышает экспрессию *UCP1* (а также других маркеров БЖТ: *C/EBPβ*, *PGC1α* и *CIDEA*).

Shen и коллеги провели поиск следов отбора и сравнительный анализ с жаростойким скотом (N’Dama) для породы яньбянь и выявили ряд миссенс-замен в генах-кандидатах холодовой адаптации: *CORT* (Lys90Ile, Glu84Gly, Pro38Ser, Pro29His), *FGF5* (Ser64Phe) и *CD36* (Lys213Arg) [Shen et al., 2020].

Как было упомянуто выше, Mei и соавторы обнаружили сигнал отбора у холодостойкого монгольского скота в районе гена *DVL2* [Mei et al., 2021]. Авторы выявили три кандидатные синонимичные замены, имеющие наивысшие различия по частотам аллелей между монгольским скотом и аборигенной породой Minnan: Chr19:27574636A>G, Chr19:27574810G>A и Chr19:27578136G>A.

1.5.2. Сигнальные пути

У живых организмов передача сигнала внутри клетки происходит за счет каскада последовательных биохимических реакций, вовлекающих ряд сигнальных молекул (вторичных мессенджеров) и белков-эффекторов [Newton et al., 2016]. Существуют множество путей передачи сигналов, или *сигнальных путей,* которые вовлечены в различные биологические процессы [Pires-daSilva, Sommer, 2003; Nair et al., 2019]. Далее, мы приведем примеры сигнальных путей, важных для адаптации к холоду у млекопитающих. Можно предположить, что они актуальны и для КРС, т.к. сигнальные пути, как правило, эволюционно консервативны [McCaffrey, Macara, 2009; Ishikawa et al., 2011; Plattner, Verkhratsky, 2018].

У млекопитающих, сужение сосудов (вазоконстрикция) происходит при связывании норадреналина с α-адренорецепторами гладкомышечных клеток [Muszkat et al., 2011]. Для вазоконстрикции индуцированной холодом важную роль играет сигнальный путь Rho/ROCK. В клетках гладкой мускулатуры сосудов под действием холода усиливается продукция митохондриями активных форм кислорода (АФК). АФК активируют сигнальный белок Rho, который, в свою очередь, активирует Rho-ассоциированную киназу (ROCK). ROCK взаимодействует с компонентами цитоскелета и индуцирует транслокацию α2c-адренорецепторов из компартментов аппарата Гольджи к поверхности клеточной мембраны, что способствует усилению адаптивного ответа сосудов кожи на холод [Bailey et al., 2005; Thompson-Torgerson et al., 2007; Fardoun et al., 2016; Alba et al., 2019].

Для адаптивного термогенеза в бурой жировой ткани важнейшим является сигнальный путь β3-адренорецепторов. При холодовом воздействии, норадреналин выделяемый симпатическими нервными окончаниями связывается с β3-адренорецепторами БЖТ. Будучи связанными с G-белками, β3-адренорецепторы активируют аденилатциклазу, которая синтезирует циклический АМФ (цАМФ), который, в свою очередь, активирует цАМФ-зависимую протеинкиназу (PKA). Мишенями PKA являются ряд белков, усиливающих термогенную функцию БЖТ. Также, для адаптивного термогенеза в БЖТ важны сигнальные пути инсулина/IGF1, тиреоидных гормонов и факторов семейства TGFβ [Guilherme et al., 2020; Tabuchi, Sul, 2021].

1.6. Заключение обзора литературы

Адаптация к холоду – процесс, вовлекающий множество биологических функций, и включающий, как сохранение температурного гомеостаза и развитие адаптивных морфофизиологических изменений в условиях холода у отдельных животных, так и эволюционные преобразования в популяциях в течение многих поколений испытывающих действие низких температур. Набор подходов, разработанных к настоящему времени позволяют осуществлять поиск генов-кандидатов температурного гомеостаза и, холодовой адаптации в целом, у крупного рогатого скота.

Анализ данных литературы показывает, что приспособление к холоду у различных пород КРС имеет свои особенности, что выражается в различиях в структуре адаптивной реакции, адаптивных морфофизиологических изменениях, и генах, вовлеченных в адаптацию. Изучение генетических основ адаптации к низким температурам у холодостойких пород важно с фундаментальной точки зрения, поскольку это может расширить и углубить понимание соответствующих адаптивных механизмов. Также, учитывая, что в последние годы значительную роль в улучшении приспособительных качеств КРС уделяют генетическим технологиям, знания по генам- и SNP-кандидатам адаптации к холоду могут быть востребованы в селекционной практике. Учитывая, что местные породы КРС могут содержать в геноме уникальные адаптивные аллели, целью работы было выявление генов- и SNP-кандидатов температурного гомеостаза и холодовой адаптации в сибирских популяциях близкородственных пород – герефорд и казахская белоголовая.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Выявление районов генома, вовлеченных в адаптивную реакцию на сильный холод у крупного рогатого скота, с помощью полногеномного анализа ассоциаций

2.1.1. Характеристика выборки животных

Исследуемая выборка была представлена 197 животными обоего пола пород герефорд (167 голов: 63 быка, 104 телки) и казахская белоголовая (30 голов: 23 быка, 7 телок) в возрасте от 6 месяцев до ~13 лет, содержавшимися в хозяйстве ООО «ФАРМ» (Алтайский край, Целинный р-н, с. Еланда). Животные находились в условиях круглогодичного беспривязного содержания на открытых площадках, оборудованных навесами и ветрозащитными заборами, и имели свободный доступ к воде и корму. Для каждого животного имелась карточка зоотехнического учета, содержащая информацию о поле животного, породной принадлежности, а также массе тела в определенном возрасте. Измерения массы тела проводили с сентября по декабрь 2016 г. и с января по март 2017 для более зрелых (>3 лет) и для более молодых (<3 лет) животных, соответственно.

2.1.2. Измерение тимпанальной температуры и расчет показателя адаптивной реакции на холод

В качестве меры выраженности адаптивной реакции мясного скота на сильный холод мы применили показатель AUCW5D – площадь под кривой температуры тела за пять самых холодных зимних дней (англ. «Area Under the Curve across 5 Days during Winter»), ранее использованный Howard и соавторами для изучения реакции на холод у гибридов мясных пород [Howard et al., 2014].

В качестве показателя, отражающего температуру «ядра» тела мы использовали тимпанальную температуру [Chue et al., 2012]. Для сбора информации о тимпанальной температуре животного использовали датчик FC-409 (Friendcom, КНР), которые заранее закрепляли в наружном слуховом проходе согласно рекомендациям фирмы-изготовителя. Датчики в автоматическом режиме каждые 15 минут передавали данные на приемник, соединенный с персональным компьютером. После завершения эксперимента был выбран период в пять наиболее холодных последовательных дней (температура воздуха до -32°C). Затем площадь под кривой температуры тела за пять зимних дней (AUCW5D) была вычислена методом трапеций.

2.1.3. Выделение ДНК и полногеномное генотипирование на чипах

Мы исключили из анализа 12 животных (бык и телка казахской белоголовой породы и 4 быка и 6 телок герефордской породы) с аномальными значениями температуры: менее 36.5°C (вероятно, результат смещения датчика) или выше 40.5°C (возможный признак лихорадки [Abutarbush et al., 2012; Burgess et al., 2013]). В результате для генотипирования были использованы 185 животных.

Образцы крови (5-10 мл) из яремной вены каждого животного были собраны в вакуумные пробирки с ЭДТА (Weihai Hongyu Medical Devices Co., Ltd, China). Выделение ДНК из образцов осуществляли путем клеточного лизиса с последующей экстракцией стандартным фенол-хлороформным методом [Sambrook, Russell, 2006]. Генотипирование было проведено на ДНК-чипе GGPHD150K, содержащем 139 376 SNP, в компании GeneSeek (Сан Диего, США). Идентификация генотипов была произведена с помощью программы GenomeStudio 2 компании Illumina (Сан Диего, США). Фильтрация данных была произведена в программе PLINK версии 1.9 [Chang et al., 2015]. Были отфильтрованы все SNP, локализованные на половых хромосомах, а также все SNP без указанной хромосомной локализации. Данные, полученные на этом этапе фильтрации (119 841 SNP маркеров), были использованы для фазирования генотипов в гаплотипы, конструирования гаплоблоков и последующего полногеномного анализа ассоциаций (ПГАА) с их использованием. Для ПГАА с использованием отдельных SNP были осуществлены дополнительные этапы фильтрации, включающие удаление SNP с низкой (<0.05) частотой минорного аллеля, SNP с отклонением от равновесия Харди-Вайнберга ($p<10^{-6}$) и SNP с низкой частотой генотипированных образцов (<90%). Мы также вычислили уровень гетерозиготности для каждого животного и удалили двух животных с аномально высокой гетерозиготностью (>70%), что могло являться результатом контаминации ДНК [Anderson et al., 2010]. В результате, для дальнейшего анализа нами были использованы 183 образца ДНК (59 быков и 97 телок герефордской породы и 21 бык и 6 телок породы казахская белоголовая, см. приложение 2), генотипированных по 108 156 SNP маркерам.

2.1.4. Анализ главных компонент

Поскольку герефорд и казахская белоголовая сходны фенотипически, мы использовали метод главных компонент для того чтобы выявить возможные ошибки при указании породной принадлежности животных в карточках зоотехнического учета. Для этого, в окнах размером 100 SNP с шагом в 5 SNP, из набора 108 156 SNP, генотипированных у 183 животных, были удалены полиморфные варианты находящиеся в сильном ($r^2 > 0.7$) неравновесии по сцеплению (команда PLINK --indep-pairwise 100 5 0.7). Затем, с использованием полученных данных был выполнен анализ главных компонент (команда PLINK --pca). Для визуализации использовали первую и вторую главные компоненты.

2.1.5. Полногеномный анализ ассоциаций с использованием отдельных SNP

Мы проанализировали связь между различными характеристиками животных, с целью определить какие из них вносят наибольший вклад в поддержание температуры тела и выбрать соответствующие ковариаты для полногеномного анализа ассоциаций. В итоге, в качестве ковариат были выбраны пол и породная принадлежность.

ПГАА на основе отдельных SNP был выполнен с использованием программы EMMAX, реализующей смешанную линейную модель, позволяющую учитывать стратификацию выборки и родство между анализируемыми индивидами [Kang et al., 2010]. Матрица родства была вычислена на основе модели Балдинга-Николса [Balding, Nichols, 1995], с использованием данных, полученных после вышеописанных параметров фильтрации. Наряду с дозой аллеля SNP, в качестве ковариат использовали ранее выбранные пол и породную принадлежность. Таким образом, анализ был проведен с использованием следующей статистической модели:

$$\mathbf{y} = \boldsymbol{\mu} + \mathbf{X}\boldsymbol{\beta} + \boldsymbol{\alpha} + \mathbf{e},$$

где $\mathbf{y}$ – вектор фенотипических значений размером $n \times 1$ (n=183); $\boldsymbol{\mu}$ – вектор-константа; $\mathbf{X}$ – матрица плана для фиксированных эффектов (доза аллеля, пол, порода), **ß** – вектор коэффициентов регрессии; **α** – вектор случайных эффектов, чья ковариационная матрица пропорциональна матрице родства (т.е. $\alpha \sim N(0, \mathbf{K}\sigma^2_\alpha)$, где **K** – матрица родства и σ^2_α – аддитивная генетическая дисперсия); **e** – вектор остатков (предполагается, что остатки некоррелированы, т.е. $e \sim N(0, \mathbf{I}\sigma^2_e)$, где **I** – единичная матрица и σ^2_e – дисперсия ошибок).

Во избежание «переоценки» статистической значимости, которая может возникать из-за недостаточного учета структуры выборки, рассчитывали фактор инфляции λ и затем, при необходимости, проводили стандартную процедуру геномного контроля (метод «GC_{median}») [Dadd et al., 2009].

Для поправки на множественные сравнения использовали метод Бенджамини-Хохберга [Benjamini, Hochberg, 1995]. Значения q=0.05 и q=0.10 использовали в качестве двух уровней статистической значимости: значимого (significant) и предполагаемого (suggestive), соответственно.

2.1.6. Полногеномный анализ ассоциаций с использованием гаплотипов

В качестве комплементарного подхода мы выполнили полногеномный поиск ассоциаций с использованием гаплотипов. Анализ был выполнен с помощью метода HTR (Haplotype Trend Regression), реализованного в функции «*htr*» R-пакета «*gap*» [Zaykin et al., 2002; Zhao, 2008]. Метод HTR использует *F*-тест для проверки нулевой гипотезы о равенстве нулю эффектов всех гаплотипов – H_0: $ß_1 = ß_2 = … = ß_h = 0$. Фазирование генотипов в гаплотипы было выполнено с помощью программы fastPhase версии 1.4.8 [Scheet, Stephens, 2006]. Параметр K (число кластеров гаплотипов) был выбран равным 40 на основании расчета алгоритмом кросс-валидации, реализованным в fastPhase версии 1.1, прочие параметры были установлены по умолчанию. Далее, фазированные генотипические данные были разбиты на блоки неравновесия по сцеплению (гаплоблоки) с помощью алгоритма «solid spine» программы Haploview [Barrett et al., 2005]. Данный алгоритм определяет гаплоблок как набор последовательно лежащих SNP, из которых первый и последний находятся в сильном (D’≥ 0.8) неравновесии по сцеплению со всеми промежуточными SNP.

Матрицы доз гаплотипов были сконструированы на основе полученных ранее гаплоблоков. Как и в ПГАА с использованием отдельных SNP, в качестве дополнительных предикторов использовали пол и породу животных. Поскольку функция «*htr*» принимает на вход только матрицы плана, состоящие из доз гаплотипов, мы предварительно построили регрессионную модель с полом и породой в качестве предикторов и с фенотипом в качестве зависимой переменной. Значения вектора остатков, на которые приходится доля дисперсии, не объясненная эффектами пола и породы, были взяты в качестве скорректированного фенотипа. Таким образом, статистическая модель HTR теста выглядела следующим образом:

$$\mathbf{y} = \boldsymbol{\mu} + \mathbf{D}\boldsymbol{\beta} + \mathbf{e},$$

где **y** – вектор значений скорректированного фенотипа размером n × 1 (n=183); **μ** – вектор-константа; **D** – матрица плана размером n × h, содержащая дозы h гаплотипов; **ß** – вектор эффектов гаплотипов; **e** – вектор остатков (допущения о структуре дисперсии вектора **e** аналогичны таковым для теста с использованием отдельных SNP).

Как и для ПГАА с использованием отдельных SNP, при необходимости, проводили стандартную процедуру геномного контроля (метод «GC_{median}») [Dadd et al., 2009]. Для поправки на множественные сравнения также использовали метод Бенджамини-Хохберга [Benjamini, Hochberg, 1995].

2.2. Полногеномный анализ ассоциаций массы тела у крупного рогатого скота

Дополнительно, на этой же выборке животных мы провели полногеномный анализ ассоциаций массы тела с использованием отдельных SNP. ПГАА проводили аналогично таковому при исследовании ассоциаций с адаптивной реакцией на сильный холод. В качестве фенотипа использовали массу тела животного в определенном возрасте, отмеченную в карточках зоотехнического учета. В общей сложности, данные по массе тела в определенном возрасте имелись для 174 животных (см. приложение 2). Из них, 173 животных были ранее использованы в ПГАА адаптивной реакции. Одно животное (бык герефордской породы) было генотипировано дополнительно. В качестве предикторов использовали пол, породу, квадратный корень из возраста и дозу аллеля SNP. Квадратный корень из возраста был выбран в качестве ковариаты, поскольку он является лучшим предиктором массы тела (r=0.85) по сравнению с возрастом (r=0.788). Геномный контроль и поправку на множественные сравнения проводили аналогично таковым при анализе ассоциаций с адаптивной реакцией на сильный холод. Всего в анализе были использованы 107 550 SNP.

2.3. Анализ данных ресеквенирования животных с контрастными фенотипами по адаптивной реакции на сильный холод

2.3.1. Ресеквенирование животных с контрастными фенотипами

Из выборки 183 животных мы отобрали двенадцать особей, демонстрирующих контрастные фенотипы по адаптивной реакции на сильный холод. Из них, шесть имели экстремально низкие значения площади под кривой температуры тела за пять зимних дней (AUCW5D), и шесть – экстремально высокие (таблица 2). Образцы ДНК данных животных (процедура выделения ДНК описана выше) были ресеквенированы на платформе Illumina Hiseq4000 в компании Novogene (Гонконг, Китай).

Таблица 2. Информация по ресеквенированным животным.

Пол	Адаптивная реакция на сильный холод	AUCW5D (°C×ч)	Порода
Бык	Слабая	4439	Казахская белоголовая
Телка	Слабая	4506	Герефорд
Телка	Слабая	4509	Герефорд
Телка	Слабая	4535	Герефорд
Телка	Слабая	4536	Герефорд
Телка	Слабая	4577	Казахская белоголовая
Телка	Сильная	4755	Герефорд
Бык	Сильная	4761	Казахская белоголовая
Бык	Сильная	4771	Казахская белоголовая
Телка	Сильная	4819	Герефорд
Бык	Сильная	4821	Герефорд
Бык	Сильная	4853	Казахская белоголовая

Обработка данных секвенирования проводилась Д.М. Ларкиным и описана в работе Игошина с соавторами [Igoshin et al., 2021]. В полученных в итоге VCF-файлах, содержащих идентифицированные полиморфные варианты, насчитывалось 17 561 905 SNP, из которых 16 852 080 являлись аутосомными.

2.3.2. F_{st}-анализ различий между контрастными группами

Мы провели F_{st}-анализ [Weir, Cockerham, 1984] методом «скользящего окна» для выявления районов генома, вносящих вклад в различия между двумя группами животных, контрастными по адаптивной реакции на сильный холод.. Анализ был выполнен для аутосомных SNP с помощью программы VCFtools v.0.1.13 [Danecek et al., 2011]. Размер окна и шаг были выбраны равными 50 и 25 тыс. п.н., соответственно (команда –weir-fst-pop –fst-window-size 50000 –fst-window-step 25000).

2.3.3. Поиск SNP-кандидатов

По итогам F_{st}-анализа для окон размером 50 тыс. п.н. были получены значения взвешенного индекса F_{st}. Для идентификации кандидатных SNP в районах с наивысшим значением этого индекса, мы использовали ранжирование, проведенное следующим образом. Для каждого SNP были рассчитаны три ранга на основании взвешенного F_{st}, частотных различий между контрастными группами и FAETH-оценок. FAETH-оценки (англ. «FAETH-score») представляют собой численную характеристику функциональной значимости полиморфизмов, рассчитанную на основе их вклада в 34 фенотипа КРС (в основном, хозяйственно-ценные признаки и морфометрические показатели) [Xiang et al., 2019]. Эти оценки были использованы нами, поскольку адаптивный ответ на холод зависит от множества физиологических и морфологических особенностей организма животного. Ранги были представлены значениями от нуля до единицы таким образом, что чем выше соответствующее значение (т.е. взвешенный F_{st}, разница частот или FAETH-оценка), тем меньше его ранг.

Ранг по взвешенному F_{st} для SNP был рассчитан на основании положения соответствующего окна в ранжированном списке из 100 443 районов. Поскольку почти все SNP относились к двум перекрывающимся окнам, то учитывали окно с наибольшим значением взвешенного F_{st}. Ранг по различиям в частотах аллелей рассчитывали на основании 16 647 833 аутосомных SNP, имеющих не менее трех генотипированных животных в каждой из групп. Ранг по FAETH-оценкам рассчитывали на основании 8 836 652 SNP, которые имели FAETH-оценки. Ранги были суммированы, после чего SNP были отсортированы по сумме рангов (см. схему на рисунке 10). SNP с наименьшей (<0.1) суммой рангов были аннотированы с помощью программ NGS-SNP [Grant et al., 2011] и Variant Annotation Integrator [Hinrichs et al., 2016]. Аннотация геномных районов соответствующими генами была произведена на основе файла разметки Bos_taurus.UMD3.1.94.gtf проекта Ensembl [Flicek et al., 2010].

Рисунок 10. Схема ранжирования SNP.

2.3.4. Анализ функционального обогащения списка генов

Чтобы определить, какие биологические функции вносят вклад в различия по адаптивной реакции на сильный холод между двумя контрастными группами, мы провели анализ функционального обогащения с помощью веб-сервиса DAVID (The Database for Annotation, Visualization and Integrated Discovery) [Sherman et al., 2022]. В качестве референсного списка генов брали все аутосомные гены *Bos taurus*, аннотированные проектом Ensembl. В качестве целевого списка использовали гены аннотации Ensembl, пересекающиеся с 1% районов, имеющих наивысшие значения взвешенного индекса F_{st}.

2.4. Сравнение герефордов сибирской селекции и зарубежных герефордов по полиморфизмам, ассоциированным с хозяйственно-важными признаками

2.4.1. Формирование списка кандидатных полиморфизмов

Список кандидатных однонуклеотидных полиморфизмов, вставок и делеций был составлен на основе информации из базы данных OMIA (www.omia.org [Lenffer et al., 2006]) и рекомендаций по генетическим вариантам хозяйственного и клинического значения, изданным Ирландской федерацией разведения крупного рогатого скота (ICBF) [McClure, McClure, 2016]. Геномные позиции полиморфизмов, указанные в координатах сборки *Bos taurus* UMD3.1, были переведены в координаты сборки ARS-UCD1.2 с использованием программы LiftOver [Kuhn et al., 2013]. Для локусов, полиморфных в выборках герефордов сибирской селекции и зарубежных герефордов, была проведена сверка референсных и альтернативных аллелей на соответствие указанным в публикациях.

2.4.2. Характеристика выборки животных

Исследуемая выборка была представлена 18 животными герефордской породы сибирской селекции ресеквенированными нами и 123 зарубежными герефордами из проекта «1000 геномов быков» [Hayes, Daetwyler, 2019]. Из указанных 18 особей шесть ранее были использованы нами в эксперименте по ресеквенированию животных с контрастными фенотипами. Дополнительно, мы ресеквенировали 12 животных из хозяйства ООО «ФАРМ» (Алтайский край, Целинный р-н, с. Еланда). Процедура выделения ДНК была описана ранее. Полногеномное ресеквенирование проводили на платформе Illumina Hiseq4000 в компании Novogene (Гонконг, Китай). Обработка данных секвенирования проводилась Д.М. Ларкиным и описана в работе Игошина с соавторами [Igoshin et al., 2022]. Выборка 123 зарубежных герефордов была представлена животными из США (n=54), Канады (n=41), Австралии (n=18), Новой Зеландии (n=8) и Швейцарии (n=2).

2.4.3. Подсчет и сравнение частот аллелей

Извлечение SNP, инсерций и делеций из полногеномных VCF-файлов проводили с помощью утилиты Tabix [Li, 2011], используя координаты полиморфизмов из ранее сформированного списка. Полученные VCF-файлы, содержащие выбранные полиморфизмы, были использованы для подсчета частот альтернативных аллелей в выборках с помощью программы PLINK 2.0 [Purcell et al., 2007] (команда --vcf --chr-set 30 --freq --pheno --loop-cats). Подсчет осуществляли для 18 животных герефордской породы сибирской селекции и для совокупной выборки зарубежных герефордов (123 особи).

Наличие различий по частотам аллелей между выборками проверяли с помощью точного теста Фишера используя функцию «*fisher.test()*» языка R. Для поправки на множественные сравнения использовали метод Бенджамини-Хохберга [Benjamini, Hochberg, 1995]. В качестве значимого использовали порог q=0.2, принятый при тестировании кандидатных генов и полиморфизмов [Ritonja et al., 2022; AlEjielat et al., 2023].

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1. Выявление районов генома, вовлеченных в адаптивную реакцию на сильный холод у крупного рогатого скота, с помощью полногеномного анализа ассоциаций

3.1.1. Анализ главных компонент

Анализ главных компонент продемонстрировал, что особи герефордов и казахской белоголовой формируют два отдельных кластера (рисунок 11).

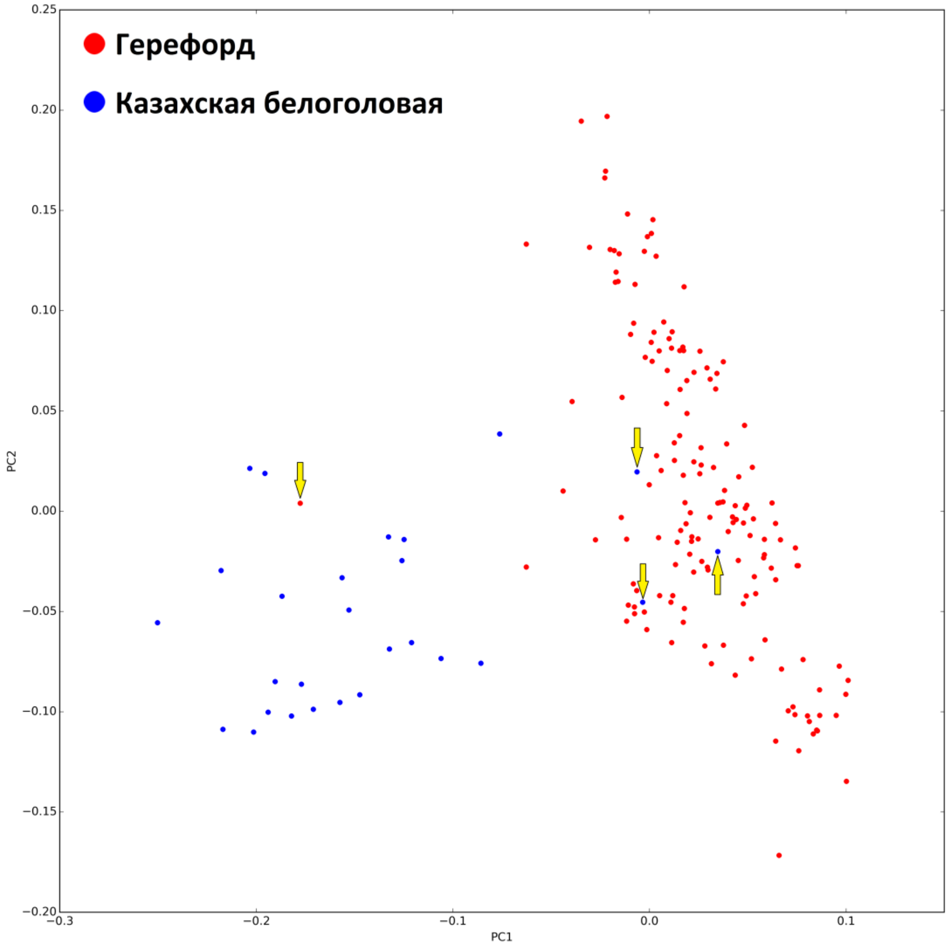

Рисунок 11. Популяционная структура исследуемой выборки, визуализируемая в пространстве двух главных компонент. Желтыми стрелками указаны животные, для которых была исправлена породная принадлежность.

При этом, для некоторых животных наблюдаются несоответствия между породой, указанной в карточке зоотехнического учета, и результатами кластеризации. Так, одно животное герефордской породы находилось в кластере казахской белоголовой, и три животных казахской белоголовой кластеризовались с герефордами. Для дальнейшего анализа, для всех четырех особей была исправлена породная принадлежность (см. приложение 2).

