

Možnosti uporabe genomskih informacij pri selekciji na reprodukcijske lastnosti

LUŠTREK Barbara, JEKLER Maja, KRŠNIK Jurij, ŠTEPEC Miran, POTOČNIK Klemen

Pri selekciji domačih živali imajo reprodukcijske lastnosti že od samih začetkov selekcije veliko gospodarsko težo. Samo dobre reprodukcijske lastnosti zagotavljajo možnosti za odbiro najboljših in izločanje najslabših živali. Z uvedbo genomске selekcije, ki pri govedu največ pozornosti usmerja na kvantitativne lastnosti, se je pojavila tudi možnost za odbiro na monogenske lastnosti. Na osnovi genomskih informacij, ki jih pridobimo iz vzorca tkiva posamezne živali lahko določimo številne lastnosti, ki so pod vplivom majhnega števila genov. Določene zakonitosti so med vrstami znotraj sesalcev podobne. Posledično je razvoj na tem področju v času od uvedbe genomске selekcije veliko hitrejši, kot je bil pred tem. V okviru EIP (Evropsko partnerstvo za inovacije) projekta smo uporabili SNP čip, s katerim je bilo mogoče določiti naslednje lastnosti, ki so povezane z reprodukcijo: Arhomelija (A), Osteopetroza (OS) in Paunch calf sindrom (PCS) pri rjavi pasmi ter Kompleksna malformacija vretenc (CVM), Holstein haplotip 5 (HH5) in Holstein haplotip 6 (HH6) pri črno-beli pasmi. Za potrebe omenjenega projekta smo genotipizirali vzorce tkiv 8070 živali. Rezultati so spodbudni, saj za vse lastnosti velja, da je več kot 95 % analiziranih živali brez nezaželene oblike. Pri rjavi pasmi smo ocenili, da je 1,6 % za A, 0,7% za OS in 0,6 % za PCS, pri črno-beli pasmi pa 3,5 % za CVM, 1,9 % za HH5 in 1,6 % za HH6 prenašalcev, torej takih, ki ima enega od obeh alelov neželene oblike. Pri črno-beli pasmi smo našli 0,1 % živali, ki imajo oba alela neželene oblike za HH5. Kljub dobri splošni sliki za omenjene lastnosti, je smiselno monogenske lastnosti vključevati v rejske programe in nadzorovati, da se ne širijo po populaciji, oz. v ekstremnih primerih, ko je taka odločitev upravičena, to izvajamo nadzorovano. Glede na razvojne trende pri genomski selekciji je pričakovati, da bo za ta tip lastnosti vse več možnosti, kar bo omogočilo, da bomo s selekcijo pomembno povečevali gospodarnost reje tudi s selekcijo na monogenske lastnosti.

Reproductive traits have been of great economic importance in the selection of domestic animals since the very beginning of selection. Only good reproductive performance can ensure that the best animals can be selected and the worst animals eliminated. The introduction of genomic selection, which focuses on quantitative traits in cattle, has also opened up the possibility of selecting for monogenic traits. The genomic information obtained from a tissue sample of an individual animal can be used to identify a number of traits that are influenced by a small number of genes. Certain patterns are similar between species within mammals. As a consequence, developments in this field since the introduction of genomic selection have been much more rapid than before. In the framework of the EIP (European Innovation Partnership) project, we have used a SNP chip to identify the following traits associated with reproduction: Archomelia (A), Osteopetrosis (OS) and Paunch Calf Syndrome (PCS) in Brown Swiss and Complex Vertebral Malformation (CVM), Holstein haplotype 5 (HH5) and Holstein haplotype 6 (HH6) in Holstein breed. For the purpose of this project, we have genotyped tissue samples from 8070 animals. The results are encouraging, as for all traits more than 95% of the animals analysed are considered to be free of the undesirable form. In the Brown Swiss, we estimated 1.6% for A, 0.7% for OS and 0.6% for PCS, while in the Holstein breed, 3.5%, 1.9% and 1.6% of CVM, HH5 and HH6 are carriers, i.e. having one of the two alleles of the undesired form. In the Holstein breed, we found 0.1% of animals carrying both alleles of the undesired form of HH5. Despite the good general picture for these traits, it is reasonable to include monogenic traits in breeding programmes and to control them so that they do not spread through the population, or in extreme cases where such a decision is justified, to do so in a controlled manner. Given the development trends in genomic selection, it is expected that there will be more and more options for this type of trait, which will allow us to significantly increase the economics of breeding also by selecting for monogenic traits.

