НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ РОЗВЕДЕННЯ І ГЕНЕТИКИ ТВАРИН ІМЕНІ М.В.ЗУБЦЯ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ШЕЛЬОВ АНДРІЙ ВОЛОДИМИРОВИЧ

УДК 571.1:591.151:577.21]:636(043.3)

ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНЕТИЧНИХ РЕСУРСІВ ТВАРИН ЗА МІКРОСАТЕЛІТНИМИ ЛОКУСАМИ ДНК

03.00.15 – генетика
(сільськогосподарські науки)

Подається на здобуття наукового ступеня доктора сільськогосподарських наук
Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело
_____**А.В. Шельов**

Науковий консультант: **Копилов Кирило Вячеславович**, доктор сільськогосподарських наук, професор

с. Чубинське Київської області – 2021

АНОТАЦІЯ

Шельов А.В. Поліморфізм генетичних ресурсів тварин за мікросателітними локусами ДНК. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора сільськогосподарських наук за спеціальністю 03.00.15 – генетика. – Інститут розведення і генетики тварин ім. М.В. Зубця НААН. – с. Чубинське, Київської обл., 2021.

У дисертаційній роботі викладено результати теоретичного обґрунтування, розробки та апробації комплексної системи оцінювання генетичного різноманіття у представників різних таксономічних груп на різних рівнях організації геному (алельному, генотиповому та популяційному) за мікросателітними локусами ДНК. Встановлено особливості мікроеволюційних процесів у досліджених популяціях. Продемонстровано, що використання комплексу математичних методів популяційно-генетичного аналізу результатів генотипування популяцій тварин лише за мікросателітними локусами ДНК дає змогу одержати велику кількість високодостовірної інформації щодо генетичної структури та генетичних процесів в популяціях тварин.

В роботі викладено результати досліджень генетичного різноманіття дев'яти порід та п'яти промислових кросів чотирьох видів свійських тварин за тридцять одним мікросателітним локусом ДНК, у кількості 901 голова. А саме: 133 голови великої рогатої худоби, порід українська червоно-ряба молочна (45 голів), українська чорно-ряба молочна (43 голови) та сіра українська (45 голів); 281 голова коней, порід гуцульська (78 голів), чистокровна верхова (51 голова) та українська верхова (152 голови); 79 голів собак, порід німецька вівчарка (39 голів), німецький дог (20 голів) та російський той-тер'єр (20 голів); 408 голів курки свійської спеціалізованих яєчних кросів, найбільш поширених в Україні, а саме «Ломанн ЛСЛ» (100 голів), «Ломанн коричневий» (83 голови), «Хайсекс білий (122 голови), «Хай-Лайн W-98» (22 голови), «Хайсекс коричневий» (81 голова).

Матеріалом для проведення дослідження у великої рогатої худоби слугувала цільна стабілізована периферійна кров та сперма, у коней - цільна стабілізована периферійна кров та волосяні цибулини, у собак - клітини букального епітелію, а у птиці – пір'яні фолікули та пульпа вістя покривного пір'я.

Дослідження генетичної структури проводили за використання генетичного аналізатору ABI Prism 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США).

Мікросателітний аналіз проводили за мікросателітними локусами: для великої рогатої худоби було використано десять локусів ДНК (TGLA126, TGLA122, INRA023, ETH3, ETH225, BM1824, TGLA227, BM2113, ETH10, HMS03 та SPS115); для свійських коней – одинадцять (HTG04, HMS06, HTG06, AHT04, ASB23, ASB17, CA425, HTG07, HMS03, VHL20, та HMS07); для свійських собак й свійської курки – по п'ять (PEZ01, PEZ06, HTG08, FHC2010 та FHC2054 й ADL0268, ADL0278, MCW0248, LEI0094 та MCW0216, відповідно).

Статистико-математичну обробку результатів досліджень здійснювали за використання параметричних і непараметричних методів статистики із застосуванням спеціальних комп'ютерних програм.

В результаті проведеної роботи вдосконалено та оптимізовано методику мультиплексного генотипування різних видів свійських тварин за високополіморфними мікросателітними локусами ДНК.

Вивчено генетичну структуру популяцій тварин української червоно-рябої молочної, української чорно-рябої молочної та сірої української порід великої рогатої худоби, свійських коней порід: гуцульська, чистокровна верхова та українська верхова, собак порід - німецька вівчарка, німецький дог, російський той-тер'єр, свійської курки промислових кросів Ломанн білий, Ломанн коричневий, Хайсекс білий, Хайсекс коричневий та Хай-Лайн W-98 за мікросателітними локусами ДНК.

Визначено структуру алелофондів 9 порід 4-х видів свійських тварин за мікросателітними локусами ДНК. та встановлено породоспецифічні особливості генетичної структури кожної з порід. Створено «генетичні профілі» кожної з порід за частотами мікросателітних локусів ДНК. Для кожної породи, крім собак породи німецький дог, виявлено породоспецифічні алелі ($p<0,001$).

Визначено особливості розмаху алельного поліморфізму, який становив для великої рогатої худоби (Lim_{Na}) 6-8 алелів на локус, коней – 11-16, собак – 5-13, курки – 3-17алелів.

Визначено особливості генотипового поліморфізму (Lim_{Ng}), який становив для великої рогатої худоби 11-32, коней – 8, собак – 7-24 і курки – 4-32 генотипи. Для всіх порід всіх таксонів характерною є наповненість певними алелями та генотипами окремих мікросателітних локусів ДНК.

В усіх досліджених видів ссавців (3) високопродуктивні, відкриті для прилиття нових генотипів, популярні породи свійських тварин, такі як Українська червоно-ряба

молочна й українська чорно-ряба молочна породи великої рогатої худоби, українська верхова порода коней та собаки породи німецька вівчарка характеризуються підвищеним рівнем генетичного поліморфізму (що підтверджується більшою середньою кількістю виявлених генотипів (Ng=24,0 й 22,3, 47,91 та 18,4, відповідно) рідкісних генотипів (Ng_1=13,8 й 13,1, 21,27 та 8,6; Ng_2=5,0 й 5,3, 9 та 4,8, відповідно).

Кількість породоспецифічних генотипів (Ng_{unik}=9 й 8,1, 307 та 5,8) кількість ефективних алелів (Ae=6,757 й 6,023, 7,627 та 6,451), індекс Шеннона, (I=2,021 й 1,924,2,250 та 1,958). Українська червоно-ряба молочна й Українська чорно-ряба молочна породи великої рогатої худоби та українська верхова порода коней мають найвищі значення фактичної (Ho=0,784 й 0,821 та 0,812), очікуваної (He=0,844 й 0,819 та 0,865) й індивідуальної (Hi=0,784 й 0,821, та 0,784, відповідно) гетерозиготностей, індексу поліморфізму (PIC=0,826 й 0,807 та 0,842). Найменший рівень поліморфності виявлено у найдавніших порід – сірої української породи великої рогатої худоби, чистокровної верхової породи коней та собак породи німецький дог.

Виявлено значний рівень консолідованості досліджених порід, що підтверджується результатами розрахунків рівноваги за Гарді-Вайнбергом (МСМС) (велика рогата худоба: українська чорно-ряба молочна знаходиться в стані генетичної рівноваги за 8 мікросателітними локусами з 10, українська червоно-ряба молочна – за 7 з 10, а сіра українська – лише за 3; коні: гуцульська порода – за 7, чистокровна верхова– за 4 і українська верхова – за 2 мікросателітними локусами ДНК з 11; собаки: німецька вівчарка – за 3 з 5, а німецький дог та російський той-тер'єр – за 1 мікросателітним ДНК-локусом з п`яти), нижчим рівнем фактичної гетерозиготності ніж очікуваної в середньому по виду і по всіх породах та значеннями індексів С. Райта (велика рогата худоба – Fis=0,033 й Fit=0,092, коні – Fis=0,062 та Fit=0,108, собаки –Fis=0,100 та Fit=0,142).

Найбільшу консолідованість, як за кількістю виявлених алелів так і за розмахом алельних спектрів виявили найдавніші породи з найбільш суворими стандартами селекційної роботи з породою – чистокровна верхова ($p \leq 0,001$) та німецький дог ($p<0,05$). Що може бути наслідком порівняно невеликого розміру світових популяцій даних порід та більш тривалого (німецький дог, за деякими даними, з більш ніж 36 року до н.е.) та жорсткого контролю розведення і, як наслідок, меншого генетичного поліморфізму.

Точність прогнозу щодо віднесення певної тварини до однієї з порід

(assignment-тест) становив від 41% (німецька вівчарка) до 93,6% (гуцульські коні) та 92,2% (чистокровні коні), а щодо віднесення певної тварини до одного з видів від 58,2% (собаки) до 84% (велика рогата худоба) та 88% (коні).

Достовірні випадки зчепленого успадкування різних мікросателітних локусів ДНК відмічено тільки в сірої української породи великої рогатої худоби (HWD=0,328, N_{LD}=39, p<0,001) та собак породи німецька вівчарка (HWD=0,2405, N_{LD}=1, p<0,05).

Відповідно до результатів розрахунків ефективної чисельності популяцій в сприятливому стані перебуває тільки українська червоно-ряба молочна порода великої рогатої худоби (Ne= 554,6), у загрозливому стані знаходились українські популяції української чорно-рябої молочної породи великої рогатої худоби (Ne= 5397,1), української верхової (Ne= 103,9) та чистокровної верхової (Ne= 96,2) порід коней, собак порід німецька вівчарка та російський той-тер'єр (Ne= 88,2 та 124,0, відповідно), на межі зникнення – гуцульська порода коней (Ne= 55,1), а за межею сіра українська порода великої рогатої худоби (Ne= 25,1) та собаки породи німецький дог (Ne=28,9).

Тварини різних порід всередині таксонів характеризуються незначним але достовірним рівнем генетичної диференціації (велика рогата худоба (Fst =0,122), коні (Fst =0,047). Що підтверджується результатами аналізу молекулярної мінливості (AMOVA) (відносно низьке значення (велика рогата худоба Фst=0,058, коні 0,082) генетичної диференціації між досліджуваними породами демонструє високий рівень значущості (p≤0,001). А одержані дані – високим рівнем достовірності, свідченням чого є достовірність різниці між частотами виявлених алельних (p<0,001) та генотипових (p<0,001) варіантів.

У сірої української породи виявлено найбільшу кількість локусів за якими зафіксовано найбільшу кількість виявлених (4), та породоспецифічних алелів (6), а також, власне породоспецифічних алелів (Na_{unic}=11(0,022). Дана порода характеризується проявом ефекту «пляшкового горлечка», оскільки нульову гіпотезу в її випадку можна відкинути з рівнем значущості p=0,014 (тест знаків). Має місце високий ступінь інбредованості даної популяції (невипадковість об'єднання гамет (HWD=0,328, N_{LD} для СУ (39 випадків з 45), а сама порода перебуває на межі зникнення, адже ефективна чисельність (Ne) її становить 25,1 голів, з довірчим 95% інтервалом 15,7-44,2 особин а також в неї зафіксовано найвужчі генотипові спектри за всіма мікросателітними локусами ДНК та більш високий ніж в решти

порід худоби рівень консолідованості за певними (1-3) генотипами переважної більшості локусів.

Локальні породи (гуцульська порода коней), характеризуються більшими розмірами алелів, середнім рівнем поліморфізму (Na=10, Ng=26, Ng_1=11,64 Na_1=7, Ng_2=5,09, Na_{unik}=3, Ng_{unik}=70 Ae=5,253 Ho=0,775, He=0,802, Hi=0,673 I=1,869, PIC=0,779) та широким розмахом спектрів генотипової мінливості (Lim_{Ng}), за 6 мікросателітними локусами ДНК з 11 досліджених.

Найбільшу кількість алелів (Na), породоспецифічних алелів (Na_{unic}), а також локусів за якими виявлено унікальні алелі та локусів за якими виявлено найбільшу кількість алелів взагалі, зафіксовано у наймолодших порід – української верхової породи коней та собак породи російський той-тер'єр, а також аборигенної (однієї з найдавніших культурних порід) – сірої української породи великої рогатої худоби.

Для собак породи німецький дог характерними виявились найбільші значеннями фактичної (Ho=0,754), очікуваної (He=0,833) та індивідуальної (Hi=0,820) гетерозиготностей та індексу поліморфізму (PIC=0,812) найменша кількість виявлених (Ng=10,4) та рідкісних (Ng_1=5, Ng_2=3) генотипів, F=0,012, а також відсутність породоспецифічних алелів та генотипів (Na_{unic}=0, Ng_{unik}=0).

Російські той-тер'єри характеризувались досить широким, але з великою кількістю випадінь, спектрами алельної та генотиполвої мінливості, високою консолідованістю за певними алелями, найбільшою кількістю породоспецифічних алелів (Na_{unic}=2(0,025) та найменшою середньою кількістю виявлених (Na=8,2) та ефективних (Ae=5,46) алельнів та найнижчими значеннями фактичної (Ho=0,690), очікуваної (He=0,788), та індивідуальної (Hi=0,690) гетерозиготностей, індексів Шеннона (I=1,804) та поліморфізму (PIC=0,766).

Кроси фірми «Lohmann Tierzucht» характеризуються ширшими алельними спектрами і зменшенням довжин фрагментів. Причому коричневий крос дещо переважає білий. Курка кросу Ломанн білий вирізняється серед птиці інших кросів надзвичайною наповненістю певними алелями.

Для усіх досліджених видів розподіл частот виявлених алельних варіантів відповідав покроковій мутаційній моделі (SMM) (вона була більш адекватною для апроксимації рівня алельного різноманіття за дослідженими мікросателітними локусами, в порівнянні з моделлю IAM (p<0,001). Остання, значно завищувала

фактичні величини, як по кожній породі, зокрема, так і по кожному з досліджених видів в цілому).

Оцінено інформативність окремих мікросателітних локусів ДНК для різних таксономічних одиниць. Оцінено перспективність і доцільність використання запропонованої системи використання поліморфізму мікросателітних локусів ДНК із застосуванням разом з комплексом математичних методів аналізу генетичної ситуації в популяціях свійських тварин на різних рівнях організації геному з метою збереження біорізноманіття та оцінки генетичних ресурсів різних видів свійських тварин.

Дослідження генетичної структури промислових кросів свійської курки проводились з метою оцінювання біорізноманіття та генетичної структури виду Gallus gallus. Внутнішньовидовий аналіз проводився з метою оцінки інформативності запропонованої системи використання поліморфізму мікросателітних локусів ДНК для оцінки генетичних ресурсів різних видів свійських тварин та збереження їхнього різноманіття, а також, як маркерів генетичних процесів різної спрямованості, в т.ч. і контролю гібридизації чи інбридингу при породостворенні, виведенні чистих ліній чи створенні промислових кросів.

Ключові слова: *поліморфізм, велика рогата худоба, коні, собаки, кури, ген, алель, генотип, мікросателіти, популяція, мінливість, мікроеволюція, ампліфікація, біорізноманіття.*

SUMMARY

Shelyov A.V. Polymorphism of genetic resources of animals at microsatellite loci of DNA. – Manuscript copyright.

Thesis for the Doctor's of Agriculture degree, specialty 03.00.15 – Genetics. – M.V. Zubets Institute of Breeding and Animal Genetics, the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Chubynske village, Kyiv Region – 2021.

In the dissertation work the complex system of estimation of genetic polymorphism at representatives of different taxonomic groups at different levels of genome organization (allelic, genotypic and population) by microsatellite loci of the DNA. The peculiarities of microevolutionary processes in the studied populations are established. It has been shown that the use of a set of mathematical methods of population genetic analysis of genotyping results of animal populations only at microsatellite DNA loci allows to obtain a large amount of reliable (and sometimes highly reliable) information on genetic structure and genetic processes in animal populations at different levels of genome organization.

The paper presents the results of studies of the genetic diversity of nine breeds and five industrial crosses of four species of domestic animals at thirty-one microsatellite DNA loci, numbering 901 heads. Namely: 133 heads of cattle, breeds Ukrainian red-spotted dairy (45 heads), Ukrainian black-spotted dairy (43 heads) and Gray Ukrainian (45 heads); 281 heads of horses, Hutsul breeds (78 heads), thoroughbred horses (51 heads) and Ukrainian horses (152 heads); 79 heads of dogs, breeds German Shepherd (39 heads), Great Dane (20 heads) and Russian Toy Terrier (20 heads); 408 heads of domestic specialized egg crosses, the most common in Ukraine, namely "Lomann LSL" (100 heads), "Lomann brown" (83 heads), "Highsex white (122 heads)," High- Line W-98 "(22 heads)," Highsex brown "(81 heads).

The material for the study in cattle was whole stabilized peripheral blood and semen, in horses - whole stabilized peripheral blood and hair follicles, in dogs - cells of the buccal epithelium and in birds - feather follicles and pulp of the feather cover.

Genetic structure studies were performed using the ABI Prism 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA). Microsatellite analysis was performed on microsatellite loci: ten DNA loci were used for cattle (TGLA126, TGLA122, INRA023, ETH3, ETH225, BM1824, TGLA227, BM2113, ETH10, HMS03 and SPS115); for domestic horses - eleven (HTG04, HMS06, HTG06, AHT04, ASB23, ASB17, CA425, HTG07, HMS03, VHL20, and HMS07); for domestic dogs and domestic chicken - five each (PEZ01, PEZ06, HTG08,

FHC2010 and FHC2054 and ADL0268, ADL0278, MCW0248, LEI0094 and MCW0216, respectively).

Statistical and mathematical processing of research results was carried out using parametric and nonparametric methods of statistics using special computer programs.

The technique of multiplex genotyping of different species of domestic animals by highly polymorphic microsatellite DNA loci has been improved (modified) and optimized.

The genetic structure of animal populations of Ukrainian red-spotted dairy, Ukrainian black-spotted dairy and gray Ukrainian breeds of cattle, domestic horses of breeds: Hutsul, thoroughbred riding and Ukrainian riding, dogs of breeds - German Shepherd, Great Dane, Russian Toy Terrier, domestic chicken industrial crosses Lohmann white, Lohmann brown, Haysex white, Haysex brown and High Line W-98 by microsatellite DNA loci.

The structure of allelofunds of 9 breeds of 4 species of domestic animals by microsatellite DNA loci was determined. and breed-specific features of the genetic structure of each breed were established. The "genetic profiles / passports" of each of the breeds according to the frequencies of microsatellite DNA loci were created. For each breed except dogs of the Great Dane breed, breed-specific alleles were detected (p <0.001).

The peculiarities of the scope of allelic polymorphism, which was 6-8 alleles per locus for cattle (LimNa), horses - 11-16, dogs - 5-13, chickens - 3-17 alleles, were determined.

Peculiarities of genotypic polymorphism (LimNg), which formed 11-32 for cattle, 8 for horses, 7-24 for dogs, and 4-32 for chickens, were determined. All species of all taxa are characterized by the presence of certain alleles and genotypes of individual microsatellite DNA loci. In all studied species of mammals (3) high-yielding (intensive), open for infusion of new blood (genotypes), popular breeds of domestic animals, such as Ukrainian red-spotted dairy and Ukrainian black-spotted dairy breeds of cattle, Ukrainian horse breed and German Shepherd dogs are characterized by an increased level of genetic polymorphism (as evidenced by the higher average number of detected genotypes (Ng = 24.0 and 22.3, 47.91 and 18.4, respectively) of rare genotypes (Ng1 = 13.8 and 13 , 1, Ng2 = 5.0 and 5.3, Ng1 = 21.27, Ng2 = 9 and Ng1 = 8.6, Ng2 = 4.8). Number of breed-specific genotypes (Ngunik = 9 and 8.1, = 307 and 5.8), number of effective alleles (Ae = 6.757 and 6.023, Ne = 7.627 and Ne = 6.451), Shannon index, (I = 2.021 and 1.924, I = 2,250 and I = 1,958). Ukrainian red-spotted dairy and Ukrainian black-spotted dairy breeds of cattle and Ukrainian horse breed have the highest values of actual (Ho = 0.784 and 0.821 and Ho

= 0.812), expected (He = 0.844 and 0.819 and He = 0.865) and individual Hi = 0.784 and 0.821, and Hi = 0.784) heterozygosities, polymorphism index of the studied loci (PIC = 0.826-0.807 and PIC = 0.842). The lowest level of polymorphism was found in the oldest breeds - Gray Ukrainian breed of cattle, English purebred in horses (Na = 8, Ng = 15.36, Ng1 = 6.64 Na1 = 7, Ng2 = 3, Naunik = 2, Ngunik = 16 Ae = 3,963 Ho = 0,653, He = 0,707, Hi = 0,673 I = 1,539, PIC = 0,67) and Great Dane dogs.

A significant level of consolidation of the studied breeds was revealed, which is confirmed by the results of Hardy-Weinberg equilibrium calculations (MCMC) (cattle: Ukrainian black-spotted dairy is in a state of genetic equilibrium at 8 microsatellite loci out of 10, Ukrainian red-spotted dairy - at 7 10, and Gray Ukrainian - for only 3, horses: Hutsul breed - for 7 out of 11, English thoroughbred - for 4 out of 11 and Ukrainian Horse - for 2 microsatellite DNA loci, dogs: German Shepherd - for 3 out of 5, and Great Dane and Russian Toy Terrier - for 1 microsatellite DNA locus out of five), a lower level of actual heterozygosity than expected on average in species and for all breeds and values of C indices. Wright (cattle - Fis = 0.033 and Fit = 0.092, horses - Fis = 0.062 and Fit = 0.108, dogs - Fis = 0.100 and Fit = 0.142).

The greatest consolidation, both in terms of the number of detected alleles and the scope of allelic spectra, was found by th e oldest breeds with the strictest breed / selection standards - English Thoroughbred ($p \leq 0.001$) and Great Dane ($p < 0.05$). Which may be due to the relatively small size of the world's populations of these breeds and the longer (Great Dane, according to some data, from more than 36 BC) "hard" breeding and, consequently, less genetic polymorphism. The accuracy of the prediction for assigning a certain animal to one of the breeds (assignment test) ranged from 41% (German Shepherd) to 93.6% (Hutsul horses) and 92.2% (English thoroughbred horses), and for assigning a certain animal to one from species from 58.2% (dogs) to 84% (cattle) and 88% (horses).

Cases of linked inheritance of different microsatellite DNA loci were observed only in the Gray Ukrainian breed of cattle (HWD = 0.328, NLD = 39, $p < 0.001$) and dogs of the German Shepherd breed (HWD = 0.2405, NLD = 1, $p < 0.05$).). The association of gametes in animals of other breeds of the studied species was almost random. According to the results of calculations of the effective number of populations, only the Ukrainian red-spotted dairy breed of cattle is in a favorable condition (Ne = 554.6), the Ukrainian populations of the Ukrainian black-spotted dairy breed of cattle were in a threatening condition (Ne = 5397.1), Ukrainian Horse (Ne = 103.9) and English Thoroughbred (Ne = 96.2) horse

breeds), German Shepherd and Russian Toy Terrier (Ne = 88.2 and 124.0, respectively), on the border extinction - Hutsul breed of horses (Ne = 55.1), and beyond this limit Gray Ukrainian breed of cattle (Ne = 25.1) and dogs of the Great Dane breed (Ne = 28.9).

Animals of different breeds within taxa are characterized by a small but significant level of genetic differentiation (cattle (Fst = 0.122), horses (Fst = 0.047), which is confirmed by the results of molecular variability analysis (AMOVA) (relatively low value of cattle Fst = 0.058, horses 0.082,) genetic differentiation between the studied breeds demonstrates a high level of significance (p≤0,001). And the obtained data - a high level of reliability, as evidenced by the reliability of the difference between the frequencies of the detected allelic (p <0,001) and genotypic (p <0,001) variants.

In the Gray Ukrainian breed, the largest number of loci was detected, which recorded the largest number of detected alleles (4), which recorded the largest number of breed-specific alleles (6), as well as breed-specific alleles (Naunic = 11 (0.022). Because the null hypothesis in her case can be rejected with a significance level of p = 0.014 (sign test). There is a high degree of inbreeding (inbreeding) of this population (non-random combination of gametes (HWD = 0.328, NLD for SU) (39 cases out of 45), and the breed itself is on the verge of extinction, because the effective number (Ne) is 25.1 heads, with a 95% confidence interval of 15.7-44.2 individuals, and it also recorded the narrowest genotype spectra at all microsatellite DNA loci and a higher than in other breeds the level of filling with certain (1-3) genotypes of the vast majority of loci.

Local breeds (Hutsul horse breed) are characterized by large alleles, average level of polymorphism (Na = 10, Ng = 26, Ng1 = 11.64 Na1 = 7, Ng2 = 5.09, Naunik = 3, Ngunik = 70 Ae = 5.253 Ho = 0.775, He = 0.802, No = 0.673 I = 1.869, PIC = 0.779) and a wide range of spectra of genotypic variability (LimNg =), at 6 microsatellite DNA loci out of 11 studied.

The largest number of alleles (Na), breed-specific alleles (Naunic), as well as loci for which unique alleles were found and loci for which the largest number of alleles in general were detected in the youngest breeds - Ukrainian horse breed horses and dogs of the Russian Toy Terrier breed, as well as aboriginal (one of the oldest cultural breeds - Gray Ukrainian breed of cattle).

Great Dane dogs were characterized by the highest values of actual (Ho = 0.754), expected (He = 0.833) and individual (No = 0.820) heterozygosities and polymorphism index (PIC = 0.812), the lowest number of detected (Ng = 10.4) and rare (Ng1 = 5, Ng2 =

3) genotypes, F = 0.012, as well as the absence of breed-specific alleles and genotypes (Naunic = 0, Ngunik = 0).

Russian toy terriers were characterized by a fairly wide, but with a large number of falls, spectra of allelic and genotypic variability, high consolidation of certain alleles, the largest number of breed-specific alleles (Naunic = 2 (0.025) and the lowest average number detected) (Na = 8.2) and effective (Ae = 5.46) allelic variants and the lowest values of actual (Ho = 0.690), expected (He = 0.788), and individual (No = 0.690) heterozygosities, Shannon indices (I = 1.804) and polymorphism (PIC = 0.766).

Lohmann Tierzucht crosses are characterized by broader allelic spectra and reduced fragment lengths. And the brown cross is slightly dominated by white. Lohmann white cross chicken differs from other cross birds by its extraordinary content of certain alleles.

In all experiments, in order to obtain a correct comparison of samples of different sizes, parametric and nonparametric methods were used, which allow to compare samples of different sizes, namely the rarefaction method and the nonparametric method of A. Chao. There is a different nature of the distribution of the number of allelic and genotypic variants, but, in general, the calculations obtained using these methods remain consistent with the previously obtained results of direct analysis in all studied taxa. The only significant differences occurred in horses and dogs in the number of unique alleles.