3.1.2. Полногеномный анализ ассоциаций с использованием однонуклеотидных полиморфизмов

3.1.2.1. Выбор ковариат

Было выявлено, что в пределах нашей выборки площадь под кривой температуры тела в условиях холода имеет наибольшую связь с полом, возрастом и массой тела животных (таблица 3). Связь с полом, по-видимому, обусловлена тем, что все присутствующие в выборке бычки имеют молодой возраст (в среднем ~11 мес.) и, соответственно, хорошо выраженную реакцию на холод (высокие значения AUCW5D), тогда как подавляющее большинство телок – зрелые (в среднем ~55 мес.), и имеют менее выраженную реакцию (низкие значения AUCW5D).

Таблица 3. Статистическая связь (корреляция Пирсона) между различными характеристиками животных в исследуемой выборке. Все значения коэффициентов корреляции достоверны на уровне *p*<0.001.

	Масса тела	Возраст	Порода	Пол
AUCW5D	-0.633	-0.617	0.25	0.66
Масса тела		0.788	0.338	0.803
Возраст			0.32	0.723
Порода				0.319

При этом, зависимость поддержания температуры тела от возраста может быть как прямой (характерное для млекопитающих возрастное ухудшение терморегуляции [Székely, Garai, 2018; Holman et al., 2023]), так и опосредованной влиянием возраста на массу тела животных (более массивные животные имеют менее выраженный адаптивный ответ на холод [Киселев, 1975]). Мы проанализировали связь между массой тела и адаптивной реакцией на сильный холод в пределах групп индивидов одного или близкого возраста (рисунок 12).

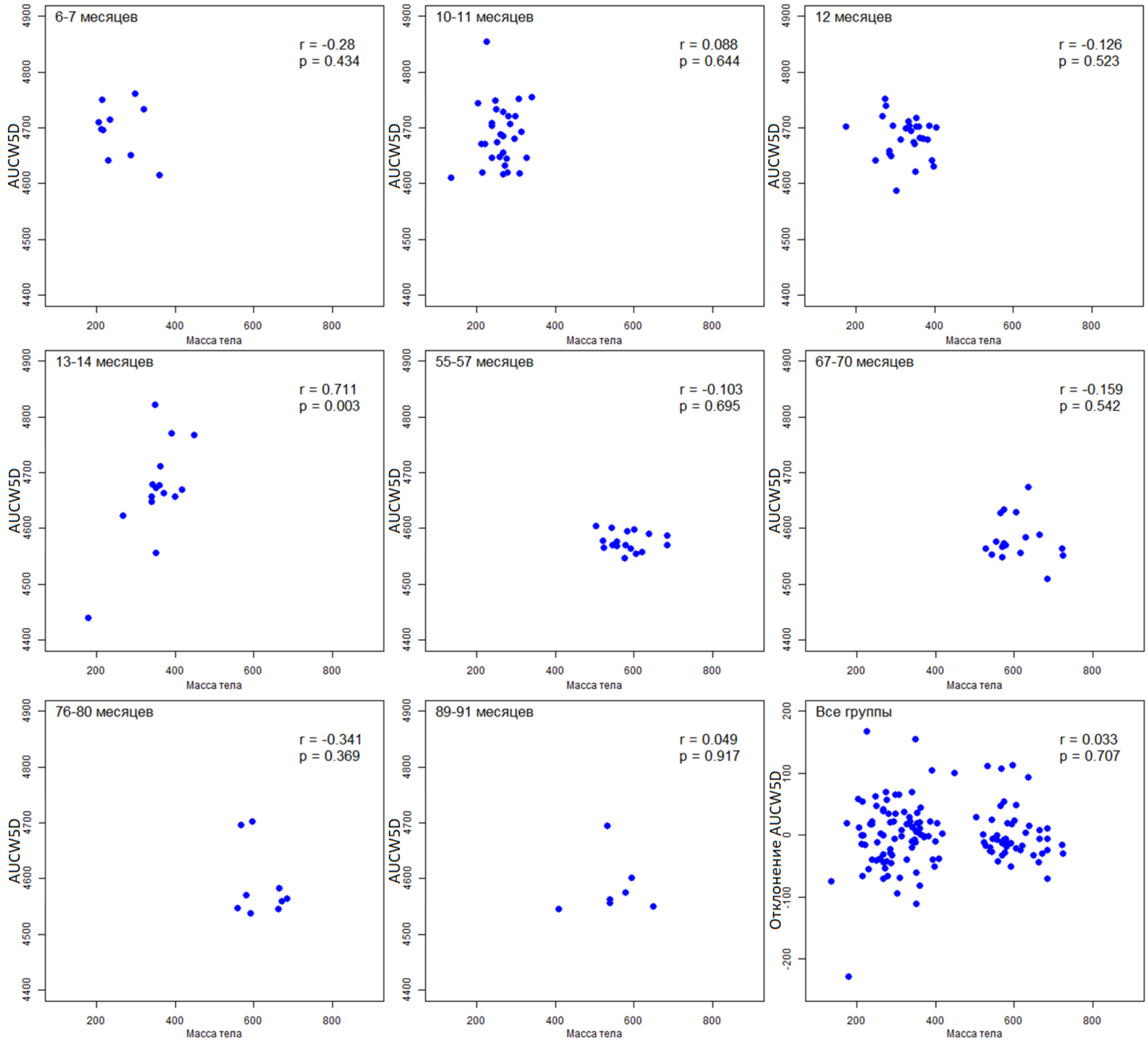

Рисунок 12. Зависимость выраженности адаптивной реакции на сильный холод (AUCW5D) от массы тела в пределах групп животных сходного возраста. На правом нижнем графике – зависимость значений AUCW5D, скорректированных по внутригрупповым средним, от массы тела. В правом верхнем углу каждого графика показаны коэффициенты корреляции Пирсона r и *p*-значения ассоциации.

Оказалось, что в большинстве возрастных групп не наблюдается статистически значимой ассоциации между массой тела и выраженностью адаптивной реакции. При этом, если нормировать значения площади под кривой путем вычитания из них внутригрупповой средней, то какая-либо связь между нормированным фенотипом и массой исчезает. Это означает, что в нашей выборке возраст влияет на поддержание температуры тела животных напрямую (а не опосредованно, через массу). Таким образом, в качестве кандидатных ковариат можно рассматривать пол и возраст животных.

Поскольку пол и возраст высококоррелированы (r=0.723), одновременное их использование в качестве ковариат в статистическом тесте нежелательно из-за проблемы мультиколлинеарности – неустойчивости оценок параметров модели при высокой коррелированности предикторов [Graham, 2003]. При выборе из двух ковариат, мы отдали предпочтение полу. Во-первых, в нашей выборке пол является лучшим предиктором площади под кривой температуры тела (r=0.66), в сравнении с возрастом (r=0.617). Во-вторых, считается, что быки имеют более высокий уровень основного обмена по сравнению с телками [Li et al., 2021], что в свою очередь может являться фактором, влияющим на терморегуляцию в условиях холода [Maeda et al., 2007; Daanen, Marken Lichtenbelt Van, 2016].

Чтобы нивелировать возможные эффекты стратификации выборки, кроме пола, в качестве дополнительной ковариаты мы также выбрали породу. Породная принадлежность и пол исследуемых животных имеют слабую корреляцию (r=0.319), что допускает их одновременное использование в качестве ковариат.

3.1.2.2. Статистический анализ

В результате проведенного полногеномного анализа ассоциаций по отдельным SNP нами было выявлено два полиморфизма на хромосоме 15, значимых на уровне q<0.10 (рисунки 13-15, таблица 4). Фактор инфляции λ в данном типе анализа равнялся 0.975 (рисунок 16), что означает корректный учет стратификации выборки и родства между индивидами статистической моделью [Hinrichs et al., 2009]. Наиболее значимый SNP ($p=9.55\times10^{-7}$, q=0.068) – BovineHD1500000589 (BTA15:2551329, здесь и далее координаты приведены для геномной сборки Bos_taurus_UMD_3.1.1), был расположен в интронной области гена *GRIA4*. Второй SNP – BovineHD1500000472 (BTA15:2030345; $p=1.7\times10^{-6}$, q=0.068), был локализован между генами *MSANTD4* и *GRIA4*. Два вышеуказанных SNP находились в неравновесии по сцеплению (r^2 = 0.82).

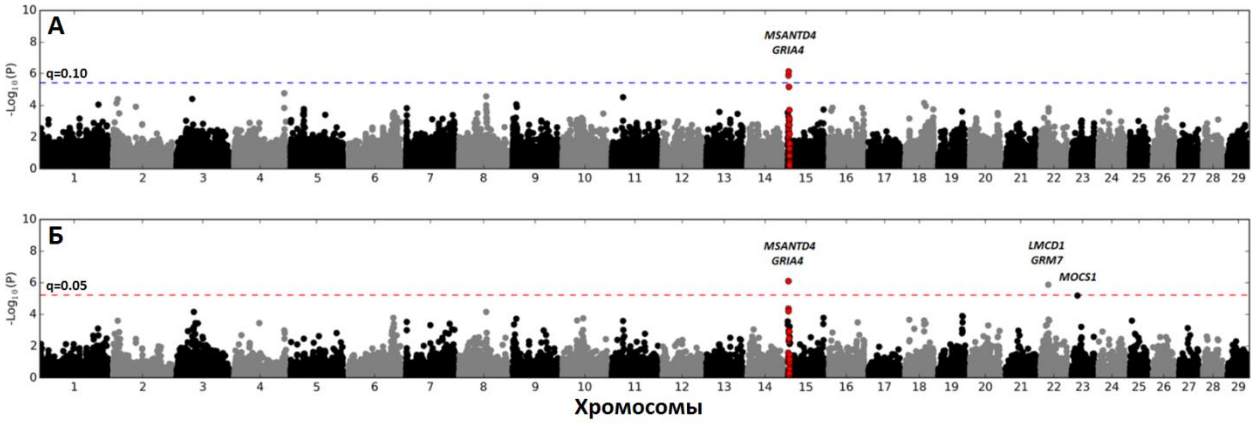

Рисунок 13. Манхэттенские графики, иллюстрирующие результаты ПГАА адаптивной реакции КРС на сильный холод с использованием SNP (А) и гаплотипов (Б). Красными точками обозначен общий район, идентифицированный в обоих тестах. Пунктирные линии обозначают пороги значимости.

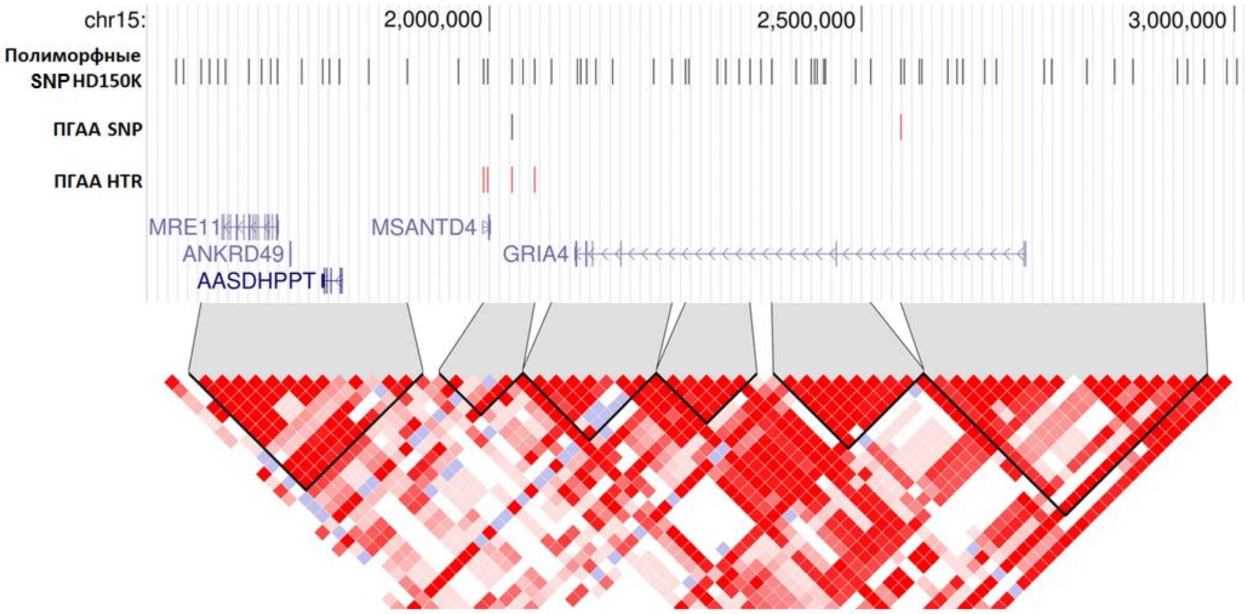

Рисунок 14. SNP и гаплоблок на хромосоме 15, ассоциированные с адаптивной реакцией на сильный холод у КРС по результатам ПГАА. Координаты указаны для сборки UMD_3.1.1. SNP HD150K – SNP, исследованные на чипе GGPHD150K. ПГАА SNP и ПГАА HTR – SNP, выявленные в нашем исследовании с помощью тестов EMMAX и HTR, соответственно. Степень неравновесия по сцеплению показана различными оттенками красного (логарифм отношения шансов LOD ≥ 2), либо синего (LOD < 2) цвета. Гаплоблоки, выделенные при помощи программы Haploview, показаны серым цветом.

Таблица 4. SNP и районы генома, ассоциированные с выраженностью адаптивной реакции на сильный холод по данным двух типов ПГАА.

Идентификатор SNP	**Позиция (UMD_3.1)**	**Гены**	***p*-значение**	***q*-значение**
ПГАА с использованием SNP				
BovineHD1500000472	Chr15:2030345	*MSANTD4, GRIA4*	1.26×10^{-6}	0.0682
BovineHD1500000589	Chr15:2551329	*GRIA4*	6.97×10^{-7}	0.0682
ПГАА с использованием гаплотипов				
ARS-BFGL-NGS-65843	Chr15:1991615	*MSANTD4, GRIA4*	7.82×10^{-7}	0.0161
BovineHD1500000469	Chr15:1997589			
BovineHD1500000472	Chr15:2030345			
BovineHD1500000476	Chr15:2060428			
ARS-BFGL-NGS-52880	Chr22:18039089	*GRM7, LMCD1*	1.29×10^{-6}	0.0161
BovineHD2200005201	Chr22:18080658			
BovineHD2200005211	Chr22:18127222			
BovineHD2200005214	Chr22:18151738			
BovineHD2200005216	Chr22:18158982			
ARS-BFGL-NGS-78960	Chr23:13820849	*MOCS1*	6.29×10^{-6}	0.052
BovineHD2300003452	Chr23:13913577			
BovineHD2300003474	Chr23:13974823			
BovineHD2300003480	Chr23:13999700			
BovineHD2300003484	Chr23:14010711			

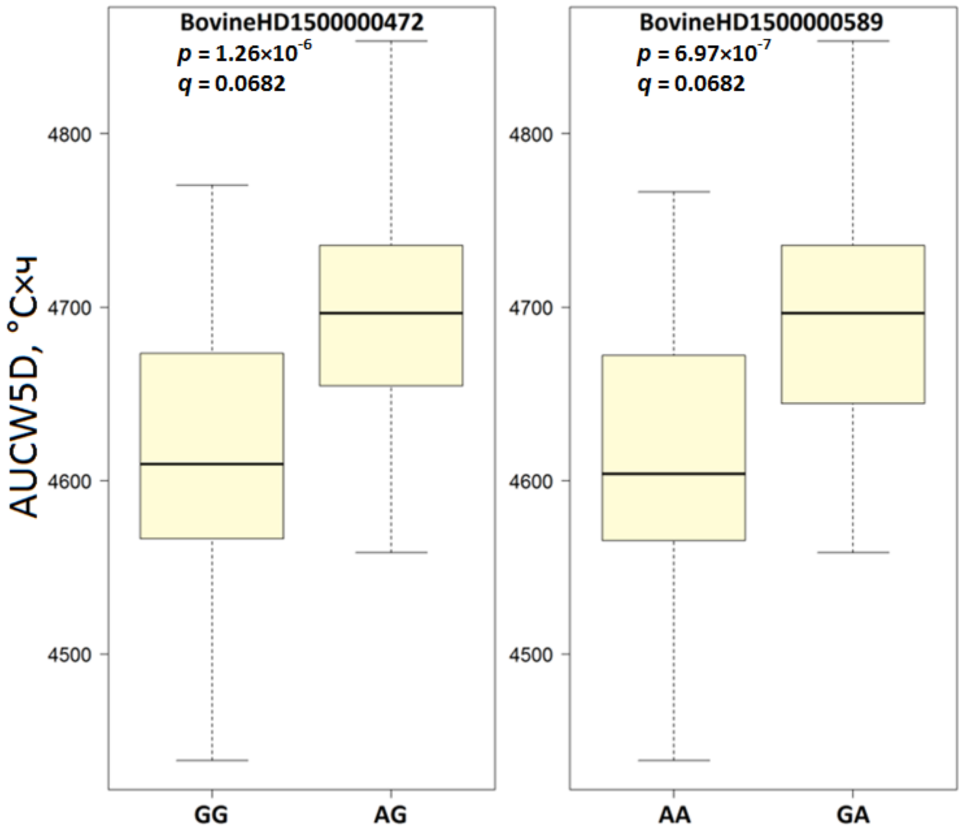

Рисунок 15. Выраженность адаптивной реакции на сильный холод (AUCW5D) у носителей различных генотипов SNP BovineHD1500000472 и BovineHD1500000589.

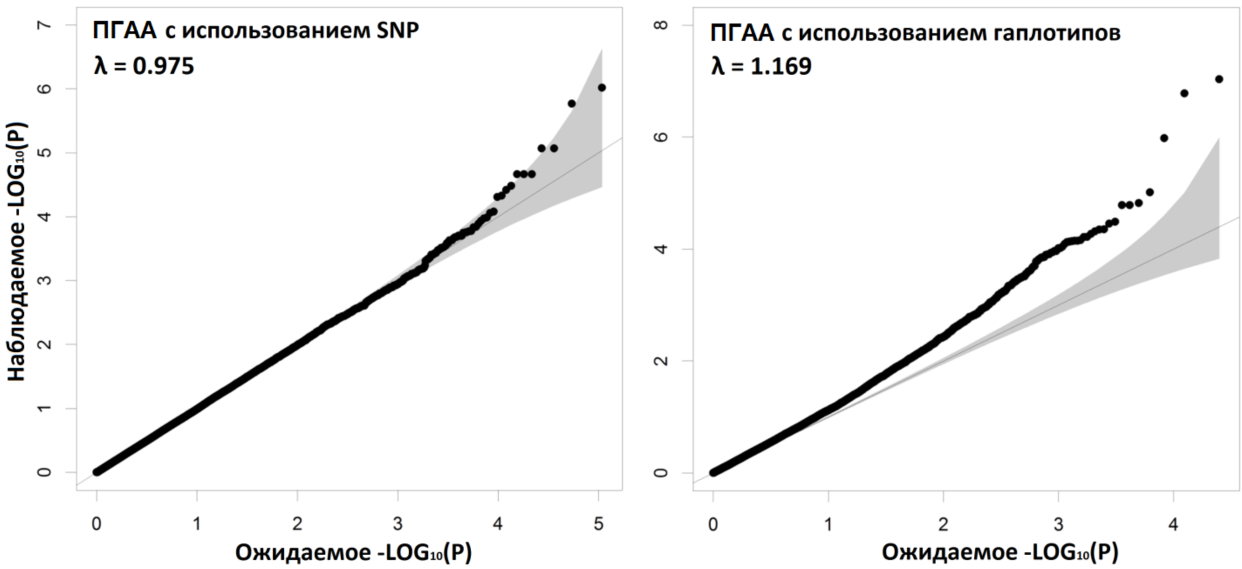

Рисунок 16. Графики «QQ-plot» и факторы инфляции для результатов полногеномного анализа ассоциаций с адаптивной реакцией на сильный холод.

3.1.3. Полногеномный анализ ассоциаций на основе гаплотипов

3.1.3.1. Статистика по гаплоблокам

В общей сложности были получены 24 873 гаплоблока. Количество составляющих их SNP варьировало от 2 до 63 (медиана – 3). По длине гаплоблоки варьировали от двух пар оснований до 1.57 млн. п.н. (медиана – 43.9 тыс. п.н.) (рисунок 17), покрывая в общей сложности 62% совокупной длины всех аутосом. После выбраковки редких (частота < 1%) гаплотипов, число гаплотипов в гаплоблоках варьировало от 2 до 22 (медиана – 4).

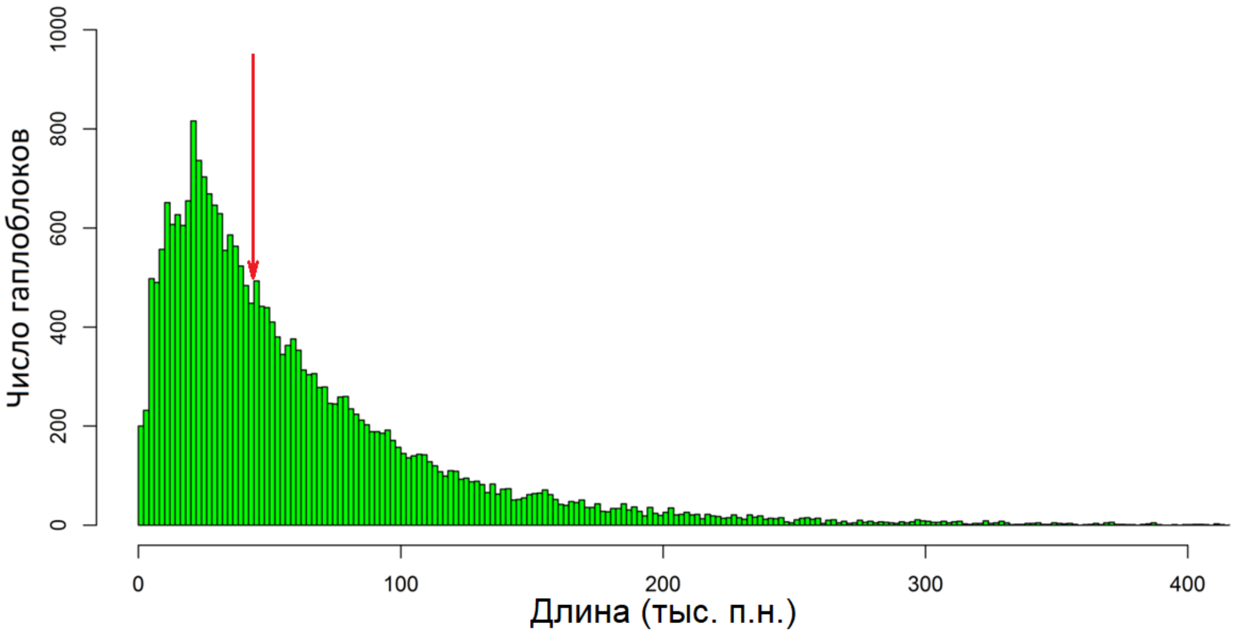

Рисунок 17. Распределение гаплоблоков по длине. Красная стрелка обозначает медиану.

3.1.3.2. Результаты полногеномного анализа ассоциаций

Фактор инфляции λ в HTR-тесте равнялся 1.169 (рисунок 16), что вероятно является результатом неучтенных эффектов родства между индивидами и стратификации выборки. В этой связи, *p*-значения данного статистического теста были преобразованы согласно стандартной процедуре геномного контроля (метод «GC_{median}» [Dadd et al., 2009]).

После этого преобразования ассоциация у двух гаплоблоков (рисунки 13 и 14, таблица 4) достигла уровня статистической значимости (q<0.05). Наиболее значимый гаплоблок (p=7.82×10^{-7}, q=0.016) располагался на хромосоме 15 (BTA15:1991615-2060428) и состоял из 4 SNP. Один из них (BovineHD1500000472), как было упомянуто выше, демонстрировал тенденцию к ассоциации по результатам ПГАА с использованием отдельных SNP. Все четыре SNP были локализованы в промежутке между генами *GRIA4* и *MSANTD4*. Второй по значимости (p=1.29×10^{-6}, q=0.016) гаплоблок был расположен на хромосоме 22 (BTA22:18039089-18158982). Он состоял из пяти SNP, которые были расположены в районе между генами *GRM7* и *LMCD1*.

Кроме двух упомянутых выше районов, также имелся гаплоблок на хромосоме 23 (BTA23:13820849-14010711), демонстрирующий тенденцию к ассоциации (p=6.29×10^{-6}, q=0.052). Он состоял из пяти SNP и включал в себя единственный ген *MOCS1*.

3.2. Полногеномный анализ ассоциаций массы тела у крупного рогатого скота

По результатам ПГАА массы тела с использованием отдельных SNP на той же выборке животных, что и в ПГАА выраженности адаптивной реакции КРС, пять SNP достигли статистически значимого уровня ассоциации (q<0.05). Все эти SNP расположены на хромосоме 5 (рисунок 18, таблица 5). При этом четыре из них (BovineHD0500030503, BovineHD0500030501, BovineHD0500030494 и ARS-BFGL-NGS-106674) сконцентрированы в пределах участка размером 43 тыс. п.н. (BTA5:106294449–106337540), находящегося на расстоянии 18 тыс. п.н. от стартовой точки транскрипции гена *CCND2*. Пятый SNP – HD0500030398, отстоит от вышеуказанного скопления на 0.5 млн. п.н. (BTA5:105804923). В целом, район BTA5:105804923-106337540 содержит десять генов: *NDUFA9*, *AKAP3*, *MIR2285CR-2*, *RAD51AP1* (два паралога), *C5H12orf4* (два паралога), *FGF6*, *TIGAR*, *CCND2*. В то же время, стоит отметить, что значимого сигнала в районе *MSANTD4-GRIA4* обнаружено не было.