Uvod

Reprodukcijske lastnosti so ekonomsko pomembne za trajnostno proizvodnjo hrane. Slaba reprodukcijska sposobnost pri govedu se lahko opiše tudi kot daljše obdobje med dvema telitvama. To zahteva dodatne osemenitve, večjo veterinarsko skrb in pogostejšo hormonsko zdravljenje, kar posledično vpliva na tekočo in naslednje laktacije (Boichard, 1990). Prav tako se povečajo dodatni stroški zaradi izločanja in nadomeščanja živali s težavami s plodnostjo (Roxström in Strandberg, 2002). Izboljšanje plodnosti je najboljša izbira ne le za zmanjšanje stroškov izločanja, temveč tudi za ohranitev pomembnega genetskega materiala in dolgoročno povečanje gospodarnosti reje (Dekkers, 1991). Večina držav ima v rejske cilje vključene reprodukcijske lastnosti krav, da dolgoročno z genetskega vidika zmanjševanja stroškov plodnosti pri mlečnem govedu (Kadarmideen in Simm, 2002). Veliko si lahko pomagamo z uporabo genomskih informacij, ki jih pridobimo s pomočjo genotipizacije in genomske selekcije (GS).

GS je v zadnjem desetletju močno spremenila rejo mlečnega goveda in jo lahko opredelimo kot uporabo genomskih plemenskih vrednosti (GPV) v selekcijskih programih. GPV je vsota učinkov gostih označevalcev deoksiribonukleinske kisline (DNK) v celotnem genomu, ki zajema vse lokuse kvantitativnih lastnosti, ki prispevajo k variabilnosti lastnosti (Hayes et al., 2009; VanRaden, 2008). Ta tehnologija je bila uspešno uvedena v Združenih državah Amerike, Kanadi, Novi Zelandiji, Avstraliji in več evropskih državah z zelo obetavnimi rezultati. Zanesljivost GPV je odvisna od postopkov in modelov ocenjevanja. Čeprav je GS uspeh, ostaja še veliko izzivov, vključno z vključevanjem GPV v programe genetskega vrednotenja in povečanjem zanesljivosti GPV (Elsik et al., 2009).

Na reprodukcijske lastnosti imajo velik vpliv monogenske lastnosti, katere lahko pridobimo s pomočjo genotipizacije vzorca živali. Izraz »monogenska lastnost« opisuje genetsko pogojeno lastnost pri živali, ki se deduje s prenosom posameznega gena. Geni so osnovne informacijske enote, ki vplivajo na zgradbo in delovanje vseh živih organizmov, skupek vseh genov v organizmu pa imenujemo genotip. Če želimo informacije o posameznem genotipu, moramo živali odvzeti vzorec dlake, semena ali del tkiva (vzorec mora vsebovati DNK živali) in jo poslati v genetsko analizo (genotipizacijo). Polimorfizem posameznih nukleotidov (angl. Single Nucleotide Polymorphism ali SNP) je variacija oblike posameznega nukleotida na DNK verigi in povzroča raznolikost DNK med posamezniki (Georges M., 2001).