In order to predict genetic processes in domestic animal populations, it is advisable to use a stepwise mutation model (SMM). After all, for all studied species, the frequency distribution of the identified allelic variants corresponded to a stepwise mutation model (SMM) (it was more adequate to approximate the level of allelic diversity for all, without exception, studied microsatellite loci, compared with the IAM model (p <0.001). , significantly overestimates the actual values, both for each breed, in particular, and for each of the studied species in general).

The informativeness of individual microsatellite DNA loci for different taxonomic units was evaluated. The prospects and expediency of using the proposed system of using polymorphism of DNA microsatellite loci using together with a set of mathematical methods of analysis of the genetic situation in populations of domestic animals at different levels of genome organization to preserve biodiversity and assess the genetic resources of different species of domestic animals.

Studies of the genetic structure of industrial crossbred chickens were conducted to assess the biodiversity and genetic structure of the species Gallus gallus. Intraspecific

intergroup analysis was performed to assess the informativeness of the proposed system of using polymorphism of microsatellite DNA loci to assess the genetic resources of different species of domestic animals and preserve their diversity. As well as the informativeness of the proposed microsatellite DNA loci as markers of genetic processes of different orientations, including and controlling hybridization or inbreeding in the creation, production of clean lines or the creation of industrial crosses.

Key words: *polymorphism, relic cattle, horses, dogs, chickens, gene, allele, genotype, microsatellites, population, variability, microevolution, amplification, biodiversity.*

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Монографії

1. Копилов К. В., Жукорський О. М., Копилова К. В., Метлицька О. І., Вдовиченко Ю. В., Балацький В. М., Порхун М. Г., **Шельов А. В.**, Шевченко Є. А., Писаренко Н. Б. Методологія оцінки генотипу тварин за молекулярно-генетичними маркерами в тваринництві України : монографія / за наук. ред. М. В. Гладія. Київ : Аграр. наука, 2014. 208 с. *(Здобувачем здійснено проведення частини експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

Публікації у наукових фахових виданнях України

2. Спиридонов В. Г., **Шельов А. В.**, Мельничук С. Д. Бородай В. П., Пономаренко Н. П. Молекулярно-генетичний аналіз популяцій курей кросу Ломанн коричневий. *Сучасне птахівництво*. 2009. № 9-10. С. 16-19. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

3. Спиридонов В. Г., **Шельов А. В.**, Мельничук С. Д., Ільницька Т. Є. Визначення достовірності походження коней української верхової породи та мікросателітний аналіз ДНК. *Біологія тварин*. 2009. Т. 11, № 1-2. С. 265-270. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

4. Резникова-Галашевич И. С. Спиридонов В. Г., **Шельов А. В.**, Мельничук С. Д. Генетический анализ популяции белого толстолоба (*Hypophthalmichthys molitrix, Val*) с использованием микросателлитных ДНК-маркеров. *Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України*. Київ, 2011. Т. 160, ч. 2. С. 306–309. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

5. **Шельов А. В.**, Спиридонов В. Г., Пономаренко Н. П., Бородай В. П., Мельник В. В., Мельничук С. Д. Молекулярно-генетичний аналіз популяцій курей кросу «Хайсекс білий». *Наукові доповіді НУБіП*. 2011. № 4 (26). http://www.nbuv.gov.ua/e%2Djournals/Nd/2011_4/11sav.pdf *(Здобувачем здійснено*

проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).

6. Спиридонов В. Г., **Шельов А. В.**, Кухтіна К. В., Стефурак Ю. П. Генетичний аналіз гуцульських коней за мікросателітними локусами. *Тваринництво України*. 2011. № 4. С. 15-18. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

7. **Шельов А.В.**, Спиридонов В.Г., Сонько Р.В., Глушаков Ю.І Назаренко В.В., Омельченко Л.П. Генетичний аналіз популяції сірої української породи великої рогатої худоби. *Тваринництво України*. 2011. № 6. С.10-12. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

8. Мельник О. В., Дзіцюк В. В., Спиридонов В. Г., **Шельов А. В.**, Використання мікросателітів ДНК у конярстві. *Біологія тварин*. 2012. Т. 14. № 1-2. С. 678–681. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

9. **Шельов А. В.,** Копилова К. В., Спиридонов В. Г., Мельничук С. Д. Оцінка генофонду молочних порід великої рогатої худоби за мікросателітними локусами ДНК. *Розведення і генетика тварин.* Київ : Аграр. наука, 2012. Вип. 46. С. 254-257. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

10. **Шельов А. В.,** Пономаренко Н. П., Бородай В. П., Мельник В. В., Палькіна М. Д., Спиридонов В. Г., Мельничук С. Д. Аналіз генетичної структури популяцій курей кросів, створених на основі породи білий леггорн. *Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України.* Серія : Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. Київ, 2012. Вип. 179. С. 121–128. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

11. Мельник О. В., **Шельов А. В.**, Спиридонов В. Г., Мельничук С. Д. Генетичний поліморфізм коней української верхової породи за мікросателітними

ДНК-маркерами. *Вісник Житомирського національного аграрного університету*. 2013. № 1, т. 2 (35). С. 75–78. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

12. **Шельов А. В.,** Пономаренко Н. П., Бородай В. П., Мельник В. В., Спиридонов В. Г., Мельничук С. Д. Використання мікросателітних маркерів ДНК для контролю походження та однорідності популяцій сільськогосподарської птиці. *Сучасне птахівництво*. 2013. № 2 (123). С. 2-5. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

13. Копилов К. В., **Шельов А. В.**, Копилова К. В., Березовський О. В. Генетична структура популяцій української чорно-рябої та української червоно-рябої молочних порід за поліморфізмом QTL та STR маркерів. *Вісник Сумського національного аграрного університету*. 2014. Вип. 7 (26). С. 31–37. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

14. Копилова К. В., **Шельов А. В.**, Березовський О. В., Копилов К. В. Генетична структура різних порід великої рогатої худоби за молекулярно-генетичними маркерами. *Науково-технічний бюлетень /* Ін-т тваринництва НААН. Харків, 2014. № 110. С. 76–83. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

15. **Шельов А. В.** Поліморфізм мікросателітних локусів ДНК у різних видів сільськогосподарських тварин. *Розведення і генетика тварин.* Київ, 2015. Вип. 50. С. 183–189.

16. **Шельов А. В.**, Копилов К. В., Крамаренко С. С., Крамаренко О. С., Хмельничий Л. М. Специфіка генотипової структури різних порід свійських собак за мікросателітами ДНК. *Вісник Сумського національного аграрного університету.* Серія : Тваринництво. 2020. Вип. 4 (43). С. 128–132. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

17. **Шельов А. В.**, Копилов К. В., Прокопенко Н. П., Крамаренко С. С., Крамаренко О. С. Алельний поліморфізм мікросателітних локусів ДНК яєчних курей.

Сучасне птахівництво. 2020. № 7-8 (214-215). С. 22–27. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

18. **Шельов А. В.**, Копилов К. В., Прокопенко Н. П., Крамаренко С. С., Крамаренко О. С. Генотипова структура яєчних кросів курей за мікросателітами ДНК. *Сучасне птахівництво*. 2020. № 11-12 (218-219). С. 16-21. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

19. **Shelyov A. V.**, Kopylov K. V., Kramarenko S. S., Kramarenko A. S. Genetic structure of different equine breeds by microsatellite DNA loci. *Agricultural Science and Practice.* (*WoS*). 2020. № 2. P. 3–13. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

20. **Шельов А.**, Копилов К., Крамаренко С., Крамаренко О. Алельний поліморфізм мікросателітних локусів ДНК трьох порід виду Canis familiaris. *Аграрний вісник Причорномор'я*. 2021 Вип. 98. С. 18-25. doi: 10.37000/abbsl.2021.98.04. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

Публікації у виданнях іноземних держав або у виданнях України, які включені до міжнародних науковометричних баз

21. Shelyov A. V., Melnyk O. V., Suprun I. O., Spyrydonov V. G., Melnychuk S. D., Dzitsiuk V. V., Gopka B. M. The Comparative Analyzis of Allele Pool of Thoroughbred Horses in Different Countries. *Iranian Journal of Applied Animal Science.* 2014. Vol. 4 (3). P. 637–641. (*Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків*).

22. **Shelyov A. V.**, Kopylov K. V., Kramarenko S. S. Analysis of population-genetic processes in different cattle breeds by microsatellite loci of DNA. *Agricultural Science and Practice.* (*WoS*). 2017. № 1. P. 74-78. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

23. **Shelyov A. V.**, Kopylov K. V., Kramarenko A., Kramarenko S. Genetic variation determination and interbreed differentiation of two Ukrainian dairy cattle breeds

using microsatellite loci of dna. *Agricultural Science and Practice.* (*WoS*). 2018. № 1. P. 51–58. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

Наукові праці апробаційного характеру

24. Кухтіна К. В., **Шельов А. В.** Використання STR-маркерів для експертизи достовірності походження коней. *Методологія наукових досліджень з питань селекції, генетики та біотехнології у тваринництві : матеріали наук.-теорет. конф. присвяч. пам. акад. УААН Валерія Петровича Бурката*. Київ : Аграр. наука, 2010. С. 76–77. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

25. Мельник О. В., **Шельов А. В.**, Спиридонов В. Г., Зуєва Н. В. Генетичний аналіз жеребців чистокровної верхової породи за мікросателітами ДНК. *Зоотехнічна наука: історія, проблеми, перспективи* : матеріали III міжнар. наук.-практ. конф., Камянець-Подільський, 2013. С. 198-199. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

26. Мельник О. В., **Шельов А. В.**, Спиридонов В. Г. Генотипування коней української верхової породи за мікросателітними локусами ДНК. *Сучасні проблеми розведення і селекції сільськогосподарських тварин :* матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. 20-річ. створення кафедри розведення, генетики тварин та біотехнології Житомирського нац. агроекол. ун-ту і 75-річ. з дня народж. д-ра с.-г. наук, проф. Пелехатого Миколи Сергійовича. Житомир, 2013. С. 8–10. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

27. **Shelyov A.,** Melnyk O., Ignatenko A., Spyrydonov V., Melnychuk S., Kopylov K. Genetic Structure oh Hucul horses using microsatellite loci of DNA. *Journal of Animal Science*. 2013. Vol. L. 4-5. P. 92-95 : Animal Science – Challenges and Innovations : scient. conf. with intern. part., 30 Oct.-1 Nov., 2013. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

28. Шельов А. В. Різноманіття мікросателітної структури популяцій сільськогосподарських тварин. Актуальні дослідження з проблем розведення та генетики у тваринництві : матеріали XIII Всеукр. наук. конф. молодих вчених та

аспірантів, присвяч. пам'яті акад. НААН Михайла Васильовича Зубця (28 трав. 2015 р.) / НААН, Ін-т розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця. – Чубинське, 2015. – С. 56-57.

Додатково відображають наукові результати дисертації

29. **Шельов А. В.**, Спиридонов В. Г., Парій М. Ф., Мельничук С. Д. Генотипування коней української верхової породи з використанням панелі SSR-маркерів. *Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів*. 2009. Т. 7, № 2. С. 257–261. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків)*.

30. Спиридонов В. Г., **Шельов А. В.**, Кухтіна К. В., Мельничук С. Д., Григорюк І. П. Генетична ідентифікація та експертиза походження свійських коней (*Equus caballus*) мікросателітними фрагментами дезоксирибонуклеїнової кислоти : метод. рек. Київ, 2010. 22 с. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків)*.

31. **Шельов А. В.,** Спиридонов В. Г., Кухтіна К. В. Застосування молекулярно-генетичних методів діагностики у тваринництві. *Геномна селекція у тваринництві: стан та перспективи розвитку :* матеріали творч. дискусії. Київ : Аграр. наука, 2011. С. 68–72. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків)*.

32. Рєзникова-Галашевич І. С., Степура В. В., **Шельов А. В.,** Спиридонов В. Г., Табака П. П., Мельничук С. Д., Алимов С. І. Генетична ідентифікація промислових видів риб : метод. рек. Київ : ВЦ НУБіП України, 2011. 33 с. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків)*.

33. Мельник О. В., **Шельов А. В.**, Спиридонов В. Г. Впровадження генетичної експертизи походження коней за ДНК-маркерами. *Сучасна ветеринарна медицина.* 2012. № 4. С. 46-49. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків)*.

34. Бородай В. П., Пономаренко Н. П., Мельник В. В., **Шельов А. В.**, Спиридонов В. Г. Інформаційна база даних (каталог) показників генетичної структури популяцій курей спеціалізованих яєчних кросів, які використовують в Україні. Київ : ТОВ «Аграр Медіа Груп», 2012. 20 с. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

35. Бородай В. П., Пономаренко Н. П., Мельник В. В., **Шельов А. В.**, Спиридонов В. Г., Мельничук С. Д. Рекомендації щодо проведення генетичної оцінки популяцій курей спеціалізованих яєчних кросів із застосуванням ДНК-маркерів. Київ : ТОВ «Аграр Медіа Груп», 2012. 41 с. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

36. Дзіцюк В. В., Ященко В. М., Круглик С. Г., Мельник О. В., **Шельов А. В.**, Спиридонов В. Г., Мельничук С. Д. Генетична ідентифікація собак : метод. рек. Київ : ВЦ НУБіП України, 2012. 33 с. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

37. **Шельов А. В.,** Мельник О. В., Спиридонов В. Г., Мельничук С. Д. Зуєва Н. В. Оцінка української популяції чистокровної верхової породи коней за мікросателітними ДНК-маркерами. *Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів*. 2013. Т. 11, № 1. С. 153–158. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

38. Kopylov K. V., Kopylova K. V., **Shelov A. V.**, Berezovsky O. V. Use of the Molecular-genetic Markers in the Selection Process of the Ukrainian Animal Husbandry. *Agricultural Science and Practice.* 2014. № 2. P. 24-32. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

39. Копилов К. В., Бірюкова О. Д., **Шельов А. В.,** Добрянська М. Л., Мохначова Н. Б., Маковська Н. М., Стародуб Л. Ф. Визначення адаптаційної здатності племінних ресурсів молочної худоби та молекулярно-генетичні методи у системі збереження біологічного різноманіття тварин : метод. рек. Чубинське, 2020. 36 с. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації,*

біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).

ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ 2
SUMMARY 8
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ 24
ВСТУП 26
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ 32
1.1 Біологічне різноманіття як складова біосфери 32
1.2 Генетичне різноманіття в системі збереження генетичних ресурсів. 34
1.3 Значення та методи оцінки генетичного поліморфізму 43
1.4 Генетичні маркери їхні властивості та області застосування 46
1.5 Мікросателітні локуси в дослідженнях генофондів свійських тварин 63
1.5.1 Дослідження мікросателітів великої рогатої худоби 63
1.5.2 Мікросателітні локуси в дослідженнях генофондів коней 70
1.5.3 Мікросателітні локуси в дослідженнях генофондів собак. 74
1.5.4 Мікросателітні локуси в дослідженнях генофондів птиці. 79
1.6 Обґрунтування напряму власних досліджень 81
РОЗДІЛ 2 ЗАГАЛЬНА МЕТОДИКА ТА ОСНОВНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ 83
2.1 Матеріал досліджень 83
2.2 Обладнання, що використовували в роботі 85
2.3 Методики та методи досліджень 86
2.3.1 Відбір зразків біологічного матеріалу для проведення досліджен 86
2.3.2 Виділення ДНК з біологічного матеріалу 87
2.3.3 Постановка полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) 89
2.3.4 Проведення фрагментного аналізу 95
2.4. Математико-статистичний аналіз одержаних даних 97
РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІХ ДОСЛІДЖЕНЬ 101
ОПТИМІЗАЦІЯ ТЕХНІКИ ДНК-ТИПУВАННЯ
3.1 Підбір мікросателітних локусів ДНК для проведення молекулярно-генетичного типування генетичних ресурсів різних видів свійських тварин 101
3.2 Підбір та оптимізація умов ПЛР 103
3.3 Розробка мультиплексів для STR-PCR 105
3.4 Висновки по розділу 106
РОЗДІЛ 4 АЛЕЛОФОНДИ ТА ГЕНОТИПОВИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНЕТИЧНИХ РЕСУРСІВ ТВАРИН РІЗНИХ ВИДІВ ЗА МІКРОСАТЕЛІТНИМИ ЛОКУСАМИ ДНК 107
4.1 Структура різних порід великої рогатої худоби 107
4.2 Особливості мінливості мікросателітних ділянок геному у представників виду *Equus caballus* 138
4.3 Алельний та генотиповий поліморфізм STR-локусів ДНК у представників трьох порід виду *Canis familliaris* 174

4.4 Структура алелофонду та генотипова мінливість у різних промислових кросів свійської курки (*Gallus domesticus)* 192
4.5 Висновки по розділу 214
РОЗДІЛ 5 ПОПУЛЯЦІЙНО-ГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ ГЕНОФОНДІВ ДОСЛІДЖЕНИХ ВИДІВ 220
5.1 Популяційно-генетичні характеристики генетичної мінливості великої рогатої худоби 220
5.2 Популяційно-генетична структура досліджених порід коней 231
5.3 Популяційно-генетична структура порід собак 243
5.4 Популяційно-генетична структура окремих кросів свійської курки 253
5.5 Висновки по розділу 264
РОЗДІЛ 6 АНАЛІЗ МІКРОЕВОЛЮЦІЙНІ ПРОЦЕСІВ У ПОПУЛЯЦІЯХ ПРЕДСТАВНИКІВ ВИДІВ *BOS TAURUS, EQUUS CABALLUS, CANIS FAMILLIARIS, GALLUS DOMESTICUS* 269
6.1 Аналіз генетико-автоматичних процесів в популяціях різних порід великої рогатої худоби 269
6.2 Аналіз мікроеволюційних процесів у популяціях досліджених порід коней 272
6.3 Оцінювання мікроеволюційних процесів у собак 275
6.4 Аналіз мікроеволюційних процесів у різних кросів курки свійської 277
6.5 Висновки по розділу 279
РОЗДІЛ 7 АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ВНУТРІШНЬОВИДОВИХ ТА МІЖВИДОВИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ГЕНЕТИЧНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ НА РІЗНИХ РІВНЯХ ОРГАНІЗАЦІЇ ГЕНОМУ 282
7.1 Особливості внутрішньотаксономічного поліморфізму різних видів свійських тварин 282
7.2 Аналіз особливостей генетичного поліморфізму у різних видів свійських тварин 292
7.3 Висновки по розділу 296
РОЗДІЛ 8 ІНФОРМАТИВНІСТЬ РІЗНИХ МІКРОСАТЕЛІТНИХ МАРКЕРІВ ТА ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ У МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНННЯХ РІЗНИХ ВИДІВ ТВАРИН 301
8.1 Висновки по розділу 304
ВИСНОВКИ 306
ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ 309
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 311
ДОДАТКИ 382

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

bp – base pair;

п.н. – пар нуклеотидів;

LD – нерівновага за зчепленням;

MAS – маркер-асоційована селекція;

PCR – полімеразна ланцюгова реакція;

ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція;

QTL – локуси кількісних ознак;

RFLP – поліморфізм довжин рестрикційних фрагментів;

SNP – однонуклеотидний поліморфізм;

SSR – короткі прості послідовності;

STR – короткі тандемні послідовності;

ДНК (DNA) – дезоксирибонуклеїнова кислота;

МСЛ – мікросателітний локус;

FAO – продовольча та сільськогосподарська організація ООН

ISAG – міжнародна спілка генетиків тварин;

ICAR – Міжнародний Комітет з ідентифікації та реєстрації тварин

АКС – Американський клуб собаківництва

Алель – алельний варіант;

Генотип – генотиповий варіант;

Амплікон – ампліфікований фрагмент;

Na – кількість виявлених алелів;

Ae – кількість ефективних алелів;

Na_1 – кількість рідкісних алелів (алелів що зустрічаються 1 раз);

Na_{unic} – кількість породоспецифічних алелів;

Lim_{Na} – розмах алельної мінливості (виявлених алелів);

Ng – кількість виявлених генотипів;

Ng_1 – кількість рідкісних генотипів що зустрічаються 1 раз;

Ng_2– кількість рідкісних генотипів що зустрічаються 2 рази;

Lim_{Ng} – розмах генотипової мінливості (виявлених генотипів);

Ng_{unic} – кількість породоспецифічних генотипів;

SMM – покрокова мутаційна модель (*SMM – stepwise mutation model*);

IAM – модель нескінченої кількості алелів (*IAM – infinite alleles model*);

Ho – фактична гетерозиготність;

He – теоретично очікувана гетерозиготність;

Hi – індивідуальна гетерозиготність;

Heq – врівноважена гетерозиготність;

PIC – індекс поліморфізму;

F – індекс фіксації;

I –індекс Шеннона;

PE – вірогідність виключення випадкового збігу алелів;

CPE – комбінована вирогідність виключення випадкового збігу алелів;

MCMC – метод процедури марківських ланцюгів Монте-Карло;

Fis, Fit та *Fst* – індекси фіксації (або F-статистики Райта);

AMOVA – аналіз молекулярної мінливості;

Assignment-тест – метод оцінки ступеня генетичної подібності;

M-ratio – відношення загальної кількості виявлених алельних варіантів до ліміту розмірів (довжин) цих алельних варіантів;

Ne – ефективна чисельність популяції;

LD – нерівновага за зчепленням;

УЧеР – українська червоно-ряба порода великої рогатої худоби;

УЧР – українська чорно-ряба порода великої рогатої худоби;

СУ – сіра українська порода великої рогатої худоби;

ГУЦ– гуцульська порода коней;

ЧВ – англійська чистокровна порода коней;

УВП– українська верхова порода коней;

НВ – німецька вівчарка;

НД– німецький дог;

РТ – російський той-терєр;

ЛБ – курка кроссу «Ломан ЛСЛ» («Ломан білий»);

ЛК – курка кроссу «Ломан коричневий»;

ХСБ – курка кроссу «Хайсекс білий»;

ХЛБ– курка кроссу «Хай-Лайн W-98» («Хай-Лайн білий»);

ХСК– курка кроссу «Хайсекс коричневий»;

ВСТУП

Актуальність теми. Дослідження структурної організації та варіабельності геному організмів різного таксономічного рангу є одним з актуальних завдань сучасної молекулярної генетики. Питання генетичної мінливості тварин представляють особливий інтерес у зв'язку з їх не тільки фундаментальною, а й практичною значущістю.

Геномна реєстрація живих організмів набуває все більшої актуальності. Активно йде розробка методів генотипування рослин і тварин, цінних як з загальної біологічної, так і з сільськогосподарської точки зору. Здійснюються спроби створення генетичних паспортів для різних біологічних об'єктів [1]. Масштабність і важливість даної тенденції ілюструється також тим, що в багатьох країнах уже введені відповідні закони, які протоколюють і регулюють цей процес[2-4].

Згідно визначення комісії FAO з генетичних ресурсів у сфері продовольства й сільського господарства керування генетичним різноманіттям тварин є необхідною умовою для глобальної продовольчої безпеки, сталого розвитку й забезпечення існування людства [5].

У тваринництві будь-якої країни генетичні ресурси є одним із найдорожчих і стратегічно найважливіших багатств, адже інтенсифікація систем виробництва має тенденцію до зменшення кількості порід та звуження їхнього різноманіття [6, 7].

Раціональне використання племінних ресурсів сільськогосподарських видів тварин України безпосередньо пов’язано з розробкою і впровадженням комплексної системи молекулярно-генетичної оцінки тварин, проведенням широкомасштабного генетико-популяційного моніторингу, основу якого повинні складати ДНК – технології

Вичерпна інформація про генетичне різноманіття та структуру популяцій є надзвичайно важливою для оцінки суттєвих обрисів будь-якого відповідного збереження та сталого управління племінними програмами для збереження максимальної генетичної мінливості та адаптаційної спроможності порід [8, 9]. Управління генетичним різноманіттям всередині популяції є ключовим фактором різних програм збереження для захисту генетичних ресурсів тварин [10]. Важливим для селекційної роботи є також оцінка генетичної варіабельності в генофондних популяціях, які є носіями цінних комбінацій генів, втрачених в селекційному процесі [11]. Дотепер вітчизняні генофонди порід свійських тварин різних видів залишаються

майже недослідженими відносно особливостей генетичної структури за високополіморфними ділянками ДНК, що відкриває широке коло можливостей для визначення стану генетичного різноманіття в окремих популяціях тварин із використанням молекулярно-генетичних маркерів, найінформативнішими та найзручнішими з яких є мікросателіти [12].

Виходячи з зазначеного, теоретичне обґрунтування та експериментальне відпрацювання системи використання поліморфізму мікросателітних локусів ДНК з метою оцінювання і прогнозування мікроеволюційних процесів в популяціях різних видів тварин в рамках програм збереження їх біорізноманіття, а також дослідження генетичної структури популяцій на різних рівнях організації геному відносяться до найактуальніших завдань вітчизняного тваринництва і мають суттєве теоретичне та практичне значення, що й обумовило напрям виконаної дисертаційної роботи.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконувалась з 2010 по 2020 роки, як складова частина науково-дослідних робіт відділу молекулярно-діагностичних досліджень Української лабораторії якості та безпеки продукції АПК Національного університету біоресурсів і природокористування України за темами «Молекулярно-генетичний моніторинг племінного поголів’я великої рогатої худоби і коней за допомогою ДНК-маркерів» (ДР №0108U001973); «Проведення генетичного дослідження собак різних порід для їх генотипування і паспортизації» (ДР №0110U003573); «Вивчити генетичну структуру популяцій курей яєчного напряму продуктивності із застосуванням мікросателітних маркерів» (ДР №0110U003575) та Інституту розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця НААН за завданнями: 24.01.01.01.Ф «Розробити методологію оцінки генотипу тварин різних за напрямком продуктивності порід великої рогатої худоби за генами кількісних ознак» (ДР №0111U003282), 37.00.01.01. Ф «Дослідження генетичної структури аборигенних, локальних і зникаючих порід сільськогосподарських тварин України для визначення молекулярно-генетичних маркерів продуктивності та адаптації» (ДР №0116U000524).

Мета і завдання дослідження. Теоретично обґрунтувати і експериментально відпрацювати систему використання поліморфізму мікросателітних локусів ДНК з метою оцінювання генетичних ресурсів різних видів тварин в рамках програм збереження їх біорізноманіття.

Для реалізації мети було поставлено наступні завдання:

- вдосконалити та оптимізувати методики генотипування різних видів тварин за мікросателітними локусами ДНК;

- оцінити інформативність різних мікросателітних маркерів;

- дослідити генетичну структуру популяцій тварин української червоно-рябої молочної, української чорно-рябої молочної та сірої української порід великої рогатої худоби; свійських коней порід: гуцульська, чистокровна верхова та українська верхова; собак порід – німецька вівчарка, німецький дог, російський той-тер'єр; свійської курки кросів – Ломанн білий, Ломанн коричневий, Хайсекс білий, Хайсекс коричневий та Хай-Лайн W-98 за мікросателітними локусами ДНК;

- здійснити внутрішньовидовий аналіз генетичної структури досліджуваних порід;

- проаналізувати показники генетичного поліморфізму за мікросателітними локусами ДНК різних видів свійських тварин та оцінити їхню інформативність для різних таксономічних одиниць;

- дослідити та провести порівняльний аналіз мікроеволюційних процесів у різних таксономічних одиницях;

- оцінити ефективність різних математичних методів моделювання для оцінювання генетичного поліморфізму різних видів свійських тварин;

– визначити особливості використання поліморфізму мікросателітних локусів ДНК у системі збереження біорізноманіття та оцінювання генетичних ресурсів різних видів свійських тварин.