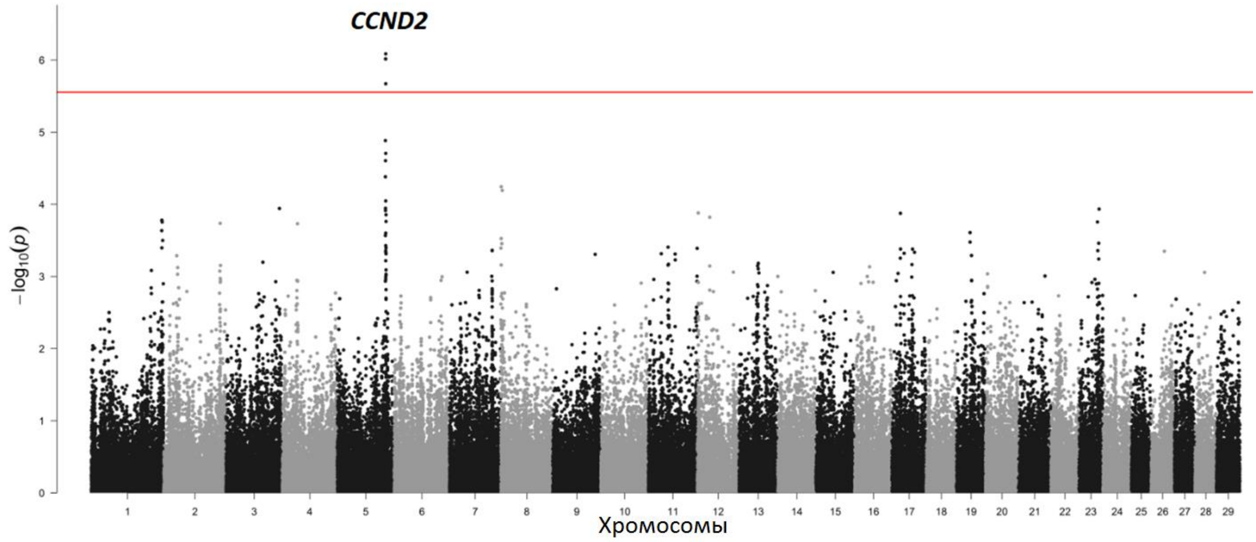

Рисунок 18. Манхэттенский график, иллюстрирующий результаты ПГАА массы тела КРС с использованием отдельных SNP. Красная линия указывает порог значимости (q=0.05).

Таблица 5. SNP ассоциированные с массой тела КРС по данным ПГАА.

Идентификатор SNP	**Позиция (UMD3.1)**	**Ближайшие гены (± 250 тыс. п.н.)**	***p*-значение**	***q*-значение**
BovineHD0500030398	Chr5:105,804,923	*KCNA6; NDUFA9; AKAP3; MIR2285CR-2; RAD51AP1; C5H12orf4*	9.65×10^{-7}	0.026
BovineHD0500030494	Chr5:106,294,449	*C5H12orf4; RAD51AP1; C5H12orf4; FGF6; TIGAR; CCND2*	8.22×10^{-7}	0.026
ARS-BFGL-NGS-106674	Chr5:106,296,860	*C5H12orf4; RAD51AP1; C5H12orf4; FGF6; TIGAR; CCND2*	8.22×10^{-7}	0.026
BovineHD0500030501	Chr5:106,329,896	*RAD51AP1; C5H12orf4; FGF6; TIGAR; CCND2*	2.13×10^{-6}	0.046
BovineHD0500030503	Chr5:106,337,540	*C5H12orf4; FGF6; TIGAR; CCND2*	9.65×10^{-7}	0.026

Предполагается, что в контроль массы тела у млекопитающих вовлечены, по меньшей мере, сотни локусов [Locke et al., 2015]. Поэтому следует учитывать, что, вследствие ограниченной мощности, проведенный нами тест может не идентифицировать множество SNP со слабым эффектом. Мы проанализировали все однонуклеотидные полиморфизмы, ассоциированные с массой тела на уровне

$p<0.01$. В окрестностях локуса *MSANTD4-GRIA4* не было обнаружено ни одного такого SNP (рисунок 19). При этом, самый близкий к району *MSANTD4-GRIA4* SNP, ассоциированный на уровне $p<0.01$ (BovineHD1500002534, BTA15:9675957, $p=0.0036$), находится на расстоянии 7.5 млн. п.н. от него.

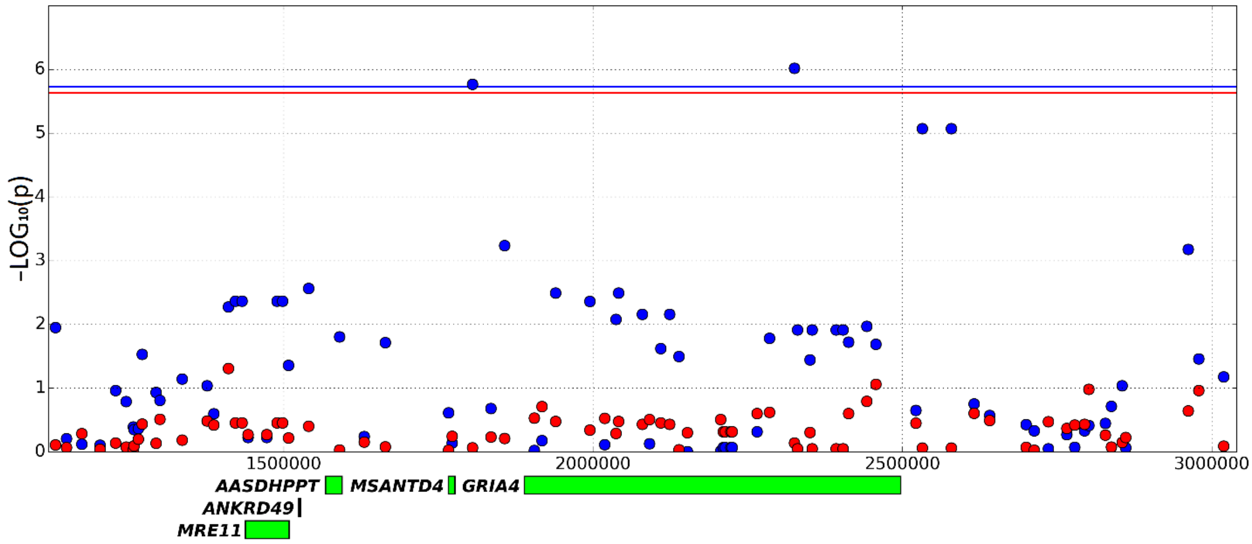

Рисунок 19. Сигналы ассоциации SNP с адаптивной реакцией на сильный холод (синим) и массой тела (красным) в районе *MSANTD4-GRIA4* на хромосоме 15. Координаты указаны для сборки ARS-UCD1.2. Синяя горизонтальная линия указывает предполагаемый уровень достоверности ($q=0.10$) для ассоциации с адаптивной реакцией. Красная горизонтальная линия указывает значимый уровень достоверности ($q=0.05$) для ассоциации с массой тела.

3.3. Анализ данных ресеквенирования животных с контрастными фенотипами по адаптивной реакции на сильный холод

3.3.1. Поиск генов- и SNP-кандидатов

По результатам F_{st}-анализа методом «скользящих окон» были получены 100 443 перекрывающихся района размером 50 тыс. п.н. (рисунок 20), из которых наивысшее значение взвешенного F_{st} равное 0.54 имел район BTA12:38850001-38900000 не содержащий известных генов согласно базам данных геномных аннотаций RefSeq, Ensembl и UCSC [Zhao, Zhang, 2015].

По итогам вычисления и суммирования рангов по взвешенному F_{st}, разнице частот между контрастными группами и FAETH-оценкам, 17 391 SNP имели сумму рангов < 0.10. Из них, 635 являлись синонимичными вариантами, 258 – миссенс-вариантами, и 91 относились к сплайс-вариантам (заменам в области сайтов сплайсинга).

Для соответствующих генов содержащих SNP с суммой рангов < 0.10 был проведен поиск данных литературы в базе PUBMED (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov). В результате, для 30 генов-кандидатов были найдены данные по связи с терморегуляцией и адаптацией к холоду у животных. Для каждого гена имелся как минимум один SNP-кандидат (рисунок 20). Четыре гена были вовлечены в адаптацию к холоду у КРС. Также семь генов были связаны с адаптацией КРС к жаре, но при этом у других видов животных они были ассоциированы с холодовой адаптацией (таблица 6).

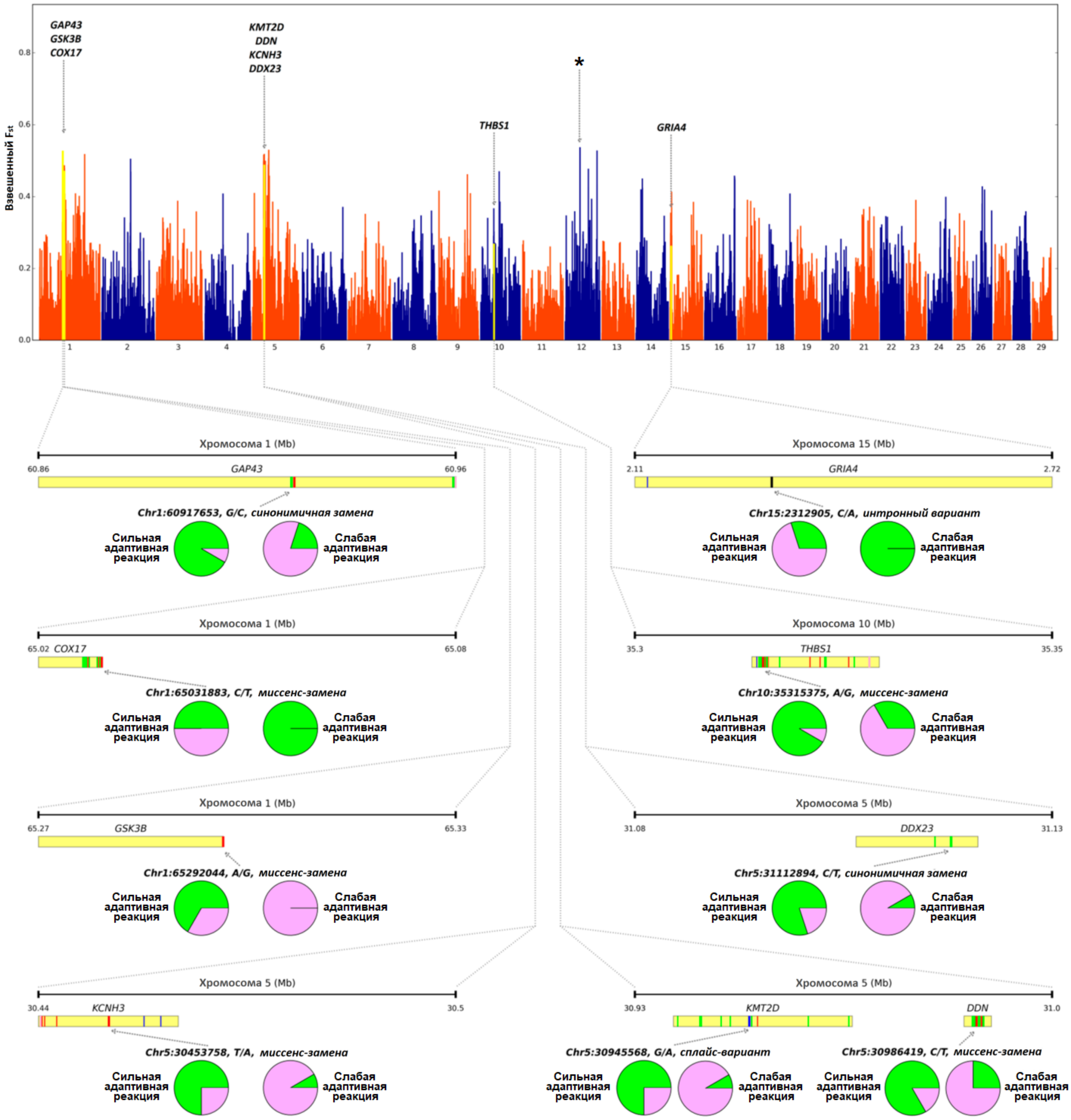

Рисунок 20. Примеры SNP-кандидатов адаптивной реакции КРС на сильный холод по данным ресеквенирования и их геномные позиции. Звездочкой обозначен район генома с наивысшим значением взвешенного F_{st}. Круговые диаграммы отображают частоты аллелей в контрастных группах. Референсный аллель окрашен зеленым, альтернативный – сиреневым. Красные, зеленые, голубые и розовые вертикальные линии обозначают миссенс-, синонимичные, сплайс- и 3’UTR-варианты, соответственно.

Таблица 6. SNP-кандидаты в генах, для которых ранее была показана ассоциация с холодовой или тепловой адаптацией КРС.

Ген	**Позиция SNP (UMD3.1), RefSNP**	**Референсный/альтернативный аллели**	**Сумма рангов**	**Частота референсного аллеля в группе**		**Функциональный класс**	**Данные литературы**
				Низких значений AUCW5D	**Высоких значений AUCW5D**		
DDX23	Chr5:31,112,894 rs108955444	C/T	0.002	0.08	0.80	синонимичная замена	Адаптация к климату у КРС [Verma et al., 2018], адаптация к холоду у обыкновенного карпа [Long et al., 2020]
GRIA4	Chr15:2,312,905 rs207668622	C/A	0.01	1.00	0.30	интронный вариант	Адаптация КРС к холоду [Igoshin et al., 2019] и жаре [Cheruiyot et al., 2021]
COX17	Chr1:65,031,883 rs208045948	C/T	0.02	1.00	0.50	миссенс-замена	Адаптация КРС к тропическому климату [Pitt et al., 2019b]
THBS1	Chr10:35,315,375 rs43707861	A/G	0.02	0.33	0.92	миссенс-замена	Адаптация КРС к холоду [Pokharel et al., 2019] и жаре [Bhardwaj et al., 2021], адаптация к холоду у яков [Zheng et al., 2022], адаптация к холоду у свиней [Lin et al., 2017], холодовая адаптация у морских млекопитающих [Yuan et al., 2021], ответ на холодовой стресс *in vitro* [Lemieux et al., 2022]
	Chr10:35,320,988 rs17870352	A/G	0.02	0.33	0.90	миссенс-замена	
CCL5	Chr19:14,825,116 rs208398974	C/T	0.02	0.25	1.00	синонимичная замена	Адаптация КРС к холоду [Pokharel et al., 2019], терморегуляция у крыс [Tavares, Miñano, 2000], индуцируемый холодом термогенез у мышей [Chan et al., 2022]

Продолжение таблицы 6.

Ген	Позиция SNP (UMD3.1), RefSNP	Референсный/ альтернативный аллели	Сумма рангов	Частота референсного аллеля в группе		Функциональный класс	Данные литературы
				Низких значений AUCW5D	Высоких значений AUCW5D		
PLA1A	Chr1:64,966,636 rs43233262	C/A	0.03	0.00	0.83	интронный вариант	Адаптация к жаре у буйволов [Liu et al., 2020], адаптация к холоду у американской пищухи [Sjodin, Russello, 2022]
NR1I2	Chr1:65,236,459 rs43235975	T/C	0.04	0.00	0.42	синонимичная замена	Адаптация КРС к жаре [Pitt et al., 2019b], [Freitas et al., 2021], ответ на холодовой стресс у мышей [Shore et al., 2013]
ATF1	Chr5:29,271,337 rs210280224	A/G	0.06	0.00	0.63	замена в области ниже точки терминации транскрипции	Адаптация КРС к жаре [Srikanth et al., 2017], регуляция термогенеза у млекопитающих [Rim, Kozak, 2002], формирование бурой жировой ткани в эмбриогенезе у кроликов [Du et al., 2022]
PRKAG1	Chr5:30,981,551 rs29002398	T/C	0.06	0.08	0.83	замена в 3′-нетранслируемой области	Адаптация КРС к жаре [Eslamizad et al., 2020], регуляция термогенеза у млекопитающих [Mottillo et al., 2016]
IFNGR1	Chr9:76,093,074 rs41569368	T/G	0.06	0.83	0.33	синонимичная замена	Адаптация КРС к холоду [Pokharel et al., 2019]
PPT1	Chr3:106,629,521 rs42791314	T/C	0.07	0.30	0.88	миссенс-замена	Адаптация КРС к жаре [Singh et al., 2020], терморегуляция и термогенез у мышей [Khaibullina et al., 2012; Burl et al., 2022]

3.3.2. Анализ функционального обогащения списка генов

По результатам анализа функционального обогащения списка генов пересекающихся с 1% районов с наивысшим значением взвешенного F_{st}, статистически значимого уровня (q<0.05) достигли восемь терминов (таблица 7).

Таблица 7. Термины, статистически значимо перепредставленные в анализе функционального обогащения.

Термин (категория)	**Гены**	**Кратность обогащения**	***p*-значение**	***q*-значение**
Меланогенез	*CREB1, CTNNB1, LEF1, PLCB4, GNAQ, WNT1, WNT10B, ADCY8, ADCY5, EDNRB, GSK3B, CAMK2G*	5.76	6.05×10^{-6}	1.51×10^{-3}
Адренергическая сигнализация в кардиомиоцитах	*CACNB3, POPDC2, GNAQ, ADCY8, CACNA2D3, AKT3, PPP2R3A, RAPGEF3, ATP2B2, CREB1, PLCB4, ADCY5, CAMK2G*	4.08	7.12×10^{-5}	7.27×10^{-3}
Синдром Кушинга	*CTNNB1, LEF1, GNAQ, WNT1, WNT10B, ADCY8, KMT2D, CREB1, PLCB4, ADCY5, GSK3B, ARMC5, CAMK2G*	4	8.73×10^{-5}	7.27×10^{-3}
Сигнальные пути кальция	*GNAQ, CYSLTR2, ADCY8, CAMK1, ATP2B2, CASQ2, PLCD1, P2RX3, PLCB4, CHRNA7, EDNRB, PLCZ1, NGF, VDAC2, FGF2, CAMK2G*	3.06	2.04×10^{-4}	1.27×10^{-2}
Секреция инсулина	*CREB1, PLCB4, GNAQ, ADCY8, ADCY5, KCNMA1, KCNMB4, PCLO, CAMK2G*	5.02	3.8×10^{-4}	1.9×10^{-2}
Синтез и секреция альдостерона	*ATP2B2, CREB1, ATF1, PLCB4, GNAQ, ADCY8, ADCY5, CAMK1, CAMK2G*	4.51	7.82×10^{-4}	3.26×10^{-2}
Сигнальные пути окситоцина	*CACNB3, PLA2G4E, PLCB4, GNAQ, PRKAG1, ADCY8, CACNA2D3, ADCY5, CAMK1, PTGS2, CAMK2G*	3.43	1.28×10^{-3}	4.59×10^{-2}
Сигнальный путь Rap1	*CTNNB1, GNAQ, PFN1, ADCY8, RRAS, AKT3, RAPGEF3, PRKCI, PLCB4, ADCY5, THBS1, NGF, FGF2*	2.91	1.57×10^{-3}	4.91×10^{-2}

3.4. Сравнение герефордов сибирской селекции и зарубежных герефордов по полиморфизмам, ассоциированным с хозяйственно-важными признаками

Сравнение герефордов сибирской селекции и зарубежных герефордов выявило пять локусов, статистически значимо (q<0.20) различающихся по частотам аллелей (таблица 8). Из них, два SNP (rs17871051 и rs17872050), расположенные в гене *CAPN1* (кальпаин 1), различались по частоте между популяциями герефордов и были связаны с нежностью мяса [McClure et al., 2012]. При этом аллели, благоприятствующие более нежному мясу, имели меньшую частоту у отечественных животных. Три SNP были связаны с воспроизводительными функциями. В частности, rs43705173 и rs110942700, расположенные в генах *STAT1* (преобразователь сигнала и активатор транскрипции 1) и *STAT3* (преобразователь сигнала и активатор транскрипции 3), соответственно, ассоциированы с выживаемостью эмбрионов [Khatib et al., 2009]. Аллели, негативно влияющие на выживаемость, при этом, имели меньшую представленность у сибирских герефордов. SNP rs208753173 в гене *STAT5A* (преобразователь сигнала и активатор транскрипции 5A) связан с оплодотворяемостью ооцитов *in vitro* [Khatib et al., 2008]. Российская популяция имела меньшую частоту нежелательного аллеля этого полиморфизма.

Таблица 8. Различия между сибирской и зарубежной выборками герефордской породы.

Идентификатор SNP, позиция (ARS-UCD1.2)	**Референсный\ альтернативный аллели**	**Ген**	**Частота аллеля* в выборке**		**Фенотип**	***p*-значение**	***q*-значение**
			сибирской	**зарубежной**			
rs17872050, Chr29:43424442	C*\T	*CAPN1*	0.5	0.799	Более нежное мясо	0.0003	0.0096
rs43705173, Chr2:79518124	G*\A	*STAT1*	0.853	0.971	Пониженная выживаемость эмбрионов	0.0086	0.1355
rs17871051, Chr29:43422455	G*\A	*CAPN1*	0.722	0.894	Более нежное мясо	0.0127	0.1355
rs110942700, Chr19:42431578	T\C*	*STAT3*	0.083	0.267	Пониженная выживаемость эмбрионов	0.0201	0.1608
rs208753173, Chr19:42408855	G*\A	*STAT5A*	0.917	0.988	Сниженная оплодотворяемость ооцитов *in vitro*	0.0298	0.1907

*****Аллель, ассоциированный с указанным фенотипом.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ

4.1. Выявление районов генома, вовлеченных в адаптивную реакцию на сильный холод у крупного рогатого скота, с помощью полногеномного анализа ассоциаций

Проведенный нами ПГАА адаптивной реакции на сильный холод на основе SNP и гаплотипов выявил ассоциацию с районом генома, содержащим гены *MSANTD4* и *GRIA4* (рисунки 13 и 14). Ген *GRIA4* представляется наиболее вероятным геном-кандидатом, ответственным за поддержание температуры тела в условиях холода у КРС. Он кодирует одну из субъединиц (GluA4) AMPA-рецептора – ионотропного рецептора глутамата, передающего быстрые возбуждающие сигналы в синапсах нервной системы позвоночных [Platt, 2007]. Известно, что AMPA-рецепторы экспрессируются в гипоталамусе [Van Den Pol et al., 1994]. Было показано, что активация AMPA-рецепторов в медиальной преоптической области гипоталамуса приводит к повышению температуры тела у крыс [Sengupta et al., 2016]. Таким образом, можно предположить, что именно ген *GRIA4*, детектированный в нашем исследовании, ответственен за терморегуляторный ответ на сильный холод у крупного рогатого скота.

Полученные нами свидетельства участия гена *GRIA4* в адаптивной реакции на сильный холод согласуются также с данными литературы о роли других глутаматных рецепторов. Например, ген *GRIA1*, вероятно, вовлечен в холодовую адаптацию у яка (*Bos grunniens*) [Freitas et al., 2021]. Также, имеются данные о том, что кодируемый геном *GRIK2* ионотропный рецептор глутамата GluK2 может функционировать как холодовой терморецептор [Gong et al., 2019].

Кроме холодовой адаптации, *GRIA4* вовлечен в устойчивость КРС к жаре. Cheruiyot с соавторами, используя степень снижения надоя под действием теплового стресса в качестве фенотипа, провели полногеномное исследование ассоциации на более чем 29 тысячах голов, и выявили ряд генов-кандидатов устойчивости к тепловому стрессу у молочного скота, включая *GRIA4* и ряд других генов глутаматных рецепторов [Cheruiyot et al., 2021]. В целом, известны примеры, когда один и тот же ген вовлечен в ответ как на низкие, так и на высокие температуры среды. Например, это характерно для генов белков теплового шока, чья адаптивная роль выражается в поддержании структуры и функции других клеточных белков при значительных отклонениях от температурной нормы [Gbotsyo et al., 2020]. В случае же с *GRIA4* можно связать соответствующую адаптивную функцию данного гена с его возможным влиянием на терморегуляцию.

У млекопитающих центром теплопродукции является дорсомедиальный гипоталамус (DMH). В отсутствие тормозящих сигналов со стороны медиальной преоптической области, DMH возбуждает нейроны ростральной части бледного ядра шва продолговатого мозга (rRPa), которые далее запускают термогенез в мышцах и буром жире. Данные Kataoka и соавторов, полученные на крысах, показывают, что в проведении этого возбуждения, потенциально, могут участвовать AMPA-рецепторы [Kataoka et al., 2014]. Исследователи вызывали психосоциальный стресс у крыс путем помещения их в клетку с уже находящимся в ней другим животным, что в контроле приводило к повышению температуры бурой жировой ткани и тела (феномен гипертермии индуцированной психосоциальным стрессом). Однако, при интрацеребральном введении смеси антагонистов NMDA- и AMPA-рецепторов в ростральную часть ядер шва (rMR), включающую rRPa, вышеописанный эффект не наблюдался. Авторы предположили, что возбуждение rMR осуществляется напрямую за счет проекций из DMH. Поэтому, в этой же работе они провели дополнительный эксперимент, подтверждающий предложенную гипотезу – с помощью оптогенетических методов возбуждали расположенные в rMR терминали нейронов DMH, что в результате привело к повышению активности симпатических нервов, иннервирующих бурую жировую ткань и к повышению ее температуры.

Известно, что эффективность синаптической связи, главным образом, зависит от плотности соответствующих рецепторов на постсинаптической мембране, что справедливо и для AMPA-рецепторов [Hausrat et al., 2015; Jacobi, Engelhardt von, 2021]. В этой связи, повышение плотности AMPA-рецепторов на мембране нейронов ростральной части бледного ядра шва, вероятно, могло бы облегчить проведение возбуждающих сигналов от дорсомедиального гипоталамуса и, в итоге, усилить адаптивный термогенный ответ организма животного на охлаждение.

Стоит отметить, что AMPA-рецепторы состоят из различных комбинаций четырех субъединиц: GluA1, GluA2, GluA3 и GluA4. При этом, имеющиеся данные указывают на возможность существования гомотетрамеров GluA4 [Cabañero et al., 2016; Qneibi et al., 2021]. Мы не нашли данных о субъединичном составе AMPA-рецепторов ростральной части бледного ядра шва, однако, потенциальная возможность присутствия гомотетрамеров GluA4 в rRPa означает что их плотность может регулироваться повышением\понижением экспрессии гена *GRIA4*. Также имеются данные о влиянии экспрессии мРНК *GRIA4* на экспрессию других субъединиц. Так, в работе Luksch и соавторов, нокдаун *GRIA4* в культурах клеток человека TE671 и RPMI8226 привел к статистически значимому повышению экспрессии мРНК гена *GRIA3* и его белка GluA3 [Luksch et al., 2011]. Таким образом, потенциально, изменение экспрессии *GRIA4* может влиять на субъединичный состав AMPA-рецепторов и, тем самым, также оказывать эффект на проведение возбуждающих сигналов.

В пользу того, что адаптивная функция замен в гене *GRIA4* реализуется именно за счет изменения его уровня экспрессии, а не структуры белка, выступает консервативность AMPA-рецепторов у КРС. Так, среди всех позиций в гене *GRIA4*, вариабельных в выборке «1000 геномов быков» [Hayes, Daetwyler, 2019], не имеется ни одной замены в его кодирующей части, и лишь одна замена в районе сайта сплайсинга (BTA15:1905535A>G), которая, впрочем, не затрагивает сам акцепторный сайт, вблизи которого она находится (данные не приведены). Таким образом, маловероятно, что оптимизация функции *GRIA4* происходит на уровне структуры продукта. Для подтверждения гипотезы о реализации адаптивной роли замен в гене *GRIA4* путем влияния на уровень его экспрессии необходимо сравнительное исследование его транскрипционной активности в различных отделах гипоталамуса у животных с разной выраженностью адаптивной реакции на сильный холод.

Другой ген, идентифицированный в ПГАА – *MSANTD4*. Это плохо охарактеризованный ген из семейства генов содержащих Myb/SANT домен и кодирующих, преимущественно, транскрипционные факторы (https://www.genenames.org/cgi-bin/genefamilies/set/532). В литературе мы не нашли прямой связи между геном *MSANTD4* и терморегуляцией. Однако существуют данные, согласно которым белок MSANTD4 является репрессором белка теплового шока HSPB1 [Newton, Wernisch, 2015], экспрессия которого, в свою очередь, повышается при холодовом стрессе у коз [Mohanarao et al., 2014].