Nekateri SNP so povezani z določenimi dednimi napakami. Odkritje povezav med prisotnostjo SNP in pojavom določenih boleznih oz. lastnosti, je spodbudilo znanstveno raziskovanje na tem področju. Raziskovalci analizirajo odseke DNK v bližnji okolici proučevanih SNP in s tem identificirajo gen oz. njegov alel, ki povzroča prisotnost in izražanje posamezne monogenske lastnosti oz. bolezni.

Materiali in metode

Oddelek za zootehniko Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani, je v sodelovanju s Kmetijskim inštitutom Slovenije, sedmimi zavodi Kmetijsko gozdarske zbornice Slovenije in osmimi slovenskimi kmetijskimi gospodarstvi izvedel projekt v okviru Evropskega partnerstva za inovacije z nazivom **»Uvedba nacionalnega genomskega obračuna plemenskih vrednosti s kombinirano referenčno populacijo za slovensko rjavo in črno-belo pasmo govedi«**.

V sklopu projekta so zavodi Kmetijsko gozdarske zbornice Slovenije izbranim živalim odvzeli vzorce, ki so jih poslali v genotipizacijo (analizo genomske DNA, SNP analizo) v Irski laboratorij Weatherbys. V analizo so poslali 8116 vzorcev, od tega smo dobili rezultate 8070 vzorcev.

V laboratoriju so za analizo uporabili Weatherbys Bovine Versa SNP50K čip. Weatherbys Bovine Versa SNP50K čip vsebuje posebej zasnovane sonde za natančno genotipizacijo več kot 100 genetskih lastnosti gospodarskega pomena. Kategorije lastnosti zajemajo: koristne, smrtonosne (letalne), smrtonosne (letalne) za zarodke, nezaželene in specifične lastnosti, povezane z govedom in mlekom.

V tem prispevku bo pozornost namenjena genomskim informacijam, ki negativno vplivajo na reprodukcijske lastnosti govedi (neplodnost, abortusi, mrtvorojena teleta,..). V to analizo smo vključili vseh 8024 vzorcev živali rjave in črno-bele pasme, za katere smo prejeli rezultate genotipizacije.

Rezultati z diskusijo

Poznavanje genotipa dednih napak pri živalih pripomore k preprečevanju širjenja neželenih lastnosti in pridobivanja želenih lastnosti po populaciji. Z genotipizacijo živali rejec pridobi informacijo ali žival določeno monogensko lastnost ima, nima ali pa jo prenaša. Ta status je odvisen od kombinacije alel za to lastnost. Nekatere prisotne dedne napake, ki vplivajo na reprodukcijo (npr. arahnomelija) so lažje prepoznavne, saj so njihovi simptomi opazni, medtem ko so simptomi pri drugih lastnostih tudi neočitni ali nespecifični in jih brez podatka o genotipu ni možno nedvoumno identificirati.

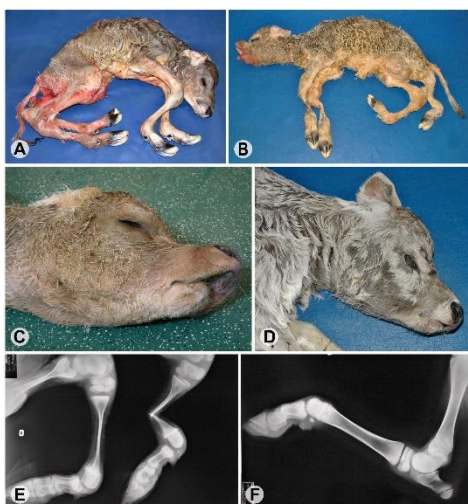
Ker je dednih napak, ki lahko vplivajo na reprodukcijske lastnosti govedi veliko, smo se odločili analizirati tri najpogostejše pri rjavi in tri najpogostejše pri črno-beli pasmi. Te napake, bi lahko pri obeh pasmah povzročile znatno gospodarsko škodo in izgubo.