Об'єкт досліджень – мікросателітна мінливість в популяціях тварин різних видів.

Предмет досліджень – поліморфізм та інформативність мікросателітних локусів ДНК, особливості генетичної структури мікропопуляцій свійських видів в системі збереження біорізноманіття та раціонального використання генофондів тварин.

Методи дослідження. Молекулярно-генетичні (виділення ДНК, визначення чистоти та концентрації ДНК, проведення ПЛР, розділення одержаних фрагментів за допомогою капілярного гель-електрофорезу, фрагментний аналіз); популяційно-генетичні (визначення основних показників генетичного поліморфізму, генетичної структури, диференціації, генетичної подібності, генетико-автоматичних процесів);

біометричні (математико-статистичний аналіз, параметричні та непараметричні методи, за використання відповідного програмного забезпечення).

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше обґрунтовано, розроблено та апробовано комплексну систему оцінювання генетичного поліморфізму за мікросателітними локусами ДНК у представників різних таксономічних груп на різних рівнях організації геному (алельному, генотиповому, популяційному) та встановлено особливості мікроеволюційних процесів у досліджених популяціях. Встановлено особливості генетичної структури за мікросателітними локусами ДНК на внутрішньовидовому та міжвидовому рівнях та визначено адекватність різних моделей математичного аналізу та оцінки генетичної ситуації у досліджених популяціях тварин.

Вперше оцінено інформативність мікросателітних локусів ДНК для різних видів та окремих українських порід свійських тварин. в залежності від структурних особливостей нуклеотидних послідовностей.

Оптимізовано технологію мультиплексного генотипування особин різних видів свійських тварин за мікросателітними локусами ДНК.

Практичне значення одержаних результатів. Запропоновано новий комплексний підхід на індивідуальному і популяційному рівнях прогнозування та оцінки мікроеволюційних процесів у популяціях свійських видів тварин за поліморфізмом мікросателітних локусів ДНК, що дає можливість генетичного контролю формування генофондів різних таксономічних одиниць в селекції та системі збереження генетичного біорізноманіття.

Одержано нові дані щодо рівня поліморфізму геному окремих порід та видів свійських тварин за мікросателітними локусами ДНК. Оцінено можливість їх використання для оцінки генетичного різноманіття тварин.

Розроблено методичні підходи щодо використання мікросателітних локусів для оцінки генетичної ситуації в популяціях різних порід і видів свійських тварин.

Окремі положення та напрацювання використовуються у навчальному процесі Миколаївського національного аграрного університету при викладанні освітніх компонент «Спеціальна генетика», «Молекулярно-генетичні методи діагностики», «Загальна та молекулярна генетика» та «Генетика у ветеринарній медицині та основи розведення тварин» здобувачам вищої освіти початкового-третього рівнів вищої освіти спеціальностей 162 – «Біотехнології та біоінженерія», 204 – «Технологія

виробництва і переробки продукції тваринництва» та 212 – «Ветеринарна гігієна, санітарія та експертиза».

На основі одержаних результатів розроблено: методичні рекомендації «Генетична ідентифікація промислових видів риб», «Генетична ідентифікація та експертиза походження свійських коней (*Equus caballus*) мікросателітними фрагментами дезоксирибонуклеїнової кислоти: Методичні рекомендації», «Генетична ідентифікація собак» та «Рекомендації щодо проведення генетичної оцінки популяцій курей спеціалізованих яєчних кросів із застосуванням ДНК-маркерів», а також каталог «Інформаційна база даних (каталог) показників генетичної структури популяцій курей спеціалізованих яєчних кросів, які використовують в Україні».

Особистий внесок здобувача. Дисертантом розроблено концептуальні засади досліджень, сплановано роботу згідно плану дисертаційних досліджень, проаналізовано літературні джерела, розроблено схему і методику проведення молекулярно-генетичних досліджень та виконано експериментальну програму запланованих робіт. За безпосередньої участі дисертанта здійснено відбір біоматеріалу, виділення ДНК, проведення ПЛР, здійснено мікросателітний аналіз за 31 локусом у 4 різних видів свійських тварин. Самостійно здійснено аналіз даних одержаних в результаті проведених досліджень. Дисертантом на підставі проведених досліджень сформовано висновки та пропозиції виробництву.

Використання в роботі частини матеріалів експериментальних досліджень, в яких дисертант брав безпосередню участь, погоджено зі співавторами спільних публікацій.

Автор висловлює щиру подяку фахівцям (Українська лабораторія якості і безпеки продукції АПК НУБіП України) за методичну допомогу і надання можливості проведення досліджень.

Апробація результатів дисертації. Результати досліджень представлено на щорічних наукових звітах Інституту розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця НААН (Чубинське, 2012-2020); викладено в доповідях на наукових конференціях молодих вчених та аспірантів Інституту розведення і генетики тварин НААН (Чубинське, 2010-2020); наукових конференціях «Проблеми та перспективи розвитку конярства в сучасних умовах», які проходила під егідою виставок «EQUISVIT 2009 та 2010» на базі СКС «Магнат» за сприяння Асоціації розвитку кінного спорту в

Україні; науково-практичній конференції, присвяченої пам`яті академіка В. П. Бурката «Методологія наукових досліджень з питань селекції, генетики та біотехнології у тваринництві» (Чубинське, 2010); III міжнародної науково-практичної конференції «Зоотехнічна наука: історія, проблеми, перспективи» (Кам'янець–Подільський, 2013); міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій 20-річчю створення кафедри розведення, генетики тварин та біотехнології Житомирського національного агроекологічного університету і 75-річчю з дня народження доктора с.-г. наук, професора Пелехатого Миколи Сергійовича «Сучасні проблеми розведення і селекції сільськогосподарських тварин» (Житомир, 2013); на міжнародній конференції «*Challenges and Innovations*» (Софія, Болгарія, 2013).

Публікації. Основні положення та результати дисертаційної роботи викладено у 39 наукових працях. У тому числі, монографія – 1, статті у фахових виданнях України – 19, у виданнях іноземних держав або які включено до міжнародних науковометричних баз – 3, робіт апробаційного характеру – 5, праць, що додатково відображають наукові результати дисертації – 11 (в т.ч. методичних рекомендацій – 5, каталог – 1).

Структура та обсяг дисертації. Робота викладена на 369 сторінках комп'ютерного тексту, містить 120 таблиць та 106 рисунків та складається з анотацій, переліку умовних позначень, символів, одиниць, скорочень і термінів, вступу, огляду літератури, загальної методики та основних методів досліджень, результатів власних експериментальних досліджень, аналізу і узагальнення результатів досліджень, висновків, пропозицій виробництву, списку використаних джерел (697 джерел, у тому числі 549 латиницею), а також додатків.

РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Біологічне різноманіття як складова біосфери

Першим термін «Біологічне різноманіття» ввів Г. Бейтс у 1892 році в роботі «Натураліст на Амазонці» [13] де викладено враження автора від експедиції до берегів р. Амазонка, в якій він встиг побачити більше 700 видів метеликів. Але значного поширення термін набув лише на при кінці XX сторіччя., а саме: термін «біологічне різноманіття» було введено Томасом Лавджоєм (*Thomas Lovejoy*) у 1980 році [14], біорізноманіття – Едвардом Вілсоном (*Edward Wilson*) у 1986 і озвучено у докладі на першому Американському форумі з біологічного різноманіття, організованому Національною Радою Досліджень (*NRC National Research Council*) [15]. Одним з основних результатів наукових досліджень в галузі генетики першої половини XX ст. є доведення того факту, що необхідною умовою сталого функціонування екосистем зокрема та біосфери в цілому є достатній рівень природного різноманіття [16-18].

За визначенням Всесвітнього фонду дикої природи (1989) біорізноманіття – це різноманіття форм життя на землі, мільйонів видів мікроорганізмів, рослин, тварин, з їх наборами генів і складних екосистем, що утворюють живу природу [16].

В матеріалах прийнятої у 1992 році «Конвенції про біологічне різноманіття», країнами-учасниками на Конференції ООН з оточуючого середовища та розвитку в Ріо-де-Жанейро, біорізноманіття визначено, як: "Біологічне різноманіття" означає все багатоманіття живих організмів з усіх середовищ, включаючи суходольні, морські та інші водні екосистеми та екологічні комплекси, що їх утворюють; різноманіття всередині видів, між видами та екосистемами [19]. Біорізноманіття охоплює види всіляких місць існування, наприклад, лісових, прісноводних, морських, ґрунтових, культурних рослин, свійських та диких тварин, мікроорганізмів [20].

Згідно концепції загальнодержавної програми збереження біорізноманіття на 2005 — 2025 роки «біорізноманіття є національним багатством України, збереження та невиснажливе використання якого визнано одним з пріоритетів державної політики в сфері природокористування, екологічної безпеки та охорони довкілля, невід’ємною умовою поліпшення його стану та екологічно збалансованого соціально-економічного розвитку [21].

Діяльність у сфері збереження біорізноманіття проводиться з дотриманням положень Конституції, різних актів законодавства, міжнародних зобов’язань

України. Основних напрямів державної політики України у галузі охорони довкілля, використання природних ресурсів та забезпечення екологічної безпеки затверджених Постановою Верховної Ради України від 5 березня 1998 р. № 188/98-ВР, а також з урахуванням положень Конвенції ООН про охорону біологічного різноманіття (далі — Конвенція про біорізноманіття) і Всеєвропейської стратегії збереження біологічного та ландшафтного різноманіття» [21-24].

Біологічне різноманіття може розглядатися на декількох рівнях організації життя: молекулярному; генетичному; клітинному; таксономічному; екологічному; популяційному; організмовому; біосферному.

Генетичне різноманіття – визначається сукупністю генетичної інформації, яка міститься в генах та генних комплексах особин популяцій рослин, грибів, тварин та мікроорганізмів

Екосистемне різноманіття – сукупність різних місцезростань, біотичних угруповань та екосистем на різних рівнях організації ландшафтів

Ландшафтне різноманіття – визначається сукупністю природних географічних комплексів - ландшафтів, як сукупностей рельєфу, клімату, вод, ґрунтів, об'єктів рослинного й тваринного світу, які знаходяться у складній взаємодії і взаємозумовленості та утворюють однорідну за умовами розвитку і єдину цілісну систему

Для безперервного виживання видів і природних угруповань необхідні всі види біорізноманіття [16].

Останнім часом з'явилося безліч концепцій, що стосуються принципів управління біорізноманіттям, включаючи цілісність, здоров'я, стійкість і пружність (здатність протистояти напруженню і ударам) екосистеми. Наявність великої кількості концепцій і визначень ускладнює завдання пошуку єдиного практичного визначення біологічного різноманіття. Одним із найпростіших і найбільш загальноприйнятих визначень біорізноманіття є збереження максимальної кількості видів. [25]

Багатство видів вимірюється кількістю видів у межах даної території без огляду на вагу кожного виду. Цей порядок обліку різновидів може використовуватися на різних географічних рівнях (область, країна і, зрештою, світ), будучи найбільш простим і корисним виміром біорізноманіття. В усьому світі поки було описано 1,75

мільйонів різновидів з відомих 13-14 мільйонів. Більшість описаних видів недостатньо вивчені. Не існує єдиного каталогу, що описує всі відомі види. [25]

Особливий інтерес становлять таксономічно ізольовані види, не схожі на інші і тому унікальні за своєю генетичною конституцією. Ці види часто ендемічні, тобто обмежені в поширенні одним районом. Їхнє вимирання буде означати ще більшу втрату глобального біорізноманіття.

Втрата біорізноманіття загрожує нашим продовольчим запасам, індустрії відпочинку і туризму, а також джерел деревини, ліків і енергії. Крім того, втрата біорізноманіття порушує найважливіші екологічні функції, в результаті чого умови життя на планеті можуть виявитися непридатними для людини. Таким чином, збереження різноманітності живих організмів на Землі - необхідна умова виживання людини та сталого розвитку цивілізації [26, 27]

На початку XX1 століття було опубліковано глобальний звіт із оцінки екосистем світу – оцінка екосистем на порозі тисячоліття (*Millennium ecosystem assessment*). Над звітом працювало більше 1000 вчених з усього світу. У документі наведено сумну цифру 60% – стільки природних екосистем нашої планети вже є деградованими. Це вражаюча статистика, яка свідчить про те, що природа зникає з невблаганною швидкістю, і вже більшої частини її просто немає. Звіт також вказує на основні причини деградації екосистем та зниження рівня біорізноманіття, а саме:

- зміна природних місць (середовища) існування;
- глобальна зміна клімату;
- інвазійні види (розповсюдження екзотичного виду);
- переексплуатація (надмірна експлуатація);
- забруднення (техногенні впливи);
- синергійні ефекти [28].

Отже, збереження біорізноманіття вимагає збереження різноманіття на кожному з його рівнів. І збереження генетичного різноманіття є одним з ключових його завдань.

1.2 Генетичне різноманіття в системі збереження генетичних ресурсів

Дослідження генетичного різноманіття свійських тварин зосереджуються на оцінці генетичної мінливості в межах та між породами, головним чином, з метою збереження. Оцінка генетичного різноманіття між породами є важливою умовою розробки ефективних та змістовних програм збереження порід. Ефективне

управління ресурсами сільськогосподарських тварин вимагає всебічного знання характеристик порід, включаючи дані про чисельність та структуру популяції, а також генетичне різноманіття порід. У тваринництві знання генетичної характеристики та генетичної структури є першим кроком до збереженні породи і може мати наслідки для майбутніх стратегій розмноження та планів управління. Аналіз генетичною структурою популяції можна здійснити, використовуючи генеалогічну або молекулярну інформацію. У випадку відсутності або неповного родоводу краще використовувати молекулярну інформацію для характеристики поголів'я; крім того, молекулярна інформація вказує на додаткову спорідненість між тваринами.

Тиск ринку та глобалізація призвели до поступової заміни вихідних порід та популяцій новими, здебільшого, високопродуктивними породами, тим самим загрожуючи існуванню місцевих порід [29].

Збереження зникаючих видів є однією з найважливіших цілей сучасних біологічних наук, особливо в умовах стабільності природних екосистем. Зазвичай, проводяться програми збереження для порід, які мають унікальну генетичну та фенотипову цінність [30, 31]. Розуміння генетичних характеристик популяції є першорядним для інформування та реалізації стратегій збереження, що підтримують генетичне різноманіття [9]. Молекулярний аналіз базового рівня забезпечує надійний інструмент, який може бути використаний разом з кількісним підходом та традиційними стратегіями розведення для ефективного проектування стратегії збереження [10]. Поряд із родовідними аналізами, морфологічними підходами та імуногенетикою, молекулярні методи дають можливість забезпечити вдосконалення стратегії збереження та поточної програми розведення для підтримки максимальної генетичної мінливості та майбутнього адаптаційного потенціалу порід [32].

Комплексний підхід включає періодичну оцінку відомих місцевих популяцій з метою забезпечення ефективного розміру популяції та цілісності породи, документації генетичного характеру та репродуктивного управління, оскільки більшість інтродукованих тварин на досліджуваній території використовуються у селекційній роботі [33].

Інтенсифікація систем виробництва має суттєвий вплив на звуження різноманітності порід. У розвинутих країнах широко використовують усього кілька високопродуктивних порід. У більшості високопродуктивних порід

сільськогосподарськихтварин рівень генетичного різноманіття суттєво скорочується через використання обмеженої кількості плідників [7, 34].

Генетичний моніторинг і збереження генофондів диких і свійських тварин є одними з важливих завдань сучасної генетики, оскільки це збагачує інформацією щодо генетичних особливостей різних видів, уможливлює аналіз еволюційних подій, сприяє формуванню теоретичної уяви про динаміку генетичної структури у малочисельних ізольованих популяціях. [35]. При цьому, для більшості аборигенних порід немає точних відомостей що до стану популяцій цих тварин, їх чисельності, поширення, відсутній опис генотипових і фенотипових характеристик [36]. Оцінка всього спектру різноманіття, створення генетичних паспортів порід, потребує вивчення якомога більшої кількості географічно віддалених популяцій. Суттєвий внесок у характеристику алельного різноманіття порід вносять регіональні популяції, формування алелофонду яких, у більшості випадків, відбувалося, за умов відносної географічної ізоляції, на основі місцевої худоби з власним унікальним алелофондом. Крім того, на генетичну мінливість регіональних популяцій певний вплив чинять специфічні для кожного регіону абіотичні фактори [37].

Управління генетичним різноманіттям всередині популяції є ключовим фактором будь-якої програми збереження породи з метою захисту генетичних ресурсів тварин [10]. Визначення генетичних варіацій в межах видів є важливим кроком в напрямку збереження генетичних ресурсів [11]. Розуміння того, як генетична варіація розподіляється в межах популяції, є важливим і корисним для розробки стратегій розмноження та програм збереження [38].

Основна мета захисту генетичних ресурсів у рамках національної програми полягає у підтримці необхідного неспорідненого зв’язку та максимально можливого генного різноманіття [29].

Вичерпна інформація про генетичне різноманіття та структуру популяції є надзвичайно важливою для оцінки суттєвих обрисів будь-якого відповідного збереження та сталого управління племінними програмами для збереження максимальної генетичної мінливості та майбутнього адаптаційного потенціалу порід [8, 9].

Генетичні дослідження надають дані та інформацію, що використовуються в управлінні програмами збереження, з метою зменшити інбридинг та мінімізувати

втрату генетичної мінливості [39] при підборі батьківських пар та в породотворчому процесі [39, 40].

Особливий інтерес становить вивчення популяційно-генетичних закономірностей в малих та ізольованих популяціях, що знаходяться на межі зникнення, а також, таких, які мають унікальну генетичну та фенотипову цінність [30], адже дозволяє досить адекватно оцінювати і підтримувати рівень генетичної різноманітності [41]. Бо дію факторів, що порушують генетичну рівновагу (дрейф генів, проходження через «пляшкове горлечко», випадкова загибель особин та ін.) в таких популяціях може бути легко відслідковано [12]

Поряд з підтримкою ефективної чисельності породи, збереження популяцій місцевих порід багато в чому залежить від рівня генетичного різноманіття, що забезпечує необхідні пристосувальні якості та здатність до розмноження в широкому діапазоні несприятливих кормових і природно-кліматичних умов [12, 41].

Зміни умов у виробничих системах, а також значна конкуренція серед порід створюють очікування ризиків, які негативно впливатимуть на їх виживання та можуть призвести до втрати мінливості через стохастичну вибірку, особливо коли кількість відтворюваних осіб є обмеженою [42, 43].

Збереження генетичних ресурсів тваринництва відбувається в генофондних банках, генофондних колекційних стадах, в яких здійснюється чистопородне розведення тварин з використанням спеціальних селекційних схем, спрямованих на зменшення негативних наслідків обмеженої чисельності племінних тварин, накопичення і довготривале зберігання генетичного матеріалу (сперми, ооцитів, ембріонів, зразків ДНК) .

Перед фахівцями постало якісно нове завдання — не лише забезпечити характерний рівень продуктивності аборигенних порід, популяцій та субпопуляцій, а й зберегти їхню життєздатність у багатьох поколіннях. Вирішити його можна лише спираючись на системний підхід, в основі якого має бути теоретична модель управління популяцією, як великою макросистемою, що перебуває у функціональній єдності із середовищем і об’єктивно залучена в економічні відносини суспільства. Головним стратегічним напрямом селекційної роботи із локальними породами сільськогосподарських тварин в Україні є формування внутрішньопородної генеалогічної структури з кількох дивергентних за генофондом субпопуляцій [7].

До об’єктивних чинників звуження біорізноманіття у тваринництві належить на 15–20% вищий показник конверсії корму у тварин аборигенних порід порівняно зі спеціалізованими комерційними, що зумовлює збільшення собівартості продукції і робить розведення цих порід економічно невигідним, тим самим загрожуючи їхньому існуванню. З огляду на об’єктивну неспроможність аборигенних порід конкурувати з кращими вітчизняними та зарубіжними породами за основними продуктивними показниками інвестори господарств, де утримують генофондних тварин, активно намагаються повністю їх позбутися [7].

При виконанні програм НААН «Збереження генофонду сільськогосподарських тварин» необхідно посилити дослідження з генетичного вдосконалення локальних і зникаючих порід сільськогосподарських тварин зі збереженням їх біологічної своєрідності, селекційно-генетичного моніторингу потенціалу продуктивності тварин, резистентності, адаптованості та вивчення параметрів їхнього онтогенезу з комплексним застосуванням генетичних тестів [5, 7, 44].

Вдале вирішення проблеми збереження генетичних ресурсів вітчизняного тваринництва саме сьогодні, як ніколи, перебуває під великою загрозою. Інвестори, що приходять у господарства, де утримуються генофондні тварини, з огляду на їхню об’єктивну неспроможність, насамперед аборигенних порід, конкурувати з кращими вітчизняними й зарубіжними породами за основними продуктивними показниками, активно намагаються повністю їх позбутися, що викликає необхідність їхнього відповідного законодавчого захисту [5]. Важливим для селекційної роботи є, також, оцінка генетичної варіабельності в генофондних популяціях, які є носіями цінних комбінацій генів, загублених в промислових лініях і породах. Отримання даних щодо генетичних взаємин в різних популяціях дозволяє краще зрозуміти породотворчий процес, прогнозувати розвиток порід і планувати селекційно-генетичну роботу з існуючими породами [11].

Потреба подальшого збереження аборигенних порід зумовлена тим, що вони мають унікальний комплекс господарсько цінних ознак, які можна використовувати у селекційно-племінній роботі, як для створення нових, так і для поліпшення наявних порід та породних груп [6, 45-47].

Практично кожна аутохтонна порода – це резерв спадкових якостей, використання яких наразі є неможливим, але може бути потрібним в майбутньому [48, 49]. Такі ознаки аутохтонних порід, як пристосованість до місцевих умов

відтворення, висока якість продукції, легкість отелів, міцна конституція, плодючість можуть знайти застосування при селекції нових порід пристосованих до змінних технологій і умов відтворення [49]. Вивчення генофонду аутохтонних порід, необхідне для пошуку генних асоціацій, пов'язаних з продуктивністю, стійкістю до різних біотичних та абіотичних факторів, що в подальшому може бути використане в селекції [50, 51]. Отже, аутохтонні породи втілюють важливі генетичні ресурси та управляються за допомогою програм збереження [29].

Зникнення видів – це незворотні втрати генетичних ресурсів, накопичені впродовж мільйонів років еволюції. При цьому, одночасно з втратою цілих видів відбувається зниження генетичного різноманіття видів, що зберігаються, кожен з яких характеризується унікальним набором генів (генофондом) [52]. Оцінка генетичного різноманіття важлива як для диких, так і свійських видів і популяцій, адже процес зменшення внутрішньовидового генетичного різноманіття, в першу чергу, стосується свійських видів тварин і призводить до втрати аутохтонних, високо адаптованих до локальних умов розведення порід [53]. Збереження останніх є необхідним адже саме вони залишаються єдиним джерелом генів та генних комплексів втрачених високопродуктивними породами внаслідок вибіркової селекції за цільовими (окремими для кожного виду) ознаками. Крім того, постійно змінюються вимоги до свійських видів (нові види продуктів харчування, їх собівартість і т. д.), відбуваються зміни в управлінні та забезпеченні тваринництва (механізація, вдосконалення технологій виробництва), зміни гігієнічних і екологічних вимог (нові види хвороб, вакцини, зміна зовнішнього середовища) [54].

Результати сучасних досліджень в галузі генетики, фізіології, біохімії, імунології, морфології вказують на необхідність збереження і підтримки біорізноманіття форм живих організмів. При цьому важливо зберегти не тільки унікальні гени, але і генні комбінації, які можуть допомогти у вивченні механізмів процесу еволюції, онтогенезу, поведінки, природного і штучного відборів [50]. Крім цього, наприклад, поліморфізм забарвлення у деяких свійських видів може вказувати на шляхи заселення конкретних територій, а аборигенні породи можуть розглядатися як цінні пам'ятки культури і природи (жива культурна спадщина) [51].

В межах Продовольчої і сільськогосподарської організації ООН (FAO) в 1983 році було створено міжурядовий форум – «Комісія з генетичних ресурсів для виробництва продовольства і ведення сільського господарства», яка проводить

моніторинг генетичної різноманітності світових ресурсів [55]. З метою обліку та моніторингу породних ресурсів створено Глобальний банк даних генетичних ресурсів свійських тварин і публікується «Всесвітній список спостереження за різноманітністю свійських тварин» («World Watch List for Domestic Animal Diversity») [56, 57]. Інформація про породи тварин і птахів збирається для банку даних по всіх країнах через національних координаторів і добровільних помічників-фахівців, а «Всесвітній список спостереження за різноманітністю свійських тварин» постійно оновлюється [58, 59].

У 1995 році створена під егідою FAO робоча група експертів запропонували план Глобального проекту з підтримки (оцінки) генетичного різноманіття свійських тварин (*Global Project for the Maintenance (or Measurement) of Domestic Animal Genetic Diversity*, скорочено — *MoDAD*) [57]. Завданням Проекту була кількісна оцінка генетичного різноманіття серед порід основних 14 видів тварин, що розводиться людиною, включаючи чотири види птахів. Для цього передбачалося генотипування від 6 до 50 порід кожного виду за допомогою 30 мікросателітних маркерів. Прикладами успішної апробації та втілення рекомендацій робочої групи *MoDAD* стали результати наукового проекту європейського консорціуму *AVIANDIV* (з дослідження генетичного різноманіття більш ніж 50 популяцій курей) а також низки інших досліджень [57, 60-63].