ПГАА по данным генотипирования на ДНК-чипах с использованием реконструированных гаплотипов (HTR-тест) также указал на район хромосомы 22, в котором локализованы гены *GRM7* и *LMCD1*. Ген *GRM7* кодирует метаботропный рецептор глутамата mGlu7, который является важным регулятором синаптической передачи в нервной системе млекопитающих. На модели мышей показано, что блокирование функции белка mGlu7 с помощью его антагониста – соединения XAP044, или же нокдаун гена *mGlu7* путем введения в третий желудочек мозга малых интерферирующих РНК, значимо ослабляют рост температуры тела в тесте на стресс-индуцируемую гипертермию [O'Connor et al., 2013; Gee et al., 2014]. Представляется интересным тот факт, что и ген *GRM7*, и ранее упомянутый ген *GRIA4*, были выявлены в исследовании Ai и соавторов, посвященном поиску геномных следов высокогорной адаптации у тибетских пород свиней [Ai et al., 2014]. Кроме того, в работе этих авторов был детектирован статистически значимый сигнал в генах-паралогах *GRIA4* и *GRM7*: *GRIA1*, *GRM4* и *GRM5*. Учитывая, что высокогорные районы Тибета характеризуются достаточно низкой среднегодовой температурой и прохладным летом (https://climatecharts.net), следы отбора в указанных генах могут служить дополнительным свидетельством в пользу их роли в терморегуляции и адаптации к холоду.

Также имеются данные свидетельствующие о важной роли гена *LMCD1* в пролиферации гладкомышечных клеток [Janjanam et al., 2018]. Как уже было упомянуто в обзоре литературы, регуляция просвета сосудов кожи, осуществляемая путем сокращения гладкой мускулатуры, является важным инструментом поддержания температуры тела у КРС в условиях холода.

По результатам ПГАА с использованием гаплотипов также был обнаружен сигнал на уровне тенденции в районе, включающем ген *MOCS1*. Прямых литературных данных указывающих на связь с терморегуляцией для данного гена найдено не было. Однако, согласно Grings с соавторами, *MOCS1*-дефицитные клетки в культуре фибробластов человека демонстрируют снижение продукции АТФ и увеличение митохондриальной массы, что является показателем тяжелой митохондриальной дисфункции [Grings et al., 2019]. Также стоит отметить, что биогенез митохондрий – один из ключевых процессов в формировании бежевой жировой ткани, которая, в свою очередь, участвует, наряду с бурой жировой тканью, в адаптивном термогенезе [Cao et al., 2017; Li et al., 2023b]. Таким образом, имея прямое отношение к биоэнергетике клетки, ген *MOCS1* потенциально может играть роль и в теплопродукции.

Стоит отметить, что ни *MOCS1*, ни какой-либо из вышеупомянутых генов, не были найдены в работе Howard и соавторов, целью которой также был ПГАА адаптивной реакции КРС на холод [Howard et al., 2014]. Howard и соавторы выявили гены, связанные с метаболизмом (*COX7C*, *FBP1*, *FBP2*), васкулогенезом (*RASA1*), ионным транспортом (*PRKCB*, *CACNG3*) и регуляцией тиреоидных гормонов (*TRIP11*). По итогам же нашего ПГАА, наиболее перспективные гены-кандидаты *GRIA4* и *GRM7* относятся к рецепторам глутамата, участвующим в процессах передачи нервного сигнала. Анализ Howard и соавторов был проведен на выборке гибридов пород ангус, симментал и пьемонт, тогда как мы использовали популяции герефордов и казахской белоголовой породы, адаптированных к климатическим условиям Сибири. Вероятно, с этим и связаны различия в идентифицированных генах, поскольку генетическая основа многих количественных признаков КРС существенно различается между породами [Saatchi et al., 2014; Kemper et al., 2015].

Тот факт, что наиболее значимый сигнал в ПГАА адаптивной реакции на сильный холод, по всей вероятности, связан с различиями в уровне адаптивной теплопродукции у животных с разными генотипами *GRIA4*, может представлять интерес для практики. Известно, что низкие температуры являются основной причиной повышенной смертности и заболеваемости телят и неадаптированных к холоду взрослых животных [Khounsy et al., 2012; Silva, Bittar, 2019]. Кроме того, в России существует проблема адаптации импортных пород и одним из показателей недостаточной адаптированности завезенных животных является их неспособность на должном уровне поддерживать температуру тела в условиях холода [Мостовая, Жуков, 2008]. К настоящему времени известны примеры успешного применения маркер-ориентированной селекции (МОС) для устранения моногенных заболеваний у сельскохозяйственных видов, в том числе у КРС [Johnsson, 2023]. Кроме того, МОС рассматривается в качестве перспективного подхода для улучшения адаптационных возможностей КРС [Fang et al., 2021; Astuti et al., 2022; Deb et al., 2022]. В этой связи, МОС по аллелям, ассоциированным с лучшим адаптивным ответом на низкие температуры, могла бы быть применена для снижения отхода телят в холодный сезон или ускорения процесса адаптации импортных пород. Для использования в МОС, ассоциация соответствующих SNP в районе *MSANTD4-GRIA4* с адаптивной реакцией на сильный холод должна быть подтверждена (валидирована) на независимой выборке [Pausch et al., 2015; Lee et al., 2019].

Важным условием при проведении МОС является то, что отбор на аллели улучшающие целевой признак, не должен приводить к ухудшению других хозяйственно-ценных признаков [Lund et al., 2008; Cafe et al., 2010; Jiang et al., 2022]. Масса тела является важнейшим продуктивным признаком мясного скота [Herrera-Ojeda et al., 2019]. В этой связи, на той же выборке животных пород герефорд и казахская белоголовая мы провели ПГАА массы тела.

4.2. Полногеномный анализ ассоциаций массы тела у крупного рогатого скота

По итогам ПГАА массы тела, в районе генов *MSANTD4-GRIA4* значимо ассоциированных локусов нами выявлено не было, включая номинальный уровень $p<0.01$ (таблица 5). При этом полученные в этом анализе результаты хорошо согласуются с данными литературы: для наиболее вероятного гена-кандидата *CCND2* ранее была показана ассоциация с ежедневным привесом у герефордов [Seabury et al., 2017], ростом и индексом массы тела у человека [Steinthorsdottir et al., 2014], весом тела у мышей [Brown, Moore, 2012], приростом мышечной массы у кур [Willson et al., 2018] и отложением жира у свиней [Oliveira et al., 2022; Li et al., 2022]. Кроме того, сигнал вблизи гена *CCND2* был независимо воспроизведен в работе Karacaören на основе наших данных, помещенных в открытый доступ [Karacaören, 2020]. Это говорит о корректности выполненного нами анализа и надежности полученных результатов.

Таким образом, можно утверждать, что район генов *MSANTD4-GRIA4* не ассоциирован с массой тела у исследуемых пород. В этой связи, МОС по аллелям SNP в районе *MSANTD4-GRIA4*, направленная на улучшение адаптивной реакции на сильный холод, вероятнее всего, не приведет к снижению массы тела животных, а также коррелирующих с ней признаков, например, таких как ежедневный привес и убойный вес [Arthur et al., 2001; Coyne et al., 2019].

4.3. Анализ данных ресеквенирования животных с контрастными фенотипами по адаптивной реакции на сильный холод

4.3.1. Гены- и SNP-кандидаты адаптивной реакции на сильный холод

Мы использовали F_{st}-сканирование генома и выполнили приоритезацию SNP на основании суммы рангов, рассчитанной по значениям взвешенного индекса F_{st}, различий в частотах аллелей между контрастными по фенотипу группами и FAETH-оценок функциональной важности полиморфизма [Igoshin et al., 2021]. По итогам поиска, среди SNP с наивысшей суммой рангов мы обнаружили ряд полиморфизмов в генах, ранее ассоциированных с адаптацией к холоду и жаре у КРС и других видов (таблица 6).

В верхней части ранжированного списка были найдены несколько SNP (например, rs207668622, rs110930457 и rs137539466) в гене *GRIA4*, идентифицированного ПГАА адаптивной реакции на сильный холод. Все эти SNP попадают в интронную область гена. Несмотря на то, что интроны не кодируют аминокислоты, они участвуют в ряде важных биологических функций, например, в регуляции альтернативного сплайсинга, экспрессии генов, нонсенс-опосредованном распаде мРНК и т.д. [Jo, Choi, 2015]. Функциональный эффект однонуклеотидных замен в интронной области в большинстве случаев связан с влиянием на сплайсинг или на уровень транскрипционной активности гена [Cooper, 2010; Cooper et al., 2020]. Как уже упоминалось ранее, мы предполагаем, что эффект замен в гене *GRIA4* связан с их влиянием на уровень его транскрипции, и соответствующим изменением субъединичного состава AMPA-рецепторов и\или их плотности на постсинаптической мембране нейронов гипоталамуса.

Другой перспективный ген-кандидат – *THBS1*, содержащий две миссенс-замены (rs43707861 и rs17870352). Имеющиеся данные литературы указывают на его возможную роль в адаптации КРС к холоду. Pokharel и соавторы изучали дифференциальную экспрессию генов в крови в зимний период между адаптированной к холоду якутской породой и неадаптированной голштинской, и выявили значимое снижение уровня экспрессии мРНК *THBS1* у якутского скота по сравнению с голштинами [Pokharel et al., 2019]. Также, имеются данные по его возможному участию в адаптации к холоду у яков [Zheng et al., 2022], свиней [Lin et al., 2017] и морских млекопитающих (ламантинов и китообразных) [Yuan et al., 2021]. На культуре мышиных миобластов показано, что ген *THBS1* вовлечен в ответ на холодовой стресс [Lemieux et al., 2022]. Кроме того, *THBS1* вероятно участвует в адаптации КРС к жаре [Bhardwaj et al., 2021].

Ген *THBS1* кодирует белок тромбоспондин-1, ингибирующий ангиогенез [Isenberg, Roberts, 2020]. Учитывая вероятную вовлеченность *THBS1* в приспособлении к холоду у многих видов, можно предположить, что по крайне мере у части из них, адаптивная роль этого гена связана с приобретением клетками белого жира термогенной функции. Так, согласно исследованиям на мышах, ген *THBS1* участвует в молекулярном пути, регулирующем васкуляризацию белой жировой ткани и приобретение ее клетками функциональных свойств бурых адипоцитов [Tang et al., 2020; Gao et al., 2023]. Также в работе на мышах было показано, что мРНК *THBS1* имеет более высокую экспрессию в бурой жировой ткани по сравнению с белой [Paz et al., 2023].

В вышеупомянутой работе Pokharel et al. по изучению дифференциальной экспрессии генов в крови между якутской породой и голштинами, кроме *THBS1* были выявлены гены *CCL5* и *IFNGR1*, также идентифицированные в нашем анализе [Pokharel et al., 2019]. Самые высокоранговые SNP в обоих генах представлены синонимичными заменами (*CCL5*: rs208398974, *IFNGR1*: rs41569368). В работе Pokharel и соавторов, *CCL5* имел значимо большую экспрессию у якутской породы. Ген *CCL5* кодирует хемокин CCL5 (также известный как RANTES), вовлеченный в различные процессы в организме, такие так регуляция метаболизма, воспаление, опухолевая трансформация клеток [Chou et al., 2016; Zeng et al., 2022]. CCL5 также является эндогенным пирогеном – было показано, что интрацеребральное введение CCL5 в преоптическую область переднего гипоталамуса крыс приводит к повышению у них температуры тела [Tavares, Miñano, 2000]. В то же время, в бурой жировой ткани CCL5 напротив, ингибирует термогенез. Мыши, нокаутные по генам *CCL5* и его рецептора *CCR5*, имели более выраженную адаптивную теплопродукцию в БЖТ в условиях холода по сравнению с диким типом, у них в БЖТ усиливалась дыхательная активность митохондрий и повышалась экспрессия генов термогенеза *UCP1* и *PGC-1α* на уровне мРНК и белка [Chan et al., 2022].

Другой ген – *IFNGR1*, в работе Pokharel и соавторов имел значимо большую экспрессию у якутской породы по сравнению с голштинами. Ген *IFNGR1* кодирует одну из субъединиц рецептора гамма-интерферона, участвующего в различных процессах врожденного и приобретенного иммунитета [Schroder et al., 2004]. Goldberg и соавторы показали, что клетки ILC2 (лимфоидные клетки врожденного иммунитета 2-го типа) присутствующие в висцеральной жировой ткани мышей, и стимулирующие формирование бежевых адипоцитов (термогенных клеток) в ответ на холод, в процессе старения организма ухудшают эту способность [Goldberg et al., 2021]. Это, в свою очередь, приводит к ослаблению адаптивной теплопродукции у старых животных. Пересадка старым мышам клеток ILC2 от молодых мышей восстановила у них способность к адаптивному термогенезу в условиях холода. Транскриптомный анализ клеток ILC2 от старых и молодых животных выявил у первых значимое повышение экспрессии мРНК генов *IFNGR1*, *IFNAR1* и *IFNAR2*. Таким образом, можно предположить, что функция гена *IFNGR1* у крупного рогатого скота связана с его влиянием на формирование термогенного фенотипа в жировой ткани.

С другой стороны, участие гена *IFNGR1,* вовлеченного в иммунную функцию, в адаптивной реакции на сильный холод может быть интерпретировано с точки зрения концепции «trade-off» (компромисса), которая предполагает, что для двух признаков требующих расхода энергии, улучшение одного должно приводить к ухудшению другого [Garland, 2014; Garland et al., 2022]. Например, исследование на мышах показало наличие отрицательной зависимости между активностью иммунной системы и термогенезом [Ganeshan et al., 2019]. Аналогично, можно предположить, что у крупного рогатого скота существует антагонизм между адаптивной реакцией на сильный холод и иммунитетом.

Как уже упоминалось, наиболее высокоранговые SNP для генов *CCL5* и *IFNGR1* представлены синонимичными заменами. Известно, что синонимичные замены могут влиять на скорость трансляции и, следовательно, на количество соответствующего белка синтезируемого клеткой [Perach et al., 2021]. Кроме того, различия в скорости трансляции могут влиять на процесс котрансляционного фолдинга и, соответственно, на конечную структуру белка [O’Brien et al., 2014;

Walsh et al., 2020]. Также, известно влияние синонимичных замен на стабильность мРНК [Chamary, Hurst, 2005].

Ген *DDX23*, содержащий синонимичную замену rs108955444, кодирует предполагаемую РНК-хеликазу относящуюся к семейству DEAD-box, члены которого вовлечены в различные клеточные процессы, такие как транскрипция, трансляция, сплайсинг, деградация РНК и т.д. [Ruan et al., 2019]. Ген *DDX23* демонстрирует повышенную экспрессию в периферических мононуклеарных клетках крови адаптированной к экстремально жаркому тропическому климату породы КРС Sahiwal, в сравнении с адаптированной к холодному высокогорью породой Ladakhi [Verma et al., 2018]. Однако сложно определить – является ли адаптивной в условиях низких температур пониженная экспрессия *DDX23*, или же экспрессия этого гена индуцируется в ответ как на холод, так и на жару, но при жаре она более выражена – как, например, это имеет место у белков теплового шока [Pawar et al., 2014; Kumar et al., 2015a]. Также, стоит учитывать, что в условиях гипоксии адаптация к холоду протекает иначе, по сравнению с условиями нормального парциального давления кислорода [Mugele et al., 2021]. Есть также данные по изменению экспрессии мРНК *DDX23* в ответ на холод у пойкилотермных видов. Так, у бокоплава-кузнечика (*Gammarus lacustris*) помещение в более холодную воду вызывало снижение экспрессии *DDX23* [Lipaeva et al., 2021]. В то же время, у карпа (*Cyprinus carpio*) умеренный холодовой стресс, напротив, повышал экспрессию *DDX23*, чью адаптивную роль авторы связывают с регуляцией сплайсинга мРНК в условиях холода [Long et al., 2020].

Также, известно, что гены семейства DEAD-box участвуют в ответе на холодовой стресс у бактерий [Phadtare, 2011], архей [Shimada et al., 2009] и растений [Lu et al., 2020]. Их протективная роль заключается в обеспечении при низких температурах нормального протекания сплайсинга мРНК, деградации мРНК (стабильность которой повышается при снижении температуры), биогенеза рибосом и т.д. [Phadtare, 2011; Xiaomei et al., 2020]. У млекопитающих, в том числе и у крупного рогатого скота, в условиях холода критически важно поддержание в узком диапазоне именно температуры «ядра» тела. Температура же «оболочки», и в особенности кожи, может опускаться значительно ниже [Шмидт-Нильсен, 1982; Gil et al., 2013]. Поэтому, можно предположить, что *DDX23* обеспечивает у КРС в условиях холода корректное протекание в коже биологических процессов, связанных с функциями РНК, что, в свою очередь, способствует нормальному выполнению кожей ее термосенсорной функции.

Ряд генов-кандидатов, по данным литературы, был связан с адаптацией крупного рогатого скота к жаре: *COX17* [Pitt et al., 2019b], *PLA1A* [Liu et al., 2020], *NR1I2* [Pitt et al., 2019b; Freitas et al., 2021], *ATF1* [Srikanth et al., 2017], *PRKAG1* [Eslamizad et al., 2020] и *PPT1* [Singh et al., 2020]. В то же время, у других видов эти гены были связаны с адаптацией к холоду, либо с признаками важными для адаптации к холоду.

Ген *COX17* кодирует шаперон цитохром-с-оксидазы – фермента дыхательной цепи митохондрий [Maxfield et al., 2004]. В работе Duteil и соавторов, ген *COX17* имел более высокую экспрессию в бурой жировой ткани мышей, по сравнению с белой, что говорит о его возможном вовлечении в термогенез [Duteil et al., 2016]. Sjodin и Russello (2022), на основании данных сравнительной геномики предположили, что ген *PLA1A* играет роль в адаптации к холоду у американской пищухи (*Ochotona princeps*) [Sjodin, Russello, 2022]. Shore с коллегами провели сравнительное транскриптомное исследование бурого, белого жира и печени мышей, помещенных в условия холода и мышей, находящихся при более высокой температуре. Было выявлено, что в печени животных, содержащихся при низкой температуре, ген *NR1I2* характеризуется значимым снижением экспрессии [Shore et al., 2013].

Ген *ATF1* кодирует транскрипционный фактор ATF1 [Bleckmann et al., 2002]. Rim и Kozak в эксперименте на клеточных культурах показали, что ATF1 в составе гетеродимера CREB/ATF1 взаимодействует с регуляторными последовательностями в энхансере гена *UCP1* – основного гена термогенеза в БЖТ, и активирует его транскрипцию [Rim, Kozak, 2002]. Другие авторы провели анализ доступности хроматина в БЖТ эмбрионов кролика с целью выявления генов, вовлеченных в формирование этой ткани в эмбриогенезе, которое активно происходит с 21 по 24 день внутриутробного развития [Du et al., 2022]. В итоге, районы в вышеупомянутом анализе, снижающие интенсивность сигнала к 24 дню, были обогащены, в том числе, сайтами связывания ATF1. Таким образом, вероятно, ген *ATF1* может быть вовлечен в формирование бурой жировой ткани в эмбриогенезе.

Ген *PRKAG1* кодирует γ-субъединицу АМФ-активируемой протеинкиназы (AMPK) – фермента контролирующего клеточный метаболизм [Mihaylova, Shaw, 2011]. Было показано, что активация AMPK в гипоталамусе крыс опосредует индуцируемую холодом стимуляцию потребления пищи животными [Roman et al., 2005]. Также в исследовании генного коннектома человека ген *PRKAG1* вошел в число 107 наиболее важных для функционирования бурой жировой ткани [Salazar-Tortosa et al., 2022]. Вероятно, эффекты замен в *PRKAG1* у животных с разной выраженностью адаптивной реакции связаны с влиянием этого гена на пищевое поведение и\или несократительный термогенез в БЖТ.

Ген *PPT1* кодирует фермент – пальмитоил-протеин-тиоэстеразу 1, который удаляет остатки пальмитиновой кислоты с модифицированных аминокислот белков. *PPT1* играет важную роль в метаболизме лизосом [Zhao et al., 2019b]. Khaibullina и соавторы на модели мышей показали, что нокаут *PPT1* приводил у животных к ослаблению адаптивного термогенеза в БЖТ в ответ на холод [Khaibullina et al., 2012]. При этом, по сравнению с контрольными животными, нокаутные мыши имели меньшую интенсивность липолиза в БЖТ при низкой температуре. Возможно, миссенс-замена rs42791314 в гене *PPT1* приводит к изменению свойств белка, что и вносит вклад в различия в адаптивной реакции в ответ на сильный холод у КРС.

Многие кандидатные гены из нашего списка также ассоциированы с различными хозяйственно-ценными признаками крупного рогатого скота. Например, согласно базе CattleQTLdb [Hu et al., 2019b], ген *GRIA4* находится в QTL, ассоциированных с репродуктивными (доля зачатий при первом осеменении и количество осеменений на одно зачатие), а также молочными признаками (жирность молока и выход молочного жира). Возможное объяснение этому может быть дано с точки зрения ранее упомянутой концепции «trade-off». Например, аллели генов, способствующие более выраженному, и соответственно, более энергозатратному термогенному ответу на холод могут, в то же время, ухудшать другие признаки, требующие расхода энергии [Ganeshan et al., 2019].

По итогу анализа данных ресеквенирования можно заключить, что сравнение экстремальных фенотипов с привлечением функциональной информации позволило нам выявить ряд перспективных генов- и SNP-кандидатов поддержания температуры тела в условиях холода у крупного рогатого скота. Тот факт, что для значительного числа генов, содержащих SNP из верхней части ранжированного нами списка, имеются данные об их участиии в климатических адаптациях как у трибы Быков (*Bovini*), так и у других млекопитающих, говорит в пользу эффективности проведенного нами анализа.

4.3.2. Анализ функционального обогащения списка генов

Чтобы сделать предположения о биологических функциях, вносящих вклад в различия по адаптивной реакции на сильный холод между животными с крайними фенотипами, мы с помощью веб-сервиса DAVID провели анализ функционального обогащения на основе списка генов, пересекающиеся с 1% районов, имеющих наивысшие значения взвешенного индекса F_{st} (таблица 7).

Наивысшее, почти шестикратное, обогащение имел термин «*меланогенез*». У КРС сигнальные и метаболические пути, связанные с синтезом меланинов – эумеланина и феомеланина, вовлечены в контроль окраски шерсти. Пигмент эумеланин отвечает за черно-коричневые оттенки, а феомеланин – за желто-красные [Gutiérrez-Gil et al., 2007; Seo et al., 2007]. Животные герефордской породы, в том числе сибирской селекции, имеют белую окраску головы, нижней части шеи, груди и брюха. Остальная часть тела имеет различные оттенки красного [Джуламанов и др., 2010; Иванова, Косенчук, 2019]. Масть у казахской белоголовой породы сходна с герефордами [Фейзуллаева, 2017].

Известно, что от окраски шерсти зависит ее способность к поглощению солнечной радиации, что имеет важное значение для теплового баланса у КРС [Dikmen et al., 2017; Scasta, 2021]. Scasta показал, что поглощательная способность шерсти у КРС красной масти сопоставима с черной, и значительно отличается от белой масти [Scasta, 2021]. При этом, у животных красной масти, находящихся в условиях холода на открытом пространстве, температура поверхности шерсти намного выше, чем у белой. В свою очередь, отдача тепла от «ядра» тела к его поверхности пропорциональна величине температурного градиента между ними [Bakony et al., 2023], в связи с чем теплопотери у животных с красной мастью, вероятно, ниже чем с белой. Исследуемые нами особи находились в условиях круглогодичного беспривязного содержания на открытых площадках и, следовательно, под воздействием солнечного излучения. Поэтому, особенности пигментации шерсти животных, вероятно, влияли на оценки их адаптивной реакции на сильный холод.

Нами было выявлено значимое обогащение по термину «*секреция инсулина*». Вероятно, связь секреции инсулина с температурным гомеостазом при низких температурах опосредована его участием в адаптивном термогенезе в БЖТ. Известно, что теплопродукция в БЖТ сопровождается усиленным потреблением циркулирующих в кровяном русле свободных жирных кислот и глюкозы [Hankir, Klingenspor, 2018; Silhavy et al., 2023]. В условиях холода, активация липолиза в белой жировой ткани усиливает секрецию инсулина, что способствует транспорту глюкозы, а также жирных кислот, в клетки бурого жира и, соответственно, покрытию энергозатрат на теплопродукцию [Heine et al., 2018].

По данным литературы, два гена относящиеся в анализе функционального обогащения к термину «*секреция инсулина*» вовлечены в адаптивный термогенез в бурой жировой ткани: *CREB1* [Chiappini et al., 2011] и *ADCY8* [Wang et al., 2022]. Для гена *CREB1* можно предположить, что его функция опосредована участием в метаболизме\сигнальных путях инсулина. Так, самцы мышей с нокаутом гена *CREB1* в нейронах паравентрикулярного ядра гипоталамуса, демонстрировали нарушение толерантности к глюкозе. У этих животных в сытом состоянии наблюдалось повышение уровня инсулина в плазме крови, которое, однако, не сопровождалось снижением уровня глюкозы в крови. При этом, нокаутные животные демонстрировали ухудшение активации термогенеза в БЖТ в ответ на холодовое воздействие [Chiappini et al., 2011].

Среди значимо обогащенных присутствовал термин «*адренергическая сигнализация в кардиомиоцитах*». Адренергическая иннервация играет важнейшую роль в контроле сократимости и ритма сердца, в развитии его гипертрофии и выживаемости кардиомиоцитов [Barki-Harrington et al., 2004; Shin et al., 2014; Beesley et al., 2016]. По мнению Ю.О. Раушенбаха, заводские породы (к которым относятся, в том числе, герефорды и казахская белоголовая) реагируют на понижение температуры преимущественно активацией механизмов теплопродукции [Раушенбах, 1975b]. Для удовлетворения возросших энергетических нужд органов\тканей, осуществляющих теплопродукцию в условиях холода, млекопитающие повышают частоту сердечных сокращений (ЧСС) [Morrison et al., 2008]. В частности, это справедливо и для крупного рогатого скота. Так, у бычков заводских пород – ханву и симментальской, в условиях холода происходило увеличение частоты сердечных сокращений [Kim et al., 2023; Wang et al., 2023]. Таким образом, обогащение по термину «*адренергическая сигнализация в кардиомиоцитах*» может быть связано с различиями в адаптивном изменении ЧСС у исследуемых животных.