a. Dedne napake pri rjavi pasmi

- **Arahnomelija / Syndrome of Arachnomelia and Arthrogryposis (A)**

Teleta prizadeta s to boleznijo poginejo takoj ob rojstvu in imajo velike deformacije kosti nog, lobanje in hrbtenice. Obrazna deformacija vodi do konkavnega zaokroževanja zgornje čeljusti, ki tvori vdolbino. Na nogah je nenormalno dolg srednji vzdolžni del kosti in dolihostenomelija, kar vodi do pogostih zlomov med prisilno porodno pomočjo. Pogoste so tudi odpovedi tvorbe vretenc, kar privede do kifoze in skolioze (Drogemuller in sod., 2010, Buitkamp in sod., 2011, OMIA, 2022).

Arachnomelija je recesivna bolezen, kar pomeni, da za njo zbolijo živali, ki imajo dve kopiji alela, ki povzročata bolezen. Njihov genotip je *aa*. Zdrave živali imajo genotip *AA*, živali, ki bolezen prenašajo v naslednjo generacijo, pa imajo genotip *Aa*. Pri prenašalcih boleznii v naslednjo generacijo se bolezen ne razvije in bolezenski znaki niso prisotni.



Fenotip arachomelije pri teletu (vir: Drogemuller in sod. 2010)

- Osteopetroza / Osteopetrosis (OS)

Prizadeta teleta so mrtvorojena. So majhna s sploščeno lobanjo in skrajšano čeljustjo. Kosti okončin prizadetih telet so lomljive (Meyers S. N. in sod., 2010, OMIA, 2022)..

Za osteopetrozo je značilno, da tvori pregoste, krhke kosti, ki so posledica pomanjkanja števila in/ali funkcije celic osteoklasta, ki kosti resorbirajo. Fenotip osteopetroze kaže na napako v normalnem razvoju in preoblikovanju kosti, natančneje na neuravnoteženo medsebojno delovanje osteoblastov, ki tvorijo kosti in osteoklastov, ki resorbirajo kosti. Pri govedu je razlog za osteopetrozo običajno dedna motnja, lahko pa je posledica virusne okužbe krav med brejostjo. Gensko prizadeta teleta so mrtvorojena, rahlo prezgodaj (250-275 dan brejosti), imajo majhno telesno maso, deformirano lobanjo, skrajšano spodnjo čeljust s štrlečim jezikom in znatno zmanjšanje osteoklastov (Meyers S. N. in sod., 2010).

Osteopetroza je recesivna bolezen, kar pomeni, da za njo zbolijo živali, ki imajo dve kopiji alela, ki povzročata bolezen. Njihov genotip je *aa*. Zdrave živali imajo genotip *AA*, živali, ki bolezen prenašajo v naslednjo generacijo, pa imajo genotip *Aa*. Pri prenašalcih bolezni v naslednjo generacijo se osteopetroza ne razvije in bolezenski znaki niso prisotni.



Glava z osteopetrozo prizadetega teleta (vir: Meyers S. N. in sod., 2010)

- Paunch calf sindrom / Pauch Calf Syndrome (PCS)

Prizadeta teleta so običajno mrtvorojena. Glavni znak Paunch calf sindroma je povečan, izbočen trebuh, poln tekočine. Notranji organi so abnormalno razviti, obraz je deformiran. V nekaterih primerih pride do razpok neba, perihepatične ciste, srčne malformacije in štrlečega jezika (Murgiano L. in sod., 2020, OMIA, 2022).

Paunch calf sindrom je posledica *missense* mutacije na genu KDM2B. Ta gen kodira histonsko demetilazo, ki deluje kot pomemben regulator transkripcije ter vpliva na razvoj organov in diferenciacijo celic. Za fenotip paunch calf sindroma je značilna predvsem obrazna displazija, povečan in viseč trebuh, napolnjen s tekočino ter jetrna firoza (Murgiano L. in sod., 2020).