Згідно визначення комісії FAO з генетичних ресурсів у сфері продовольства й сільського господарства керування генетичним різноманіттям тварин є необхідною умовою для глобальної продовольчої безпеки, сталого розвитку й забезпечення існування людства [57]. В нашій країні, ще у 1993 р. створено Центр генетичних ресурсів рослин України, на базі Інституту рослинництва ім. В. Юр’єва [64] та Банк генетичних ресурсів тварин на базі Інституту розведення і генетики тварин з філіями у регіонах України, який віднесений до наукових об’єктів, що становлять національне надбання (розпорядження КМУ від 19.08.2002р. № 472-р.) [65-67] що є обов’язковим для кожної країни згідно Глобального плану дій та Інтерлакенської декларації (Інтерлакен, Швейцарія, 3 – 7 вересня, 2007) [5, 34, 44, 68-70]

У тваринництві будь-якої країни генетичні ресурси є одним із найдорожчих і стратегічно найважливіших багатств [6, 47]. Як вже зазначалось, проблема збереження біологічного різноманіття має загальнопланетарне значення й знайшла своє відображення в міжнародній Конвенції збереження біологічного різноманіття

(Ріо-де-Жанейро, 1992), підписаній 167-ма державами з 179-ти присутніх і ратифікованій Верховною Радою України 29 листопада 1994 р (Закон України № 257-94-ВР від 29.11.1994 р.). У теоретичному аспекті загальні концептуальні підходи до проблеми генетичного різноманіття на видовому рівні істотно відрізняються від внутрішньовидових. Щодо видової мінливості найбільшу цінність становлять гени, які визначають оригінальні риси порід, а для сільськогосподарського використання тварин найбільшої уваги заслуговує та генетична мінливість, яка забезпечує різноманітність генів, безпосередньо або опосередковано пов'язаних з формуванням продуктивних ознак. За генетичними особливостями можна вирізнити 2 якісних рівні організації популяції: генетично стабільні популяційні системи і елементарніші їх структурні складові — мінливіші (нестабільні) популяційні одиниці [6]. Така субпопуляційна організація є дуже потужним фактором підтримки генотипової стабільності ізольованої популяції. Питання про оптимальну структуру популяції залишається важливим і актуальним як у зв'язку із збереженням порід свійських тварин, так і для розкриття їх генетичного потенціалу через систему схрещувань. С. Четвериков підкреслював, що за умов поділення загальної чисельності даного виду на ряд ізольованих колоній частота виникнення нових генних варіацій у межах усього виду не постраждає. Більше того, вірогідність виявлення таких генних варіацій буде значно вища, якщо кількість особин у колонії буде меншою [71]. М. Дубінін і Д. Ромашов експериментально це підтвердили у теорії генетико-автоматичних процесів [47]. Р. Фішер і С. Райт також дійшли аналогічних висновків [72, 73]. Подальшого розвитку цей напрям одержав у дослідженнях О. Колмогорова, Г. Холдейна та ін. [74, 75]. О. Серебровським уперше запроваджено науковий термін «генофонд» і порушено питання щодо організації спеціалізованих господарств для збереження генофонду сільськогосподарських тварин [76]. Таким чином створено теоретичну та методичну базу популяційної генетики, одним із основних завдань якої є вивчення генетичної стабільності та змін у популяціях. Українськими вченими розроблено концептуальні засади збереження генофонду тварин, орієнтовані на сучасні уявлення щодо генофонду тварин, як елементу біорізноманіття і його потенційної ролі у вирішенні завдань сільськогосподарського виробництва [77, 78]. Проте сучасні умови експлуатації свійських тварин стають все жорсткішими. З одного боку, через антропогенний вплив змінюється сама природна складова навколишнього

середовища, з іншого, — кон’юнктура ринку потребує біологічної уніфікації популяцій, які розводять [7].

Не є винятком у цьому процесі й Україна, де орієнтація на комерційні породи для інтенсифікації виробництва тваринницької продукції призвела до витіснення місцевих порід. Уже зникло 16 вітчизняних порід і породних груп (14,3% світового списку) 5-ти видів сільськогосподарських тварин, а саме: 4 породи коней — германо-бессарабська, ногайська, стрілецька та тарпан; 3 породні групи свиней — дніпровська, кролівецька, подільська та українська локальна популяція європейської коротковухої свині; 3 породи великої рогатої худоби — чорно-ряба подільська, гуцульська та українська білоспинна; 3 породи овець — чунтук, мазаєвський меринос і решетилівська; 2 породи кіз — асканійська мохерова і кримська. У племінному тваринництві лише 118 (19,8%) породних популяцій — поза зоною ризику істотного зменшення поголів’я [7].

У більшості високопродуктивних порід сільськогосподарських тварин рівень генетичного різноманіття істотно скорочується через використання обмеженої кількості плідників. Вважають, що фактори впливу на навколишнє середовище у світі залишаться сталими, а зміни клімату викличуть нові проблеми із адаптацією порід [34]. Основні причини звуження генетичного різноманіття виробничого поголів’я тварин полягають у площині суб’єктивної мотивації їхнього розведення. Якщо у природних популяціях вектор добору спрямований на максимальну пристосованість тварин до умов середовища, то за розведення культурних порід селекціонери зорієнтовані на кон’юнктуру ринку, яка часто не враховує процеси, що відбуваються у природних популяціях. Зниження адаптаційних можливостей культурних порід тварин є розплатою за спрямованість селекційного добору тварин переважно за ознаками продуктивності. Порівняно легкий доступ до селекційних досягнень інших країн, який дає змогу проводити інтенсивне перетворення наявних порід і окремих популяцій тварин, вже приніс у вітчизняне скотарство небажані наслідки, пов’язані з окремими вадами високопродуктивних спеціалізованих порід, зокрема хворобами і синдромами, викликаними генетичними дефектами. Так, точкова мутація гена *BLAD* — *Bovine Leukocyte Adhesion Deficiency* (адгезія лейкоцитів великої рогатої худоби) призводить до того, що у її носіїв виражена схильність до респіраторних захворювань, діареї, а гомозиготи за цим геном гинуть у перші місяці життя. Носіями такої мутації вже у 1995 р. були 15% племінних бугаїв і 6% корів США, у Німеччині — до 30, в

Україні — 3,2%. Більша собівартість тварин аборигенних порід порівняно із спеціалізованими комерційними, робить розведення цих порід економічно невигідним, тим самим загрожуючи їх існуванню [7].

1.3 Значення та методи оцінки генетичного поліморфізму

Генетичний поліморфізм здебільшого визначають, як менделівську ознаку, що зустрічається в популяції принаймні в 2 варіантах з частотою не менш 1% для кожного [79]. Але поруч з даним визначенням існує багато інших. Так, на думку М.В. Тимофеєва-Ресовського та Ю.М. Свірежева генетичний поліморфізм – це співіснування в межах популяції двох або декількох різних спадкових форм, що знаходяться в динамічній рівновазі протягом декількох і навіть багатьох поколінь. Найчастіше генетичний поліморфізм обумовлюється або спрямованістю відбору в різних умовах, або підвищеною відносною життєздатністю гетерозигот. Розрізняють декілька форм генетичного поліморфізму, аналіз яких дозволяє визначати дії відбору в природних популяціях [80]. На думку Баранова зі співавт. генетичний поліморфізм – це генетична варіабельність, обмежена одним видом [81], інші автори вважають, що генетичний поліморфізм – це довготривале існування в популяції двох і більше генотипів, частоти яких достовірно перевищують ймовірність виникнення відповідних повторних мутацій [82, 83].

Поліморфною ознакою називають менделівську (моногенну) ознаку, за якою в популяції присутні що найменше два алелі, причому жоден з них не зустрічається з частотою менше 1% (тобто не є рідкісним). Ці два генотипи знаходяться в стані тривалої рівноваги. Спадковий поліморфізм створюється мутаціями і комбінативною мінливістю. Часто в популяціях присутні більше ніж два алелі за одним локусом. Альтернативне поліморфізму явище – існування рідкісних генетичних варіантів, присутніх в популяції з частотою менше 1% [84].

Поліморфними називають гени, які представлені в популяції кількома різновидами – алелями, що обумовлює різноманітність ознак всередині виду [85]. Відмінності між алелями одного і того ж гена, здебільшого, полягають в незначних варіаціях його «генетичного» коду. Велику частку в генетичний поліморфізм вносять заміни одного нуклеотиду на інший і зміни числа повторюваних фрагментів ДНК, які здійснюються в усіх структурних елементах геному: екзонах, інтронах, регуляторних ділянках і т. д. Між послідовностями ДНК двох особин, якщо тільки вони не є однояйцевими близнюками, існують мільйони відмінностей [85].

Дійсна широта генетичної різноманітності вперше стала очевидною, коли було показано існування кількох структурних ізоформ для багатьох білків. Наявність ізоформ обумовлено існуванням в популяції множинних варіантів гена (алелів) цього білка. Алелі мають ідентичну локалізацію в гомологічних хромосомах.

Поняття поліморфізму розширилося з відкриттям надзвичайної мінливості послідовностей ДНК. У геномах різних особин відмінною може бути лише 1 з 100-200 пар нуклеотидів. Сучасні методи дозволяють виявити заміни окремих нуклеотидів в кодуючих ділянках, які можуть бути несмисловими або викликати зміну амінокислотної послідовності. Поліморфізм ДНК ще більш виражений в некодуючих ділянках геному, вплив яких на експресію генів є невеликим або його немає взагалі. Крім заміни окремих нуклеотидів в основі поліморфізму ДНК лежать вставки, делеції та зміна кількості тандемних повторів.

Виражені популяційні та індивідуальні відмінності геномів, як їх змістовної частини (екзонів), так і некодуючих ділянок (міжгенних проміжків, інтронів та ін.) обумовлені різними мутаціями, що приводять до генетичного поліморфізму.

Генетичний поліморфізм може бути якісним, коли відбуваються заміни нуклеотидів, та кількісним, коли в ДНК варіює число нуклеотидних повторів різної довжини. Обидва види зустрічаються, як в смислових (білок-кодуючих), так і у по за генних послідовностях молекули ДНК [86].

Якісний генетичний поліморфізм представлений переважно однонуклеотидними замінами, так званими single nucleotide polymorphism (SNP) [86]. Це найпоширеніший генетичний поліморфізм, за його допомогою досліджують походження видів, історію доместикації, маршрути розселення планетою, геногеографію, еволюцію геномів [87-90].

Кількісний генетичний поліморфізм представлений варіаціями кількості тандемних повторів (*STR – Short Tandem Repeats*) у вигляді 1-8 нуклеотидів на корову (повторювану) одиницю – так звана мікросателітна ДНК. Повторів ДНК, що мають велику протяжність, 10-100 п.н (так звані VNTR – Variable Number Tandem Repeats)– мінісателітна ДНК, та над довгих, розміром від 100 нуклеотидів – для даного поліморфізму використовують термін сателітна або макросателітна ДНК (*CNV – Copy Number Variation* та ін.) [81, 91, 92].

Здебільшого, кількісний генетичний поліморфізм стосується некодуючих ділянок геному. Виняток становлять лише тринуклеотидні повтори. Найчастіше це

CAG (citosine-adenine- guanine) - триплет, який кодує глютамінову кислоту. Вони можуть зустрічатися і в кодуючих послідовностях низки структурних генів.

Передбачається, що близько половини всіх SNP (5 млн) припадає на смислову(кодуючу) частину геному [89, 90, 93-96].

На сьогодні, добре відомо, що поліморфізм є характерним практично для всіх генів. Більш того, встановлено, що він має виражену популяційну специфіку. Ця особливість дозволяє широко використовувати поліморфні генні маркери в популяційних дослідженнях [89]. Поліморфізм, який стосується смислової частини генів, нерідко призводить до заміни амінокислот і до появи білків з новими функціональними властивостями. Суттєвий вплив на експресійну активність генів можуть чинити заміни або повтори нуклеотидів в регуляторних (промоторних) ділянках генів.

Як показали дослідження, однонуклеотидні заміни (SNP) та короткі тандемні повтори (STR) є домінуючими, але аж ніяк не єдиними варіантами поліморфізму в геномі. Нещодавно з'явилося повідомлення про те, що близько 12% всіх генів присутні більш, ніж в двох копіях. Отже, реальні відмінності між геномами різних особин, швидше за все, істотно перевищують раніше постулюємі 0,1% [97]. Виходячи з цього, зараз вважається, що близькість неспоріднених геномів становить не 99,9%, як вважалося раніше, а приблизно дорівнює близько 99,0%. Особливо дивним виявився факт, що варіювати в геномі можуть не тільки число копій окремих генів, а й цілі фрагменти хромосом розмірами 0,65-1,3 Мегабаз (1 Мгб = 10^6 п.н.). За допомогою методу порівняльної геномної гібридизації на чіпах, що містять ДНК-зонди, відповідні всьому геному, отримані дивовижні дані, що доводять поліморфізм індивідуальних геномів за великим (5-20 Мгб) фрагментами ДНК.

Зв'язок стану генофонду з екологічною обстановкою відображається на його генному різноманітті, як окремого генотипу, так і генофонду в цілому. Вивчення цього аспекту реалізується шляхом порівняння генофондів не лише за складом генів в них, але і в динаміці просторово-часових процесів пов'язаних зі змінами генетично значущих екологічних факторів [98]. В останні роки актуальності набув пошук зв’язків генетичних поліморфізмів з підвищеною здатністю тварин до адаптації до несприятливих або мінливих умов навколишнього середовища [52]. Встановлено, що порушення в системі контролю над процесами репарації ДНК і апоптозу можуть бути

наслідком не лише генетичних й епігенетичних порушень, а й варіабельністю функціонування генів, обумовленою генетичним поліморфізмом [99, 100].

1.4 Генетичні маркери їхні властивості та області застосування

Першим теоретичне обгрунтування використання генетичних маркерів або «сигналей» було дано А.С. Серебровським: «… сигналями ми називаємо зручні для менделистичних спостережень альтернативні гени з більш менш відомою локалізацією, котрі, не впливаючи на вивчаєму трансгресуючу ознаку і впливаючи достатньо певним чином, полегшують генетичний аналіз цієї ознаки, дозволяючи слідкувати за успадковуванням тієї ділянки хромосоми, де ці сигналі розташовані» [101].

Є 3 типи генетичних маркерів:

1. Класичний генетичний маркер відповідає гену, алелі якого мають чітко виражені відмінності на рівні фенотипу.

2. Білковий маркер відповідає гену, алелі якого мають відмінності (різну молекулярну масу) на рівні білкового продукту.

3. Молекулярний маркер відповідає гену або не кодуючої ділянки геному, різні варіанти (алелі) якого відрізняються на рівні ДНК [102].

Першим типом генетичних маркерів були морфологічні (фенотипові) ознаки, що контролюються “простими” локусами геному саме за їхньою допомогою було відкрито класичні генетичні закони (закони Менделя) та побудовано першу генетичну карту (карта геному *Drosophilla melanogaster*). [35, 103]. До недоліків даного типу маркерів відносяться залежність від умов зовнішнього середовища, їхня відносно невелика кількість, наявність лише двох алельних варіантів та складний характер успадковування [104].

Відкриття методів розділення біологічних макромолекул за допомогою електрофорезу дозволило створити нові тест-системи, що дозволили аналізувати генетичний поліморфізм на рівні продуктів генів (білковий або біохімічний поліморфізм) [103]. Біохімічні маркери – білки, продукти експресії окремих генів, алельні варіанти яких розділяють за допомогою електрофорезу. Як біохімічні маркери використовують запасні, структурні білки та ізоферменти [104-109]. В основі даного методу лежить принцип електрофоретичного розділення. [110-112].

Подальший розвиток, як генетичної науки загалом, так і генетичних маркерів, пов’язаний з відкриттям методів розділення біологічних макромолекул, гібридизації,

сиквенування (визначення первинної нуклеотидної послідовності), полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) та ін. Завдяки ним став можливим аналіз генетичного поліморфізму на рівні безпосередньо генетичного матеріалу клітини (поліморфізм ДНК). Застосування ДНК-маркерів дозволяє вирішити проблему маркування будь-якої ділянки ДНК та насичення геному маркерами. Дана маркерна система дає можливість досліджувати будь-які тканини та органи на будь-якому етапі розвитку організму В основі поліморфізму ДНК лежать спадкові зміни, зумовлені замінами нуклеотидів чи перебудовами ДНК-послідовностей (інсерції, делеції, транспозиції, дуплікації, інверсії, транслокації) [35]. Роль молекулярних маркерів в сучасній генетиці важко переоцінити. З їх допомогою складені докладні молекулярні мапи геному людини і десятків видів рослин і тварин, на які нанесено найважливіші гени, що визначають зростання і розвиток організмів, морфологічні ознаки, стійкість до захворювань та інші властивості. Молекулярні маркери широко використовуються в популяційній генетиці, порівняльній генетиці і геноміці, в філогенетичних дослідженнях. Завдяки молекулярним маркерам розширюються можливості медичної діагностики, з'являються нові більш точні методи паспортизації порід тварин і сортів рослин, створення генетичних мап, мапування цільових генів, в селекційному процесі (MAS, marker assisted selection), популяційній генетиці, філогенетичних дослідженнях, біотехнології та ін. [113-117]. Використання молекулярних маркерів дозволяє значно прискорити процес селекції [118-123].

Еволюція молекулярних маркерів відбувається в напрямку збільшення швидкості, простоти, дозволяючої здатності та зниження вартості аналізу. Універсальний ДНК-маркер повинен відповідати комплексу характеристик: бути високо поліморфним для виявлення генетичного різноманіття; мати кодомінантний тип успадковування; повинен бути розподілений геномом випадково і часто; його прояв має бути нейтральним; метод його визначення повинен бути простим і дешевим у використанні; має володіти високою відтворюваністю; повинен дозволяти обмін результатами між лабораторіями [124]. Вибір маркерів залежить від поставлених завдань і визначається виходячи з наступних критеріїв: варіабельність і кількість необхідних маркерів, необхідність в їх кодомінантності, відповідні вимоги до біологічного матеріалу і виділяємої ДНК, розмір геному; практичні – ефективність аналізу, вартість та відповідне технічне забезпечення [125]. Зважаючи на те, що жоден з відомих наразі генетичних маркерів з високим ступенем не відповідає всьому

спектру перерахованих критеріїв. Інформативні результати, здебільшого, отримуються за використання кількох типів ДНК маркерів. Тенденцією сучасних досліджень із залученням молекулярних маркерів є використання двох і більше типів маркерів, що призводить до більш однозначних, достовірних результатів [124].

Загалом, всі відомі методи аналізу поліморфізму ДНК можна розділити на підходи, в яких використовується реакція гібридизації – RFLP та VNTR, і методи, які базуються на застосуванні ПЛР (RAPD, AFLP, SSR, ISSR, SNP, CAPS, SCAR, на основі ретротранспозонів та ін.) [124].

Метод експоненційної *in vitro* ампліфікації ділянок ДНК, який дістав назву полімеразна ланцюгова реакція – ПЛР (PCR – *polymerase chain reaction*), було вперше детально описано 1974 року А. Панетом і Х. Кораною [126], як альтернативний спосіб хімічного синтезу генів [127]. Однак прийнято вважати, що полімеразну ланцюгову реакцію у класичному розумінні цього терміну вперше описано 1985 року К. Мюллісом [128], який запропонував процедуру для синтезу великої кількості копій окремої відносно короткої ділянки ДНК за досить короткий проміжок часу. За що 1993 року К. Мюлліса було винагороджено Нобелівською премією [129].

Процес ампліфікації складається з послідовних циклів денатурації ДНК, гібридизації коротких олігонуклеотидних праймерів із ДНК матрицею та синтезу нового комплементарного ланцюга. Теоретично, кількість ампліфікованих ділянок подвоюється в кожному наступному циклі і після проходження 30 циклів ампліфікації утворюється 109 копій [130, 131]. На практиці реальна кількість копій ампліфікованого фрагменту дещо менша і становить приблизно 106–107 [132]. Це пов'язано з так званим “ефектом плато” – виснаженням чи деградацією, інактивацією хімічних реагентів реакційної суміші. Але такої кількості синтезованої ДНК цілком достатньо для наступних молекулярно-біологічних маніпуляцій – сиквенування, клонування, рестрикційного аналізу та ін. [133].

Спочатку для ПЛР, як ДНК-полімеразу використовували фрагмент Кленова – великий білковий фрагмент, що утворився за ферментативного розщеплення ДНК-полімерази з *Escherichia coli* протеазою субтілізином (subtilisin) [134]. Оскільки цей фермент є термолабільним, дослідникам доводилося додавати полімеразу після кожного циклу ПЛР. Відкриття термостабільної полімерази (*Taq*-полімерази), виділеної з термостійкої бактерії *Thermus aquaticus* [135], дало змогу автоматизувати процес ампліфікації і розробити велику кількість підходів і напрямів використання

ПЛР. Відповідно до особливостей проведення полімеразної ланцюгової реакції, їх умовно можна розділити на специфічну ампліфікацію і ПЛР з довільними праймерами. Під час вирішення конкретних завдань ці підходи доповнюють один одного [131, 136-139].

Кількість копій обраної ділянки ДНК за рахунок ПЛР може бути збільшена у 10^8–10^9 разів, що уможливлює її візуальну детекцію [35].

Метод ПЛР має наступні переваги:

– ДНК можна екстрагувати з будь-якого, навіть деструктурованого біологічного матеріалу (тканини, харчові продукти, об’єкти довкілля);

– для проведення різноманітних аналізів може бути використаний набір аналогічних приладів і доступний набір реактивів;

– для проведення аналізу достатніми є „мікрокількості” виділеної ДНК;

– тривалість дослідження ДНК становить 6-8 год, а за деякими методиками – не більш як 3 год [140].

Числені модифікації методу ПЛР було взято за основу для створення різних типів ДНК-маркерів, які наразі широко застосовуються в багатьох галузях біології та медицини. Простота, висока чутливість і відтворюваність швидко перетворили метод ПЛР на один з найбільш перспективних дослідницьких методів [35].

Здебільшого ПЛР поділяють на сайт-специфічну (асиметрична ПЛР, ПЛР у реальному часі та ретротранспозонна ПЛР) та ПЛР довільними праймерами (RAPD, ISSR, AFLP, DAF та AP-PCR) [141].

RFLP (restriction fragment length polymorphism; поліморфізм довжини рестрикційних фрагментів) – перший метод молекулярних маркерів для профілювання ДНК. Метод заснований на техніці розщеплення за допомогою особливих рестрикційних ферментів (ендонуклеаз рестрикції) молекул ДНК, що розрізняються в гомологічних ділянках і відповідно місць рестрикції, і порівнянні довжин отриманих фрагментів різних видів і навіть ліній живих організмів. Отримані фрагменти розділяються електрофоретично. Після перенесення на нітроцелюлозну мембрану вони ідентифікуються за допомогою гібридизації з радіоактивно міченими ДНК-зондами (Southern blotting). Гібридизація дозволяє визначати довжини фрагментів, комплементарних зразкам [141]. Кожен фрагмент розглядається як алель і використовується в генетичному аналізі. Достатній ступінь поліморфізму, кодомінантність, частота і рівномірність розподілу , висока відтворюваність

дозволили використовувати метод в ДНК профілізації, мапуванні геному, локалізації генів, що мають відношення до хвороб, генотипуванні, вивченні філогенезу [142-145]. Високий консерватизм RFLP-маркерів уможливлює їх використання в порівняльному картуванні споріднених видів. Наприклад, створення детальних генетичних мап багатьох рослин дало змогу порівняти між собою низку геномів завдяки використанню спільного набору RFLP-зондів [146, 147]. RFLP-метод широко використовується для проведення філогенетичних досліджень та аналізу генетичної дивергенції, як між індивідами всередині певного виду або популяції, так і між спорідненими видами. Завдяки випадковому розподілу всередині геному та досить великій кількості маркерів, метод RFLP виявився зручним інструментом генетичного мапування [148, 149], дослідження генетичних взаємовідносин між близькими таксонами [150-153], вивчення генетичної гібридизації та інтрогресії [154-156]. Згідно PubMed даних (plant+RFLP), максимальну кількість публікацій з використанням цих маркерів припадає на 2003-2005 рр. До недоліків методу відносяться необхідність великої кількості ДНК високої якості, використання ізотопів, тривалість аналізу та ін.

VNTR (*variable number of tandem repeats*; варіації кількості повторюваних мотивів) – диспергованi геномом тандемні послідовності, що складаються з варіативних за кількістю й складом тандемних повторів (мотивів) [157, 158] розмір повторів яких становить здебільшого – 11–60 п.н. [159], які ще називають мінісателітами ДНК,аналіз яких методологічно не відрізняється від RFLP так само здійснюють рестрикцію геномної ДНК та наступну гібридизацію. Це дає змогу отримувати специфічну картину гібридизації ДНК, характерну для конкретних особини. Велика кількість мінісателітних послідовностей є високо консервативними, що може бути використаним для виявляння гомологічних послідовностей у геномах різних видів живих організмів [160-162]. Що разом з гіперваріабельністю та локус-специфічністю [163, 164] дає змогу використовувати ці ділянки геному для проведення маркування особин у контексті вивчення генетико-популяційних параметрів у багатьох галузях науки [165, 166]

Здебільшого механізмами виникнення та підтримання поліморфізму в мінісателітах вважаються нерівний кросинговер та генну конверсію [167-170]. Монолокусні мінісателіти також є високоінформативними та використовуються для аналізу груп зчеплення генів [171-176].

Сайт-специфічна ПЛР означає ампліфікацію попередньо детермінованих послідовностей з відомою геномною локалізацією [177-179]. Мішенню виступає один конкретний або декілька сайтів ампліфікації (мультиплексна ПЛР) [180-186]. Так, наприклад, у разі ампліфікації мікросателітних повторів використовують праймери, що обмежують окремий мікросателітний локус. Асиметричну ПЛР застосовують для отримання продуктів ампліфікації в одноланцюговій формі. Суть полягає в тому, що один із двох праймерів для ПЛР береться у 100-кратному надлишку. На початкових циклах реакції відбувається утворення дволанцюгової ДНК і експоненційне збільшення її кількості. Як тільки пул лімітованого праймера вичерпується (приблизно до 20-го циклу), починається утворення одноланцюгової ДНК. Її накопичення носить лінійний характер, проте цієї кількості виявляється достатньо для отримання одноланцюгової ДНК [35**]**

Ретротранспозонна ПЛР **(RT-PCR)** Розробка і використання різних типів молекулярних маркерів базуються на виявленні змін в геномних послідовностях, що в свою чергу передбачає, в тому числі, екстинцію (випадіння) і подальшу вставку послідовностей ДНК. Причиною цих подій можуть бути ретротранспозони. Ретротранспозони є невід'ємною і досить значною частиною геному всіх живих організмів. Маркери на основі ретротранспозонів успішно використовуються для аналізу генетичних взаємозв'язків, філогенезу, видового різноманіття, при створенні генетичних мап і ідентифікації генів [187-191], діагностиці генетичних захворювань, кількісному та якісному аналізі РНК-копій клітин або тканин [35, 192, 193]. Оскільки РНК є термолабільною (руйнується під час нагрівання), RT-PCR проводять у два етапи. На першому етапі RT-PCR (реакція синтезу першого ланцюга) синтезують комплементарну ДНК копію молекули РНК – кДНК. Далі матрицю кДНК використовують у класичній ПЛР. Залежно від поставленої мети (клонування, визначення рівня експресії окремих генів, детекція РНК патогенних мікроорганізмів та ін.) використовують три види праймерів: з випадковою послідовністю нуклеотидів, оліго(dT) праймерів та праймерів зі специфічною послідовністю [35].