В пользу этого предположения говорит функция нескольких генов, представляющих этот термин в нашем анализе. Так, данные на мышах, нокаутных по гену *POPDC2,* показали его участие в контроле частоты сердечных сокращений [Froese et al., 2012; Maarel van der et al., 2023]. Сверхэкспрессия *ADCY8* в сердечной мышце у мышей приводила к значительному увеличению ЧСС [Moen et al., 2019; Tarasov et al., 2022]. Полиморфизмы в гене *CREB1* ассоциированы с частотой сердечных сокращений у человека после тяжелой физической нагрузки [Rankinen et al., 2010]. По данным Howarth и соавторов, снижение частоты сердечных сокращений у крыс линии GK (модель диабета 2 типа) обусловлено снижением экспрессии мРНК *CACNA2D3* [Howarth et al., 2018].

Значимая перепредставленность была выявлена для термина «*сигнальные пути окситоцина*». Окситоцин – пептидный гормон, в первую очередь вовлеченный в контроль лактации, полового и материнского поведения [White-Traut et al., 2009]. Однако, ряд публикаций указывают на его участие в адаптивном термогенезе у млекопитающих, а также в стимуляции скучивания – сбивания животных в плотные группы, что снижает теплопотери при холоде. Так, Xi и коллеги провели разрушение секретирующих окситоцин нейронов в паравентрикулярном ядре гипоталамуса мышей [Xi et al., 2017]. В результате, у животных в ответ на холодовое воздействие снизилась ректальная температура и температура бурого жира, по сравнению с контролем. Также нокаут гена рецептора окситоцина *OXTR* у мышей приводил к большему снижению температуры «ядра» тела животных на холоде по сравнению с контролем [Takayanagi et al., 2008; Kasahara et al., 2015]. В исследовании Harshaw и соавторов, мышата, нокаутные по гену окситоцина *OT,* демонстрировали при воздействии холода снижение термогенеза в буром жире, а также, менее плотное скучивание [Harshaw et al., 2018]. Известно, что скучивание животных в плотные группы является поведенческой адаптацией к холоду, позволяющей снизить теплопотери [Шмидт-Нильсен, 1982]. Для ряда генов, относящихся к термину «*сигнальные пути окситоцина*» в анализе функционального обогащения, имеются данные по участию в адаптивном термогенезе в БЖТ. Это ранее упомянутые *CREB1* [Chiappini et al., 2011], *ADCY8* [Wang et al., 2022] и *PRKAG1* [Salazar-Tortosa et al., 2022], а также *ADCY5* [Li et al., 2023a] и *PTGS2* [Chan et al., 2019].

Также, в анализе функционального обогащения были значимо перепредставлены термины «*сигнальные пути кальция*», «*сигнальный путь Rap1*», «*синдром Кушинга*» и «*синтез и секреция альдостерона*». Их связь с терморегуляторными реакциями неочевидна. Можно предположить, что обогащение по этим терминам связано с плейотропным эффектом ряда генов. Например, шесть генов – *PLCB4*, *GNAQ*, *ADCY8*, *ADCY5*, *CAMK2G* и *CREB1*, встречаются в обогащениях по пяти и более терминам.

4.4. Сравнение герефордов сибирской селекции и зарубежных герефордов по полиморфизмам, ассоциированным с хозяйственно-важными признаками

В эволюционной биологии существует концепция «trade-off» (компромисса), согласно которой улучшение одного признака организма может привести к ухудшению другого [Garland, 2014; Garland et al., 2022]. Подобные компромиссы могут возникать по ряду причин, например, из-за ограниченности энергетических ресурсов организма, общности биохимических путей вовлеченных в проявление двух признаков, функциональной несовместимости или антагонистической плейотропии между ними [Garland et al., 2022].

Известны множество примеров эффекта «trade-off». Так, размер помета у животных отрицательно коррелирует с весом эмбрионов [Romero et al., 1992; Maslennikova et al., 2019]. У индюков селекция на ускорение роста приводит к ухудшению иммунной функции [Most van der et al., 2011]. Исследование на мышах продемонстрировало существование антагонизма между активностью иммунной системы и термогенезом [Ganeshan et al., 2019]. Мета-анализ по нескольким видам птиц показал наличие эффекта «trade-off» между репродуктивными признаками и устойчивостью к паразитам [Knowles et al., 2009]. У крупного рогатого скота и овец уровень удоя отрицательно коррелирует с устойчивостью животных к тепловому стрессу [Carabaño et al., 2021; Ahmed et al., 2022; Martin-Collado et al., 2023]. Ухудшение роста, развития и воспроизводства в популяциях, обитающих в неблагоприятной среде, также рассматривается как пример «trade-off», который связан с тем, что часть энергетических ресурсов организма, которые могли бы быть потрачены на эти процессы, расходуется на сопротивление неблагоприятному фактору [Willi, Van Buskirk, 2022].

Пример возможного эффекта «trade-off» между адаптацией к холоду и хозяйственно-важными признаками у КРС описан в работе Yudin и соавторов [Yudin et al., 2013]. Авторы обнаружили, что у коров с генотипом GG по полиморфизму -824A/G в гене *TNFα* удой и жирность в случае рождения телочки значимо ниже. При этом, частота аллеля G у устойчивого к холоду якутского скота намного выше (0.77), чем у серой украинской (0.48) и черно-пестрой (0.58) пород. Авторы связывают это с тем, что в условиях холода у якутского скота шел отбор в пользу аллеля G, что способствовало оптимизации энергетических затрат.

С другой стороны, одновременное давление отбора на два антагонистических признака может в некоторых случаях преодолевать «trade-off» между ними [Douhard et al., 2021]. Например, размер помета у свиней отрицательно коррелирует с выживаемостью поросят, смертность которых в основном приходится на первые пять дней после рождения. Однако, селекция на число поросят выживших к пятому дню, проводимая в течение нескольких лет, позволила одновременно увеличить как размер помета, так и выживаемость детенышей [Nielsen et al., 2013]. Кампинг и Ван Делден на протяжении 10 поколений выращивали несколько линий дрозофил (*Drosophila melanogaster*) при экстремально высокой температуре (33 °С), в каждом поколении временно помещая мушек в условия 25 °С для восстановления фертильности. В результате, за 10 поколений во всех линиях было отмечено повышение выживаемости на стадиях личинки и куколки, и увеличение доли насекомых, способных к восстановлению фертильности при 25 °С [Kamping, Van Delden, 1999]. В данном случае имеет место преодоление компромисса между устойчивостью к тепловому стрессу и воспроизводительными качествами насекомых.

Таким образом, с одной стороны, способность герефордов сибирской селекции успешно переносить низкие температуры могла бы быть сопряжена с ухудшением других признаков. С другой стороны, этот «trade-off» мог быть частично преодолен. Возможные сопутствующие изменения, затрагивающие иммунную функцию, воспроизводительные или продуктивные характеристики животных, могли отразиться на изменениях в частотах аллелей локусов контролирующих эти признаки. В этой связи, мы провели сравнение выборок герефордов сибирской селекции и зарубежных герефордов по списку кандидатных полиморфизмов, ассоциированных с рядом хозяйственно-важных признаков (таблица 8).

Проведенный нами сравнительный анализ показал, что аллели SNP в генах семейства STAT (*STAT1*, *STAT3* и *STAT5A*) негативно влияющие на репродуктивные признаки имеют меньшую частоту у герефордов сибирской селекции. Семейство STAT представлено транскрипционными факторами, активируемыми различными цитокинами, гормонами и факторами роста. Белки STAT вовлечены в различные биологические процессы, в том числе функционирование иммунной системы, эмбриональное развитие, фертильность, лактацию и т.д. [Akira, 1999].

Стоит отметить исследование Афанасьевой и соавторов, согласно которым в условиях Алтайского края популяция герефордов сибирской селекции имеет заметно меньшую частоту мертворождений (1.4 %) в сравнении с импортными герефордами финской селекции (6.6 %), завезенными в 2011 году [Афанасьева и др., 2015]. С учетом полученных нами данных, можно предположить, что данное различие связано не только с недостаточной акклиматизацией импортных животных, но также имеет и генетическую основу. Таким образом, межпопуляционные отличия по локусам, ассоциированным с репродуктивными признаками, могут отражать процесс компенсации вызванного холодом ухудшения репродуктивных функций, т.е. преодоления компромисса между адаптацией и репродукцией. Примеры такого преодоления эффекта «trade-off» известны и у других сельскохозяйственных видов. Так, у импортированных в новую среду свиней породы ландрас снижалась выживаемость поросят и уменьшался размера помета. Однако, в течение нескольких поколений у животных происходило восстановление обоих воспроизводительных качеств [Klimas, Klimienė, 2011; Медведева, 2016].

Исследование Nel и соавторов указывает на возможный механизм, благодаря которому в популяциях герефордов сибирской селекции происходило снижение частоты аллелей, ассоциированных с эмбриональной смертностью. На основе анализа данных по нескольким тысячам ягнят, авторами было показано, что наследуемость такого признака как смертность в течение первых трех дней значительно повышается с увеличением ветро-холодового индекса [Nel et al., 2023]. Таким образом, при более сильном действии холода вероятность выживания ягнят более зависима от генетических факторов. Поскольку эффективность селекции тем выше, чем выше наследуемость улучшаемого признака [Falconer, 1996], авторы предлагают вести отбор на повышение выживаемости ягнят на основе данных по смертности именно в условиях холодового стресса. С учетом полученных авторами данных можно предположить, что у герефордов сибирской селекции, в условиях экстремально низких температур, SNP в генах *STAT1* и *STAT3* вносят больший вклад в выживаемость эмбрионов, чем у популяций, разводимых в более мягком климате. Благодаря этому, на эти SNP в сибирских популяциях действует более сильное давление отбора, что приводит к наблюдаемым различиям в частотах аллелей.

Стоит отметить, что аллели всех трех локусов – rs43705173 (*STAT1*), rs208753173 (*STAT5A*) и rs110942700 (*STAT3*), наследуются независимо друг от друга: rs43705173 расположен на хромосоме 2, а rs208753173 и rs110942700 на хромосоме 19. При этом, между rs208753173 и rs110942700, находящимися на расстоянии 22.7 тыс. п.н. друг от друга, практически отсутствует неравновесие по сцеплению (r^2=0.0083 в выборке герефордов сибирской селекции и r^2=0.0073 в выборке зарубежных герефордов). Тот факт, что сдвиг частот аллелей в сторону улучшения репродуктивных качеств произошел независимо по всем трем локусам, свидетельствует в пользу того, что наблюдаемые различия не обусловлены генетическим дрейфом.

Также, были найдены отличия по ассоциированным с нежностью мяса SNP rs17871051 и rs17872050 в гене *CAPN1*. При этом, аллели, благоприятствующие более нежному мясу, имеют меньшую частоту у герефордов сибирской селекции. Ген *CAPN1* кодирует протеазу μ-кальпаин, вовлеченную в послеубойные протеолитические изменения в мясе [Lian et al., 2013]. Повышенная протеолитическая активность μ-кальпаина способствует большей нежности мяса [Basson et al., 2022].

Известно, что действие холода индуцирует протеолиз в мышечной ткани млекопитающих, приводя к снижению мышечной массы [Manfredi et al., 2013; McGlynn et al., 2023]. При этом, центральную роль в этом процессе играет именно активность μ-кальпаина [Manfredi et al., 2017]. Вероятно, в условиях холода, генотипы с меньшей активностью μ-кальпаина имеют лучшую сохранность мышечной массы, но в то же время характеризуются более жестким мясом. Можно предположить, что в условиях Сибири, отбор на признаки мясной продуктивности герефордов – живую и убойную массу, приводил к повышению частоты аллелей, ассоциированных с меньшей активностью μ-кальпаина и, соответственно, меньшей нежностью мяса. Для подтверждения этой гипотезы необходимо сравнительное исследование динамики мышечной массы в условиях холода у животных с разными генотипами *CAPN1*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Температурный гомеостаз организма животного в условиях холода осуществляется за счет адаптивных реакций, вовлекающих механизмы химической и физической терморегуляции. Недостаточное развитие у крупного рогатого скота этих реакций является фактором ухудшающем продуктивность, воспроизводительные качества, устойчивость к инфекциям и, повышающем смертность.

В работе мы осуществили поиск генов- и SNP-кандидатов температурного гомеостаза и холодовой адаптации в сибирских популяциях мясных пород крупного рогатого скота. Для этого нами был проведен: ПГАА адаптивной терморегуляторной реакции на сильный холод на выборке герефордов сибирской селекции и породы казахская белоголовая, поиск генов- и SNP-кандидатов на основе данных ресеквенирования животных с контрастными фенотипами из этой же выборки, а также сравнение частот аллелей ДНК-полиморфизмов, ассоциированных с хозяйственно-ценными признаками между сибирской и мировой выборками герефордской породы.

Полногеномный анализ ассоциаций на основе SNP и гаплотипов показал, что район генов *MSANTD4-GRIA4* ассоциирован с выраженностью адаптивной терморегуляторной реакции на сильный холод в выборке животных исследуемых мясных пород КРС. Ген *GRIA4*, являющийся основным кандидатом в этом районе, предположительно реализует свою функцию путем участия в проведении возбуждающих сигналов от центра химической терморегуляции в гипоталамусе. Проведенный на этой же выборке ПГАА массы тела не выявил достоверных сигналов в окрестностях генов *MSANTD4* и *GRIA4*, но идентифицировал район генома, содержащий известный ген-кандидат массы тела животных *CCND2*. Маркер-ориентированная селекция по аллелям SNP в районе *MSANTD4-GRIA4*, направленная на улучшение адаптивной реакции на сильный холод, вероятно, не приведет к снижению массы тела животных, а также коррелирующих с ней признаков.

В качестве комплементарного подхода мы проанализировали данные ресеквенирования животных с крайними фенотипами и выполнили приоритезацию

SNP на основании значений взвешенного индекса F_{st}, различий в частотах аллелей между контрастными группами и FAETH-оценок. По итогам поиска среди кандидатных SNP, мы обнаружили ряд полиморфизмов в генах, ранее ассоциированных с температурной адаптацией у крупного рогатого скота и у других видов млекопитающих, включая ген *GRIA4*. Стоит отметить, что в проведенном нами полногеномном анализе ассоциаций были исследованы только распространенные варианты с частотой более 5%. В то же время, в анализе данных ресеквенирования животных с крайними фенотипами были учтены редкие аллели. Вероятно, благодаря этому мы смогли дополнительно найти ряд генов с возможной адаптивной ролью.

Чтобы выявить, какие хозяйственно-ценные признаки могли измениться под влиянием адаптации к холоду, мы провели сравнение выборок герефордов сибирской селекции и зарубежных герефордов по списку кандидатных полиморфизмов, ранее ассоциированных с рядом хозяйственно важных признаков. Проведенный анализ выявил отличия по SNP, ассоциированным с репродукцией и нежностью мяса. Аллели, улучшающие репродуктивные показатели, имели значимо большую частоту в сибирских популяциях по сравнению с мировой выборкой, тогда как повышающие нежность мяса – меньшую. В первом случае, наблюдаемые различия, вероятно, отражают восстановление воспроизводительной способности животных в ряду поколений после импорта в Алтайский край. Во втором, предположительно, имеет место обратная корреляция между сохранением мышечной массы в условиях холода и нежностью мяса.

Таким образом, проведенная работа вносит вклад в понимание генетических механизмов адаптации к холоду у крупного рогатого скота, и указывает на SNP, потенциально пригодные для использования в маркер-ориентированной и геномной селекции.

ВЫВОДЫ

1. С помощью полногеномного анализа ассоциаций на основе SNP и гаплотипов показано, что район генов *MSANTD4-GRIA4* ассоциирован с выраженностью адаптивной терморегуляторной реакции на сильный холод в выборке герефордов сибирской селекции и животных близкородственной казахской белоголовой породы.

2. Полногеномный анализ ассоциаций с массой тела, проведенный на этой же выборке, идентифицировал район генома, содержащий известный ген-кандидат массы тела животных *CCND2*, но не выявил достоверных сигналов в окрестностях генов *MSANTD4* и *GRIA4*.

3. Анализ данных полногеномного ресеквенирования двух групп животных, имеющих крайние фенотипы по выраженности адаптивной терморегуляторной реакции на сильный холод, выявил ряд генов-кандидатов и SNP, из которых гены *GRIA4*, *COX17*, *IFNGR1*, *DDX23*, *PPT1*, *THBS1*, *CCL5*, *ATF1*, *PLA1A*, *PRKAG1* и *NR1I2*, по данным литературы, ранее были ассоциированы с адаптацией КРС к холоду или жаре.

4. Сравнение выборок герефордов сибирской селекции и зарубежных герефордов по полиморфизмам, ассоциированным с хозяйственно-важными признаками, показало, что частоты аллелей ряда SNP в генах семейства STAT, ассоциированных по данным литературы со снижением выживаемости эмбрионов и оплодотворяемости ооцитов *in vitro*, достоверно ниже у животных сибирской селекции. Эти различия могут быть связаны с восстановлением воспроизводительной способности импортных животных при длительном разведении в условиях Сибири.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Abbas Z. et al. Association Analysis of Polymorphisms in the 5’ Flanking Region of the HSP70 Gene with Blood Biochemical Parameters of Lactating Holstein Cows under Heat and Cold Stress // Animals (Basel). – 2020. – Vol. 10. – № 11.

Abutarbush S.M. et al. Evaluation of the diagnostic and prognostic utility of ultrasonography at first diagnosis of presumptive bovine respiratory disease // Canadian journal of veterinary research = Revue canadienne de recherche veterinaire. – 2012. – Vol. 76. – № 1. – P. 23–32.

Adams R.M. et al. Effects of global climate change on agriculture: an interpretative review // Climate research. – 1998. – Vol. 11. – № 1. – P. 19–30.

Ahmed H., Tamminen L.M., Emanuelson U. Temperature, productivity, and heat tolerance: Evidence from Swedish dairy production // Climatic Change. – 2022. – Vol. 175. – № 1. – P. 10.

Ai H. et al. Population history and genomic signatures for high-altitude adaptation in Tibetan pigs // BMC genomics. – 2014. – Vol. 15. – № 1. – P. 834.

Akira S. Functional roles of STAT family proteins: lessons from knockout mice // Stem cells (Dayton, Ohio). – 1999. – Vol. 17. – № 3. – P. 138–146.

Alba B.K., Castellani J.W., Charkoudian N. Cold-induced cutaneous vasoconstriction in humans: Function, dysfunction and the distinctly counterproductive // Experimental physiology. – 2019. – Vol. 104. – № 8. – P. 1202–1214.

AlEjielat R. et al. SNP rs11185644 in RXRA gene and SNP rs2235544 in DIO1 gene predict dosage requirements in a cross-sectional sample of hypothyroid patients // BMC endocrine disorders. – 2023. – Vol. 23. – № 1. – P. 167.

Alexander G., Bennett J.W., Gemmell R.T. Brown adipose tissue in the new-born calf (Bos taurus) // The Journal of physiology. – 1975. – Vol. 244. – № 1. – P. 223–234.

Ames D. Thermal Environment Affects Production Efficiency of Livestock // BioScience. – 1980. – Vol. 30. – № 7. – P. 457–460.

Anderson C.A. et al. Data quality control in genetic case-control association studies // Nature protocols. – 2010. – Vol. 5. – № 9. – P. 1564–1573.

Anderson V.L. et al. Winter Management of the Beef Cow Herd // NDSU Extension Service. – 2011. – P. AS1564.

Arthur P.F. et al. Genetic and phenotypic variance and covariance components for feed intake, feed efficiency, and other postweaning traits in Angus cattle // Journal of animal science. – 2001. – Vol. 79. – № 11. – P. 2805–2811.

Astuti P.K. et al. Validation of SNP markers for thermotolerance adaptation in Ovis aries adapted to different climatic regions using KASP-PCR technique // Scientific reports. – 2022. – Vol. 12. – № 1. – P. 22348.

Astuti P.K. et al. Climate change and dairy farming sustainability; a causal loop paradox and its mitigation scenario // Heliyon. – 2024. – Vol. 10. – № 3. – P. e25200.

Ayvazoğlu C., Kızıltepe Ş., Demir P. Prevalence and economic significance of Hypoderma bovis in Ardahan // South African Journal Of Animal Science. – 2022. – Vol. 52. – P. 120–125.

Baffy G., Derdak Z., Robson S.C. Mitochondrial recoupling: a novel therapeutic strategy for cancer? // British journal of cancer. – 2011. – Vol. 105. – № 4. – P. 469–474.

Bai D.D. Effects of Different Seasons on Blood Biochemical Indexes and Related Genes Expression of Cold and Heat Stress Related Genes in Sanhe Cattle: Master's Thesis. Hohhot. 2017.

Bailey S.R. et al. Reactive oxygen species from smooth muscle mitochondria initiate cold-induced constriction of cutaneous arteries // American journal of physiology. Heart and circulatory physiology. – 2005. – Vol. 289. – № 1. – P. H243-50.

Bakony M. et al. The use of body surface temperatures in assessing thermal status of hutch-reared dairy calves in shaded and unshaded conditions // Frontiers in veterinary science. – 2023. – Vol. 10. – P. 1162708.

Balding D.J., Nichols R.A. A method for quantifying differentiation between populations at multi-allelic loci and its implications for investigating identity and paternity // Genetica. – 1995. – Vol. 96. – № 1–2. – P. 3–12.

Bao P. et al. The seasonal development dynamics of the yak hair cycle transcriptome // BMC genomics. – 2020. – Vol. 21. – № 1. – P. 355.

Barki-Harrington L., Perrino C., Rockman H.A. Network integration of the adrenergic system in cardiac hypertrophy // Cardiovascular Research. – 2004. – Vol. 63. – № 3. – P. 391–402.

Barrett J.C. et al. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps // Bioinformatics (Oxford, England). – 2005. – Vol. 21. – № 2. – P. 263–265.

Bartelt A. et al. Brown adipose tissue activity controls triglyceride clearance // Nature medicine. – 2011. – Vol. 17. – № 2. – P. 200–205.

Barteri F. et al. CAAStools: a toolbox to identify and test Convergent Amino Acid Substitutions // Bioinformatics. – 2023. – Vol. 39. – № 10. – P. btad623.

Basson A. et al. Sustained Effects of Muscle Calpain System Genotypes on Tenderness Phenotypes of South African Beef Bulls during Ageing up to 20 Days // Animals : an open access journal from MDPI. – 2022. – Vol. 12. – № 6.

Beesley S., Noguchi T., Welsh D.K. Cardiomyocyte Circadian Oscillations Are Cell-Autonomous, Amplified by β-Adrenergic Signaling, and Synchronized in Cardiac Ventricle Tissue // PloS one. – 2016. – Vol. 11. – № 7. – P. e0159618.

Bell A.W., Clarke P.L., Thompson G.E. Changes in the metabolism of the shivering hind leg of the young ox during several days of continuous cold exposure // Quarterly journal of experimental physiology and cognate medical sciences. – 1975. – Vol. 60. – № 4. – P. 267–284.

Bell A.W., Thompson G.E. Free fatty acid oxidation in bovine muscle in vivo: effects of cold exposure and feeding // The American journal of physiology. – 1979. – Vol. 237. – № 4. – P. E309-15.

Bellows R.A. Factors affecting calf survival // Range Beef Cow Symposium. , 1997. C. 152.

Benjamini Y., Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing // Journal of the Royal statistical society: series B (Methodological). – 1995. – Vol. 57. – № 1. – P. 289–300.

Bhardwaj S. et al. Genome-wide diversity analysis for signatures of selection of Bos indicus adaptability under extreme agro-climatic conditions of temperate and tropical ecosystems // Animal Gene. – 2021. – Vol. 20. – P. 200115.

Bleckmann S.C. et al. Activating transcription factor 1 and CREB are important for cell survival during early mouse development // Molecular and cellular biology. – 2002. – Vol. 22. – № 6. – P. 1919–1925.

Bonferroni C.E. Teoria statistica delle classi e calcolo delle probabilita // Pubblicazioni del R Istituto Superiore di Scienze Economiche e Commerciali di Firenze. – 1936.

Brown S.D.M., Moore M.W. The International Mouse Phenotyping Consortium: past and future perspectives on mouse phenotyping // Mammalian genome : official journal of the International Mammalian Genome Society. – 2012. – Vol. 23. – № 9–10. – P. 632–640.

Buggiotti L. et al. Demographic history, adaptation, and NRAP convergent evolution at amino acid residue 100 in the world northernmost cattle from Siberia // Molecular biology and evolution. – 2021.

Buggiotti L., Yudin N.S., Larkin D.M. Copy Number Variants in Two Northernmost Cattle Breeds Are Related to Their Adaptive Phenotypes // Genes. – 2022. – Vol. 13. – № 9.

Bumgarner R. Overview of DNA microarrays: types, applications, and their future // Current protocols in molecular biology. – 2013. – Vol. Chapter 22. – P. Unit 22.1.

Burgess B.A. et al. The use of lung biopsy to determine early lung pathology and its association with health and production outcomes in feedlot steers // Canadian journal of veterinary research = Revue canadienne de recherche veterinaire. – 2013. – Vol. 77. – № 4. – P. 281–287.

Burl R.B. et al. Deconstructing cold-induced brown adipocyte neogenesis in mice // eLife. – 2022. – Vol. 11. – P. e80167.

Cabañero D. et al. Identification of an epidermal keratinocyte AMPA glutamate receptor involved in dermatopathies associated with sensory abnormalities // Pain reports. – 2016. – Vol. 1. – № 3.

Cafe L.M. et al. Production and processing studies on calpain-system gene markers for tenderness in Brahman cattle: 1. Growth, efficiency, temperament, and carcass characteristics // Journal of animal science. – 2010. – Vol. 88. – № 9. – P. 3047–3058.

Cannon B., Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance // Physiological reviews. – 2004. – Vol. 84. – № 1. – P. 277–359.

Cao K.X. et al. Cold exposure induces the acquisition of brown adipocyte gene expression profiles in cattle inguinal fat normalized with a new set of reference genes for qRT-PCR // Research in veterinary science. – 2017. – Vol. 114. – P. 1–5.

Carabaño M.J. et al. Genetic basis of thermotolerance in 2 local dairy sheep populations in the Iberian Peninsula // Journal of dairy science. – 2021. – Vol. 104. – № 5. – P. 5755–5767.

Cardona A. et al. Genome-wide analysis of cold adaptation in indigenous Siberian populations // PloS one. – 2014. – Vol. 9. – № 5. – P. e98076.

Carstens G.E. Cold thermoregulation in the newborn calf // The Veterinary clinics of North America. Food animal practice. – 1994. – Vol. 10. – № 1. – P. 69–106.

Carstens G.E. et al. Genotypic effects on norepinephrine-induced changes in thermogenesis, metabolic hormones, and metabolites in newborn calves // Journal of animal science. – 1997. – Vol. 75. – № 7. – P. 1746–1755.

Chamary J.V., Hurst L.D. Evidence for selection on synonymous mutations affecting stability of mRNA secondary structure in mammals // Genome biology. – 2005. – Vol. 6. – № 9. – P. R75.

Chan P.C. et al. Augmented CCL5/CCR5 signaling in brown adipose tissue inhibits adaptive thermogenesis and worsens insulin resistance in obesity // Clinical science (London, England : 1979). – 2022. – Vol. 136. – № 1. – P. 121–137.

Chan P.C., Liao M.-T., Hsieh P.-S. The Dualistic Effect of COX-2-Mediated Signaling in Obesity and Insulin Resistance // International journal of molecular sciences. – 2019. – Vol. 20. – № 13.