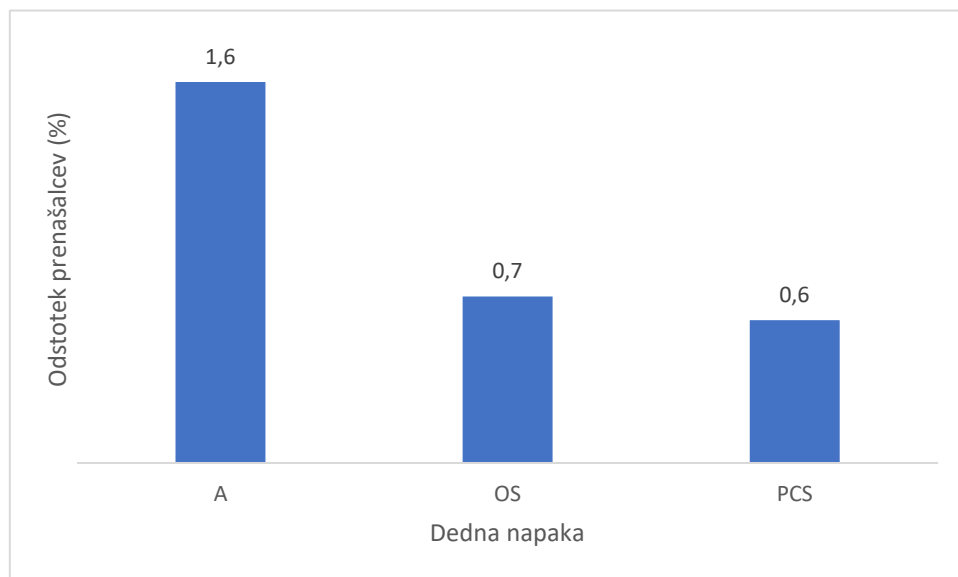
Paunch calf sindrom je avtosomalna recesivna bolezen, kar pomeni, da za njo zbolijo živali, ki imajo dve kopiji alela, ki povzročata bolezen. Njihov genotip je *aa*. Zdrave živali imajo genotip *AA*, živali, ki bolezen prenašajo v naslednjo generacijo, pa imajo genotip *Aa*. Pri prenašalcih bolezni v naslednjo generacijo se paunch calf sindrom ne razvije in bolezenski znaki niso prisotni.



S paunch calf sindromom prizadeto tele (vir: Murgiano L. in sod., 2020)

Rezultati analize

Analiza vseh treh dednih napak pri rjavi pasmi je prikazana na grafu 1. V analizo smo vključili 2966 živali rjave pasme. Iz grafa lahko razberemo, da je bilo največ prenašalcev pri dedni napaki Arahnomeliji (1,6%), sledi ji osteopetroza z 0,7% vseh živali in paunch calf sindrom z 0,6%. Ostale živali so imele genotip *AA*, kar pomeni da so bile zdrave in niso imele nezaželene dedne napake. Kljub temu, da je bilo pri vseh treh dednih napakah nekaj prenašalcev, lahko vidimo da je pri vseh treh ta odstotek majhen. To ne pomeni, da lahko sedaj te lastnosti zanemarimo, ravno nasprotno. Kljub dobri splošni sliki, bi bilo smiselno te lastnosti še naprej nadzorovati, da se nebi širile po populaciji.



Graf 1: Odstotek prenašalcev bolezni v analizirani populaciji
A=Arahnomelija, OS=osteopetroza, PCS=Paunch calf sindrom

b. Dedne napake pri črno-beli pasmi

- **Holstein haplotip 5 / Holstein Haplotype 5 (HH5)**

Holstein haplotip 5 je avtosomalno recesivna motnja, ki povzroči embrionalne izgube brejosti pred 60. dnevom brejosti. Mutacija je bila najdena na kromosomu 9 pri govedu. Ugotovljeno je bilo, da je vzrok za izgubo embria delecija 138kbp. To vpliva na celotno zaporedje gena TFB1M (Schutz E. in sod., 2016, OMIA, 2022).