Усюдисуща природа ретротранспозонів і залученість до створення геномного різноманіття за допомогою інтеграції великих сегментів ДНК в розосереджені локуси хромосом роблять їх ідеальними для створення на цій основі декількох типів молекулярних маркерів. Так, ***IRAP*** (inter-retrotransposon amplified polymorphism) генерує ПЛР продукти між двома сусідніми ретротранспозонами [194]. ***REMAP***

(retrotransposon-microsatellite-amplified polymorphism) використовує один LTR (long terminal repeat) праймер й інший «приєднаний» до 3'кінця SSR послідовності, виявляючи ретротранспозони, інтегровані поблизу цієї SSR послідовності [195]. ***iPBS*** ампліфікація базується на присутності в сайті зв'язування праймеру зворотної транскриптази в ділянці LTR ретротранспозонів. ***SSAP*** (sequence-specific amplified polymorphism) є похідним AFLP, ампліфікуючи продукти між місцем інтеграції ретротранспозонів й місцем рестрикції, до якого «прив'язаний» адаптер [196].

ПЛР у реальному часі (Real-Time PCR/**RT-PCR**) – уможливлює детекцію продуктів ампліфікації під час проведення реакції та ведення моніторингу кінетики накопичення ампліконів у кожному циклі. Для детекції ПЛР-продуктів використовують флуоресцентні барвники, які забезпечують репортерну флуоресценцію, котра прямо пропорційна кількості ПЛР- продуктів [197].

ПЛР з довільними праймерами поєднує різні підходи, що дають змогу одержувати специфічні для окремих зразків ДНК (геномів) мультилокусні фінгерпринтні спектри або профілі довільно ампліфікованих продуктів. Для цього типу ампліфікації може використовуватися один чи декілька довільних праймерів або комбінація довільного і спрямованого праймеру до специфічних, але невідомих сайтів у геномі. ДНК-фінгерпринт дає змогу вивчати комбінаторні характеристики ДНК за прямим розміщенням нуклеотидних послідовностей, які зазвичай належать до гетерохроматину, котрий не підпадає під дію добору, але досить широко представлений в геномі у вигляді частих повторів. Найбільш перспективними напрямами ДНК-фінгерпринту є метод випадкових праймерів – RAPD [198] та його численні модифікації, AFLP та ін. [199]. До основних модифікацій методу RAPD належать ISSR [199], DAF [200] та AP-PCR [201].

Розвитком **RFLP** анализу став метод ***CAPS*** (cleaved amplified polymorphic sequence) – ампліфікація в ПЛР послідовностей, вирізаних за місцем рестрикції відповідних нуклеотидних послідовностей поліморфних гомологічних ділянок. Відмінності проявляються в легко помітних по довжині продуктів – фрагментів ДНК при електрофорезі. CAPS маркери є кодомінантними і дозволяють виявляти поліморфізм у великій кількості особин. Наприклад, розробка CAPS маркерів на основі послідовностей певних генів і EST послідовностей дозволила створити відповідні пари праймерів, за допомогою яких було встановлено автентичність 67 сортів чаю (95%), культивованих в Японії [202]. Даний тип маркерів допомагає

виявленню недавньої еволюційної історії, розумінню напрямів еволюційного процесу, що обумовлює видоутворення [203]. Розробка і використання CAPS маркерів сприяє більш точному мапуванню цільових генів [204, 205].

RAPD (random amplified polymorphic DNA; поліморфні ДНК фрагменти що ампліфікуються випадковим чином) 1990 року Уільямс зі співавторами [206] вперше представили новий метод аналізу генетичного поліморфізму – RAPD-PCR, який дає змогу одержувати мультилокусні спектри за використання праймерів з довільно обраною декануклеотидною послідовністю. Для синтезу таких праймерів не потрібно знати нуклеотидні послідовності досліджуваного геному. Праймери з довільною послідовністю мають лише відповідати вимогам щодо співвідношення GC-пар (близько 60 %) і довжини. Дискретні смуги –ланцюгах ДНК. RAPD-спектри зазвичай містять від 5 до 30 смуг, які розділяють електрофорезом в агарозному гелі і візуалізують бромідом етидію (також використовують розділення продуктів ампліфікації у поліакриламідному гелі (ПААГ) з наступним фарбуванням нітратом срібла) [207].

Поліморфізм RAPD-маркерів обумовлений заміною нуклеотидів у сайтах відпалу праймерів (наявність чи відсутність смуги) або наявністю інсерції/делеції у фрагменті, що ампліфікується (відмінності ПЛР-продуктів за розміром). Для переважної більшості RAPD-маркерів притаманний домінантний тип успадкування. Незважаючи на те, що домінантність маркерів обмежує їх використання в генетичному мапуванні, метод широко використовується під час ідентифікації маркерів, асоційованих з господарсько корисними ознаками за аналізу ізогенних ліній [208, 209].

Характерною властивістю цього методу аналізу генетичного поліморфізму є можливість відпалу праймерів за наявності неповної гомології із ДНК-матрицею. Ефективність такого відпалу визначається умовами проведення ПЛР: температурним режимом, концентрацією та співвідношенням хімічних реагентів реакційної суміші та наявністю інгібіторів *Taq*-полімерази. Тому проблеми відтворення результатів, отриманих на основі RAPD-аналізу, широко обговорюються в науковій літературі [210, 211].

RAPD-аналіз може слугувати своєрідним експрес-методом виявляння генетичного поліморфізму, що є особливо актуальним для мало вивчених таксономічних груп. Діагностичні можливості RAPD-технології успішно проілюстровані на численних прикладах опису генетичного різноманіття

мікроорганізмів, вищих рослин, безхребетних і хребетних тварин [212-214]. RAPD застосовується також для генетичного мапування і популяційно-генетичних досліджень [215–218], вивчення близькоспоріднених видів і молекулярної ідентичності рослин, що розмножуються *in vitro* [219-221].

Недоліками методу є: домінантність, не дуже гарна відтворюваність і необхідність високоочищеної неконтамінованої ДНК, оскільки використання коротких випадкових праймерів може призводити до ампліфікації фрагментів різних організмів; локус-неспецифічність маркерів і негомологічних фрагментів однакового розміру (homoplasy). Внаслідок недостатньої відтворюваності RAPD складно використовувати в міжлабораторних дослідженнях. Внаслідок вищезазначеного значимість отриманих результатів та їх інтерпретація можуть піддаватися сумніву.

У наукових дослідженнях використовуються також модифікації RAPD-технології. Ці підходи різняться довжиною олігонуклеотидних праймерів, їхнім якісним складом (від 50 до 80 % GC-пар), температурою відпалу та методами візуалізації продуктів реакції. Широкого розвитку ці методи набули завдяки своїй простоті, універсальності та відсутності необхідності у попередній інформації про первинну нуклеотидну послідовність фрагменту, що ампліфікується [222].

На основі отриманих за використання випадкових праймерів RAPD бендів, їх поділу, екстрагування, клонування і сиквенування та дизайну специфічних праймерів розроблено тип маркерів ***SCAR*** (*sequence characterized amplified region*, характерна послідовність ампліфікованої ділянки) [223], розвиток і використання яких експоненційно зростає з початку 1990-х років. Так, розробляються специфічні SCAR маркери, що дозволяють дискримінувати певні молекулярні фенотипи різних видів одного роду [224], що використовуються в таксономії [225] дискримінуванні екотипів [226], виявлення унікальних сомато-клональних варіантів та молекулярних подій, пов’язаних з варіабельністю сомато-клонів [227]. Подібний тип маркерів має високий потенціал, у селекції [228], дозволяє розрізняти певні патогенні штами мікроорганізмів [229] та ін. Поліморфізм SCAR-маркерів може бути підвищений шляхом рестрикційного аналізу ПЛР-продукту.

AFLP (amplified fragment length polymorphism; ампліфікація поліморфних за розміром фрагментів ДНК) – метод селективної ПЛР ампліфікації поліморфних за розміром фрагментів, отриманих в результаті ензиматичного розщеплення геномної ДНК ендонуклеазами рестрикції. До отриманих після рестрикції фрагментів для

селективної ампліфікації «пришиваються» олігонуклеотидні адаптери. Таким чином, праймери складаються з адаптера і послідовності довільною послідовністю нуклеотидів (1-5), специфічних для впізнавання ферментом рестрикції. [230, 231].

Поліморфізм фрагментів по довжині (зазвичай кілька десятків на реакцію), обумовлений безліччю геномних сайтів рестрикції, виявляється при електрофорезі. Відтворюваність і висока кількість інформативних фрагментів в реакції дозволяє використовувати метод в різних аспектах: вивчення генетичної ідентичності, ідентифікації сортів і клонів, філогенетичних зв'язків, мапування, MAS та ін. [232–236]. Реалізація методу вимагає високої якості ДНК. Хоча використання AFLP, як і RAPD, не вимагає попереднього знання ДНК послідовностей, ці типи маркерів складно використовувати при вивченні різних популяцій або навіть видів. Недоліками AFLP є домінантність алелів, можлива негомологічність однакових за розміром фрагментів (гомоплазія). У разі вставки між сусідніми місцями рестрикції спостерігається втрата короткого фрагмента і поява більш довгого. При використанні домінантних маркерів, наприклад, в диплоїдів один бенд має місце у випадках, якщо одна або обидві гомологічні хромосоми містять послідовність що ампліфікується, тобто неможливо розрізнити гомо- і гетерозиготи. В поліплоїдах непевність погіршується, адже навіть у випадку виявлення певного бенду тим більш важче сказати, в якій кількості алель присутній [237]. Тим не менш, використання AFLP маркерів протягом останнього десятиліття (*PubMed*) практично не зменшувалося. Метод використовується при вивченні еволюційних й екологічних аспектів живих організмів, при збереженні видів.

EST-SSR (*ESTs*, expressed sequence tag, короткі фрагменти послідовностей клонованих ділянок ДНК (*mRNA→cDNA*), які використовуються для ідентифікації транскриптів генів, можуть бути джерелами для виявлення SSR, тобто, для пошуку мікросателітів в ділянках геному що експресуються [238]. Оскільки EST послідовності є консервативними, міжвидова EST-SSR ПЛР ампліфікація, можливо буде більш успішною, ніж SSR геномної ДНК. Цей тип маркерів представляє інтерес, оскільки їхня розробка є недорогою, вони відображають гени що транскрибуються, чиї передбачувані функції часто можуть бути визначені за допомогою виявлення гомології. Але якість SSR-EST послідовностей дуже важлива, оскільки дизайн праймерів може бути ускладнений багатьма причинами: поширенням одного або обох праймерів на ділянки сплайсингу; наявністю великих інтронів в послідовності

геномної ДНК, використанням «неповноцінної» (questionable) інформації щодо створення праймера, і створенням праймерів для химерних *cDNA* клонів. Таким чином, дизайн праймерів є успішним на 60-90%. До початку 2013 р. в базах даних (*GenBank*) доступними є більше 74 млн. *ESTs*. Однак, створення генних мікросателітних маркерів обмежена тими видами, для яких є досить велика кількість EST. За допомогою певних комп'ютерних програм дані послідовностей EST, генів і cDNA клонів можуть бути завантажені з *GenBank* і скановані на виявлення SSR [239]. Даний тип маркерів використовують для досліджень функціонального геному, асоціативного мапування, аналізу генетичної різноманітності, аналізу кількісних ознак та ін. EST-SSR маркери можуть сприяти еволюційному аналізу широкого представництва таксонів, аналізу видів, ресурси яких вкрай обмежені [240]. Продуктами EST-SSR маркерів є чіткі бенди та алельні піки [238]. Оскільки ці маркери є похідними транскриптів, вони можуть бути використані для оцінки функціонального різноманіття природних популяцій. Особливо у випадках маркування генів, відповідальних за фенотипові ознаки, ці маркери корисні для використання в селекції. Як було згадано вище, на основі EST-послідовностей розробляються й CAPS маркери.

ISSR (inter-simple sequence repeat, ділянка геному між двома сусідніми, інвертованими стосовно один одного мікросателітами) – в якості праймерів використовуються або лише корові мікросателітні мотиви [241], або такі що мають додаткові “якірні” нуклеотиди (1–4) на 3’- чи 5’-кінці [242]. За використання одного праймеру метод дає змогу одержати у середньому 25–50 продуктів ампліфікації, які розділяють в агарозному чи поліакриламідному гелі [35]. Десятки фрагментів великої кількості локусів, одержаних у ПЛР, розділяються електрофорезом і оцінюються на присутність або відсутність (внаслідок домінантності маркерів) фрагментів певного розміру.

Поліморфізм ISSR-маркерів може бути обумовлений заміною нуклеотидних залишків у сайтах відпалу праймерів чи зміною довжини фрагменту, обмеженого двома мікросателітами (що особливо характерно в разі використання “якірної” ділянки на 5’-кінці). У першому випадку маркери успадковуються за домінантним типом, у другому – за кодомінантним [35].

Головна перевага даного типу маркерів - відсутність необхідності знання послідовностей при конструюванні праймерів. Слід враховувати, що внаслідок

мультилокусності можлива гомоплазія. Маркери даного типу використовуються для виявлення генетичної ідентичності, родоводів, диференціації клонів, мікроклонів та ліній, таксономії близькоспоріднених видів [243] для виявляння міжвидової і внутрішньовидової генетичної мінливості [244–246], ідентифікації видів, популяцій, ліній [247-249], а у низці випадків і для індивідуального генотипування [250-252]. ISSR-маркери можуть бути використані також для мапування геномів і виявляння маркерів господарсько цінних ознак [253, 254].

SNP (single-nucleotide polymorphism; поліморфізм по одному нуклеотиду) – маркери даного типу стають все більш використовуваними в дослідженнях геному. Техніка заснована на тому, що в організмах зміни в одному нуклеотиді призводять до точкових мутацій, обумовлюючи тим самим поліморфізм по одному нуклеотиду (діалельний тип маркерів). Для створення специфічних праймерів необхідне знання послідовностей і фланкуючих ділянок. Незважаючи на високу вартість, використання методу є досить високим. Оскільки метод дозволяє автоматизовано здійснювати високодозволяюче генотипування з одночасним використанням великої кількості SNP маркерів; присутність багатьох тисяч зразків на чіпі дозволяє одночасно аналізувати безліч SNP. Але, водночас відмінність алелів лише за одним нуклеотидом і безліч зразків унеможливлює створення оптимальних умов гібридизації для всього масиву зразків. Це в низці випадків призводить до гібридизації аналізованої ДНК з невідповідними зразками. Оцінка великого обсягу даних стає серйозною проблемою, адже не можливо зробити *point-by-point* оцінку обґрунтованості тих чи інших даних [255].

Оскільки застосування SSR та SNP маркерів постійно зростає, дослідники здійснили порівняльну характеристику цих двох типів маркерів [256]. Так SSR мають наступні переваги перед SNP. У SSR локусах перевищення на певну кількість повторностей може розглядатися як поліморфізм, тоді як для ідентифікації SNP гомологічних ділянок повинні бути секвеновані ділянки багатьох хромосом. SSR характеризуються несуттєвою необ'єктивністю. Достовірність SSR генотипування оцінити легше, оскільки більша частка помилок може бути виявлена при аналізі родоводу, коли має місце велика кількість алелів на локус, тоді як для біаллельних SNPs багато помилок при аналізі не виявляються, оскільки вони дотримуються правил Менделевського успадковування. Мають місце і недоліки SSR в порівнянні з SNP. Так, велика кількість алелів на SSR локус має на увазі аналіз великої кількості

зразків. Більш часті спонтанні SSR мутації всередині родоводу потенційно ускладнюють реконструкцію походження; зворотні мутації ускладнюють опис тривалої історії популяцій. Варіабельність високополіморфних мікросателітів може некоректно відображати геномне різноманіття. Мікросателіти вимагають включення контролів, тоді як використання SNP може здійснюватися паралельно в низці лабораторій без необхідності калібрування результатів.

Мікросателіти, або короткі тандемні повтори становлять поширений в геномі тип генетичного поліморфізму [257-260]. Для цього типу генетичних маркерів відомі декілька тотожних назв: мікросателіти, STMS (Sequence Tagged Microsattelite Site), STR (short tandem repeat) та SSR (simple sequence repeat) [261, 262]. Сучасна класифікація допускає визначення мікросателітної послідовності, як повтору з періодом менше 15 пар нуклеотидів, а мінісателітних - з періодом від 15 до 50 пар основ [263]. Але напоширенішою є класифікація за якою для мікросателітної ДНК характерною є довжина періоду від двох до шести пар нуклеотидів, для мінісателітних ДНК від шести до 100 пар нуклеотидів. Мікросателітний кластер займає в середньому від 20 до 60 пар нуклеотидів (за винятком експансії триплетних повторів, що спостерігається при деяких спадкових хворобах людини [264]). Для ампліфікації SSR-маркерів підбираються унікальні послідовності ДНК, які обмежують кожний індивідуальний локус, що потребує попереднього сиквенування. Поліморфізм виявляється внаслідок відмінностей у кількості тандемних повторів, які розміщені між консервативними послідовностями кожного локусу [34].

Мікросателіти – ділянки ДНК, які складаються з тандемів корові мотиви яких складаються з 2–6 нуклеотидів [265, 267]. Мікросателіти присутні як в кодуючих, так і в некодуючих ділянках геному [268, 269], а також у хлоропластному [269] та мітохондріальному геномах [270]. Цей тип генетичних маркерів набув в останні десятиліття великої значущості завдяки комплексу властивостей: гіперваріабельність, мультіалельна природа, кодомінантність успадковування, висока відтворюваність, відносно велика кількість, екстенсивний розподіл геномом, висока пропускна здатність, піддатливість автоматизації процесу. Мікросателіти використовуються при вивченні філогеографії, структури популяцій, сортової ідентифікації, виявленні джерел походження (батьківства). Доведено, що численні генетичні хвороби людини корелюють зі збільшенням числа копій мікросателітів [271], а збільшення варіабельності SSR є індикатором мутацій, асоційованих з

деякими формами раку [272]. Загальновизнано, що поліморфізм мікросателітів обумовлений помилками в процесі реплікації або репарації ДНК (ефект "злипання") [273].

Одним з недоліків SSR маркерів є вартість їхньої розробки, оскільки для створення праймерів необхідно клонування і сиквенування довільних ділянок ДНК, виявлення мікросателітних повторів і визначення фланкуючих ділянок геному для визначення специфічного локусу. Мікросателіти можуть бути розроблені на основі геномних бібліотек ДНК або бібліотек, збагачених для специфічних мікросателітів. Деякі мікросателіти можуть бути складними повторами, в яких можливий поліморфізм по одному нуклеотиду. Ці алелі розрізняються на 1 пару нуклеотидів і потребують особливої уваги при генотипуванні [35].

Мікросателітні локуси демонструють високий рівень поліморфізму [253, 254], виявляють велику різноманітність алелів, оскільки події, що обумовлюють варіацію в кількості повторів, є частими і оборотними [274]. У деяких випадках відзначається існування більше ніж 10 алелів для одного маркера [275]. Що дозволяє продуктивно використовувати цей тип маркерів в програмах председекції [276].

Природними причинами різноманіття в кількості повторів одиниць мікросателітів в геномі є «прослизання» (slippage) полімерази під час реплікації ДНК, і/або невідповідний кросинговер, неспівпадіння/відновлення ушкоджень подвійної нитки ДНК, а також переміщення ретротранспозонів. Ці варіації призводять до поліморфізму довжин фрагментів, що виявляються при електрофорезі [277].

Відповідно до загальновизнаної класифікації [278] мікросателіти можна розрізняти спираючись на тип мономерних ланок в мікросателітному кластері:

1) досконалі мікросателіти – мікросателіти в котрих вздовж всього кластеру присутня одна й та сама мікросателітна ланка;

2) недосконалі мікросателіти – мікросателіти, в котрих кластер переривається іншими та/або іншими мікросателітними ланками та/або випадковим нуклеотидними послідовностями.

Також мікросателіти можна класифікувати за поєднаннями різних мікросателітних кластерів:

1) складні мікросателіти – мікросателіти, в котрих кластер складається з декількох суміжних досконалих мікросателітних ділянок;

2) прості мікросателіти – мікросателіти, в котрих кластер складається з однієї досконалої мікросателітної ділянки.

Хоча зазвичай мікросателітам приписують еволюційно нейтральну роль в молекулі ДНК, все ж функціональне значення їх було підтверджено деякими дослідами з різними біологічними явищами, такими як: організація хроматину (хромосомна організація, рекомбінаційні процеси, реплікація ДНК), ДНК-регуляція метаболічних процесів (структура ДНК, організація центромір та теломір, взаємодія ДНК-білок, транскрипція), регуляція активності генів (системи репарації ДНК, регуляція клітинного циклу, трансляція). Численні аспекти розподілу мікросателітів вказують на їхню можливу роль в таксономічно специфічній організації структури хроматину [279].

Для типування мікросателітів потрібна невелика кількість ДНК, котру можна екстрагувати навіть з сильно деградованого матеріалу [280]. Завдяки використанню праймерів завдовжки 18–25 п.н. і відповідно жорстким умовам проведення ПЛР для SSR-маркерів характерною є висока відтворюваність. Незважаючи на те, що аналіз мікросателітів є монолокусною технікою, можливо одночасно ампліфікувати декілька SSR-локусів, якщо молекулярний розмір продуктів ПЛР достатньо різниться [281, 282]. Це дає змогу значно зменшити вартість дослідження. SSR-алелі розділяють у поліакриламідному гелі в денатуруючих умовах та візуалізують нітратом срібла, авторадіографічно (якщо праймери містять радіоактивну мітку) або за допомогою флуоресцентних барвників. У останньому випадку можлива автоматизація аналізу. [35].

Мікросателіти мають високі швидкості мутації від 10^{-2} до 10^{-4} на локус за покоління в залежності від типу мікросателіта [283], так середній темп мутації дінуклеотидних повторів оцінюють приблизно в $6{,}9 \times 10^{-4}$ [284], хоча ці оцінки можуть істотно різнитися [285] що призводить до накопичення популяційно-специфічних мутацій, і дозволяє здійснювати детальний аналіз популяційної структури [286], оцінку дивергенції й встановлення еволюційно-генетичних зв’язків між популяціями у різних видів тварин [257]. Мікросателіти в цілому більш селективно нейтральні (не впливають на пристосованість особині, не є залученими до адаптаційних процесів) ніж білкові маркери, оскільки до популяційних досліджень, в основному залучаються мікросателітні локуси, локалізовані в інтронах та інших некодуючих ділянках геномів [267, 268, 287]. Тамдемні повтори, в цілому і мікросателітні послідовності ДНК,

зокрема, наділяються низкою дослідників важливою роллю у функціонуванні геному на біохімічному, молекулярному і субклітинному рівнях [288]. До найбільш вивчених відносяться мікросателіти людини, низки тварин і рослин [278, 289].

Серед усього спектру мікросателітних послідовностей особливе значення мають дінуклеотидні мікросателіти, які не лише найбільш широко представлені в геномі еукаріотів [290], але і є найбільш еволюційно-консервативними генетичними маркерами ДНК.

Важливою є характеристика поліморфних дінуклеотидних мікросателітних ділянок геному на рівні первинної структури молекули ДНК. Подібні дослідження стають все більш актуальними для геномів багатьох хребетних тварин. Мутаційні зміни, що зачіпають розміри мікросателітних кластерів і число мікросателітних ланок, змінюють такі важливі молекулярно-біологічні та біохімічні показники як нуклеотидний склад, GC-вміст локусів, енергія Гіббса утворення ДНК/ДНК-дуплексу, співвідношення молекулярних мас 5`-3` і 3`-5` послідовностей. Кількісна оцінка подібних параметрів характеризують і пояснюють напрямок і інтенсивність біохімічних реакцій і взаємодій при формуванні вторинної структури, реплікації і репарації молекули ДНК та допоможе, в подальшому, розкриттю глибинних біологічних закономірностей на різних рівнях організації живого. [279]. Для мікросателітів характерним є кодомінантний тип успадковування. Що означає, що для кожного локусу можливо визначити, чи є дана особина гомо- чи гетерозиготою за даним локусом. Праймери підбираються до ділянок, що фланкують мікросателіт, тобто, ампліфікується і аналізується власне мікросателіт. Оскільки фланкуючі послідовності відрізняються для різних локусів, кожна пара праймерів визначає лише один певний локус. Критична точка для аналізу популяційної структури – швидкість мутацій мікросателітів, котра зазвичай є на 1-2 порядки вищою ніж в алозимів. Висока мутабільність та варіювання числа повторів можуть призводити до гомоплазій (коли однакові алелі виникають в результаті різних мутацій через високу мутабільність за певної обмеженої кількості алельних станів) та переоцінки генетичної дивергенції популяцій [291].

Дослідження мутаційних процесів в різних мікросателітних локусах показало, що частота мутацій в мікросателітах в залежності від локусу варіює від $1{,}2x10^{-4}$ до $1{,}5x10^{-2}$ [292-294]. Мікросателіти та механізми, що призводять до підвищеної нестабільності цих локусів, викликають зацікавленість у зв’язку з вивченням різних

спадкових захворювань, таких, як синдром фрагільної Х-хромосоми, хорея Гентингтона, спиноцеребральна атаксія, міодистрофія Дюшена та іш [295].

Гіперваріабельні мікросателіти є універсальною системою генетичних маркерів для аналізу спадкових змін на рівні ядерної ДНК і широко використовуються в дослідженнях генетичного поліморфізму популяцій людини, рослин і тварин [296, 297].

Цей підхід було запропоновано Дж. Вебером зі співавторами у 1989 році [298]. Він базується на використанні диспергованих повторів (dC-dA)n(dG-dT)n, котрі є одними з найпоширеніших родин повторів в людській ДНК. Автори показали, що блоки (dC-dA)n(dG-dT)n є поліморфними за довжиною між різними особинами, що дозволяє використовувати їх в якості генетичних маркерів. Так, наприклад, проведене ними порівняння описаних в літературі (dC-dA)n(dG-dT)n послідовностей, які було клоновано 2 і більше разів, показало, що в 7 випадках з 8 їхні розміри були відмінними. Крім того автори запропонували ефективний метод аналізу цих маркерів – їхню ампліфікацію за допомогою ПЛР з подальшим розділенням продуктів реакції на поліакриламідному гелі, що дозволило різко підвищити чутливість і швидкість аналізу в порівнянні з традиційними методами, що базуються на гібридизації геномних блотів.

В подальшому було розроблено надзвичайно ефективні методи аналізу мікросателітів [299]: запропонували використовувати праймери, мічені флуоресцентною фарбою, для ПЛР аналізу дінуклеотидних поторів з подальшою детекцією продуктів реакції за допомогою автоматичного лазерного детектора фрагментів ДНК. Зігл зі співавторами [300] розробили автоматизований метод аналізу тандемних повторів за допомогою стандартних автоматизованих сиквенаторів ДНК. Вони запропонували мітити праймери різними флуоресцентними барвниками, що дозволяє аналізувати одразу 3 зразки на одній доріжці (четвертий барвник використовується для мічення стандарту молекулярної ваги, котрий вноситься в ту ж доріжку). Що дозволило стрімко підняти ефективність даного методу і підвищити точність визначення довжин фрагментів (до 0,05 п.н.) [301].