Chang C.C. et al. Second-generation PLINK: rising to the challenge of larger and richer datasets // GigaScience. – 2015. – Vol. 4. – P. 7.

Charoensook R. et al. Polymorphisms in the bovine HSP90AB1 gene are associated with heat tolerance in Thai indigenous cattle // Tropical animal health and production. – 2012. – Vol. 44. – № 4. – P. 921–928.

Chen S.Y., Feng Z., Yi X. A general introduction to adjustment for multiple comparisons // J. Thorac. Dis. 2017. T. 9. № 6. C. 1725–1729.

Cheruiyot E.K. et al. New loci and neuronal pathways for resilience to heat stress in cattle // Scientific Reports. – 2021. – Vol. 11. – № 1.

Chiappini F. et al. Lack of cAMP-response Element-binding Protein 1 in the Hypothalamus Causes Obesity // Journal of Biological Chemistry. – 2011. – Vol. 286. – № 10. – P. 8094–8105.

Chou S.Y. et al. CCL5/RANTES contributes to hypothalamic insulin signaling for systemic insulin responsiveness through CCR5 // Scientific reports. – 2016. – Vol. 6. – P. 37659.

Chue A.L. et al. Comparability of tympanic and oral mercury thermometers at high ambient temperatures // BMC research notes. – 2012. – Vol. 5. – P. 356.

Cohen P., Kajimura S. The cellular and functional complexity of thermogenic fat // Nature reviews. Molecular cell biology. – 2021. – Vol. 22. – № 6. – P. 393–409.

Cooper D.N. Functional intronic polymorphisms: Buried treasure awaiting discovery within our genes // Hum. Genomics. 2010. T. 4. № 5. C. 284–288.

Cooper S.E. et al. Screening for functional transcriptional and splicing regulatory variants with GenIE // Nucleic acids research. – 2020. – Vol. 48. – № 22. – P. e131.

Coyne J.M., Evans R.D., Berry D.P. Dressing percentage and the differential between live weight and carcass weight in cattle are influenced by both genetic and non-genetic factors1 // Journal of animal science. – 2019. – Vol. 97. – № 4. – P. 1501–1512.

Daanen H.A.M., Marken Lichtenbelt W.D. Van. Human whole body cold adaptation // Temperature (Austin, Tex.). – 2016. – Vol. 3. – № 1. – P. 104–118.

Dadd T., Weale M.E., Lewis C.M. A critical evaluation of genomic control methods for genetic association studies // Genetic epidemiology. – 2009. – Vol. 33. – № 4. – P. 290–298.

DAFF. Heat and cold stress in Bos taurus cattle from southern Australia during long-haul export by sea: Final report. Canberra: Department of Agriculture, Fisheries and Forestry, 2022.

Danecek P. et al. The variant call format and VCFtools // Bioinformatics (Oxford, England). – 2011. – Vol. 27. – № 15. – P. 2156–2158.

Deb R. et al. Editorial: Genetic Basis of Thermoregulation in Livestock // Frontiers in Veterinary Science. – 2022. – Vol. 9.

Dierks C. et al. Allelic heterogeneity of FGF5 mutations causes the long-hair phenotype in dogs // Animal genetics. – 2013. – Vol. 44. – № 4. – P. 425–431.

Diesel D.A., Tucker A., Robertshaw D. Cold-induced changes in breathing pattern as a strategy to reduce respiratory heat loss // Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985). – 1990. – Vol. 69. – № 6. – P. 1946–1952.

Dietz R.E. et al. Effects of feeding supplemental fat to beef cows on cold tolerance in newborn calves // Journal of animal science. – 2003. – Vol. 81. – № 4. – P. 885–894.

Dikmen S. et al. The Larson Blue coat color phenotype in Holsteins: Characteristics and effects on body temperature regulation and production in lactating cows in a hot climate1 // Journal of Animal Science. – 2017. – Vol. 95. – № 3. – P. 1164–1169.

Douhard F. et al. How much energetic trade-offs limit selection? Insights from livestock and related laboratory model species // Evolutionary applications. – 2021. – Vol. 14. – № 12. – P. 2726–2749.

Drögemüller C. et al. Mutations within the FGF5 gene are associated with hair length in cats // Animal genetics. – 2007. – Vol. 38. – № 3. – P. 218–221.

Du K. et al. Integrated Analysis of Transcriptome, microRNAs, and Chromatin Accessibility Revealed Potential Early B-Cell Factor1-Regulated Transcriptional Networks during the Early Development of Fetal Brown Adipose Tissues in Rabbits // Cells. – 2022. – Vol. 11. – № 17.

Duteil D. et al. Lsd1 Ablation Triggers Metabolic Reprogramming of Brown Adipose Tissue // Cell reports. – 2016. – Vol. 17. – № 4. – P. 1008–1021.

Edwards S.V. Genomics of adaptation and acclimation: from field to lab and back // National science review. – 2020. – Vol. 7. – № 1. – P. 128.

Eslamizad M., Albrecht D., Kuhla B. The effect of chronic, mild heat stress on metabolic changes of nutrition and adaptations in rumen papillae of lactating dairy cows // Journal of Dairy Science. – 2020. – Vol. 103. – № 9. – P. 8601–8614.

Falconer D.S. Introduction to quantitative genetics. : Pearson Education India, 1996.

Fan S., et al. Going global by adapting local: A review of recent human adaptation // Science. – 2016. – Vol. 354. – № 6308. – P. 54–59.

Fang H. et al. Identification of key Genes and Pathways Associated With Thermal Stress in Peripheral Blood Mononuclear Cells of Holstein Dairy Cattle // Frontiers in genetics. – 2021. – Vol. 12. – P. 662080.

FAO. Status and trends of animal genetic resources // Commission on genetic resources for food and agriculture – Twelfth Session. – 2023.

Fardoun M.M. et al. Raynaud’s Phenomenon: A Brief Review of the Underlying Mechanisms // Frontiers in pharmacology. – 2016. – Vol. 7. – P. 438.

Fealey R.D. Interoception and autonomic nervous system reflexes thermoregulation // Handbook of clinical neurology. – 2013. – Vol. 117. – P. 79–88.

Flicek P. et al. Ensembl 2011 // Nucleic Acids Research. – 2010. – Vol. 39. – № suppl_1. – P. D800–D806.

Florez-Duquet M., McDonald R.B. Cold-induced thermoregulation and biological aging // Physiological reviews. – 1998. – Vol. 78. – № 2. – P. 339–358.

Franks S.J., Hoffmann A.A. Genetics of climate change adaptation // Annual review of genetics. – 2012. – Vol. 46. – P. 185–208.

Freitas P.H.F. et al. Genetic Diversity and Signatures of Selection for Thermal Stress in Cattle and Other Two Bos Species Adapted to Divergent Climatic Conditions // Frontiers in genetics. – 2021. – Vol. 12. – P. 604823.

Froese A. et al. Popeye domain containing proteins are essential for stress-mediated modulation of cardiac pacemaking in mice // The Journal of clinical investigation. – 2012. – Vol. 122. – № 3. – P. 1119–1130.

Fujita J. Cold shock response in mammalian cells // Journal of molecular microbiology and biotechnology. – 1999. – Vol. 1. – № 2. – P. 243–255.

Ganeshan K. et al. Energetic Trade-Offs and Hypometabolic States Promote Disease Tolerance // Cell. – 2019. – Vol. 177. – № 2. – P. 399- 413.e12.

Gao H. et al. Electroacupuncture activates angiogenesis by regulating the PI3K/Pten/Thbs1 signaling pathway to promote the browning of adipose tissue in HFD-induced obese mice // Biomedicine & Pharmacotherapy. – 2023. – Vol. 166. – P. 115386.

Garland T.J. Trade-offs // Current biology : CB. – 2014. – Vol. 24. – № 2. – P. R60–R61.

Garland T.J., Downs C.J., Ives A.R. Trade-Offs (and Constraints) in Organismal Biology // Physiological and biochemical zoology : PBZ. – 2022. – Vol. 95. – № 1. – P. 82–112.

Garud N.R. et al. Recent selective sweeps in North American Drosophila melanogaster show signatures of soft sweeps // PLoS genetics. – 2015. – Vol. 11. – № 2. – P. e1005004.

Gaughan J.B. et al. Adaptation strategies: ruminants // Animal Frontiers. – 2018. – Vol. 9. – № 1. – P. 47–53.

Gbotsyo Y.A. et al. Short-term cold stress and heat shock proteins in the crustacean Artemia franciscana // Cell stress & chaperones. – 2020. – Vol. 25. – № 6. – P. 1083–1097.

Gee C.E. et al. Blocking metabotropic glutamate receptor subtype 7 (mGlu7) via the Venus flytrap domain (VFTD) inhibits amygdala plasticity, stress, and anxiety-related behavior // The Journal of biological chemistry. – 2014. – Vol. 289. – № 16. – P. 10975–10987.

Ghoreishifar S.M. et al. Signatures of selection reveal candidate genes involved in economic traits and cold acclimation in five Swedish cattle breeds // Genetics, selection, evolution : GSE. – 2020. – Vol. 52. – № 1. – P. 52.

Gil Z. et al. Impact of the location of the dairy cows in the barn on their body surface temperature // Journal of Central European Agriculture. – 2013. – Vol. 14. – P. 228–237.

Goldberg E.L. et al. IL-33 causes thermogenic failure in aging by expanding dysfunctional adipose ILC2 // Cell metabolism. – 2021. – Vol. 33. – № 11. – P. 2277-2287.e5.

Gong J. et al. A Cold-Sensing Receptor Encoded by a Glutamate Receptor Gene // Cell. – 2019. – Vol. 178. – № 6. – P. 1375- 1386.e11.

Gonzalez-Jimenez E., Blaxter K.L. The metabolism and thermal regulation of calves in the first month of life // The British journal of nutrition. – 1962. – Vol. 16. – P. 199–212.

Graham M.H. Confronting multicollinearity in ecological multiple regression // Ecology. – 2003. – Vol. 84. – № 11. – P. 2809–2815.

Grant J.R. et al. In-depth annotation of SNPs arising from resequencing projects using NGS-SNP // Bioinformatics (Oxford, England). – 2011. – Vol. 27. – № 16. – P. 2300–2301.

Grings M. et al. ETHE1 and MOCS1 deficiencies: Disruption of mitochondrial bioenergetics, dynamics, redox homeostasis and endoplasmic reticulum-mitochondria crosstalk in patient fibroblasts // Scientific reports. – 2019. – Vol. 9. – № 1. – P. 12651.

Guilherme A. et al. Control of Adipocyte Thermogenesis and Lipogenesis through β3-Adrenergic and Thyroid Hormone Signal Integration // Cell reports. – 2020. – Vol. 31. – № 5. – P. 107598.

Gutiérrez-Gil B., Wiener P., Williams J.L. Genetic effects on coat colour in cattle: dilution of eumelanin and phaeomelanin pigments in an F2-Backcross Charolais × Holstein population // BMC Genetics. – 2007. – Vol. 8. – № 1. – P. 56.

Hancock A.M. et al. Population genetic analysis of the uncoupling proteins supports a role for UCP3 in human cold resistance // Molecular biology and evolution. – 2011. – Vol. 28. – № 1. – P. 601–614.

Hankir M.K., Klingenspor M. Brown adipocyte glucose metabolism: a heated subject // EMBO reports. – 2018. – Vol. 19. – № 9.

Hannah L. et al. The environmental consequences of climate-driven agricultural frontiers // PloS one. – 2020. – Vol. 15. – № 2. – P. e0228305.

Harris A.M., Garud N.R., DeGiorgio M. Detection and Classification of Hard and Soft Sweeps from Unphased Genotypes by Multilocus Genotype Identity // Genetics. – 2018. – Vol. 210. – № 4. – P. 1429–1452.

Harrison C. CRISPR beef cattle get FDA green light // Nat. Biotechnol. 2022. T. 40. № 4. C. 448.

Harshaw C., Leffel J.K., Alberts J.R. Oxytocin and the warm outer glow: Thermoregulatory deficits cause huddling abnormalities in oxytocin-deficient mouse pups // Hormones and behavior. – 2018. – Vol. 98. – P. 145–158.

Hausrat T.J. et al. Radixin regulates synaptic GABAA receptor density and is essential for reversal learning and short-term memory // Nature communications. – 2015. – Vol. 6. – P. 6872.

Hayes B.J., Daetwyler H.D. 1000 Bull Genomes Project to Map Simple and Complex Genetic Traits in Cattle: Applications and Outcomes // Annual review of animal biosciences. – 2019. – Vol. 7. – P. 89–102.

He Y. et al. Accelerating haplotype-based genome-wide association study using perfect phylogeny and phase-known reference data // PloS one. – 2011. – Vol. 6. – № 7. – P. e22097.

Hébert J.M. et al. FGF5 as a regulator of the hair growth cycle: evidence from targeted and spontaneous mutations // Cell. – 1994. – Vol. 78. – № 6. – P. 1017–1025.

Heine M. et al. Lipolysis Triggers a Systemic Insulin Response Essential for Efficient Energy Replenishment of Activated Brown Adipose Tissue in Mice // Cell metabolism. – 2018. – Vol. 28. – № 4. – P. 644- 655.e4.

Hensel H., Hildebrandt G. Organ systems in adaptation: the nervous system // Adaptation to the environment, Handbook of physiology, Sect. – 1964. – Vol. 4. – P. 55–72.

Herrera-Ojeda J.B. et al. Genetic variances and covariances of live weight traits in Charolais cattle by multi-trait analysis // Journal of applied genetics. – 2019. – Vol. 60. – № 3–4. – P. 385–391.

Higgins C.A. et al. FGF5 is a crucial regulator of hair length in humans // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2014. – Vol. 111. – № 29. – P. 10648–10653.

Hill J. et al. Recurrent convergent evolution at amino acid residue 261 in fish rhodopsin // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2019. – Vol. 116. – № 37. – P. 18473–18478.

Hinrichs A.L., Larkin E.K., Suarez B.K. Population stratification and patterns of linkage disequilibrium // Genet. Epidemiol. 2009. T. 33 Suppl 1. № Suppl 1. C. S88-92.

Hinrichs A.S. et al. UCSC Data Integrator and Variant Annotation Integrator // Bioinformatics (Oxford, England). – 2016. – Vol. 32. – № 9. – P. 1430–1432.

Hohtola E. Shivering Thermogenesis in Birds and Mammals // 2004.

Holman C.D. et al. Aging impairs cold-induced beige adipogenesis and adipocyte metabolic reprogramming // bioRxiv Prepr. Serv. Biol. 2023.

Housley D.J.E., Venta P.J. The long and the short of it: evidence that FGF5 is a major determinant of canine ’hair’-itability // Animal genetics. – 2006. – Vol. 37. – № 4. – P. 309–315.

Howard J.T. et al. Beef cattle body temperature during climatic stress: a genome-wide association study // International journal of biometeorology. – 2014. – Vol. 58. – № 7. – P. 1665–1672.

Howarth F.C. et al. The Pattern of mRNA Expression Is Changed in Sinoatrial Node from Goto-Kakizaki Type 2 Diabetic Rat Heart // Journal of diabetes research. – 2018. – Vol. 2018. – P. 8454078.

Hu L. et al. Detection of functional polymorphisms in the hsp70 gene and association with cold stress response in Inner-Mongolia Sanhe cattle // Cell stress & chaperones. – 2019a. – Vol. 24. – № 2. – P. 409–418.

Hu Z.L., Park C.A., Reecy J.M. Building a livestock genetic and genomic information knowledgebase through integrative developments of Animal QTLdb and CorrDB // Nucleic acids research. – 2019b. – Vol. 47. – № D1. – P. D701–D710.

Igoshin A.V. et al. Genome-wide association study and scan for signatures of selection point to candidate genes for body temperature maintenance under the cold stress in Siberian cattle populations // BMC Genetics. – 2019. – Vol. 20.

Igoshin A. et al. Whole-genome resequencing points to candidate DNA loci affecting body temperature under cold stress in Siberian cattle populations // Life. – 2021. – Vol. 11.

Igoshin A.V. et al. Comparative analysis of allele frequencies for DNA polymorphisms associated with disease and economically important traits in the genomes of Russian and foreign cattle breeds // Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektsii=Vavilov Journal of Genetics and Breeding. – 2022. – Vol. 26. – №. 3. – P. 298-307.

Isenberg J.S., Roberts D.D. THBS1 (thrombospondin-1) // Atlas of genetics and cytogenetics in oncology and haematology. – 2020. – Vol. 24. – № 8. – P. 291–299.

Ishikawa T. et al. Vertebrate Unfolded Protein Response: Mammalian Signaling Pathways Are Conserved in Medaka Fish // Cell Structure and Function. – 2011. – Vol. 36. – № 2. – P. 247–259.

Iwasaki W. et al. Monitoring of the core body temperature of cows using implantable wireless thermometers // Computers and Electronics in Agriculture. – 2019. – Vol. 163. – P. 104849.

Iwen K.A., Oelkrug R., Brabant G. Effects of thyroid hormones on thermogenesis and energy partitioning // Journal of molecular endocrinology. – 2018. – Vol. 60. – № 3. – P. R157–R170.

Jacobi E., Engelhardt J. von. Modulation of information processing by AMPA receptor auxiliary subunits // The Journal of physiology. – 2021. – Vol. 599. – № 2. – P. 471–483.

Janjanam J. et al. LIM and cysteine-rich domains 1 is required for thrombin-induced smooth muscle cell proliferation and promotes atherogenesis // The Journal of biological chemistry. – 2018. – Vol. 293. – № 9. – P. 3088–3103.

Jastroch M., Seebacher F. Importance of adipocyte browning in the evolution of endothermy // Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences. – 2020. – Vol. 375. – № 1793. – P. 20190134.

Jiang A. et al. A Capra hircus chromosome 19 locus linked to milk production influences mammary conformation // Journal of animal science and biotechnology. – 2022. – Vol. 13. – № 1. – P. 4.

Jo B.S., Choi S.S. Introns: The Functional Benefits of Introns in Genomes // Genomics & informatics. – 2015. – Vol. 13. – № 4. – P. 112–118.

Johnson D.E. Climatic stress and production efficiency // Limiting effects of stress on cattle. Western Regional Research Publication. – 1986. – Vol. 9. – P. 17–20.

Johnsson M. Genomics in animal breeding from the perspectives of matrices and molecules // Hereditas. – 2023. – Vol. 160. – № 1. – P. 20.

Kamping A., Delden W. Van. The role of fertility restoration in the maintenance of the inversion In(2L)t polymorphism in drosophila melanogaster // Heredity. – 1999. – Vol. 83 (Pt 4). – P. 460–468.

Kang H.M. et al. Variance component model to account for sample structure in genome-wide association studies // Nature genetics. – 2010. – Vol. 42. – № 4. – P. 348–354.

Karacaören B. Across-breed genomic prediction for body weight in Siberian cattle populations // Turkish J. Vet. Anim. Sci. 2020. T. 44. № 3. C. 675–680.

Kasahara Y. et al. Role of the Oxytocin Receptor Expressed in the Rostral Medullary Raphe in Thermoregulation During Cold Conditions // Frontiers in endocrinology. – 2015. – Vol. 6. – P. 180.

Kataoka N. et al. Psychological stress activates a dorsomedial hypothalamus-medullary raphe circuit driving brown adipose tissue thermogenesis and hyperthermia // Cell metabolism. – 2014. – Vol. 20. – № 2. – P. 346–358.

Kemper K.E. et al. How old are quantitative trait loci and how widely do they segregate? // Journal of animal breeding and genetics = Zeitschrift fur Tierzuchtung und Zuchtungsbiologie. – 2015. – Vol. 132. – № 2. – P. 121–134.

Khaibullina A. et al. In a model of Batten disease, palmitoyl protein thioesterase-1 deficiency is associated with brown adipose tissue and thermoregulation abnormalities // PloS one. – 2012. – Vol. 7. – № 11. – P. e48733.

Khatib H. et al. Mutations in the STAT5A gene are associated with embryonic survival and milk composition in cattle // Journal of dairy science. – 2008. – Vol. 91. – № 2. – P. 784–793.

Khatib H. et al. Effects of signal transducer and activator of transcription (STAT) genes STAT1 and STAT3 genotypic combinations on fertilization and embryonic survival rates in Holstein cattle // Journal of dairy science. – 2009. – Vol. 92. – № 12. – P. 6186–6191.

Khaveh N. et al. Altered hair root gene expression profiles highlight calcium signaling and lipid metabolism pathways to be associated with curly hair initiation and maintenance in Mangalitza pigs // Frontiers in genetics. – 2023. – Vol. 14. – P. 1184015.

Khounsy S. et al. Significant mortality of large ruminants due to hypothermia in northern and central Lao PDR // Tropical animal health and production. – 2012. – Vol. 44. – № 4. – P. 835–842.

Kim E.S., Rothschild M.F. Genomic adaptation of admixed dairy cattle in East Africa // Frontiers in genetics. – 2014. – Vol. 5. – P. 443.

Kim W.S., Ghassemi N.J., Lee H.G. Impact of Cold Stress on Physiological, Endocrinological, Immunological, Metabolic, and Behavioral Changes of Beef Cattle at Different Stages of Growth // Animals. – 2023. – Vol. 13. – № 6.

Kingma B., Frijns A., Lichtenbelt W.M. The thermoneutral zone: implications for metabolic studies // Frontiers in bioscience (Elite edition). – 2012. – Vol. 4. – № 5. – P. 1975–1985.

Klimas R., Klimienė A. Performance traits in different generations of imported Danish Landrace pigs // Archives Animal Breeding. – 2011. – Vol. 54. – № 2. – P. 157–164.

Knoll M. et al. SYK kinase mediates brown fat differentiation and activation // Nature communications. – 2017. – Vol. 8. – № 1. – P. 2115.

Knowles S.C.L., Nakagawa S., Sheldon B.C. Elevated reproductive effort increases blood parasitaemia and decreases immune function in birds: a meta-regression approach // Functional Ecology. – 2009. – Vol. 23. – № 2. – P. 405–415.

Kuhn R.M., Haussler D., Kent W.J. The UCSC genome browser and associated tools // Briefings in bioinformatics. – 2013. – Vol. 14. – № 2. – P. 144–161.

Kumar A. et al. Expression profiling of major heat shock protein genes during different seasons in cattle (Bos indicus) and buffalo (Bubalus bubalis) under tropical climatic condition // Journal of thermal biology. – 2015a. – Vol. 51. – P. 55–64.

Kumar V. et al. Genetic signatures of adaptation revealed from transcriptome sequencing of Arctic and red foxes // BMC genomics. – 2015b. – Vol. 16. – № 1. – P. 585.

Lammoglia M.A. et al. Effects of feeding beef females supplemental fat during gestation on cold tolerance in newborn calves // Journal of animal science. – 1999. – Vol. 77. – № 4. – P. 824–834.

Lee H.J. et al. Validation Study of SNPs in CAPN1-CAST Genes on the Tenderness of Muscles (Longissimus thoracis and Semimembranosus) in Hanwoo (Korean Cattle) // Animals. – 2019. – Vol. 9. – № 9.

Lees A.M. et al. Relationship between Rectal Temperature and Vaginal Temperature in Grazing Bos taurus Heifers // Animals. – 2018. – Vol. 8. – № 9.

Lees A.M. et al. The Impact of Heat Load on Cattle // Animals. – 2019. – Vol. 9. – № 6.

Lemieux P., Roudier E., Birot O. Angiostatic freeze or angiogenic move? Acute cold stress prevents angiokine secretion from murine myotubes but primes primary endothelial cells for greater migratory capacity // Frontiers in Physiology. – 2022. – P. 2170.

Lenffer J. et al. OMIA (Online Mendelian Inheritance in Animals): an enhanced platform and integration into the Entrez search interface at NCBI // Nucleic acids research. – 2006. – Vol. 34. – № Database issue. – P. D599-601.

Li H. Tabix: fast retrieval of sequence features from generic TAB-delimited files // Bioinformatics (Oxford, England). – 2011. – Vol. 27. – № 5. – P. 718–719.

Li J. et al. Genome-Wide Association Studies Revealed Significant QTLs and Candidate Genes Associated with Backfat and Loin Muscle Area in Pigs Using Imputation-Based Whole Genome Sequencing Data // Animals. – 2022. – Vol. 12. – № 21.

Li M. et al. Convergent molecular evolution of thermogenesis and circadian rhythm in Arctic ruminants // Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2023a. – Vol. 290. – № 1999. – P. 20230538.

Li T. et al. Cold exposure induces browning of bovine subcutaneous white fat in vivo and in vitro // Journal of Thermal Biology. – 2023b. – Vol. 112. – P. 103446.

Li Z. et al. Effects of Dietary Guanidinoacetic Acid on the Feed Efficiency, Blood Measures, and Meat Quality of Jinjiang Bulls // Frontiers in veterinary science. – 2021. – Vol. 8. – P. 684295.

Lian T., Wang L., Liu Y. A New Insight into the Role of Calpains in Post-mortem Meat Tenderization in Domestic Animals: A review // Asian-Australasian journal of animal sciences. – 2013. – Vol. 26. – № 3. – P. 443–454.

Librado P. et al. Tracking the origins of Yakutian horses and the genetic basis for their fast adaptation to subarctic environments // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2015. – Vol. 112. – № 50. – P. E6889-97.

Lin J. et al. Cold adaptation in pigs depends on UCP3 in beige adipocytes // Journal of molecular cell biology. – 2017. – Vol. 9. – № 5. – P. 364–375.

Lipaeva P. et al. Different ways to play it cool: Transcriptomic analysis sheds light on different activity patterns of three amphipod species under long-term cold exposure // Molecular ecology. – 2021. – Vol. 30. – № 22. – P. 5735–5751.

Liu P. et al. Serum proteomics analysis reveals the thermal fitness of crossbred dairy buffalo to chronic heat stress // Journal of thermal biology. – 2020. – Vol. 89. – P. 102547.

Liu W., Kuang S. miR-133 links to energy balance through targeting Prdm16 // Journal of molecular cell biology. – 2013. – Vol. 5. – № 6. – P. 432–434.

Locke A.E. et al. Genetic studies of body mass index yield new insights for obesity biology // Nature. – 2015. – Vol. 518. – № 7538. – P. 197–206.

Long Y. et al. Transcriptional Programs Underlying Cold Acclimation of Common Carp (Cyprinus carpio L.) // Frontiers in genetics. – 2020. – Vol. 11. – P. 556418.

Lu C.A. et al. DEAD-Box RNA Helicase 42 Plays a Critical Role in Pre-mRNA Splicing under Cold Stress // Plant physiology. – 2020. – Vol. 182. – № 1. – P. 255–271.

Luksch H. et al. Silencing of selected glutamate receptor subunits modulates cancer growth // Anticancer research. – 2011. – Vol. 31. – № 10. – P. 3181–3192.

Lund M.S. et al. Detection of quantitative trait loci in Danish Holstein cattle affecting clinical mastitis, somatic cell score, udder conformation traits, and assessment of associated effects on milk yield // Journal of dairy science. – 2008. – Vol. 91. – № 10. – P. 4028–4036.