Holstein haplotip 5 je recesivna motnja, kar pomeni, da prizadene živali, ki imajo dve kopiji alela, ki to motnjo povzročata. Njihov genotip je *aa*. Zdrave živali imajo genotip *AA*, živali, ki holstein haplotip prenašajo v naslednjo generacijo, pa imajo genotip *Aa*.

- **Holstein haplotip 6 / Holstein Haplotype 6 (HH6)**

Holstein haplotip 6 je avtosomalno recesivna motnja, ki negativno vpliva na stopnjo oploditve in na smrt zarodkov do 56. dneva brejosti. Mutacija je bila zaznana na genu SDE2, ki kodira beljakovine, ki je bistvena genomska stabilnost evkariontov (Fritz S. in sod., 2018, OMIA, 2022).

Holstein haplotip 6 je recesivna motnja, kar pomeni, da prizadene živali, ki imajo dve kopiji alela, ki to motnjo povzročata. Njihov genotip je *aa*. Zdrave živali imajo genotip *AA*, živali, ki holstein haplotip prenašajo v naslednjo generacijo, pa imajo genotip *Aa*.

- **Kompleksna nepravilnost vretenc / Complex Vertebral Malformation (CVM)**

Kompleksna nepravilnost vretenc je bolezen, ki povzroča, da se živali rodijo mrtve ali poginejo takoj po rojstvu. Napako povzroča točkovna mutacija v genu SLC35A3 na tretjem kromosomu pri govedu. Taka teleta niso normalno razvita. Fibroza kit in fascij povzroča, da so prednje in zadnje okončine nezadostno razvite in niso sposobne raztezanja določenih sklepov. Pri takih živalih so prisotne tudi anomalije hrbtenice in okvare srca (Agerholm J. S. in sod, 2001, OMIA, 2022).

Kompleksna nepravilnost vretenc je lastnost, ki se deduje avtosomalno recesivno. To pomeni, da žival ima zaželen genotip, ko od obeh staršev podeduje recesivni alel. Njihov genotip je *aa*. Zdrave živali imajo genotip *AA*, živali, ki kompleksno nepravilnost vretenc prenašajo v naslednjo generacijo, pa imajo genotip *Aa*. Pri prenašalcih bolezni v naslednjo generacijo se bolezen ne razvije in bolezenski znaki niso prisotni. Zaradi precej pogoste prisotnosti te mutacije na genu SLC35A3 je ključno izločanje nosilcev mutacije, saj lahko tako zmanjšamo pogostost pojavljanja te bolezni v populaciji (Thomsen B. in sod, 2006).

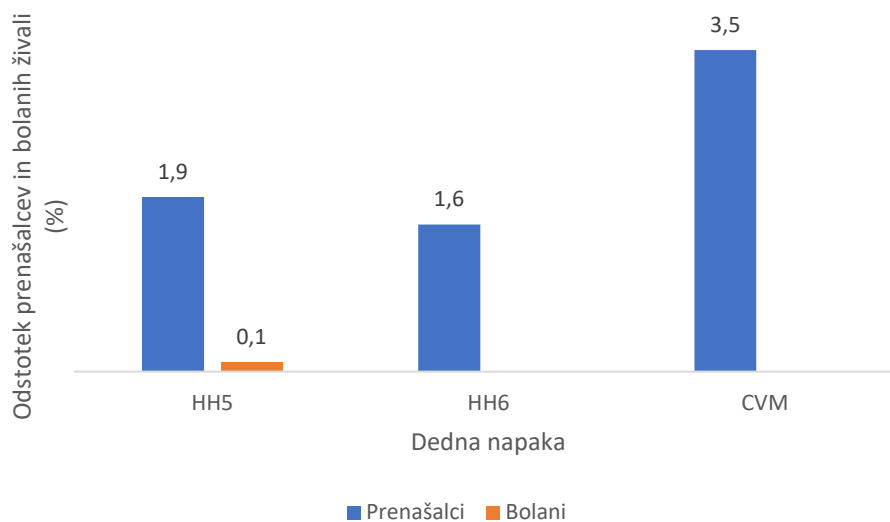


Tele s kompleksno nepravilnostjo vretenc (Ghanem in Nishibori, 2008)