Незважаючи на високу популярність SSRP-методу, він має певні недоліки. Нерівномірність швидкості мутацій різних мікросателітів ускладнює популяційно-генетичний аналіз. Є і певні технічні проблеми, такі як артефакти під час проведення ПЛР, складнощі в розробленні технологій для автоматичного скринінгу

мікросателітних алелів [35]. На думку Г. Сулимової основним недоліком мікросателітів є висока вартість обладнання та реагентів, а за розробки більш досконалих і дешевих технологій аналізу мікросателітів ДНК цей підхід може стати панівним [121].

Основними напрямками використання мікросателітів ДНК в тваринництві є:

- експертиза достовірності походження та паспортизація тварин;
- оцінка рівня генетичного різноманіття (алельні та генотипові спектри, гетерозиготність, генетична рівновага) на внутрішньопородному, міжпородному та міжвидовому рівнях;
- оцінка ступеня міжпородної диференціації та встановлення філогенетичних зв’язків;
- ступінь інтрогресії геномів при створенні нових порід;
- оцінка негативних наслідків популяційно-генетичних процесів, особливо для малочисельних, локальних та зникаючих порід.

Водночас, слід відмітити, що мікросателітні локуси непридатні для еволюційних побудов (філогенії) на міжвидовому й вищих рівнях, адже подібність в розмірах алелів що спостерігається при цьому може відображати не ідентичність їх походження, а так звану гомоплазію. Це явище виникає через високу швидкість мутації, коли мікросателітні алелі однакового розміру утворюються в результаті конвергенції від різного числа прямих або зворотних мутаційних подій. Ще одна проблема, з якою стикаються при аналізі мікросателітів – наявність нульових алелів, які з'являються внаслідок мутацій в сайті зв'язування з праймером, що не дозволяє точно ідентифікувати генотипи [118].

1.5 Мікросателітні локуси в дослідженнях генофондів свійських тварин

1.5.1 Дослідження мікросателітів великої рогатої худоби. У Великої рогатої худоби мікросателіти ДНК використовують при експертизі походження великої рогатої худоби, дослідженнях генетичної мінливості, картографуванні геномів, аналізі взаємозв’язків особин та популяцій, оцінці рівнів інбридингу (Fis), аналізі генетичної структури субпопуляцій та популяцій, оцінці ефективного розміру популяції (Ne) і дрейфу генів між популяціями. Вони використовуються при діагностиці, як маркери певних захворювань великої рогатої худоби, оскільки кілька алелів мікросателітів пов'язані з мутаціями в кодуючих ділянках ДНК, які можуть спричинити різноманітні медичні розлади та зміни продуктивних ознак [302].

Аутосомні мікросателітні локуси великої рогатої худоби здебільшого використовуються для генетичної ідентифікації особин та аналізу походження, необхідних для успішного впровадження та моніторингу програм збереження біорізноманіття популяцій, диференціації популяцій, оцінюванні генетичних відстаней та генетичних взаємозв’язків. Мікросателітні локуси дуже чутливі до генетичних вузьких місць, і вони зазвичай використовуються для визначення інбридингу в популяціях великої рогатої худоби [303]. Вони все ще є «золотим стандартом» для багатьох цілей генетичної оцінки популяцій та ідентифікації [304].

У 1993 році було створено мапу геному худоби високої точності [305, 306]. Починаючи з цього року почалось впровадження мікросателітів ДНК в якості маркерів для контролю походження та ідентифікації тварин [307]. Достовірність результатів одержаних за використання даного типу ДНК-маркерів перевищує 90%, і є найточнішим методом на сьогодні [308].

Подальші дослідження були проведені для створення міжнародної універсальної порівняльної групи молекулярних маркерів [309-321]. Список мікросателітів FAO було використано для дослідження великої кількості порід великої рогатої худоби [322].

Мікросателіти ДНК використовуються у дослідженнях батьківства великої рогатої худоби на різних континентах [323-329]. За використання мікросателітів досліджуються філогенетичні зв’язки всередині та між спорідненими видами худоби, геногеографія та історія доместикації великої рогатої худоби [330].

Вони, також, широко використовуються для вивчення генетичного різноманіття великої рогатої худоби [331]. Генетична мінливість всередині популяцій та між ними часто є важливою і може сприяти відбору та збереженню генетичних ресурсів [332].

Список з 12 мікросателітних маркерів для генетичної характеристики порід великої рогатої худоби затверджено Продовольчою та сільськогосподарською організацією (FAO) [333]. Обрані маркери (BM1814, BM1818, BM2113, ETH3, ETH10, ETH225, INRA023, SPS115, TGLA53, TGLA122, TGLA126, TGLA227) були включені в Міжнародний тест порівняння ISAG.

За мікросателітами було проведено багато досліджень для оцінки, як взаємозв'язку між породами, так і генетичного різноманіття всередині та між популяціями [334, 335]. Дані Дж. Ленстра та ін. щодо результатів генотипування 30

мікросателітних локусів у 69 європейських порід використовувались для визначення основних критеріїв збереження порід [336]. Досліджені І. Медугорач зі співавт. 16 європейських порід великої рогатої худоби показали високий ступінь молекулярного різноманіття, що є очевидною причиною їхнього збереження [337]. Пріоритети збереження скандинавської худоби, що базуються на генетичному різноманітті, були окреслені Дж. Бенневіцем та співавт. [338] та І. Тапіо зі співавт. [339].

Багато інших авторів використовували мікросателітні маркери для оцінки генетичного різноманіття та інбридингу у різних порід великої рогатої худоби [339-345]. Було проведено кілька досліджень на європейській та євразійській великій рогатій худобі (*Bos taurus*), в яких мікросателіти використовувались для оцінки генетичної мінливості та диференціації [311, 339, 344, 346]. Для креольських порід було повідомлено про кілька досліджень за мікросателітами [347-352]. Пізніше Дж. Дельгадо та ін. (2011) за допомогою 19 мікросателітів оцінили генетичне різноманіття та взаємозв'язки 26 креольських порід великої рогатої худоби з 10-х американських країн, що представляють Північну, Центральну, Південну Америку та Карибські острови. Популяції креольської худоби продемонстрували високий рівень генетичного різноманіття порівняно з породами, що піддаються інтенсивному розведенню. Незалежно від виявленого високого генетичного різноманіття, також було виявлено значний інбридинг. Креольські породи великої рогатої худоби представляють великі запаси генетичного різноманіття великої рогатої худоби, проте вкрай потребують заходів щодо уникнення інбридингу та безконтрольного схрещування [353].

У зебувидної великої рогатої худоби (Bos indicus) Хаудхарі та ін. (2009) повідомили про 25 мікросателітних локусів з високим значенням PIC (> 0,5) у 145 голів чистокровної худоби, що походить з неспоріднених порід худоби Кенката та Гаолао [354]. Автори оцінили 21,21% та 22,48% гетерозигот у популяціях Гаолао та Кенката відповідно, за невеликої генетичної диференціації між ними [355]. Основними причинами дефіциту гетерозигот у досліджуваних популяціях вважаються інбридинг, генетичний дрейф, наявність нульових алелів та поява субструктур популяції.

Кілька мікросателітних маркерів також використовувались у дослідженнях з оцінювання деяких інших важливих порід великої рогатої худоби [333, 356]. Аналіз різних мікросателітних локусів виявив закономірності різноманіття та експансію

зебувидної худоби в Європі, Південно-Західній Азії та Африці [357]. Змішане походження індонезійської зебувидної худоби було підтверджено із використанням мікросателітів в дослідженні її біорізноманіття К. Мохамад та співавт. [358]. На противагу цьому мікросателітний аналіз показав, що велика рогата худоба о. Балі з Індонезії є чистопородною (Bos javanicus) [332].

Більшість мікросателітних даних вказують на окреме положення середземноморської худоби, але поділяють трансальпійську худобу на дві різні групи порід: центральноєвропейську та північноєвропейську [336].

Джерзеї – це поширена та унікальна порода великої рогатої худоби, яка походить з острова Джерсі, що біля узбережжя Великобританії. Генетичне різноманіття цієї породи, ізольованої від інших популяцій великої рогатої худоби Великобританії та Європи приблизно на 50 поколінь, вперше описано Л. Чінкі та співавт. на основі 12 мікросателітних маркерів: HAUT27, HEL5, BM1314, BM1818, BM2113, INRA005, INRA063, ILSTS006, ETH10, ETH225, TGLA122 та TGLA227. Це дослідження показало, що середня кількість алелів на локус та очікувана гетерозиготність були дещо вищими порівняно з аналогічними показниками у низки континентальних порід. Автори повідомляють про відсутність втрати генетичного різноманіття та інбридингу. Вони дійшли висновку, що потреби у ввозі неспоріднених тварин для розведення немає, незважаючи на те, що з 1789 року на острів не здійснювалось жодного ввезення [359].

А. Егіто та ін. (2007) повідомили про значну генетичну мінливість у бразильських місцевих популяціях великої рогатої худоби за 22 мікросателітними локусами [360]. Ці дані показали, що бразильська креольська порода є важливим і різноманітним джерелом генетичного різноманіття для розведення та збереження великої рогатої худоби. Нещодавно Шарма та ін. [361] дослідили генетичне різноманіття та взаємозв'язок між 11 індійськими породами великої рогатої худоби, використовуючи 21 мікросателітний маркер, і дійшов висновку, що південна порода Онгол відрізняється від порід Північної та Центральної Індії. Результати дають основну інформацію про генетичне різноманіття та структуру індійської великої рогатої худоби, що є важливим для оцінювання та збереження різноманіття великої рогатої худоби.

Алельний поліморфізм шістнадцяти мікросателітних локусів (CSSM 66, ETH 10, ETH 152, ETH 225, ETH 3, HEL 1, HEL 5, HEL 9, ILSTS 005, INRA 023, INRA 032,

INRA 035, INRA 037, INRA 005, INRA 063 та TGLA 44) вивчали у 10 іспанських, 5 португальських та 3 французьких порід великої рогатої худоби. Всього за 16 аналізованими локусами було виявлено 173 алелі [317]. Фактичні та очікувані гетерозиготності коливались від 0,54 до 0,72. Рівень диференціації порід був значним, що вказує на те, що 93% зумовлені відмінностями між особинами, тоді, як решта 7% відповідають відмінностям між породами. Автори дійшли висновку, що мікросателіти забезпечують достатню статистичну потужність для оцінювання породи та дозволять в майбутній селекційній роботі керуватись кращим рівнем знань щодо їхньої генетичної структури та взаємозв'язки між популяціями. У Румунії генетичне різноманіття серед румунських сірих, коричневих, чорно- і червоно-рябих порід великої рогатої худоби оцінювали за 11 мікросателітними локусами, орієнтуючись на зникаючу румунську сіру породу [362]. Високий рівень генетичного різноманіття було встановлено у популяції румунської сірої худоби, що перебуває під загрозою зникнення. Результати підтвердили, що генетичне різноманіття породи правильно зберігається за допомогою поточної програми збереження, спрямованої на зменшення генетичних втрат.

Показником високої інформативності мікросателітів для оцінювання генетичного різноманіття є значення індексу поліморфізму (PIC) для них на рівні 0,5 і вище [363]. Так, найвищі значення PIC спостерігались у європейських та зебувидних порід худоби саме за використання мікросателітних маркерів [317, 364-371].

Молекулярну характеристику індійської породи Халлікар, корінної породи великої рогатої худоби Карнатаки проводили з використанням 19 специфічних мікросателітних маркерів для великої рогатої худоби, рекомендованих FAO. Дослідження показало, що специфічні мікросателітні маркери великої рогатої худоби були високополіморфними та високоінформативними для генетичної характеристики даної породи [366].

А. Тенева та ін. [340, 341] вивчав місцеву болгарську худобу сірої породи та болгарського шортгорна за допомогою мікросателітних маркерів. Вони також встановили високе значення PIC (> 0,5) та високу гетерозиготність на основі 11 STR.

Наразі мікросателіти набувають все більшого застосування при вивченні рівня генетичної мінливості та генетичної диференціації різних порід вітчизняної селекції – чорно-рябої [372-374], червоно-рябої [375], симентальської [374, 376], південної м’ясної [37], та інших порід.

Мікросателітні маркери є зручними інструментами для мапування геному [378]. Генетичні мапи, що базуються на мікросателітах є основним інструментом для мапування зв’язків, як моногенних, так і полігенних ознак. Генетична мапа великої рогатої худоби на основі мікросателітів була побудована в 2004 році Н. Іхарою та співавт. Ця мапа є потужним інструментом для маування QTL і є генетичною основою для розробки високо деталізованих генних мап у великої рогатої худоби [379]. Якщо у 2003 році для великої рогатої худоби було визначено понад 2200 мікросателітів [380], то на 2010 рік – вже 2402 мікросателітні локуси ДНК, згідно бази даних Французького національного інституту сільськогосподарських досліджень (INRA, institute.inra.fr.) [381].

Протягом останніх десятиліть розвиток молекулярної генетики призвів до ідентифікації величезної кількості генів та генетичних маркерів, пов’язаних з генами асоційованихи з кількісними ознаками. Це дало можливість посилити відбір ознак, які важко покращити звичайним розведенням через низьку успадковуваність.

Зазвичай мікросателіти є нейтральними ДНК-маркерами [304, 382]. Однак, деякі мікросателіти перебувають під впливом штучного відбору і, отже, не є повністю нейтральними[383-387]. Лінгянг Ху та співавт. виявили, що 47,76% STR перекриваються об'єднаними ділянками QTL, більшість з яких пов’язані з важливими особливостями молока та технологічністю виробництва, а 52,24% мікросателітів великої рогатої худоби не збігаються з будь-якими існуючими QTL [388].

Наприклад, ETH10 на хромосомі 5 BPX асоціюється із ознаками росту та маси у Ангуса, Брангуса та інших порід великої рогатої худоби [389, 390]. Локус ETH10 також пов’язаний з кольором шерсті у швейцарської великої рогатої худоби [391, 392]. М. Чу з колегами дведено, що BM1818 пов’язаний з оцінкою соматичних клітин (SCS), і специфічні алелі цього локусу пов’язані зі стійкістю до маститу [393]. В дослідженні С. Сміт та співавт. описано суттєві відмінності за частотами алелів для BM1824, ETH10, INRA023, SPS115 та TGLA53 у великої рогатої худоби японського чорного кольору в залежності від кількості внутрішньом’язового жиру (ступеня мармуровості м’яса) [394].

Більшість з 12 мікросателітних маркерів, пов'язані з важливими економічними рисами Б. Бреніг та Є. Шульц [395] дійшли висновку, що мікросателітні маркери, рекомендовані для контролю за походженням у великої рогатої худоби, включені до панелі ISAG/FAO BM1814, BM1818, BM2113, ETH3, ETH10, ETH225, INRA023,

SPS115, TGLA53, TGLA122, TGLA126, TGLA227, знаходяться під впливом селективного розведення та є ДНК-маркерами, пов’язаними з адаптаційною здатністю тварин. Описано щонайменше 40 різних QTL, які оточують мікросателіти, і найчастіше вони пов’язані з виходом молочного білку, молочного жиру, рівнем соматичних клітин, відсотком молочного жиру, масою тіла при народженні та масою тіла при відлученні [396].

Встановлено, що застосування мікросателітних маркерів у QTL-аналізі є плідним при визначенні впливу специфічних молекулярних маркерів на якість молока [397, 398]. Було розроблено декілька мікросателітних маркерів для ідентифікації зв’язку конкретної ділянки BTA6 з впливом на молочний жир і молочний білок [399].

У. Сінгх та ін. (2013) повідомили, що молекулярні маркери мають великий вплив на рівні показників виробництва та стійкість до хвороб у худоби [400].

Використання мікросателітних маркерів асоційованих з різними захворюваннями (такими як мастит), допомогло підвищити специфічність та точність розведення поголів’я стійкого до хвороб, та підвищити продуктивність [397]. Наразі у великої рогатої худоби виявлено мікросателіти пов’язані з генами гормонів що відіграють важливу роль у регуляції розмноження [401, 402], рухливості сперми у бугаїв [403, 404], та геном WRN пов'язаним із синдромом Вернера (WS), також відомим як "прогерія дорослих", рідкісним та аутосомно-рецесивним прогероїдним синдромом (PS), який характеризувався появою передчасного старіння [405].

Результати О. Ханотт та співавт. (2003) з картографування кількісних локусів ознак, що контролюють трипаностійкість, показали, що відбір за даною ознакою в межах схрещування F2 між худобою Н’Дама та енійська Боран може дати синтетичну породу з вищими рівнями трипаностійкості, ніж наявний у батьківських породах [319]. У цьому мапуванні QTL автори генотипували групу великої рогатої худоби в 477 мікросателітних локусах, розподілених 29 аутосомами великої рогатої худоби за 16 фенотиповими ознаками.

Мікросателітами насичені гени великої рогатої худоби, відповідальні за розвиток серця, розвиток нервової системи, транспорту іонів та комунікації клітин (з оцінкою насичення > 1,3, $p<0,05$), а також процес метаболізму фосфатвмісних сполук, регулювання каталітичної активності та активності кальцієвих каналів, що регулюється напругою. STR ділянками насичені гени відповідальні за зорове сприйняття, згортання крові, катаболічний процес та клітинний зв'язок та

везикулярний транспорт, транспорт білків та первинний метаболічний процес. Лінгянг Ху та співавторами було визначено 204 STR, розташованих в межах екзонів 194 генів. Найбільшу насиченість мікросателітними повторами показали гени пов'язані з нейтральною диференціацією, зв'язуванням ліпідів та мембранних везикул [388].

1.5.2 Мікросателітні локуси в дослідженнях генофондів коней. На відміну від інших галузей, в конярстві традиційно застосовується індивідуальна система відбору та добору тварин, тому сучасні молекулярно-генетичні методи виявились незамінним інструментом при генетичній експертизі походження коней, у встановленні діапазону популяційної та породної мінливості, в питаннях вивчення філогенезу, ступеня генетичної подібності, аналізі мікроеволюційних процесів. Дослідження генетичних особливостей коней заводських та локальних порід стало основою для розробки методів генетичного моніторингу в конярстві.

Коня (Equus caballus) було доместиковано близько 6000 років тому [406]. Після цього коні відіграли важливу роль у розвитку багатьох цивілізацій. Зв'язок між людьми та кіньми залишається міцним і на додачу до їхнього значення, як тварин-компаньонів у спорті та відпочинку, контакт з кіньми є одним альтернативних способів реабілітації від певних психологічних проблем, неврологічних травми та інсультів у людей [407]. На сьогоднішній день визнано приблизно 400 різних порід коней [408], загалом вони відображають відбір за типом та корисністю, але також базуються на кольорі, географічному походженні та спортивних і робочих якостях. На кінець XIX сторіччя світове поголів'я коней сягало 60млн голів.

Перші повідомлення щодо поліморфізму мікросателітної ДНК коней з'явились в першій половині 90-х років минулого сторіччя [409-411]. Через деякий час було доведено, що індивідуальна та популяційна оцінка генетичної структури коней за мікросателітними локусами ДНК (STR) дає можливість проведення генетичної експертизи походження тварин з вірогідністю підтвердження до 99,9% [412, 413] і є набагато більш інформативною в порівнянні з використовуваними до цього часу тестуванням за групами крові [414]. З тих пір відповідно до рекомендацій Міжнародного товариства з генетики тварин (ISAG) і вимог Міжнародного комітету з племінних книг (ISBC) для контролю достовірності походження та паспортизації тварин обов'язковим є використання мікросателітних локусів ДНК для коней чистокровної верхової породи [415, 416].

Загальна довжина геному свійського коня становить 936 одиниць рекомбінації. У коней описано більше 1300 мікросателітних локусів, але наразі для генетичної експертизи походження коней в лабораторіях переважно використовують комерційний набір (StockMarks Equine Kit) для типування 17 локусів: 12 (AHT04, AHT05, ASB02, HMS02, HMS03, HMS06, HMS07, HTG04, HTG06, HTG07 HTG10 и VHL20), як міжнародну мінімальну стандартну систему мікросателітних маркерів і ще 5 додаткових (ASB17, ASB23, CA425, HMS01, LEX03). Всі мікросателіти, що входять до набору, мають високий рівень поліморфності й розташовані на різних хромосомах, що дозволяє контролювати гетерозиготність тіварин одразу за 13-ма хромосомами [417].

Високий потенціал використання 17 мікросателітних локусів ДНК для експертизи достовірності батьківства та індивідуальної ідентифікації зафіксовано Г. Чо в результаті генотипування 192 коней з шести порід, включаючи аборигенних корейських коней. Ним виявлено, що кількість алелів на локус варіювала від 5 до 10 із середнім значенням 7,35 у аборигенних коней. Очікувана та фактична гетерозиготність становили від 0,387 до 0,841 (середнє значення 0,702) та від 0,429 до 0,905 (середнє значення 0,703), відповідно. Загальна ймовірність виключення 17 мікросупутникових локусів становила 0,9999, або 99,99%. З 17 маркерів маркери AHT4, AHT5, CA425, HMS2, HMS3, HTG10, LEX3 та VHL20 мають відносно високе значення PIC (> 0,7). Це дослідження показало, наявність специфічних алелів у аборигенної породи в порівнянні з іншими популяціями коней. [418].

Мікросателіти ДНК застосовуються для експертизи достовірності походження чистокровної верхової породи в Європі [419], на Далекому Сході [420, 421] та у Південній Америці [422]. Високі інформативність мікросателітів та достовірність отримуваних результатів сприяли запровадженню використання типування за цими локусами з метою експертизи достовірності походження та ідентифікації особин в конярстві різними країнами для все більшої кількості порід, в Бразилії [423], Ірані [424], Японії [425] та інших країнах світу.

Генотипування за мікросателітами ДНК дає можливість оцінки і контролю генетичного різноманіття коней не лише на фенотиповому, а й безпосередньо на молекулярному рівнях [412]. Н. Такезаки та ін. довели високу інформативність мікросателітів для оцінки генетичної відстані між різними популяціями коней [426].

Керування генетичним різноманіттям є ключовим фактором будь-якої програми збереження видів і порід для захисту генетичних ресурсів коней [427-429], що має забезпечити збереження максимальної генетичної мінливості та майбутнього адаптаційного потенціалу порід [430, 431]. Крім цього, мікросателітні маркери є надійним інструментом при вивченні генетичної структури й філогенезу порід та популяцій коней, включаючи оцінку ступеня різноманіття й визначення генетичної подібності, диференціацію генеалогічної структури породи, контролі та оцінці інбридингу, діагностиці спадкових аномалій та захворювань [412].

Збереження популяцій коней здебільшого залежить від ефективної чисельності породи та рівня генетичного різноманіття, що забезпечує необхідні пристосувальні якості і здатність до розмноження в широкому діапазоні несприятливих кормових і природно-кліматичних умов [432].

Особливий інтерес представляє вивчення популяційно-генетичних закономірностей в малих та ізольованих популяціях коней, які мають унікальну генетичну та фенотипову цінність [433], тому що дозволяє досить адекватно оцінювати і підтримувати рівень генетичного різноманіття [35]. Дія факторів, що порушують генетичну рівновагу (дрейф генів, проходження через «пляшкове горлечко», випадкова загибель особин та ін.) в таких популяціях може бути легко відслідкована [12].

Ефективність використання мікросателітів для оцінки генетичного поліморфізму доведено великою кількістю досліджень різних порід коней у всьому світі, включаючи примітивні породи коней: кінь Пржевальського [434], іспанські кельтські породи [435], норвезькі породи [436, 437] та різні європейські та азійські породи [438-441]. За їхньою допомогою описано поліморфізм коней різних заводських [442] та локальних порід [443, 444], зокрема, коней якутської [445], будьоновської [446], вятської [447], арабської [448], орловської рисистої та ваговозної [449], костанайської [450], кабардинської [451], забайкальської [452], кожамбердинської [453], башкирської [454] та ін.

Виявлено, що заводські породи характеризуються дещо меншим алельним різноманіттям [455]. Підвищений рівень інбридингу та зменшення генетичного різноманіття в межах популяції характерні для невеликих закритих популяцій [456].

Мікросателіти широко використовуються для деталізації походження та філогенетичних зв’язків між різними породами коней. Так, П. Азор зі співавт.

досліджували генетичний зв’язок між іспанськими рисаками, балеарськими кіньми (Меноркіні та Майоркіні) та андалузькими кіньми. Виявлені темпи міграції підтвердили низький недавній генетичний зв’язок між балеарськими породами та іспанськими рисаками, вказуючи на те, що генетичне походження сучасної популяції іспанського рисака не базується на корінній популяції балеарськихконей [457].

Дж. Зірструпом та співавт. було проведено генетичний аналіз трьох корінних датських зникаючих порід коней з використанням 12 мікросателітних локусів. В результаті порівняння з іншими європейськими породами коней було встановлено, що, схоже, їм не загрожує безпосередня загибель, спричинена зменшенням генетичного різноманіття. Порода Кнабструпер мала більші генетичні варіації, за очікуваною гетерозиготністю та алельним різноманіттям, ніж Фредеріксборгські та Ютландські коні. Розрахунки статистик Райта (Fst) підтвердили диференціацію популяції на три різні породи. Породи Фредеріксборг і Кнабструпер були ближче одна до одної, ніж до ютландської породи. [458].

За даними чеських дослідників генетичне різноманіття в гуцульській породі все ще є відносно високим, дана порода чітко відокремлюється від заводських порід [459]. Середня спостережувана гетерозиготність та середня кількість алелів на локус у чеського гуцула (0,74 / 8,06) [460] для угорських, словацьких та австрійських гуцульських коней (0,71 / 7,65) [30] для польського гуцула (0,71 / 9,92),. Для румунського гуцула (0,66 / 6,58) [441] значення генетичного різноманіття гуцульської породи високі та стабільні, що свідчить про успіх програми збереження [460, 461]. Гуцульський кінь, як і Старий Кладруберський кінь та Сілезький Норікер [462] башкирські та якутські коні [456] не зазнав серйозної втрати генетичного різноманіття через генетичний дрейф або низьку ефективну чисельність популяції. [463] що може бути генетичним доказом самобутності та древності цих порід [464].

Роботи з побудови деталізованих мап геному коня почались у 90-х роках XX сторіччя [434, 463] і завершились у 2006 році повним секвенуванням геному, а повну мапу було оприлюднено у 2009 році [464]. В результаті проведеної роботи було з’ясовано, що геном коня складається з 2,7 млрд п.н. включає 31 пару аутосом та одну пару статевих хромосом, містить 20322 структурних генів. 46% геному, як і в інших ссавців, становить сателітна ДНК, представлена, здебільшого некодуючими ділянками [465]. В геномах коней виявлено майже два мільйони коротких інделів [466].