Maarel L.E. van der, Postma A.V., Christoffels V.M. Genetics of sinoatrial node function and heart rate disorders // Disease models & mechanisms. – 2023. – Vol. 16. – № 5.

Maeda T. et al. Involvement of basal metabolic rate in determination of type of cold tolerance // Journal of physiological anthropology. – 2007. – Vol. 26. – № 3. – P. 415–418.

Maliszewska K., Kretowski A. Brown Adipose Tissue and Its Role in Insulin and Glucose Homeostasis // International journal of molecular sciences. – 2021. – Vol. 22. – № 4.

Manfredi L.H. et al. Effect of short-term cold exposure on skeletal muscle protein breakdown in rats // Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985). – 2013. – Vol. 115. – № 10. – P. 1496–1505.

Manfredi L.H. et al. Adrenodemedullation activates the Ca(2+)-dependent proteolysis in soleus muscles from rats exposed to cold // Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985). – 2017. – Vol. 122. – № 2. – P. 317–326.

Martin-Collado D. et al. Are farmers motivated to select for heat tolerance? Linking attitudinal factor, perceived climate change impact and social trust to farmers breeding desires // Journal of dairy science. – 2023.

Maslennikova S.O. et al. TNFα is responsible for the canonical offspring number-size trade-off // Scientific reports. – 2019. – Vol. 9. – № 1. – P. 4568.

Maxfield A.B., Heaton D.N., Winge D.R. Cox17 is functional when tethered to the mitochondrial inner membrane // The Journal of biological chemistry. – 2004. – Vol. 279. – № 7. – P. 5072–5080.

McCaffrey L.M., Macara I.G. Widely conserved signaling pathways in the establishment of cell polarity // Cold Spring Harbor perspectives in biology. – 2009. – Vol. 1. – № 2. – P. a001370.

McClure M., McClure J. Genetic Trait Information for IDB Genotyped Animals in Ireland – Clinician and Researcher Edition. Bandon: Irish Cattle Breeding Federation, 2016.

McClure M.C. et al. Genome-wide association analysis for quantitative trait loci influencing Warner-Bratzler shear force in five taurine cattle breeds // Animal genetics. – 2012. – Vol. 43. – № 6. – P. 662–673.

McCoy R.C., Akey J.M. Selection plays the hand it was dealt: evidence that human adaptation commonly targets standing genetic variation // Genome biology. – 2017. – Vol. 18. – № 1. – P. 139.

McGlynn M.L. et al. The isolated effects of local cold application on proteolytic and myogenic signaling // Cryobiology. – 2023. – Vol. 112. – P. 104553.

McKemy D.D. How cold is it? TRPM8 and TRPA1 in the molecular logic of cold sensation // Molecular pain. – 2005. – Vol. 1. – P. 16.

Mei C. et al. Insights into adaption and growth evolution: a comparative genomics study on two distinct cattle breeds from Northern and Southern China // Molecular therapy. Nucleic acids. – 2021. – Vol. 23. – P. 959–967.

Menjo D.K. et al. Analysis of early survival of Holstein-Friesian heifers of diverse sire origins on commercial dairy farms in Kenya // Tropical animal health and production. – 2009. – Vol. 41. – № 2. – P. 171–181.

Mihaylova M.M., Shaw R.J. The AMPK signalling pathway coordinates cell growth, autophagy and metabolism // Nature cell biology. – 2011. – Vol. 13. – № 9. – P. 1016–1023.

Millar S.E. et al. WNT signaling in the control of hair growth and structure // Developmental biology. – 1999. – Vol. 207. – № 1. – P. 133–149.

Moen J.M. et al. Overexpression of a Neuronal Type Adenylyl Cyclase (Type 8) in Sinoatrial Node Markedly Impacts Heart Rate and Rhythm // Frontiers in neuroscience. – 2019. – Vol. 13. – P. 615.

Mohanarao G.J. et al. HSP70 family genes and HSP27 expression in response to heat and cold stress in vitro in peripheral blood mononuclear cells of goat (Capra hircus) // Small Ruminant Research. – 2014. – Vol. 116. – № 2. – P. 94–99.

Morrison S.F., Nakamura K. Central neural pathways for thermoregulation // Frontiers in bioscience (Landmark edition). – 2011. – Vol. 16. – № 1. – P. 74–104.

Morrison S.F., Nakamura K., Madden C.J. Central control of thermogenesis in mammals // Experimental physiology. – 2008. – Vol. 93. – № 7. – P. 773–797.

Most P.J. van der et al. Trade-off between growth and immune function: a meta-analysis of selection experiments // Functional Ecology. – 2011. – Vol. 25. – № 1. – P. 74–80.

Mota-Rojas D. et al. Physiological and Behavioral Mechanisms of Thermoregulation in Mammals // Animals. – 2021. – Vol. 11. – № 6.

Mota-Rojas D. et al. Strategies and Mechanisms of Thermal Compensation in Newborn Water Buffaloes // Animals. – 2023. – Vol. 13. – № 13.

Mottillo E.P. et al. Lack of Adipocyte AMPK Exacerbates Insulin Resistance and Hepatic Steatosis through Brown and Beige Adipose Tissue Function // Cell metabolism. – 2016. – Vol. 24. – № 1. – P. 118–129.

Mugele H. et al. Integrative crosstalk between hypoxia and the cold: Old data and new opportunities // Experimental physiology. – 2021. – Vol. 106. – № 1. – P. 350–358.

Mullur R., Liu Y.-Y., Brent G.A. Thyroid hormone regulation of metabolism // Physiological reviews. – 2014. – Vol. 94. – № 2. – P. 355–382.

Muszkat M. et al. Independent regulation of α1 and α2 adrenergic receptor-mediated vasoconstriction in vivo // Journal of hypertension. – 2011. – Vol. 29. – № 2. – P. 251–256.

Nair A. et al. Conceptual Evolution of Cell Signaling // International journal of molecular sciences. – 2019. – Vol. 20. – № 13.

Nakamura K., Morrison S.F. Central efferent pathways for cold-defensive and febrile shivering // The Journal of physiology. – 2011. – Vol. 589. – № Pt 14. – P. 3641–3658.

Nay T., Hayman R.H. Some skin characters in five breeds of European (Bos taurus) dairy cattle // Australian journal of agricultural research. – 1963. – Vol. 14. – № 2. – P. 294–302.

Nel C. et al. Reaction-norm analysis of neonatal lamb mortality suggests heritability varies with cold-stress: an example in the Elsenburg Merino selection lines // Animal Production Science. – 2023. – Vol. 63. – № 11.

Newton A.C., Bootman M.D., Scott J.D. Second Messengers // Cold Spring Harbor perspectives in biology. – 2016. – Vol. 8. – № 8.

Newton R., Wernisch L. Investigating inter-chromosomal regulatory relationships through a comprehensive meta-analysis of matched copy number and transcriptomics data sets // BMC genomics. – 2015. – Vol. 16. – P. 967.

Nielsen B. et al. Selection for increased number of piglets at d 5 after farrowing has increased litter size and reduced piglet mortality // Journal of animal science. – 2013. – Vol. 91. – № 6. – P. 2575–2582.

Nikanorova A.A. et al. The Role of Nonshivering Thermogenesis Genes on Leptin Levels Regulation in Residents of the Coldest Region of Siberia // International journal of molecular sciences. – 2021. – Vol. 22. – № 9.

Nishimura T. et al. Experimental evidence reveals the UCP1 genotype changes the oxygen consumption attributed to non-shivering thermogenesis in humans // Scientific reports. – 2017. – Vol. 7. – № 1. – P. 5570.

Nonnecke B.J. et al. Effects of chronic environmental cold on growth, health, and select metabolic and immunologic responses of preruminant calves // Journal of dairy science. – 2009. – Vol. 92. – № 12. – P. 6134–6143.

NRC. Effect of environment on nutrient requirements of domestic animals. : National Academies Press, 1981.

O'Brien E.P., Vendruscolo M., Dobson C.M. Kinetic modelling indicates that fast-translating codons can coordinate cotranslational protein folding by avoiding misfolded intermediates // Nature communications. – 2014. – Vol. 5. – P. 2988.

O'Connor R.M. et al. Adult siRNA-induced knockdown of mGlu7 receptors reduces anxiety in the mouse // Neuropharmacology. – 2013. – Vol. 72. – P. 66–73.

Oliveira H.C. et al. Fine Mapping of a Major Backfat QTL Reveals a Causal Regulatory Variant Affecting the CCND2 Gene // Frontiers in genetics. – 2022. – Vol. 13. – P. 871516.

Olson D.P., Papasian C.J., Ritter R.C. The effects of cold stress on neonatal calves. I. Clinical condition and pathological lesions // Canadian journal of comparative medicine : Revue canadienne de medecine comparee. – 1980. – Vol. 44. – № 1. – P. 11–18.

Ong B.X. et al. Regulation of Thermogenic Adipocyte Differentiation and Adaptive Thermogenesis Through Histone Acetylation // Frontiers in endocrinology. – 2020. – Vol. 11. – P. 95.

Pääkkönen T., Leppäluoto J. Cold exposure and hormonal secretion: a review // International journal of circumpolar health. – 2002. – Vol. 61. – № 3. – P. 265–276.

Parker J. et al. Genome-wide signatures of convergent evolution in echolocating mammals // Nature. – 2013. – Vol. 502. – № 7470. – P. 228–231.

Pausch H. et al. Short communication: Validation of 4 candidate causative trait variants in 2 cattle breeds using targeted sequence imputation // Journal of dairy science. – 2015. – Vol. 98. – № 6. – P. 4162–4167.

Pawar H. et al. Heat and cold stress enhances the expression of heat shock protein 70, heat shock transcription factor 1 and cytokines (IL-12, TNF- and GMCSF) in buffaloes

// international journal of current microbiology and applied sciences. – 2014. – Vol. 3. – P. 307.

Paz H.A. et al. Beta-adrenergic agonist induces unique transcriptomic signature in inguinal white adipose tissue // Physiological reports. – 2023. – Vol. 11. – № 6. – P. e15646.

Perach M. et al. Identification of conserved slow codons that are important for protein expression and function // RNA biology. – 2021. – Vol. 18. – № 12. – P. 2296–2307.

Pfeifer A., Hoffmann L.S. Brown, beige, and white: the new color code of fat and its pharmacological implications // Annual review of pharmacology and toxicology. – 2015. – Vol. 55. – P. 207–227.

Phadtare S. Unwinding activity of cold shock proteins and RNA metabolism // RNA biology. – 2011. – Vol. 8. – № 3. – P. 394–397.

Pires-daSilva A., Sommer R.J. The evolution of signalling pathways in animal development // Nature reviews. Genetics. – 2003. – Vol. 4. – № 1. – P. 39–49.

Pires B.V. et al. Meta-analysis and meta-regression of core body temperature in taurine and zebuine cattle under different environmental conditions // Livestock Science. – 2022. – Vol. 265. – P. 105104.

Pitt D. et al. Domestication of cattle: Two or three events? // Evolutionary applications. – 2019a. – Vol. 12. – № 1. – P. 123–136.

Pitt D. et al. Demography and rapid local adaptation shape Creole cattle genome diversity in the tropics // Evolutionary applications. – 2019b. – Vol. 12. – № 1. – P. 105–122.

Platt S.R. The role of glutamate in central nervous system health and disease – a review // Veterinary journal. – 2007. – Vol. 173. – № 2. – P. 278–286.

Plattner H., Verkhratsky A. The remembrance of the things past: Conserved signalling pathways link protozoa to mammalian nervous system // Cell calcium. – 2018. – Vol. 73. – P. 25–39.

Pokharel K. et al. Whole blood transcriptome analysis reveals footprints of cattle adaptation to sub-arctic conditions // Animal genetics. – 2019. – Vol. 50. – № 3. – P. 217–227.

Ponomarenko M., Stepanenko I., Kolchanov N. Heat Shock Proteins // Brenner’s Encyclopedia of Genetics. – 2013. – P. 402–405.

Poole D.H. et al. Ergot alkaloids induce vasoconstriction of bovine uterine and ovarian blood vessels // Journal of animal science. – 2018. – Vol. 96. – № 11. – P. 4812–4822.

Porto-Neto L.R. et al. Detection of signatures of selection using Fst // Methods in molecular biology. – 2013. – Vol. 1019. – P. 423–436.

Price A.L. et al. New approaches to population stratification in genome-wide association studies // Nature reviews. Genetics. – 2010. – Vol. 11. – № 7. – P. 459–463.

Pritchard J.K., Pickrell J.K., Coop G. The genetics of human adaptation: hard sweeps, soft sweeps, and polygenic adaptation // Current biology : CB. – 2010. – Vol. 20. – № 4. – P. R208-15.

Purcell S. et al. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses // American journal of human genetics. – 2007. – Vol. 81. – № 3. – P. 559–575.

Qneibi M. et al. Inula viscosa (L.) Greuter, phytochemical composition, antioxidant, total phenolic content, total flavonoids content and neuroprotective effects // European Journal of Integrative Medicine. – 2021. – Vol. 42. – P. 101291.

Rankinen T. et al. CREB1 is a strong genetic predictor of the variation in exercise heart rate response to regular exercise: the HERITAGE Family Study // Circulation. Cardiovascular genetics. – 2010. – Vol. 3. – № 3. – P. 294–299.

Rey C. et al. Accurate Detection of Convergent Amino-Acid Evolution with PCOC // Molecular biology and evolution. – 2018. – Vol. 35. – № 9. – P. 2296–2306.

Rim J.S., Kozak L.P. Regulatory motifs for CREB-binding protein and Nfe2l2 transcription factors in the upstream enhancer of the mitochondrial uncoupling protein 1 gene // The Journal of biological chemistry. – 2002. – Vol. 277. – № 37. – P. 34589–34600.

Ritonja J.A. et al. Exploring the impact of night shift work on methylation of circadian genes // Epigenetics. – 2022. – Vol. 17. – № 10. – P. 1259–1268.

Ritossa F. A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in drosophila // Experientia. – 1962. – Vol. 18. – P. 571–573.

Roland L. et al. Invited review: Influence of climatic conditions on the development, performance, and health of calves // Journal of dairy science. – 2016. – Vol. 99. – № 4. – P. 2438–2452.

Roman E.A. et al. Activation of AMPK in rat hypothalamus participates in cold-induced resistance to nutrient-dependent anorexigenic signals // The Journal of physiology. – 2005. – Vol. 568. – № Pt 3. – P. 993–1001.

Romero A. et al. Relationship between fetal weight and litter size in rats: Application to reproductive toxicology studies // Reproductive Toxicology. – 1992. – Vol. 6. – № 5. – P. 453–456.

Ruan J. et al. DDX23, an Evolutionary Conserved dsRNA Sensor, Participates in Innate Antiviral Responses by Pairing With TRIF or MAVS // Frontiers in immunology. – 2019. – Vol. 10. – P. 2202.

Saatchi M. et al. QTLs associated with dry matter intake, metabolic mid-test weight, growth and feed efficiency have little overlap across 4 beef cattle studies // BMC genomics. – 2014. – Vol. 15. – № 1. – P. 1004.

Sabeti P.C. et al. Detecting recent positive selection in the human genome from haplotype structure // Nature. – 2002. – Vol. 419. – № 6909. – P. 832–837.

Sailo L. et al. Single Nucleotide Polymorphisms in HSP90AB1 Gene and its association with Thermotolerance in Jersey Crossbred Cows // Animal Science Reporter. – 2015. – Vol. 9. – P. 43–49.

Salazar-Tortosa D.F. et al. Novel brown adipose tissue candidate genes predicted by the human gene connectome // Scientific reports. – 2022. – Vol. 12. – № 1. – P. 7614.

Sambrook J., Russell D.W. The condensed protocols from molecular cloning: a laboratory manual. Cold Spring Harbor, N.Y.: Cold Spring Harbor laboratory press, 2006.

Santos M.M. Dos et al. An updated review on cattle thermoregulation: physiological responses, biophysical mechanisms, and heat stress alleviation pathways // Environmental science and pollution research international. – 2021. – Vol. 28. – № 24. – P. 30471–30485.

Santos S. et al. Variações da temperatura corporal e da pele de vacas e bezerros das raças pantaneira e nelore no pantanal // 2005. – Vol. 54. – P. 237–244.

Scasta J.D. Albedo and Thermal Ecology of White, Red, and Black Cows (Bos taurus) in a Cold Rangeland Environment // Animals. – 2021. – Vol. 11. – № 5.

Scheet P., Stephens M. A fast and flexible statistical model for large-scale population genotype data: applications to inferring missing genotypes and haplotypic phase // American journal of human genetics. – 2006. – Vol. 78. – № 4. – P. 629–644.

Schroder K. et al. Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions // Journal of leukocyte biology. – 2004. – Vol. 75. – № 2. – P. 163–189.

Schwappacher R. et al. A molecular mechanism for therapeutic effects of cGMP-elevating agents in pulmonary arterial hypertension // The Journal of biological chemistry. – 2013. – Vol. 288. – № 23. – P. 16557–16566.

Seabury C.M. et al. Genome-wide association study for feed efficiency and growth traits in U.S. beef cattle // BMC genomics. – 2017. – Vol. 18. – № 1. – P. 386.

Sehgal D. et al. Haplotype-Based, Genome-Wide Association Study Reveals Stable Genomic Regions for Grain Yield in CIMMYT Spring Bread Wheat // Frontiers in genetics. – 2020. – Vol. 11. – P. 589490.

Sengupta T., Jaryal A.K., Mallick H.N. Effects of NMDA and non-NMDA ionotropic glutamate receptors in the medial preoptic area on body temperature in awake rats // Journal of thermal biology. – 2016. – Vol. 61. – P. 1–7.

Seo K. et al. Biology of epidermal and hair pigmentation in cattle: a mini-review // Veterinary dermatology. – 2007. – Vol. 18. – № 6. – P. 392–400.

Shen J. et al. Whole Genome Scan and Selection Signatures for Climate Adaption in Yanbian Cattle // Frontiers in genetics. – 2020. – Vol. 11. – P. 94.

Shephard R.W., Maloney S.K. A review of thermal stress in cattle // Australian veterinary journal. – 2023. – Vol. 101. – № 11. – P. 417–429.

Sherman B.T. et al. DAVID: a web server for functional enrichment analysis and functional annotation of gene lists (2021 update) // Nucleic acids research. – 2022. – Vol. 50. – № W1. – P. W216-21.

Shimada Y. et al. Property of cold inducible DEAD-box RNA helicase in hyperthermophilic archaea // Biochemical and biophysical research communications. – 2009. – Vol. 389. – № 4. – P. 622–627.

Shin S.Y. et al. The switching role of β-adrenergic receptor signalling in cell survival or death decision of cardiomyocytes // Nature communications. – 2014. – Vol. 5. – P. 5777.

Shore A.M. et al. Cold-induced changes in gene expression in brown adipose tissue, white adipose tissue and liver // PloS one. – 2013. – Vol. 8. – № 7. – P. e68933.

Silhavy J. et al. CD36 regulates substrates utilisation in brown adipose tissue of spontaneously hypertensive rats: In vitro study // PloS one. – 2023. – Vol. 18. – № 4. – P. e0283276.

Silva F., Bittar C.M. Thermogenesis and some rearing strategies of dairy calves at low temperature – a review // Journal of Applied Animal Research. – 2019. – Vol. 47. – P. 115–122.

Singh A., Jaiswal S.K., Sharma B. Low temperature induced stress and biomolecular imbalances in insects with special reference to silkworms. , 2013.

Singh A.K. et al. Genome-wide expression analysis of the heat stress response in dermal fibroblasts of Tharparkar (zebu) and Karan-Fries (zebu × taurine) cattle // Cell stress & chaperones. – 2020. – Vol. 25. – № 2. – P. 327–344.

Sjodin B.M.F., Russello M.A. Comparative genomics reveals putative evidence for high-elevation adaptation in the American pika (Ochotona princeps) // G3. – 2022. – Vol. 12. – № 11. – P. jkac241.

Smith S.B., Carstens G.E. Chapter 12. Ontogeny and metabolism of brown adipose tissue in livestock species // Biology of Metabolism in Growing Animals Biology of Growing Animals. / D. G. Burrin, H. J. Mersmann, eds. : Elsevier. – 2005. – P. 303–322.

Srikanth K. et al. Characterization of genes and pathways that respond to heat stress in Holstein calves through transcriptome analysis // Cell stress & chaperones. – 2017. – Vol. 22. – № 1. – P. 29–42.

Steinthorsdottir V. et al. Identification of low-frequency and rare sequence variants associated with elevated or reduced risk of type 2 diabetes // Nature Genetics. – 2014. – Vol. 46. – № 3. – P. 294–298.

Symonds M.E. et al. Adipose tissue and fetal programming // Diabetologia. – 2012. – Vol. 55. – № 6. – P. 1597–1606.

Székely M., Garai J. Thermoregulation and age // Handbook of clinical neurology. – 2018. – Vol. 156. – P. 377–395.

Tabuchi C., Sul H.S. Signaling Pathways Regulating Thermogenesis // Frontiers in endocrinology. – 2021. – Vol. 12. – P. 595020.

Takayanagi Y. et al. Oxytocin receptor-deficient mice developed late-onset obesity // Neuroreport. – 2008. – Vol. 19. – № 9. – P. 951–955.

Tang X. et al. Suppression of Endothelial AGO1 Promotes Adipose Tissue Browning and Improves Metabolic Dysfunction // Circulation. – 2020. – Vol. 142. – № 4. – P. 365–379.

Tarasov K.V. et al. A remarkable adaptive paradigm of heart performance and protection emerges in response to marked cardiac-specific overexpression of ADCY8 // eLife. – 2022. – Vol. 11. – P. e80949.

Tavares E., Miñano F.J. RANTES: a new prostaglandin dependent endogenous pyrogen in the rat // Neuropharmacology. – 2000. – Vol. 39. – № 12. – P. 2505–2513.

Thiese M.S., Ronna B., Ott U. P value interpretations and considerations // Journal of Thoracic Disease. – 2016. – Vol. 8. – № 9. – P. E928-E931.

Thompson-Torgerson C.S. et al. Cold-induced cutaneous vasoconstriction is mediated by Rho kinase in vivo in human skin // American journal of physiology. Heart and circulatory physiology. – 2007. – Vol. 292. – № 4. – P. H1700-5.

Thompson G.E., Clough D.P. The effect of cold exposure on plasma lipids of the new-born and adult ox // Quarterly journal of experimental physiology and cognate medical sciences. – 1972. – Vol. 57. – № 2. – P. 192–198.

Tsibulnikov S. et al. Thyroid hormones and the mechanisms of adaptation to cold // Hormones. – 2020. – Vol. 19. – № 3. – P. 329–339.

Uricchio L.H. Evolutionary perspectives on polygenic selection, missing heritability, and GWAS // Human genetics. – 2020. – Vol. 139. – № 1. – P. 5–21.

Van Den Pol A.N. et al. Ionotropic glutamate-receptor gene expression in hypothalamus: localization of AMPA, kainate, and NMDA receptor RNA with in situ hybridization // The Journal of comparative neurology. – 1994. – Vol. 343. – № 3. – P. 428–444.

Verma P. et al. Transcriptome Analysis of Circulating PBMCs to Understand Mechanism of High Altitude Adaptation in Native Cattle of Ladakh Region // Scientific reports. – 2018. – Vol. 8. – № 1. – P. 7681.

Voight B.F. et al. A map of recent positive selection in the human genome // PLoS biology. – 2006. – Vol. 4. – № 3. – P. e72.

Walsh I.M. et al. Synonymous codon substitutions perturb cotranslational protein folding in vivo and impair cell fitness // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2020. – Vol. 117. – № 7. – P. 3528–3534.

Wang C. et al. LncRNA and mRNA expression profiles in brown adipose tissue of obesity-prone and obesity-resistant mice // iScience. – 2022. – Vol. 25. – № 8. – P. 104809.

Wang Q. et al. Brown adipose tissue in humans is activated by elevated plasma catecholamines levels and is inversely related to central obesity // PloS one. – 2011. – Vol. 6. – № 6. – P. e21006.

Wang S. et al. Effects of Long-Term Cold Stress on Growth Performance, Behavior, Physiological Parameters, and Energy Metabolism in Growing Beef Cattle // Animals. – 2023. – Vol. 13. – № 10.

Wathes C.M., Jones C.D., Webster A.J. Ventilation, air hygiene and animal health // The Veterinary record. – 1983. – Vol. 113. – № 24. – P. 554–559.

Weir B.S., Cockerham C.C. Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure // Evolution; international journal of organic evolution. – 1984. – Vol. 38. – № 6. – P. 1358–1370.

Weldenegodguad M. et al. Whole-Genome Sequencing of Three Native Cattle Breeds Originating From the Northernmost Cattle Farming Regions // Frontiers in genetics. – 2018. – Vol. 9. – P. 728.

White-Traut R. et al. Detection of salivary oxytocin levels in lactating women // Developmental psychobiology. – 2009. – Vol. 51. – № 4. – P. 367–373.

Willi Y., Buskirk J. Van. A review on trade-offs at the warm and cold ends of geographical distributions // Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2022. – Vol. 377. – № 1848. – P. 20210022.

Willson N.L. et al. Transcriptional analysis of liver from chickens with fast (meat bird), moderate (F1 layer x meat bird cross) and low (layer bird) growth potential // BMC genomics. – 2018. – Vol. 19. – № 1. – P. 309.

Winter Z. et al. Cold Temperature Encoding by Cutaneous TRPA1 and TRPM8-Carrying Fibers in the Mouse // Frontiers in Molecular Neuroscience. – 2017. – Vol. 10.

Xi D. et al. Ablation of Oxytocin Neurons Causes a Deficit in Cold Stress Response // Journal of the Endocrine Society. – 2017. – Vol. 1. – № 8. – P. 1041–1055.

Xia X. et al. Global dispersal and adaptive evolution of domestic cattle: a genomic perspective // Stress biology. – 2023. – Vol. 3. – № 1. – P. 8.

Xiang R. et al. Quantifying the contribution of sequence variants with regulatory and evolutionary significance to 34 bovine complex traits // Proceedings of the National

Academy of Sciences of the United States of America. – 2019. – Vol. 116. – № 39. – P. 19398–19408.

Xiaomei W. et al. A DEAD-box RNA helicase TCD33 that confers chloroplast development in rice at seedling stage under cold stress // Journal of plant physiology. – 2020. – Vol. 248. – P. 153138.

Xu Q. et al. Population transcriptomics uncovers the regulation of gene expression variation in adaptation to changing environment // Scientific Reports. – 2016. – Vol. 6. – № 1. – P. 25536.

Xu Y. et al. CRISPR/Cas9-mediated Disruption of Fibroblast Growth Factor 5 in Rabbits Results in a Systemic Long Hair Phenotype by Prolonging Anagen // Genes. – 2020. – Vol. 11. – № 3.

Yan C.L. et al. Population genomics reveals that natural variation in PRDM16 contributes to cold tolerance in domestic cattle // Zoological research. – 2022. – Vol. 43. – № 2. – P. 275–284.

Yang J. et al. Genomic inflation factors under polygenic inheritance // European journal of human genetics : EJHG. – 2011. – Vol. 19. – № 7. – P. 807–812.