Rezultati analize

Analiza vseh treh dednih napak pri črno-beli pasmi je prikazana na grafu 2. V analizo smo vključili 5058 živali črno-bele pasme. Iz grafa lahko razberemo, da je bilo največ prenašalcev pri dedni napaki kompleksna nepravilnost vretenc in sicer 3,5%, pri Holstein haplotip 5 je bilo 1,9% in pri Holstein haplotip 6 1,6%.

Z razliko od lastnosti, ki smo jih analizirali pri rjavi pasmi, je imelo pri črno-beli pasmi 0,1% analiziranih živali nezaželeno dedno napako HH5. Ostale živali so imele genotip AA, kar pomeni da so bile zdrave in niso imele nezaželenih dednih napak. Kljub temu, da je bilo prenašalcev in okuženih pri črno-beli pasmi nekoliko več kot pri rjavi, je splošna slika še vedno dobra. Še vedno je bilo več kot 95% vseh analiziranih živali zdravih. Tako kot smo omenili pri analizi rjave pasme, bi bilo tudi pri črno-beli smiselno nadaljevati z nadzorom dednih napak, da se le-te nebi širile po populaciji. To bi lahko povzročilo veliko gospodarsko škodo.



Graf 2: Odstotek prenašalcev bolezni v analizirani populaciji
HH5=Holstein haplotip 5, HH6=Holstein haplotip 6, CVM=Kompleksna nepravilnost vretenc

Zaključki

Za enkrat v Sloveniji ni opaziti porasta dednih napak, zato je potrebno biti še naprej pozoren pri uvozu in odbiri živali. Informacije o tem katere lastnosti – zaželene ali pa dedne napake (bolezni) njihove živali imajo, za katere so prenašalci in katerih nimajo, so pomembne. S temi informacijami lahko rejci svoje živali načrtno pariyo. Z informacijami o genotipu in z načrtnim parjenjem lahko rejec izoblikuje čredo po svojih željah (ohrani želene lastnosti, izloči dedne napake) ter s tem izboljša gospodarnost in kakovost reje. Kljub dobri splošni sliki za omenjene lastnosti, je smiselno monogenske lastnosti vključevati v rejske programe in nadzorovati, da se ne širijo po populaciji. Glede na razvojne trende pri genomski selekciji je pričakovati, da bo za ta tip lastnosti vse več možnosti, kar bo omogočilo, da bomo s selekcijo pomembno povečevali gospodarnost reje tudi s selekcijo na monogenske lastnosti.

Zaključimo lahko, da je uporaba orodij, ki jih ponuja genomska selekcija učinkovita pri upravljanju pasem. Zlasti je izrednega pomena, da se pri selekcijskih odločitvah upoštevajo informacije monogenetskih lastnosti in ocene koeficientov sorodstva na osnovi genomskih informacij. S tem je možno preprečiti, da se v populacijo prenese prevelik delež nezaželenih genov in da se iz generacijo v generacijo ohranja pestrost genoma, ki ga poseduje pasma.