Першим конем геном якого було повністю секвеновано в 2006–2007 роках, була чистокровна кобила на ім’я Сутінки [464, 467]. В 2012 році було секвеновано весь геном ще однієї кобили Американської чвертьмильної породи [468], а дещо пізніше було секвеновано геном коня породи Марварі, що дозволило авторам виявити в ньому компоненти арабської та монгольскої порід [469]. Того ж 2014 року було ініційовано новий проект з уточнення геному к о н я *EquCab2.0*, що призвело уточнення його послідовності (EquCab3 або EquCab3.0) [470]. Нещодавно повідомлено про завершення секвенування геномів ще шести порід коней [466], а також арабської породи [471] та коня Пржевальського [472].

Окремі автори в результаті незалежних досліджень поідомляють про зв’язок деяких мікросателітів зі структурними генами у коня [473-475].

Встановлено, що локуси HTG04 та HTG08 зчеплені з геном, що обумовлює синдром вродженого імунодефіциту у коней (SCID (Severe combined immunodeficiency) [476], а також зв’язок мікросателітів з такими захворюваннями, як PSSM (Polysaccharide Storage Myopathy), HYPP (Hyperkalemic periodic paralysis), JEB (Junctional Epidermolysis Bullosa), GBED (Glycogen Branching Enzyme Deficiency), OLWS (Overo Lethal White Syndrome) та інші [477].

1.5.3 Мікросателітні локуси в дослідженнях генофондів собак. Індивідуальна та популяційна оцінка генетичної структури собак за мікросателітними локусами ДНК, які є одними з найполіморфніших ділянок ДНК, з десятками алелів в кожному локусі та високими темпами мутацій, наразі є найктуальнішою. Оскільки мікросателітні локуси є селективно-нейтральними, вони не піддаються дії природнього відбору. Комбінація алелів таких локусів є унікальною характеристикою кожної особини [478]. Особливий інтерес до вивчення генетичної структури порід собак, який спостерігається протягом останніх десятиріч [479], зумовлений не лише тим, що це один з найраніше доместикованих видів тварин, що за деякими даними відбулось більше 14000 років тому [480], а й тим, що вони зазнали, мабуть, найбільшого впливу з боку людини [481]. Що робить даний вид одним з найцікавіших об’єктів для вивчення генетичного різноманіття [482]. Світова кінологічна організація (WCO) визнає близько 400 порід [483], деякі з яких, такі як шар-пей, пекінес, чау-чау та тібетський мастиф є дуже давніми [484, 485]. При чому, згідно даних одержаних Д. Хартлом та А. Кларком, величезна фенотипова різноманітність собак зобов’язана своїм походженням насамперед постійним генетичним варіаціям,

що існували у популяціях їхніх предків – сірих вовків, та будь-яким наступним мутаціям, що відбулися протягом порівняно короткої історії приручення [486].

Як і в конярстві, в собаківництві мікросателітні локуси ДНК найчастіше застосовуються для ідентифікації та експертизи достовірності походження особин. При цьому корейські вчені використовували для цього 22 мікросателіти на Біглях [487], а Е. Каргіл й Л. Кларк зі співавт. оперували 155 мікросателітними маркерами зібраними у 48 мільтиплексних реакцій [488]. Незважаючи на високу генетичну однорідність племінних собак внаслідок інбридингу, мікросателіти можуть забезпечити належну основу для здійснення достовірної ідентифікації та експертизи походження у чистопородних особин [489-491]. С. Мун та співавт. доповіли про високу достовірність досліджень за 10 мікросателітами ДНК близько 600 голів собак, з них 256 помісних і 344 особини, що належали до 30 різних порід, таких як пудель, мальтійська болонка, Ши Тсу, йоркширський тер'єр, померанець, та ін. [492]. Ф. Гентіліні зі співробітниками використали 17 мікросателітних локусів для дактилоскопії собак породи боксер [493]. І. Ішикава з колегами досліджували за 20 мікросателітними локусами собак що належали до порід ретрівер, бігль та лабрадор [494].

Останнім часом з'являється все більше літературних даних, заснованих на мікросателітному аналізі поголів'я собак, орієнтованому на оцінку популяційної генетичної структури та різноманіття, як окремих порід так і безпородних дворових псів [495], аналіз генофондів яких сприяє розумінню загальних механізмів, що регулюють генетичне різноманіття, еволюцію та адаптацію та розселення даного виду [496]. Дослідженню генетичного різноманіття на внутрішньо- та міжпорідному рівнях присвячено велику кількість робіт. Так, Г. Лерой зі співавт. аналізували генетичне різноманіття 61 породи собак за результатами дослідження 1514 особин, за поліморфізмом 21 мікросателітного локусу ДНК [497]. П Зенке з колегами для популяційно-генетичного аналізу 668 особин належних до 79 різних порід собак обрали 10 мікросателітних локусів [498]. А Р. Огден та ін. застосувли 15 мікросателітів для ідентифікації та підтвердження батьківства у 375 голів що відносились до 12 порід [499]. А. Радко та Є. Слота повідомили про поліморфізм польської популяції хортів породи борзая, оцінений за 19 мікросателітними локусами [500]. С. Арата з колегами довели високу достовірність результатів аналізу мікросателітного поліморфізму в 275 представників японської породи шиба іну за 18

локусами мікросателітів [501], М. Прібанова та ін. оцінювали 632 голови шести різновидів такс за 10 мікросателітами [502]. І. Жак зі співавт. досліджували мінливість 19 мікросателітних локусів у племінних тварин порід хорт, лабрадор та німецька вівчарка. В усіх трьох породах зафіксовано значне зменшення внутрішньої мінливості популяцій. Це зменшення було особливо вираженим у породи хорт [503]. М. Голман та ін. було проведено аналіз генетичної мінливості у 235 польських хортів за 21 мікросателітним локусом ДНК [504, 505], К. Сан Хосе з колегами досліджували іспанських хортів Podenco Valenciano за 21мікросателітом [506]. В 2015 році було опубліковано результати досліджень В Ла Манна та ін. італійські гончі Segugio Dell'Appeinnino та Segugio Maremmano за 21 мікросателітним локусом.[507]

У Canidae мікросателіти набули популярності і у дослідженнях філогенії та молекулярної еволюції різних видів псових. великі генетичні дослідження чітко показують, що свійський собака походить лише від сірих вовків, а не від шакалів, койотів чи ефіопських вовків [513-517] як вважалось раніше. Р. Стікарова та співавт. проводили порівняльний аналіз вовка та чеського вовчака [518], а Дж. Седдон з колегами використовували результати генотипування за мікросателітами ДНК для ідентифікації особин та оцінювання генетичного різноманіття та мікроеволюційних процесів в швецькій та фінській популяціях скандинавського вовка [519]. А.-К. Сандквіст отримав більш повну картину процесу одомашнення та походження порід собак завдяки застосуванню молекулярних маркерів в дослідженнях генетичної мінливості популяцій вовка та свійського собаки. Крім того, він розробив метод для більш надійної ідентифікації хижакам (вовка, собаку чи гібрида), відповідального за напад, за допомогою аналізу залишків слини, залишених на здобичі [520]. Дж. Клуковська та ін. з метою порівняльного аналізу поліморфізму дев'яти мікросателітів, отриманих від собак (CPH1, CPH3, CPH6, CPH11, 2004, 2010, 2140, 2168 та 2319), у трьох видів сімейства Canidae досліджено зразки ДНК 151 собаки, 53 песців та 91 рудої лисиці. Для більшості локусів середній розмір алеля був більшим у собаки, ніж у двох видів лисиць. Розраховані генетичні відстані між обома видами лисиць були найменшими, тоді, як між собакою та песцем – найбільшими [521]. М. Затон-Доброволска з колегами, повідомляють про виявлення, в результаті аналізу генетичного поліморфізму 200 рудих лисиць з польських звірівничих ферм за 30 мікросателітними локусами ДНК, значного впливу десяти мікросателітних локусів на чотири економічно важливі ознаки (вагу тіла, довжину тіла, окружність тіла, довжину

хвоста). Причому, чотири з них були пов'язані з двома ознаками: локус FH2613 з вагою і окружністю тіла, локус FH2097 – з довжиною і окружністю тіла, ZUBECA6 з вагою і окружністю тіла, а REN75M10 був пов'язаний з довжиною тіла та хвоста [522], Ефективність використання 20 мікросателітів для генотипування 33 осіб Vulpes vulpes за допомогою для вивчення їх популяційно-генетичного різноманіття продемонстровано в роботі А. Маніванна [523]. І. Хонг з колегами проводили популяційно-генетичне дослідження південно корейської популяції єнотовидного собаки за 12 мікросателітними локусами. В результаті чого було виявлено високий поліморфізм та наявність чотирьох різних генетичних субпопуляцій даного виду на території Південної Кореї [524]. В. Сласка та ін. досліджували поліморфізм польської популяції китайського єнотовидного собаки за 17 мікросателітами [525].

Застосування мікросателітів полегшило визначення ступеня консолідованості порід та розроблення планів розведення, За даними М. Кошкінена використання баєсівського методу за розміру референсної виборки від 50 голів забезпечує 100% вірності при віднесенні тварин до певної породи на основі 10 мікросателітів, з високим рівнем достовірності ($p<0,0001$). Що спростовує поширену думку про неможливість ідентифікації породної належності собак [526].

Мікросателіти ДНК особливо корисні для виявлення генетичних захворювань, які не мають фенотипового прояву, та виявлення носіїв рецесивних захворювань, наприклад для виявлення гена собачого мідного токсикозу [527] та ін. Таким чином, важливість цього виду для досліджень генетичних захворювань спонукала до створення високоякісної повної послідовності геному [528], загальнодоступної з 2004 р., одним з перших [529, 530]. За даними, отриманими в вересні 2011 г. (CanFam 3.1), геном *C. familiaris* содержит $2,392 \times 10^9$ п.н., 19 856 кодуючих генів та 11 898 некодуючих генів [531]. За результатами роботи Є. Острандера та Р. Вейна з 19000 собачих генів 14 200 є 1-1-1 спільними для собаки, людини та мишей. Приблизно 5,4% нуклеотидів спільних для людини та собаки перебувають під дією селекції [529]. Але роботи з розширення діапазону маркерівв спрямовані на надання дослідникам як набільшого спектру інструментів для роботи продовжуються й досі [532, 533].

Перші повідомлення про розробку інтегрованої мапи геному собаки, що включає мікросателіти та структурні гени датуються 2004 роком і були зроблені Бріном і співавт. [534], одночасно з ними Хайт та ін. опублікували результати розробки порівняльної мапи високої роздільної здатності (9000 рад) [535], яка

включає 10 348 собачих маркерів, 9850, з яких відповідають собачим ортологам людських генів, отриманих із 1,5-кратної послідовності пуделя [536] і роботи в цьому напрямку постійно продовжуються [537]. Роком пізніше мапу було уточнено, завдяки розшифровці послідовності геному Боксера [538], заповненої дослідниками з Інституту Брод (CanFam1.0 і CanFam2.0) [529, 539].

В останні роки завдяки накопиченим даним збільшується кількість досліджень мікросателітів у зв'язку з криміналістикою [540-543]. Через велику кількість собак в людських популяціях вони часто причетні до злочинів. Іноді на місцях злочинів можна знайти собачі біологічні докази, такі як слина, плями крові та волосся. Відповідно, собача ДНК може бути використана як криміналістичний доказ. Використання мікросателітних локусів (STR) з біологічних доказів є цінним інструментом для судових розслідувань різноманітних злочинів, таких як жорстоке поводження з тваринами, напади на собак, вбивства, пограбування, а також зниклі та покинуті собаки [544]. Для розширення криміналістичних можливостей ведуться роботи з розробки єдиного набору локусів STR, який можна одночасно застосовувати для ідентифікації декількох видів [545] Також, все частіше, повідомляється про використання результатів ДНК типування собак у судових справах [546-548], що включають нещасні випадки, напади собак або аналіз біологічних доказів, які можуть допомогти в ідентифікації злочинця-людини, як „мовчазних свідків“ [549, 550].

1.5.4 Мікросателітні локуси в дослідженнях генофондів птиці. Серед хребетних тварин клас Aves вирізняється найбільшою консервативністю величини геномів. Результати геномного аналізу показали, що геноми курки і людини містять приблизно 20-25 тисяч генів. Але гаплоїдний геном птахів у середньому складається з 1,2 x 10^9 пар нуклеотидів, тобто є в 2,5 разів меншим, ніж у ссавців (2,9 мілліарди). Це пояснюється тим, що в геномі курки набагато менше інтронних ділянок. Зокрема, у людини повтори і некодуючі ділянки ДНК складають половину коду, а в курки – 10 %. Загальних генів у людей та курей – 60 % (у щурів таких, наприклад, 88 %). Нині відомо більше ста ортологічних районів курки та людини [551, 552]. Високий консерватизм геномних послідовностей ДНК та структури каріотипу в межах класу Aves виявлений методом *zoo-FISH* (гетерологічної гібридизації ДНК-ДНК in situ геномних послідовностей з використанням повнохромосомних ДНК-зондів) [553, 554]. Вміст унікальних послідовностей у проаналізованих цим методом видів птахів (80-84 %) порівняно із ссавцями (65-70 %) є досить високим. При цьому вміст

сателітної ДНК у геномі домашньої курки не перевищує 3 % (у ссавців – 35 % геному). Сателітна ДНК локалізується переважно у мікрохромосомах та в W-хромосомі домашньої курки.[555]

Хоча домашня курка стала першим об’єктом для вивчення генетики тварин [556], а її геном повністю секвеновано, генетичні та фізичні карти хромосом птахів досі залишаються досить малодеталізованими, через недостатню увагу, яку приділяють вивченню високополіморфних ділянок ДНК [557]. У 26 країнах світу впроваджено програми збреження генетичного різноманіття птиці. З них 2- для гусей та індиків, 7 для качок і 24 для курей [558].

Мікросателіти ДНК застосовують для вирішення найрізноманітніших завдань у птахівництві [559-562]. В останні роки мікросателіти почали активно застосовувати для вивчення генетичного різноманіття свійської птиці [563-566].

Для дослідження мікроеволюційних процесів та генетичного різноманіття в птахівництві використовується все більша кількість мікросателітів [567-570]. Розроблено генетичні мапи дають можливість досліджувати біорізноманіття та генетичні взаємини між різними породами в середині видів [571-574] та між ними аналіз. [575]. порівняльні дослідження генетичного різноманіття та взаємозв’язків різних порід консолідують широку базу даних, яка може бути використана для збереження генофондів, пошуку філогенетичних зв’язків [576-580] схем відбору та розуміння еволюції видів [581] та молекулярної еволюції геному курки [582]. Мікросателіти часто використовують для здійснення філогенетичного аналізу [583-586], дослідження молекулярно-генетичної еволюції [587]

Проведення досліджень генетичної структури з використанням ДНК-маркерів зумовлює більш вірогідну ідентифікацію породної належності тварин порівняно з методами, що ґрунтуються на оцінці за фенотипом. Використання монолокусних та мультилокусних молекулярно-генетичних маркерів у генетико-популяційних дослідженнях дає змогу визначити «спектр» унікальних алелів (фрагментів), властивих тільки конкретній породі, що, у свою чергу, сприяє їх безпосередньої ідентифікації [165, 559, 588-590].

Визначено високий рівень достовірності за використання мікросателітів для ідентифікації породної належності у курки. Так, середнє значення вірогідності віднесення особин до певної породи за використання 16-ти мікросателітних локусів в різних популяціях було на рівні 96,0%, за використання 8-ми маркерів - 89,0%. В

деяких породах вірогідність віднесення особини до певної популяції за результатами мікросателітного типування досягала 100%. [560].

У свійської птиці активно ведуться роботи з пошуку мікросателітних локусів, пов'язаних із проявом кількісних ознак [591, 592],та резистентністю птиці до вірусних захворювань, зокрема до хвороби Марека [165, 593, 594].

Дослідження генетичного різноманіття аборигенних, локальних та корінних порід домашніх тварин, що перебувають під загрозою зникнення, є загальноприйнятою практикою протягом декількох десятиліть. Основною метою таких досліджень є виявити виняткову генетичну цінність таких порід для їхнього збереження, та отримати додаткову інформацію для розуміння їх поточного генетичного статусу, оскільки вони зазнають поступового зменшення чисельності популяції та загального різноманіття [595].

Програми оцінки та збереження генофондів аборигенних локальних та місцевих порід спрямованих на підтримку їхнього біорізноманіття існують в багатьох країнах і, останнім часом, спираються саме на дані мікросателітного аналізу: Італії [596] та інших країнах середземномор'я [597], Швеції [598], Франції [599], Китаї [600] Угорщині [601, 602] Руанді [603], Саудівській Аравії [604], Тайвані [605], В'єтнамі [606], Ірані [607], Турції [608], Бразилії [609], Еквадорі [610].

1.6 Обґрунтування напряму власних досліджень

Відповідно до рекомендацій Продовольчої та сільськогосподарської організації ООН (FAO), Міжнародного товариства вивчення генетики тварин (ISAG) і вимог профільних для кожного виду свійських тварин, таких як Міжнародний комітет з племінних книг (ISBC) в конярстві, Міжнародний комітет з реєстрації тварин (ICAR) в скотарстві, Американська кінологічна спілка (АКС) та ін. для контролю достовірності походження, ідентифікації тварин необхідно застосовувати типування за мікросателітними локусами ДНК, що обумовлено високою ефективністю даного методу. Мікросателітні локуси ДНК мають простий і стабільний механізм успадковування, який простежується від однієї генерації до іншої, тому їх можна застосовувати для встановлення походження за різними напрямками родинних відносин.

Можливості використання мікросателітного аналізу не обмежуються застосуванням лише для експертизи достовірності походження. Також можливо

проводити популяційний аналіз генофонду порід, контролювати рівень гомозиготності у інбредних тварин, маркувати генотипи видатних плідників і маток, що дозволить контролювати процес передачі генів родоначальника нащадкам у низці поколінь, визначати фактичний індекс генетичної подібності та прогнозувати ефективність добору [611, 612]. Крім того результати генотипування можуть бути використані для популяційно-генетичних, досліджень різних порід і видів свійських тварин і одержання високодостовірної інформації, яка за відповідної статистико-математичниї обробки дасть змогу оцінювання та прогнозування мікроеволюційних процесів в дослідних популяціях тварин різних видів. Останнім часом з'являється все більше публікацій що до зв'язку окремих мікросателітів зі структурними генами різних видів. Генетичні маркери також можуть бути використані для ранньої діагностики генетичних хвороб, що дозволить вилучити тварин носіїв з селекційного процесу

Відсутність вираженої державної підтримки та зацікавленості крупних виробників продукції тваринництва в Україні ставлять під загрозу існування генофондних стад локальних порід у цілому. що, у випадку їх зникнення, призведе до безповоротної втрати унікального генетичного матеріалу (адаптованого до умов утримання в цій геокліматичній зоні). Вивчення генетично обумовлених особливостей різних порід тварин відноситься до однієї з пріоритетних задач проблеми збереження генофонду [165, 613].

Тому питання визначення особливостей генетичної структури популяцій українських заводських та локальних порід свійських тварин, на різних рівнях організації геному, разом з проблемами збереження генофондів українських популяцій в цілому, набуває риси першочергової задачі. Наразі вивчення генетичних особливостей алельного та генотипового, індивідуального та популяційного різноманіття порід заводських та локальних популяцій різних видів свійських тварин за мікросателітами ДНК в більшості зарубіжних країн вже давно увійшло в стандартну практику селекційної роботи, однак в Україні, нажаль, в останні роки такі роботи не проводяться. З урахуванням вираженої загрози невиправної втрати популяцій унікальних генофондів локальних українських порід, необхідність дослідження їх генетичної складової виходить на першочерговий план. Більш того, виявлення особливостей генетичної структури дослідних популяцій за мікросателітами ДНК дасть змогу для максимальної реалізації потенціалу

вітчизняних порід. Саме зазначені невирішені питання і зумовили загальну ідею та методологічну концепцію виконаної дисертаційної роботи.

РОЗДІЛ 2 ЗАГАЛЬНА МЕТОДИКА ТА ОСНОВНІ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1 Матеріал досліджень

Експериментальну частину робіт виконано у період з 2010 по 2020 рік: у лабораторії генетики Інституту розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця НААН (с. Чубинське, Київської області) та відділі молекулярно-діагностичних досліджень Української лабораторії якості і безпеки продукції АПК Національного університету біоресурсів і природокористування України.

Для проведення досліджень використовували біологічний матеріал від свійських тварин 4 видів 9 порід, 5 кросів у кількості 901 голова. А саме: 133 голови великої рогатої худоби, порід українська червоно-ряба молочна (45 голів), українська чорно-ряба молочна (43 голови) та сіра українська (45 голів) (підприємство релігійної організації "Підсобне господарство Свято-Успенської Києво-Печерської лаври", с. Вороньків, Київська обл. та Банку генетичних ресурсів Інституту розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця НААН України); 281 голова коней, порід Гуцульська (ПФГ «Полонинське, Закарпатська обл., ПР ТзОВ «Варто», ПР СФГ «Заріччя», СОК «Сільський господар», Івано-Франківська обл., 78 голів), чистокровна верхова (приватні власники, 51 голова) та Українська верхова (приватні власники, члени АСРКУ, 152 голови); 79 голів собак, порід Німецька вівчарка (приватні власники, члени ФСССУ, 39 голів), Німецький дог (приватні власники, члени ФСССУ, 20 голів) та Російський той-тер’єр (приватні власники, члени ФСССУ, 20 голів); 408 голів курки свійської спеціалізованих яєчних кросів, найбільш поширених в Україні, а саме «Ломанн ЛСЛ» (ВАТ «Птахофабрика «Україна», Васильківський р-н, Київська обл., ЗАТ «Птахофабрика «Київська», Броварський р-н, Київська обл., 100 голів), «Ломанн коричневий» (ЗАТ «Птахофабрика «Київська», Броварський р-н, Київська обл., 83 голови), «Хайсекс білий» (ВАТ «Птахофабрика «Україна», Васильківський р-н, Київська обл., ВП НУБіП України НД ППЗ ім. Фрунзе, АР Крим, 122 голови), «Хай-Лайн W-98» (ВАТ «Птахофабрика «Україна», Васильківський р-н, Київська обл., 22 голови), «Хайсекс коричневий» (ВП НУБіП України НД ППЗ ім. Фрунзе АР Крим, 81 голова).

Загальну схему досліджень представлено на рисунку 2.1.

Згідно схеми дослідження умовно розподілили на декілька етапів, результати яких представлено у відповідних розділах виконаної роботи. На першому етапі

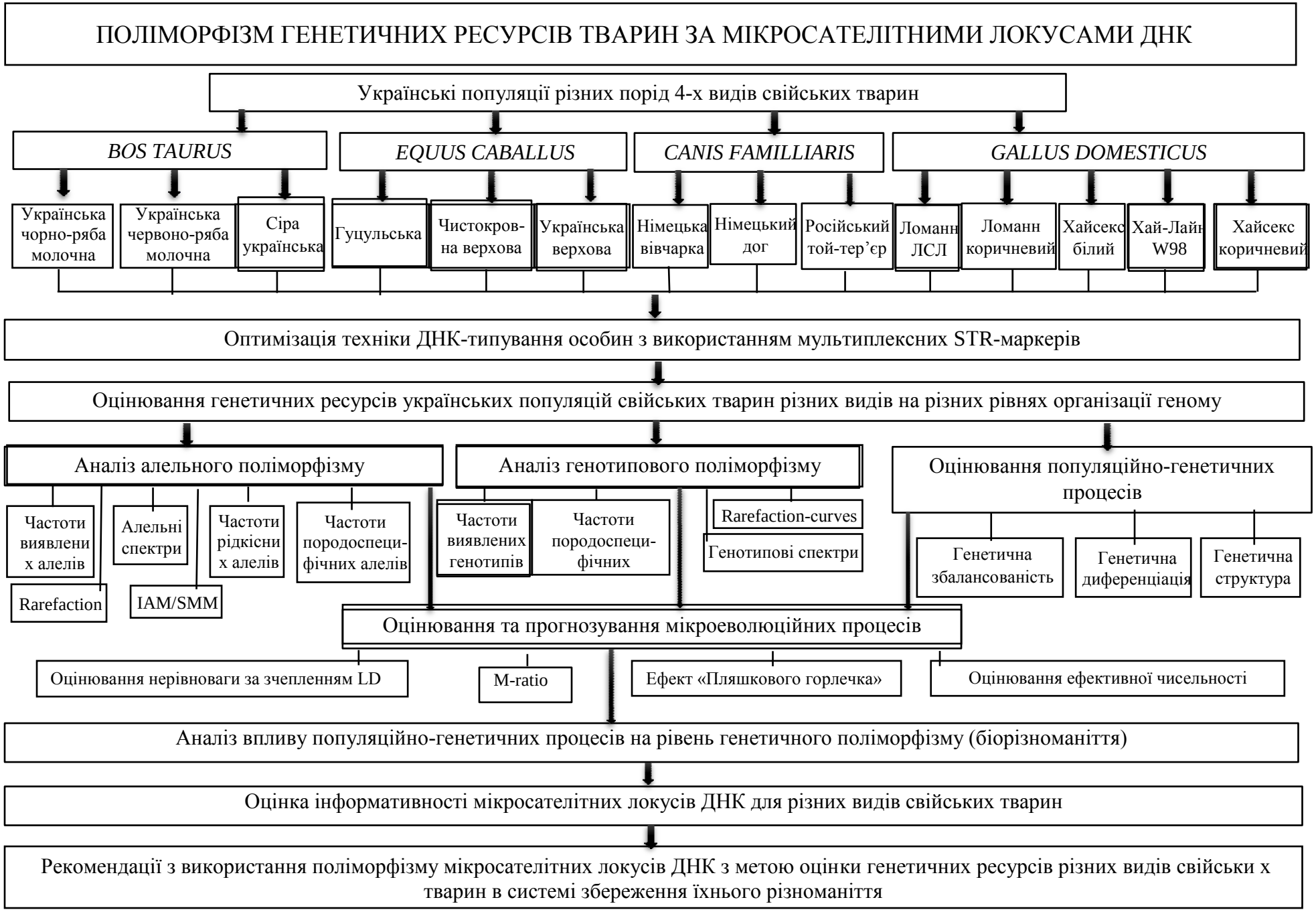


Рис. 1. Загальна схема досліджень.

проводили дослідження з оптимізації методів проведення ампліфікації та генотипування особин за мікросателітними локусами ДНК. На другому етапі, згідно методичних підходів, розроблених у першій частині, проводили дослідження алелофондів та генотипового поліморфізму тварин різних видів за мікросателітними локусами. На третьому етапі вивчали популяційно-генетичні особливості формування генофондів досліджених видів. На четвертому етапі проводили аналіз мікроеволюційних процесів у популяціях генетичних ресурсів видів *Bos taurus, Equs caballus, Canis familliaris* та *Gallus domesticus.* П'ятим етапом був порівняльний аналіз внутрішньовидових та міжвидових особливостей генетичного поліморфізму на різних рівнях організації геному. І на останньому, шостому етапі було оцінено інформативність різних мікросателітних маркерів та їх застосування у молекулярно-генетичних дослідженнях різних видів тварин, в залежності від їхньої структури та розміру.