Young B.A. Cold stress as it affects animal production // Journal of animal science. – 1981. – Vol. 52. – № 1. – P. 154–163.

Yu F. et al. A nonsense mutation in the FGF5 gene is associated with the long-haired phenotype in domestic guinea pigs (Cavia porcellus) // Animal genetics. – 2018. – Vol. 49. – № 3. – P. 269.

Yuan Y. et al. Comparative genomics provides insights into the aquatic adaptations of mammals // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2021. – Vol. 118. – № 37. – P. e2106080118.

Yudin N.S. et al. Association of polymorphism harbored by tumor necrosis factor alpha gene and sex of calf with lactation performance in cattle // Asian-Australasian journal of animal sciences. – 2013. – Vol. 26. – № 10. – P. 1379–1387.

Yudin N.S., Yurchenko A.A., Larkin D.M. [Signatures of selection and candidate genes for adaptation to extreme environmental factors in the genomes of Turano-Mongolian cattle breeds] // Vavilovskii zhurnal genetiki i selektsii. – 2021. – Vol. 25. – № 2. – P. 190–201.

Yurchenko A.A. et al. Scans for signatures of selection in Russian cattle breed genomes reveal new candidate genes for environmental adaptation and acclimation // Scientific reports. – 2018. – Vol. 8. – № 1. – P. 12984.

Zaykin D.V. et al. Testing association of statistically inferred haplotypes with discrete and continuous traits in samples of unrelated individuals // Human heredity. – 2002. – Vol. 53. – № 2. – P. 79–91.

Zeng Z. et al. CCL5/CCR5 axis in human diseases and related treatments // Genes & diseases. – 2022. – Vol. 9. – № 1. – P. 12–27.

Zhang C., Guy C.L. In vitro evidence of Hsc70 functioning as a molecular chaperone during cold stress // Plant physiology and biochemistry : PPB. – 2006. – Vol. 44. – № 11–12. – P. 844–850.

Zhang W. et al. Exome sequencing reveals a de novo PRKG1 mutation in a sporadic patient with aortic dissection // BMC medical genetics. – 2018. – Vol. 19. – № 1. – P. 218.

Zhang Z. et al. Mixed linear model approach adapted for genome-wide association studies // Nature genetics. – 2010. – Vol. 42. – № 4. – P. 355–360.

Zhao J.H. gap: Genetic analysis package // Journal of Statistical Software. – 2008. – Vol. 23. – P. 1–18.

Zhao R.Z. et al. Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling (Review) // International journal of molecular medicine. – 2019a. – Vol. 44. – № 1. – P. 3–15.

Zhao S., Zhang B. A comprehensive evaluation of ensembl, RefSeq, and UCSC annotations in the context of RNA-seq read mapping and gene quantification // BMC Genomics. – 2015. – Vol. 16. – № 1. – P. 97.

Zhao W. et al. Functional importance of palmitoyl protein thioesterase 1 (PPT1) expression by Sertoli cells in mediating cholesterol metabolism and maintenance of sperm quality // Molecular reproduction and development. – 2019b. – Vol. 86. – № 8. – P. 984–998.

Zheng J. et al. Transcriptomic and Metabolomic Analyses Reveal Inhibition of Hepatic Adipogenesis and Fat Catabolism in Yak for Adaptation to Forage Shortage During Cold Season // Frontiers in cell and developmental biology. – 2022. – Vol. 9. – P. 759521.

Афанасьева А.И., Князев С.С., Лотц К.Н. Воспроизводительная способность мясного скота герефордской породы сибирской и финской селекции в условиях Алтайского края // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2015. – Т. 8. – № 130. – С. 86–89.

Выставной А.И., Кушнир А.В. Биоразнообразие адаптивной реакции телят чёрно-пёстрой породы на ранней стадии онтогенеза при низких температурах среды // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2008. – № 9. – С. 35–39.

Грошева О.А., Левыкин С.В. Казахская белоголовая порода крупного рогатого скота: вклад ее создателя КА Акопяна в развитие зоотехнической науки и адаптивного животноводства // Аграрная наука. – 2023. – № 4. – С. 62–69.

Джуламанов К.М., Дубовскова М.П., Герасимов Н.П. Герефордская порода, некоторые аспекты ее совершенствования // Вестник мясного скотоводства. – 2010. – Т. 3. – № 63. – С. 64–71.

Дуров А.С. Селекционно-генетическая оценка популяции герефордского скота сибирской селекции: Дис. … канд. биол. наук. Новосибирск. 2002. – 151 с.

Ерохин П.И. Исследования по теплоустойчивости домашних животных // Тепло- и холодоустойчивость домашних животных. Новосибирск: Наука. – 1975. – С. 10–27.

Иванов А.Л. Глобальное изменение климата и его влияние на сельское хозяйство России // Земледелие. – 2009. – № 1. – С. 3–5.

Иванова И.П., Косенчук О.В. Экстерьерные особенности молодняка мясного направления продуктивности в зависимости от генотипа // Вестник Омского государственного аграрного университета. – 2019. – № 2 (34). – С. 102–108.

Кацы Г.Д. Структура волосяного покрова как тест для оценки теплоустойчивости скота // Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія: Тваринництво. – 2014. – № 7. – С. 25–27.

Киселев Ю.А. Изменчивость адаптивной реакции крупного рогатого скота на низкую температуру среды и ее связь с продуктивностью // Тепло-холодоустойчивость домашних животных. Новосибирск: Наука, 1975. С. 179–192.

Лучаков Ю.И. и др. Влияние соотношения размеров ядра и оболочки на тепловой гомеостазис некоторых животных // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. – 2014. – № 1. – С. 34.

Медведева К.Л. Адаптационная способность свиней породы ландрас канадской селекции при чистопородном разведении и скрещивании с белорусской мясной породой: Автореф. дис. … канд. с.-х. наук // 2016.

Мостовая В.В., Жуков А.П. Адаптационная пластичность коров разных генотипов к условиям резко континентального климата Оренбуржья // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2008. – Т. 1. – № 17–1. – С. 176–179.

Позднякова В.Ф. и др. Динамика кожно-волосяного покрова крупного рогатого скота при адаптации их к ресурсосберегающей технологии // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 4. – С. 506.

Прасолова Л.А. Сезонная смена волосяного покрова (линька) у пород разного экогенеза // Тепло- и холодоустойчивость домашних животных. Новосибирск: Наука. – 1975a. – С. 259–263.

Прасолова Л.А. Сезонные изменения и топографические особенности волосяного покрова у северного аборигенного (якутского) скота // Тепло- и холодоустойчивость домашних животных. Новосибирск: Наука. – 1975b. – С. 264–269.

Раушенбах Ю.О. Специфика адаптивной реакции крупного рогатого скота на низкую температуру среды // Тепло- и холодоустойчивость домашних животных. Новосибирск: Наука. – 1975a. – С. 168–179.

Раушенбах Ю.О. Влияние антропогенного фактора на преобразование адаптивной реакции животных // Тепло- и холодоустойчивость домашних животных. Новосибирск: Наука. – 1975b. – С. 330–339.

Раушенбах Ю.О., Кушнир А.В. Связь специфики адаптивной реакции крупного рогатого скота на низкую температуру среды с типологическими особенностями высшей нервной деятельности // Тепло- и холодоустойчивость домашних животных. Новосибирск: Наука. – 1975. – С. 200–212.

Романова В.В. Продуктивные качества симментальских и симментало-якутских помесей в условиях Якутии // Достижения науки и техники АПК. – 2011. – № 6. – С. 72–73.

Слепцов И.И. и др. Мясные качества молодняка разных породных групп скота в хозяйственных условиях Якутии // Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. ВР Филиппова. – 2018. – № 4. – С. 85–92.

Слоним А.Д. Экологическая физиология животных. – Москва: Высшая школа, 1971. – С. 29–34.

Солошенко В.А., Магер С.Н., Инербаев Б.О. Основные принципы создания модели эффективной отрасли мясного скотоводства на северных территориях РФ // Животноводство и кормопроизводство. – 2020. – Т. 103. – № 3. – С. 46–57.

Фейзуллаева Э.М. Наследуемость и связь хозяйственно-биологических признаков у коров казахской белоголовой породы разных генераций: Дисс. … канд. биол. наук. Москва. 2017. – 121 с.

Хайнацкий В.Ю. и др. Казахская белоголовая-первая отечественная специализированная порода мясного скота // Молочное и мясное скотоводство. – 2020. – № 2. – С. 7–10.

Шмидт-Нильсен К. Физиология животных. Т. 1. Москва: Мир, 1982.

Юдин Н.С., Игошин А.В., Ларкин Д.М. Молекулярные маркеры адаптации к холодному климату у крупного рогатого скота // Письма в Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2023. – Т. 9. – № 1. – С. 5–14.

Юдин Н.С., Ларкин Д.М. Происхождение, селекция и адаптация российских пород крупного рогатого скота по данным полногеномных исследований // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2019. – Т. 23. – № 5. – С. 559–568.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1. Полные названия генов.

Символ	Название на английском	Название на русском
ACTA2	Actin alpha 2	Актин альфа 2
ADCY2	Adenylate cyclase 2	Аденилатциклаза 2
ADCY5	Adenylate cyclase 5	Аденилатциклаза 5
ADCY8	Adenylate cyclase 8	Аденилатциклаза 8
ARHGEF12	Rho guanine nucleotide exchange factor 12	Фактор обмена гуаниновых нуклеотидов Rho 12
ATF1	Activating transcription factor 1	Активирующий транскрипционный фактор 1
CACNA2D3	Calcium voltage-gated channel auxiliary subunit alpha2delta 3	Кальциевый канал, потенциал-зависимый, альфа 2/дельта субъединица 3
CACNG3	Calcium voltage-gated channel auxiliary subunit gamma 3	Кальциевый канал, потенциал-зависимый, гамма субъединица 3
CALCRL	Calcitonin receptor like receptor	Рецептор, подобный рецептору кальцитонина
CAPN1	Calpain 1	Кальпаин 1
CCL5	C-C motif chemokine ligand 5	Хемокиновый лиганд 5
CCND2	Cyclin D2	Циклин D2
CD36	Cluster of differentiation 36	Кластер дифференцировки 36
CIDEA	Cell death inducing DFFA like effector A	Индуцирующий клеточную смерть DFFA-подобный эффектор A
CITED1	Cbp/p300 interacting transactivator with Glu/Asp rich carboxy-terminal domain 1	Cbp/p300-взаимодействующий трансактиватор с глутамат/аспартат-богатым C-концевым доменом 1
CORT	Cortistatin	Кортистатин
COX17	Cytochrome C oxidase copper chaperone 17	Медный шаперон цитохром-C-оксидазы 17
COX7A1	Cytochrome C oxidase subunit 7A1	Полипептид 1 субъединицы VIIa цитохром-C-оксидазы
COX7C	Cytochrome C oxidase subunit 7C	Субъединица VIIc цитохром-C-оксидазы
C/EBPβ	CCAAT/enhancer binding protein beta	CCAAT/энхансер-связывающий белок бета
CREB1	cAMP responsive element binding protein 1	Белок, связывающий цАМФ-чувствительный элемент 1
CYP4A11	Cytochrome P450 family 4 subfamily A member 11	Член подсемейства A семейства 4 цитохрома P450 11
DDX23	DEAD-box helicase 23	DEAD-бокс-хеликаза 23
DNAJB13	DnaJ heat shock protein family member B13	Член B13 семейства белков теплового шока DnaJ

Символ	Название на английском	Название на русском
DNAJB9	DnaJ heat shock protein family member B9	Член B9 семейства белков теплового шока DnaJ
DNAJC28	DnaJ heat shock protein family member C28	Член C28 семейства белков теплового шока DnaJ
DVL2	Dishevelled segment polarity protein 2	-
EDNRA	Endothelin receptor type A	Эндотелиновый рецептор типа A
FBP1	Fructose-1,6-bisphosphatase 1	Фруктозо-1,6-бисфосфатаза 1
FBP2	Fructose-1,6-bisphosphatase 2	Фруктозо-1,6-бисфосфатаза 2
FGF5	Fibroblast growth factor 5	Фактор роста фибробластов 5
GNA13	G protein subunit alpha 13	Альфа-субъединица G-белка 13
GNAQ	G protein subunit alpha q	Альфа-субъединица G-белка q
GNAS	GNAS complex locus	Комплексный локус GNAS
GRIA1	Glutamate ionotropic receptor AMPA type subunit 1	Ионотропный рецептор глутамата 1
GRIA4	Glutamate ionotropic receptor AMPA type subunit 4	Ионотропный рецептор глутамата 4
GRIK2	Glutamate ionotropic receptor kainate type subunit 2	Ионотропный рецептор глутамата каинатного типа 2
GRM4	Glutamate metabotropic receptor 4	Метаботропный рецептор глутамата 4
GRM5	Glutamate metabotropic receptor 5	Метаботропный рецептор глутамата 5
GRM7	Glutamate metabotropic receptor 7	Метаботропный рецептор глутамата 7
GUCY1A2	Guanylate cyclase 1 soluble subunit alpha 2	Альфа-2 субъединица растворимой гуанилатциклазы 1
HDAC3	Histone deacetylase 3	Гистондеацетилаза 3
HSF1	Heat shock factor protein 1	Фактор теплового шока 1
HSP10	Heat shock 10 kDa protein 1	Белок теплового шока 10
HSP60	Heat shock protein 60	Белок теплового шока 60
HSP90	Heat shock protein 90	Белок теплового шока 90
HSP90AB1	Heat shock protein 90 alpha family class B member 1	Член 1 семейства белков теплового шока 90 альфа, класса B
HSPA13	Heat shock protein family A member 13	Член 13 семейства белков теплового шока A
HSPB2	Heat shock protein beta-2	Белок теплового шока бета 2
HSPB8	Heat shock protein beta-8	Белок теплового шока бета 8
IFNAR1	Interferon alpha and beta receptor subunit 1	Субъединица 1 рецептора интерферонов альфа и бета
IFNAR2	Interferon alpha and beta receptor subunit 2	Субъединица 2 рецептора интерферонов альфа и бета
IFNGR1	Interferon gamma receptor 1	Рецептор интерферона-гамма 1

Символ	Название на английском	Название на русском
LMCD1	LIM and cysteine rich domains 1	Белок с LIM и цистеин-богатым доменами 1
MOCS1	Molybdenum cofactor synthesis 1	Белок 1 синтеза молибденового кофактора
MSANTD4	Myb/SANT DNA binding domain containing 4 with coiled-coils	Белок, содержащий Myb/SANT ДНК-связывающий домен 4
NR1I2	Nuclear receptor subfamily 1 group I member 2; pregnane X receptor	Прегнановый Х-рецептор
NRAP	Nebulin related anchoring protein	Относящийся к небулину якорный белок
NRF1	Nuclear respiratory factor 1	Ядерный респираторный фактор 1
NRF2	Nuclear respiratory factor 2	Ядерный респираторный фактор 2
PGC1α	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 alpha	Коактиватор 1 альфа рецептора гамма, активируемого пролифераторами пероксисом
PLA1A	Phospholipase A1 member A	Фосфолипаза А1
PLCB1	Phospholipase C beta 1	Фосфолипаза С бета 1
POPDC2	Popeye domain-containing protein 2	Popeye-домен-содержащий белок 2
PPP1R12A	Protein phosphatase 1 regulatory subunit 12A	Регуляторная субъединица 12А белка фосфатазы 1
PPT1	Palmitoyl-protein thioesterase 1	Пальмитоил-протеин-тиоэстераза 1
PRDM16	PR domain containing 16	PR-домен-содержащий белок 16
PRKAG1	Protein kinase AMP-activated non-catalytic subunit gamma 1	АМФ-активированная протеинкиназа гамма 1
PRKCA	Protein kinase C alpha	Протеинкиназа С альфа
PRKCB	Protein kinase C beta	Протеинкиназа С бета
PRKG1	Protein kinase cGMP-dependent 1	цГМФ-зависимая протеинкиназа 1
PTGS2	Prostaglandin-endoperoxide synthase 2	Простагландин-эндопероксид-синтаза 2
RASA1	RAS p21 protein activator 1	Активатор белка RAS p21, тип 1
STAT1	Signal transducer and activator of transcription 1	Преобразователь сигнала и активатор транскрипции 1
STAT3	Signal transducer and activator of transcription 3	Преобразователь сигнала и активатор транскрипции 3
STAT5A	Signal transducer and activator of transcription 5A	Преобразователь сигнала и активатор транскрипции 5А
SYK	Spleen associated tyrosine kinase	Тирозинкиназа селезенки
TBX1	T-box transcription factor 1	T-box транскрипционный фактор 1
TFAM	Mitochondrial transcription factor A	Транскрипционный фактор А митохондрий
THBS1	Thrombospondin 1	Тромбоспондин-1
TRIP11	Thyroid hormone receptor interactor 11	Белок, взаимодействующий с рецептором тиреоидного гормона 11

Символ	Название на английском	Название на русском
UCP1	Uncoupling protein 1	Разобщающий белок 1

Приложение 2. Характеристика исследуемой выборки. Стрелка обозначает смену породной принадлежности животного по результатам анализа главных компонент.

Пол	Порода	AUCW5D (°C×ч)	Масса тела (кг)	Возраст (лет)
Бык	Герефордская	4555.1	353	1.08
Бык	Герефордская	4587.5	303	1
Бык	Герефордская	4608.7	Нет данных	Нет данных
Бык	Герефордская	4614.5	360	0.5
Бык	Герефордская	4615.9	267	0.92
Бык	Герефордская	4617.2	309	0.92
Бык	Герефордская	4617.9	Нет данных	Нет данных
Бык	Герефордская	4619.5	279	0.92
Бык	Герефордская	4622.2	268	1.08
Бык	Герефордская	4630.3	399	1
Бык	Герефордская	4641.9	394	1
Бык	Герефордская	4643.5	277	0.92
Бык	Герефордская	4645.7	328	0.92
Бык	Герефордская	4645.9	240	0.92
Бык	Герефордская	4647	340	1.08
Бык	Герефордская	4647.7	259	0.83
Бык	Герефордская	4649.2	291	1
Бык	Герефордская	4654.5	267	0.92
Бык	Герефордская	4656.1	401	1.08
Бык	Герефордская	4658.4	286	1
Бык	Герефордская	4663.1	372	1.08
Бык	Герефордская	4670.3	221	0.83
Бык	Герефордская	4670.4	349	1
Бык	Герефордская	4671.3	213	0.92
Бык	Герефордская	4673.8	252	0.92
Бык	Герефордская	4676.8	362	1.17
Бык	Герефордская	4679	384	1
Бык	Герефордская	4679.2	343	1.08
Бык	Герефордская	4679.3	373	1
Бык	Герефордская	4680.3	297	0.92
Бык	Герефордская	4684.9	269	0.92
Бык	Герефордская	4687.9	262	0.92
Бык	Герефордская	4693	315	0.92

Пол	Порода	AUCW5D (°C×ч)	Масса тела (кг)	Возраст (лет)
Бык	Герефордская	4694.3	340	1
Бык	Герефордская	4696.6	213	0.58
Бык	Герефордская	4699.1	327	1
Бык	Герефордская	4700.6	405	1
Бык	Герефордская	4701	176	1
Бык	Герефордская	4701	354	1
Бык	Герефордская	4702.8	239	0.92
Бык	Герефордская	4703.2	295	1
Бык	Герефордская	4703.4	337	1
Бык	Герефордская	4705.9	286	0.92
Бык	Герефордская	4708.8	206	0.58
Бык	Герефордская	4710.5	335	1
Бык	Герефордская	4710.5	364	1.08
Бык	Герефордская	4716.9	354	1
Бык	Герефордская	4719.7	269	1
Бык	Герефордская	4719.9	282	0.92
Бык	Герефордская	4720.5	299	0.92
Бык	Герефордская	4727.6	267	0.83
Бык	Герефордская	4732.3	250	0.83
Бык	Герефордская	4738.4	276	1
Бык	Герефордская	4744	204	0.92
Бык	Герефордская	4747.8	249	0.92
Бык	Герефордская	4751.2	307	0.92
Бык	Герефордская	4766.5	450	1.08
Бык	Герефордская	4821.2	349	1.17
Бык	Герефордская	Нет данных	243	1
Бык	Герефордская => Казахская белоголовая	4613.7	Нет данных	Нет данных
Бык	Казахская белоголовая	4438.6	180	1.08
Бык	Казахская белоголовая	4619.1	214	0.92
Бык	Казахская белоголовая	4632.6	272	0.83
Бык	Казахская белоголовая	4640.9	250	1
Бык	Казахская белоголовая	4651.2	287	0.58
Бык	Казахская белоголовая	4653.1	286	1
Бык	Казахская белоголовая	4668.5	419	1.08
Бык	Казахская белоголовая	4672	351	1.08
Бык	Казахская белоголовая	4673.7	348	1
Бык	Казахская белоголовая	4679	315	1
Бык	Казахская белоголовая	4681.7	363	1
Бык	Казахская белоголовая	4702.5	362	1
Бык	Казахская белоголовая	4703.5	388	1
Бык	Казахская белоголовая	4707.9	239	0.92

Пол	Порода	AUCW5D (°C×ч)	Масса тела (кг)	Возраст (лет)
Бык	Казахская белоголовая	4713.8	235	0.58
Бык	Казахская белоголовая	4750.7	215	0.5
Бык	Казахская белоголовая	4751	275	1
Бык	Казахская белоголовая	4761.5	299	0.58
Бык	Казахская белоголовая	4770.5	391	1.08
Бык	Казахская белоголовая	4853.4	225	0.83
Бык	Казахская белоголовая => Герефордская	4656	342	1.08
Телка	Герефордская	4506.4	475	3.58
Телка	Герефордская	4508.7	686	5.58
Телка	Герефордская	4535.2	643	9.58
Телка	Герефордская	4536	617	5.5
Телка	Герефордская	4537.6	594	6.58
Телка	Герефордская	4544.2	410	7.42
Телка	Герефордская	4544.4	Нет данных	Нет данных
Телка	Герефордская	4544.5	424	2.75
Телка	Герефордская	4544.8	664	6.33
Телка	Герефордская	4545.1	531	12.58
Телка	Герефордская	4545.2	584	3.75
Телка	Герефордская	4545.7	635	12.58
Телка	Герефордская	4545.9	559	6.67
Телка	Герефордская	4546.5	578	4.58
Телка	Герефордская	4547.3	571	5.67
Телка	Герефордская	4548	612	8.58
Телка	Герефордская	4549.5	651	7.58
Телка	Герефордская	4550.3	726	5.75
Телка	Герефордская	4552.8	545	5.67
Телка	Герефордская	4554.1	606	4.75
Телка	Герефордская	4554.9	495	2.83
Телка	Герефордская	4555.8	739	3.75
Телка	Герефордская	4555.9	617	5.67
Телка	Герефордская	4556.4	541	7.58
Телка	Герефордская	4556.5	Нет данных	Нет данных
Телка	Герефордская	4557	454	2.5
Телка	Герефордская	4557	503	3.67
Телка	Герефордская	4557.2	501	3.5
Телка	Герефордская	4557.9	622	4.58
Телка	Герефордская	4558.6	672	6.67
Телка	Герефордская	4558.8	Нет данных	Нет данных
Телка	Герефордская	4561.9	541	7.42
Телка	Герефордская	4562.5	Нет данных	Нет данных
Телка	Герефордская	4562.9	529	5.67

Пол	Порода	AUCW5D (°C×ч)	Масса тела (кг)	Возраст (лет)
Телка	Герефордская	4563.1	415	2
Телка	Герефордская	4563.1	592	4.75
Телка	Герефордская	4563.9	685	6.58
Телка	Герефордская	4563.9	724	5.83
Телка	Герефордская	4564.4	524	4.75
Телка	Герефордская	4564.9	465	2.75
Телка	Герефордская	4566.2	683	4.83
Телка	Герефордская	4566.9	572	5.75
Телка	Герефордская	4567	493	2.67
Телка	Герефордская	4568	414	2
Телка	Герефордская	4568	456	1.92
Телка	Герефордская	4568.8	558	4.67
Телка	Герефордская	4569	546	4.67
Телка	Герефордская	4569	580	4.75
Телка	Герефордская	4569.2	518	2.67
Телка	Герефордская	4569.3	582	6.5
Телка	Герефордская	4569.7	579	5.67
Телка	Герефордская	4570	562	8.58
Телка	Герефордская	4570.1	686	4.58
Телка	Герефордская	4571.6	458	2.67
Телка	Герефордская	4572	576	5.75
Телка	Герефордская	4572.3	Нет данных	Нет данных
Телка	Герефордская	4573.9	579	7.58
Телка	Герефордская	4575.6	558	4.75
Телка	Герефордская	4575.7	556	5.67
Телка	Герефордская	4576.5	526	2
Телка	Герефордская	4576.5	605	3.67
Телка	Герефордская	4576.9	523	4.75
Телка	Герефордская	4577.7	524	2.58
Телка	Герефордская	4577.9	815	5.5
Телка	Герефордская	4580.8	509	2
Телка	Герефордская	4582.5	665	6.5
Телка	Герефордская	4583	631	5.75
Телка	Герефордская	4584.4	576	3.67
Телка	Герефордская	4585.3	556	3.58
Телка	Герефордская	4585.5	679	4.83
Телка	Герефордская	4586.8	686	4.75
Телка	Герефордская	4587.8	665	5.83
Телка	Герефордская	4590.4	481	1.92
Телка	Герефордская	4590.6	640	4.75
Телка	Герефордская	4594.4	290	1.42

Пол	Порода	AUCW5D (°C×ч)	Масса тела (кг)	Возраст (лет)
Телка	Герефордская	4595	584	4.75
Телка	Герефордская	4598.3	602	4.58
Телка	Герефордская	4600.5	544	4.58
Телка	Герефордская	4600.7	596	7.58
Телка	Герефордская	4603.7	622	1.5
Телка	Герефордская	4604.4	504	4.67
Телка	Герефордская	4610.5	135	0.92
Телка	Герефордская	4618.7	486	2.67
Телка	Герефордская	4619	622	1.5
Телка	Герефордская	4627	566	5.67
Телка	Герефордская	4627.3	Нет данных	Нет данных
Телка	Герефордская	4628.2	607	5.58
Телка	Герефордская	4633.1	576	5.67
Телка	Герефордская	4637.8	528	2.67
Телка	Герефордская	4673.3	637	5.67
Телка	Герефордская	4691.3	600	3
Телка	Герефордская	4693.5	533	7.42
Телка	Герефордская	4695.5	569	6.58
Телка	Герефордская	4696.2	218	0.5
Телка	Герефордская	4701.2	598	6.33
Телка	Герефордская	4754.7	340	0.92
Телка	Герефордская	4819.1	Нет данных	Нет данных
Телка	Казахская белоголовая	4576.8	452	1.58
Телка	Казахская белоголовая	4618.7	467	1.5
Телка	Казахская белоголовая	4620.7	352	1
Телка	Казахская белоголовая	4641.7	231	0.58
Телка	Казахская белоголовая => Герефордская	4655	587	1.58
Телка	Казахская белоголовая => Герефордская	4733.2	322	0.58