Literatura

- Agerholm J. S., Bendixen C., Andersen O., Arnbjerg J. 2001. Complex vertebral malformation in Holstein calves. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 13: 283-289 str.
- Boichard, D. 1990. Estimation of economic value of conception rate in dairy cattle. *Livestock Prod. Sci.* 24, 187-204
- Buitkamp J., Semmer J., Gotz K. U. 2011. Arachnomelia syndrome in Simmental cattle is caused by a homozygous 2-bp deletion in the molybdenum cofactor synthesis step 1 gene (MOCS1). *BMC Genet* 12, 11.
- Dekkers, J. 1991 Estimation of economic values for dairy cattle breeding goals: bias due to sub-optimal management policies. *Livestock Prod. Sci.* 29, 131-149.
- Drogemuller C., Tetens J., Sigurdsson S., Gentile A., Testoni S., Lindblad-Toh K., Leeb T. 2010. Identification of the bovine Arachnomelia Mutation by Massively Parallel Sequencing Implicates Sulfite Oxidase (SUOX) in Bovine Development. *Plos Genetics* 6(8).
- Elsik, C.G., Tellam, R.L., Worley, K.C., 2009. The genome sequence of taurine cattle: a window to ruminant biology and evolution. *Science* 324, 522–528.
- Fritz S., Hoze C., Rebours E., Barbat A., Bizard M., Chamberlain A., Escoufflaire C., Jagt C.V., Boussaha M., Grohs C., Bonnet A. A., Philippe M., Vallee A., Amigues Y., Hayes B. J., Boichard D., Capitan A. 2018. An initiator codon mutation in SDE2 causes recessive embryonic lethality in Holstein cattle. *Journal of dairy Science*, 101, 7: 6220 – 6231 str.
- Georges M., 2001, Recent progress in livestock genomics and potential impact on breeding programs, *Theriogenology*, 55, 15-21
- Ghanem M. E., Nishibori M. 2008. Autosomal recessive genes in dairy cow's reproduction; incidence, consequences and future perspectives. *Journal of Animal Genetics*.
- Hayes, B.J., Bowman, P.J., Chamberlain, A.J., Goddard, M.E., 2009. Genomic selection in dairy cattle: progress and challenges. *J. Dairy Sci.* 92, 433–443.
- Kadarmideen H., in Simm, G. 2002. Selection responses expected from index selection including disease resistance, fertility and longevity in dairy cattle. *Proceedings of the 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. Montpellier, 01-19.
- Meyers S. N., McDaneld T. G., Swist S. L., Marron B. M., Steffen D. J., O'Toole D., O'Connell J. R., Beever J. E., Sonstegard T. S., Smith T. P. L. 2010. A deletion mutation in bovine SLC4A2 is associated with osteopetrosis in Red Angus cattle. *BMC Genomics* 11, 337.
- Murgiano L., Militerno G., Sbarra F., Drogemuller C., Jacinto J. G. P., Gentile A., Bolcato M. 2020. KDM2B-associated paunch calf syndrome in Marchigiana cattle. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 34, 4: 1657-1661 str.
- Online Mendelian Inheritance in Animals, OMIA. Sydney School of Veterinary Science . World Wide Web URL: <https://omia.org/> (oktober, 2022)
- Roxström, A. in Strandberg, E. 2002. Genetic analysis of functional, fertility, mastitis and production determined length of productive life in Swedish dairy cattle. *Livestock Prod. Sci.* 74, 125-135.

- Schutz E., Wehrhahn C., Wanjek M., Bortfeld R., Wemheuer W. E., Beck J., Brenig B. 2016. The Holstein Friesian Lethal Haplotype 5 (HH5) Results from a Complete Deletion of TBF1M and Cholesterol Deficiency (CDH) from an ERV-(LTR) Insertion into the Coding Region of APOB. *Plos One* 11(6)
- Thomsen B., Horn P., Panitz F., Bendixena E., Petersen A. H., Holm L., Nielsen V. H., Agerholm J. S., Arnbjerg J., Bendixen C. 2006. A missense mutation in the bovine SLC35A3 gene, encoding a UDP-N-acetylglucosamine transporter, causes complex vertebral malformation. *Genome research*, 16: 97-105 str.
- VanRaden, P. M. 2008. Efficient methods to compute genomic predictions. *J. Dairy Sci.* 91, 4414-4423.