2.2 Обладнання, що використовували в роботі

В процесі виконання досліджень використовували: програмований термостат (ампліфікатор) Applied BiosystemsVeriti^{TM} 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystems, США); генетичний аналізатор ABI Prism 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США); твердотільний термостат типу "Dray-block", t - 95 ^{o}C ± 1 ^{o}C; УФ-бокс для ПЛР UVC/T (Biosan, Латвія); центрифуга Eppendorff 5715R (Eppendorf, Німеччина); стерильна ламінарна шафа 2-го кл.захисту, БАВп-01- «Ламинар-С»-1,2; мікрозмішувач «Vortex»; магнітний змішувач з підігрівом IKA RH basic2 (IKA-WE3RKE, Germany); SpeedVac Concentrator DNA 120 (Therma); набір дозаторів піпеточних змінного об'єму від 0,5 до 200 мкл відповідно до ДСТУ ISO 9001, (Eppendorf, Німеччина); пробірки пластикові одноразові для ПЛР ємністю 0,2 - 0,5 мл відповідно до ДСТУ ISO 9001, (Eppendorf, Німеччина); одноразові наконечники для ПЛР ємністю 0,2 - 1,0 мл відповідно до ДСТУ ISO 9001, (Eppendorf, Німеччина); реакційні планшети на 96 лунок, типу «Microamp» (Applied Biosystems, США); трансілюмінатор TM 36 LCF 900 122 V, (UVP, США); спектрофотометр СФ – 46; камери для горизонтального гель-електрофорезу; камера для фотодокументації результатів «SONY»; блок живлення (джерело постійного струму 300 ± 10В), «Б-5-50»; холодильна камера на (-20°C), «NORD»; ваги «OHAUS»; термостати «ТС – 80М-2»на 28 – 60 ^{o}C; магнітна мішалка МН; лабораторний посуд (колби 25 – 1000 мл; мірні стакани об'ємом 25 - 1000 мл).

2.3 Методики та методи досліджень

2.3.1 Відбір зразків біологічного матеріалу для проведення досліджень. Матеріалом для проведення дослідження у великої рогатої худоби слугувала цільна стабілізована периферійна кров та сперма, у риби – шматочки м'яких променів плавців та хвоста, у коней - цільна стабілізована периферійна кров та волосяні цибулини, у собак - цільна стабілізована периферійна кров та клітини букального епітелію а у птиці – пір'яні фолікули та пульпа вістя покривного пір'я.

Кров відбирали в стерильні пробірки, використовуючи в якості консерванту, Трілон-Б (EDTA). При заборі зразків крові використовували спеціальні разові комплекти для взяття крові, що складаються з двобічних голок «Venoject» і вакуумних пробірок та тримачів «Venosafe» (Terumo, Бельгія). Зразки крові зберігали і транспортували за температури +4°С не більше 3-х діб з моменту взяття [611,614].

Плавці та хвіст риб обробляли спиртом, шматочки м'яких променів відбирали за допомогою стерильного інструменту шляхом біопсії в стерильні пробірки. Зразки транспортували в термосі з льодом, за температури +4°С [615].

При взятті зразків волосся поверхню шкіри обробляли спиртом, після чого проводили висмикування волосся. Уважно стежачи, щоб на кінцях узятих волосин залишалися волосяні цибулини. Від однієї особини відбирали не менше 30-40 волосин із цибулинами. Відібрані зразки волосяних цибулин та пір'я зберігали за температури +4°С в сухому й темному місці [612].

Для відбору зразків букального епітелію робили мазок зі слизової оболонки щік. Для цього використовували ватні палички, які потім висушували на повітрі [616].

Відбір зразків у птиці здійснювали шляхом висмикування покривного пір'я з ділянки спини, від однієї особини відбирали не менше 6 пір'їн із пір'яними фолікулами. Відібраний матеріал може зберігатись тривалий час за температури +4°С, але обов'язково у темному місці [617].

Матеріал доставляли в лабораторію в день відбору, або наступного дня, зберігаючи за температури +4°С, надалі матеріал зберігали за -20°С – -70°С. Всі маніпуляції з матеріалом проводили використовуючи чистий стерильний інструмент, з використанням одноразових поліпропіленових пробірок та накінечників для дозаторів з аерозольним бар'єром. Заморожену кров та сперму відтаювали за +4°С, та розмішували на вортексі перед використанням.

2.3.2 Виділення ДНК з біологічного матеріалу

Виділення ДНК за допомогою реагенту "Chelex-100". Методика виділення ДНК за допомогою реагента "Chelex-100" використовується для виділення нуклеїнових кислот. Цей метод, завдяки своїй простоті та доступності, дає змогу значно скоротити час виділення ДНК.

До 150 мкл крові додавали до 1 мл. (бі) дистиляту, ретельно перемішували та інкубували при кімнатній температурі упродовж 30 хвилин. Далі зразки центрифугували 3 хв. при 10000 об./хв. Надосадову рідину видаляли, залишивши 20 мкл. До осаду додавали 200 мкл 5% Chelex-100, перемішували та інкубували при 56 C^0 – 1 год. Суміш перемішували, інкубували на водяній бані при 100 C^0 8 хв. і центрифугували 2 -3 хв. при 8000 - 10000 об./хв.

Супернатант, який містив розчин ДНК, використовували для проведення ПЛР-ампліфікації у кількості 5 мкл на 25 мкл реакційної суміші.

Виділення ДНК з використанням стандартного набору “ДНК-сорб В”, “АмпліСенс” (НДІ Епідеміології, Москва, Росія). Виділення ДНК з використанням стандартного комерційного набору “ДНК-сорб В” проводили наступним чином.

Лізуючий розчин і розчин для відмивки 1 (якщо вони зберігалися при 2-8ºС) прогрівали при 65ºС до повного розчинення кристалів.

Вносили в кожну пробірку по 300 мкл лізуючого розчину, промаркувавши пробірки.

В пробірки з лізуючим розчином вносили по 100 мкл проб.

Проби перемішували на вортексі і прогрівали 5 хв. при 65ºС. Центрифугували 5 с при 5 тис. об/хв. на мікроцентрифузі. Якщо проба розчинилася не повністю, центрифугували пробірку на мікроцентрифузі 5 хв. при максимальних обертах і використовували для виділення ДНК надосадову рідину, переносячи її в нову пробірку.

Ресуспендували сорбент на вортексі. В кожну пробірку окремим наконечником добавляли по 25 мкл ресуспендованого сорбенту. Перемішували на вортексі, через 2 хв. ще раз перемішували і залишали в штативі на 5 хв.

Осаджували сорбент в пробірках шляхом центрифугуванням при 5 тис об/ хв. упродовж 30 с. Відбирали супернатант, використовуючи окремий наконечник для кожної проби.

Добавляли в проби по 300 мкл розчину для відмивки 1, перемішували на вортексі до повного ресуспендування сорбента. Осаджували сорбент центрифугуванням при 5 тис

об/хв.. на мікроцентрифузі протягом 30 с. Відбирали супернатант, використовуючи окремий наконечник для кожної проби.

Добавляли в проби по 500 мкл розчину для відмивки 2, перемішували на вортексі до повного ресуспендування сорбенту, центрифугували 30 с при 10 тис. об/хв на мікроцентрифузі. Відбирали супернатант, використовуючи окремий наконечник для кожної проби.

Повторювали процедуру відмивки 2-3 рази.

Поміщали пробірки в термостат при t – 65 ºС на 5-10 хв. для підсушування сорбенту. При цьому кришки пробірок були відкритими.

В пробірки добавляли по 50 мкл ТЕ-буфера для елюції ДНК. Перемішували на вортексі. Поміщали в термостат при t - 65 ºС на 5 хв., періодично струшуючи на вортексі.

Центрифугували пробірки при 12 тис. об/хв.. протягом 1 хв. на мікроцентрифузі. Супернатант містив очищену ДНК і зразки були готові до постановки ПЛР.

Очищену ДНК зберігали від 1 - го тижня при t -2-8 Сº до 1 року при -20 ºС. Ефективність виділення ДНК становить 50-70 %.

Виділення ДНК з нативної сперми бугаїв великої рогатої худоби. Виділення ДНК з сперми проводили з використанням стандартного комерційного набору *“ДНК-сорб А”* виробництва компанії “АмпліСенс” (НДІ Епідеміології, Москва, Росія).

До 3мкл сперми додавали 2-5мкл протеїнази К концентрацією 10мг/мл та 7-10 мкл 1М дітіотрейтолу. Обережно перемішували шляхом струшування та інкубували зразки 30-60 хв. при температурі 56 ^{0}С.

Вносили в кожну пробірку по 300 мкл лізуючого розчину. Проби ретельно перемішували на вортексі і прогрівали 5 хв. при 65ºС і центрифугували 5 с при 5 тис. об/хв.. на мікроцентрифузі. Якщо проба розчинилася не повністю, центрифугували пробірку на мікроцентрифузі 5 хв. при максимальних обертах і використовували для виділення ДНК надосадову рідину, переносячи її в нову пробірку. Ретельно ресуспендували сорбент на вортексі. В кожну пробірку окремим наконечником добавляли по 25 мкл ресуспендованного сорбенту. Перемішували на вортексі через 2 хв. ще раз перемішували і залишали в штативі на 5 хв. Осаджували сорбент в пробірках шляхом центрифугування при 5 тис. об/ хв протягом 30с. Видаляли супернатант, використовували окремий наконечник для кожної проби. Добавляли в проби по 300 мкл розчину для відмивки, перемішували на вортексі до повного ресуспендування сорбента.

Осаджували сорбент центрифугуванням при 5 тис. об/хв. на мікроцентрифузі упродовж 30 с. Видаляли супернатант, використовували окремий наконечник для кожної проби. Добавляли в проби по 500 мкл розчину для відмивки, перемішували на вортексі до повного ресуспендування сорбенту, центрифугували 30с при 10 тис. об/хв.. на мікроцентрифузі. Відбирали супернатант, використовували окремий наконечник для кожної проби. Для підсушування сорбенту пробірки поміщали в термостат 65 ºС на 5-10 хв. В пробірки добавляли по 50 мкл ТЕ-буфера для елюції ДНК. Поміщали пробірки в термостат 65 ºС на 5 хв., періодично струшували на вортексі. Центрифугували пробірки при 12 тис. об/хв. упродовж 1 хв. на мікроцентрифузі. Супернатант містив очищену ДНК.

Після виділення ДНК концентрацію та ступінь очищення ДНК визначали спектрофотометрично, за довжини хвилі 260-280 нм. Оптична щільність D=1 при 260 нм, відповідає приблизно 50 мкг/мл дволанцюгової ДНК. Відношення D260/D280, що дорівнює 1,8 або 2,0 свідчить про чистоту препарату ДНК. Якщо препарат містить домішки білку, або реагентів, що використовувалися для виділення ДНК, то вищевказане відношення буде значно меншим за ці показники. Нативність ДНК визначали шляхом електрофорезу в 1 % агарозному гелі за відсутністю "шлейфу" фрагментів ДНК та інтенсивністю флуоресценції бромистого етидію при УФ опромінюванні електрофореграм.

2.3.3 Постановка полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР)

Необхідні матеріали і устаткування: ампліфікатор; ПЛР-бокс або окремий стіл з УФ-лампою; центрифуга-вортекс; окремий набір автоматичних дозаторів змінного об'єму; холодильник на 2-8°С, з морозильною камерою на -20°С; одноразові наконечники для дозаторів з аерозольним бар'єром; одноразові поліпропіленові пробірки на 0,2/0,5 мл, типу «Еппендорф» (Eppendorf, Німеччина); окремий халат і одноразові рукавички.

Реактиви для ПЛР: буфер для ПЛР; суміш нуклеотидтрифосфатів; ДНК-полімераза; суміш специфічних мікросателітних праймерів; деіонізована вода.

Постановка ПЛР для великої рогатої худоби. Суміші праймерів для проведення аналізу містили праймери до наступних мікросателітних локусів ДНК (табл. 2.1).

Порядок проведення досліджень.

1. Відбирали і маркірували необхідну кількість пробірок об’ємом 0,2 мл;
2. По 10 мкл готової реакційної суміші (табл. 2.2) розносять в чисті пробірки;

Таблиця. 2.1

Мікросателітні ДНК-маркери для ідентифікації ВРХ що використовувалися в дослідженні

Назва маркеру	Локалізація в геномі	Розмір алелів, п.н.	Структура мікросателітної послідовності	Оригінальне посилання
TGLA126	D20S1	111-127	(TG)n	[618]
TGLA122	D21S6	136-182	$(AC)_n(AT)_n$	[618]
INRA023	D3S10	201-225	$(AC)_n$	[619]
ETH003	D19S2	100-128	$(GT)_nAC(GT)_6$	[620]
ETH225	D9S2	139-157	$(TG)_4CG(TG)(CA)_n$	[621]
BM1824	D1S34	176-188	$(GT)_n$	[622]
TGLA227	D18S1	76-104	$(TG)_n$	[618]
BM2113	D2S26	124-146	$(CA)_n$	[623]
ETH10	D5S3	206-222	$(AC)_n$	[620]
SPS115	D15	247-261	$(CA)_nTA(CA)_6$	[618]

3. Використовуючи накінечник для дозатора з аерозольним фільтром додавали по 5 мкл ДНК зразків в пробірки з реакційною сумішшю;
4. Вмикали ампліфікатор згідно інструкції до приладу і задавали параметри ампліфікації (табл. 2.3);

Таблиця. 2.2

Склад ПЛР-суміші

№ п/п	Компонент суміші	На 1 реакцію, (мкл)
1.	ПЛР-буфер 5x blue 1,5мМ Mg2+ кат № R4-1-B	3,00
2.	Суміш дезоксинуклеотидтрифосфатів (dNTP) 1.76 мМ кат № R3-1	1,5
3.	Taq-polymerase 5 U/мкл кат № R1-3	0,25
4.	Суміш праймерів	2,75
5.	Деіонізована вода	1,50
6.	ДНК матриця	1,0
Всього		10,0

5. Пробірки ставили в прилад, закривали кришкою і запускали програму;
6. Після закінчення реакції пробірки охолоджували до +4 С та передавали для проведення аналізу результатів на генетичному аналізаторі.

Таблиця.2.3.

Умови та параметри ампліфікації

Температура, °С	Час	Кількість циклів
95	10 хв	1
95	45с	35
60	45с	
72	60 с	
72	60 хв	1
25	120 хв	1
4	Зберігання	

Постановка ПЛР для свійських коней. Реакційна суміш для проведення аналізу складались з праймерів до таких мікросателітних локусів ДНК (табл. 2.4).

Таблиця. 2.4

Мікросателітні ДНК-маркери для ідентифікації коней що використовувалися в дослідженні

Назва маркеру	Локалізація в геномі	Розмір алелів, п.н.	Структура мікросателітної послідовності	Оригінальне посилання
HTG04	9	127-139	(TG)nAT$(AG)_5$AAG$(GA)_5$ACAG $(AGGG)_3$	[624]
HMS06	4	151-169	(GT)n	[625]
AHT04	24q14	144-164	(AC)nAT(AC)n	[626].
ASB23	3q22.1-q22	128-154	(TG)n and (TG)nTT$(TG)_4$	[627].
HTG07	4	118-128	$(TG)_{19}$	[628].
HTG06	15q26-q27	84-102	(TG)n	[624]
CA425	28q18	226-246	(GT)n	[628].
VHL20	30	87-105	$(TG)_{17}$	[629].
HMS03	9	148-170	$(TG)_2(CA)_2$TC(CA)n and $(TG)_2(CA)_2$TC(CA)nGA$(CA)_5$	[625].
HMS07	1q25	165-185	$(AC)_2$(CA)n	[625].
ASB17	2q14p15	87-129	(AC)n	[630].

Порядок роботи. Відбирали і маркірували необхідну кількість пробірок об'ємом 0,2 мл; По 15 мкл готової реакційної суміші (табл. 2.5) розносили в чисті пробірки.

1. Використовуючи накінечник для дозатора з аерозольним фільтром додавали по 1,0 мкл ДНК зразків в пробірки з реакційною сумішшю;
2. Вмикали ампліфікатор згідно інструкції до приладу і задавали параметри

Таблиця. 2.5

Склад ПЛР-суміші

№ п/п	Компонент суміші	На 1 реакцію, (мкл)
1.	ПЛР-буфер 5x blue 1,5мМ Mg2+ кат № R4-1-B	2,5
2.	Суміш дезоксинуклеотидтрифосфатів (dNTP) 1.76 мМ кат № R3-1	4,0
3.	Taq-polymerase 5 U/мкл кат № R1-3	0,5
4.	Суміш праймерів, по 5рМ/мкл кожного	4,0
5.	Деіонізована вода	3,0
6.	ДНК матриця	1,0
Всього		15,0

ампліфікації (табл. 2.6);

2. Пробірки поміщали в прилад, закривали кришкою і запускали програму;
3. Після закінчення реакції пробірки охолоджували до +4 С та передавали для проведення аналізу результатів на генетичному аналізаторі.

Таблиця.2.6.

Умови та параметри ампліфікації

Температура, °С	Час	Кількість циклів
95	10 хв	1
95	30с	30
60	30с	
72	60 с	
72	90 хв	1
4	Зберігання	

Постановка ПЛР для свійських собак. При збиранні ПЛР-суміші для собак використовували праймери до таких мікросателітних локусів ДНК (табл. 2.7).

Таблиця 2.7.

Мікросателітні ДНК-маркери для ідентифікації собак

Назва маркеру	Локалізація в геномі	Розмір алелів, п.н.	Структура мікросателітної послідовності	Оригінальне посилання
PEZ01	CFA8	92-136	TACA	[631]
PEZ06	CFA16	164-216	(GAAA)n	[632]
PEZ08	CFA17	215-257	AAAG-	[632]
FHC2010	CFA24	208-260	(ATGA)n	[633]
FHC2054	CFA12	131-183	(GATA)n	[634]

Порядок роботи.

1. Відбирали і маркірували необхідну кількість пробірок об’ємом 0,2 мл;
2. По 9 мкл готової реакційної суміші (табл. 2.8) розносили в чисті пробірки;

Таблиця. 2.8

Склад ПЛР-суміші

№ п/п	Компонент суміші	На 1 реакцію, (мкл)
1.	ПЛР-буфер 5x blue 15мМ Mg2+ кат № R4-1-B	2,00
2.	Суміш дезоксинуклеотидтрифосфатів (dNTP) 2 мМ кат № R3-1	0,50
3.	Taq-polymerase 1,5 U/мкл кат № R1-3	0,15
4.	Суміш праймерів, по 5рМ/мкл, кожного	1,0
5.	Деіонізована вода	4,35
6.	ДНК матриця	1,0
Всього		10,0

1. Використовуючи накінечник з аерозольним фільтром додавали по 1 мкл ДНК зразків в пробірки з реакційною сумішшю;
2. Пробірки поміщали в ампліфікатор і запускали програму (табл. 2.9);
3. Після закінчення реакції пробірки охолоджували до +4 С.

Таблиця.2.9.

Умови та параметри ампліфікації

Температура, °С	Час	Кількість циклів
94	4 хв	1
94	15с	35
60	15с	
72	25 с	
72	5 хв	1
4	Зберігання	

Постановка ПЛР для промислових кросів свійської курки. Для проведення ПЛР з з праймерами, що фланкують мікросателітні ділянки геному курки ми використовували локуси наведені в табл. 2.10.

Таблиця 2.10.

Мікросателітні ДНК-маркери для ідентифікації свійськоъ курки

Назва маркеру	Локалізація в геномі	Розмір алелів, п.н.	Структура мікросателітної послідовності	Оригінальне посилання
ADL0268	1	127-139	$(GT)_{12}$	[635]
ADL0278	8	108-122	$(TG)_{18}$	[635]
MCW0248	1	215-223	$(AC)_{9}$	[635]
LEI0094	4	259-283	$(AC)_{16}$	[635]
MCW0216	13	141-145	$(GT)_{9}$	[635]

Порядок роботи.

1. Відбирали і маркірували необхідну кількість пробірок об’ємом 0,2 мл;
2. По 9 мкл готової реакційної суміші (табл. 2.11) розносили в чисті пробірки;

Таблиця. 2.11

Склад ПЛР-суміші

№ п/п	Компонент суміші	На 1 реакцію, (мкл)
1.	ПЛР-буфер 5x blue 15мМ Mg2+ кат № R4-1-B	2,0
2.	Суміш дезоксинуклеотидтрифосфатів (dNTP) 2 мМ кат № R3-1	1,0
3.	Taq-polymerase 5 U/мкл кат № R1-3	0,15
4.	Суміш праймерів	2,5
5.	Деіонізована вода	1,85
6.	ДНК матриця	1,0
	Всього	10,0

2. Використовуючи наконечник з аерозольним фільтром додавали 1,0 мкл ДНК зразків в пробірки з реакційною сумішшю;
3. Пробірки розміщували в ампіфікаторі й запускали програму (табл. 2.12);
4. Після закінчення реакції пробірки охолоджували до +4 С.

Таблиця.2.12.

Умови та параметри ампліфікації

Температура, °С	Час	Кількість циклів
94	4 хв	1
94	15с	35
60	15с	
72	25 с	
72	5 хв	1
4	Зберігання	

2.3.4 Проведення фрагментного аналізу

Необхідні матеріали й устаткування: генетичний аналізатор “ABI Prism 3130” Genetic Analyzer (Applied Biosystem, США); комп'ютер; ліцензійне ПЗ (Applied Biosystem, США); центрифуга; твердотільний термостат; ультрафіолетова лампа; холодильник 2 – 8°С (побутовий); окремий набір автоматичних дозаторів змінного об'єму; одноразові наконечники та реакційні планшети на 96 лунок, типу «Microamp» (Applied Biosystems, США).

Реактиви для фрагментного аналізу: Hi-Di™ формамід (Sigma, США); розмірний стандарт GeneScan-500 LIZ™ (Applied Biosystems, США).

Порядок роботи.

1. Ампліфіковану ДНК готують до проведення аналізу на ABI Prism генетичному аналізаторі.

2. Готували суміш з 1 мкл ПЛР-зразку, 20,0 мкл Hi-Di™ формаміду (Sigma, США), 0,5 мкл GeneScan-500 LIZ™ стандарту (Applied Biosystems, США).

3. Суміш ретельно перемішували на вортексі і струшували краплі зі стінок пробірки центрифугуванням за 5 тис. об/хв. протягом 15 с.

4. Зразки 2 хв. денатурували за 94°С, після цього витримували 3 хв. за 0°С.

5. Зразки переносять в реакційну планшету на 96 лунок у відповідні лунки.

6. Планшету поміщали в *ABI Prism* генетичний аналізатор і виконували аналіз згідно інструкції виробника.

Визначення розмірів алелів здійснювали за допомогою програмного забезпечення “GeneMapper 3.7” (Applied Biosystems, США) із використанням розмірного стандарту GeneScan-500 LIZ™ стандарту (Applied Biosystems, США).

В процесі проведення капілярного електрофорезу досліджуваних зразків комп'ютерна програма «Genescan» (Applied Biosystems, США) визначали розмір флюоресцентно мічених ПЛР-продуктів (у парах нуклеотидів) і зберігали отримані дані. Потім збережені дані експортують в комп'ютерну програму GeneMapper (Applied Biosystems, США) для проведення генотипування.

Результати програмного опрацювання можуть бути надані, у графічному вигляді (карта піків, з вказівкою розмірів фрагментів і відносною інтенсивністю піків) (Рис. 2.2) або таблиці [611-613, 615-617].

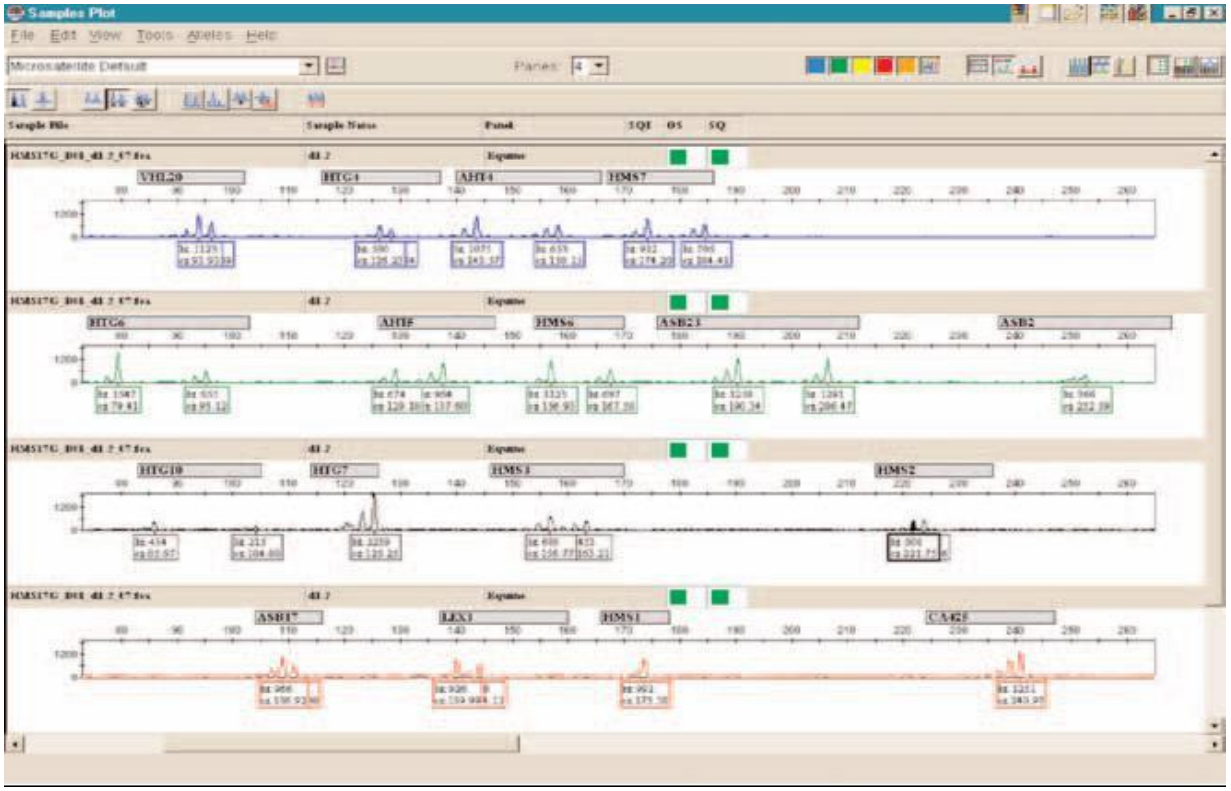


Рис. 2.2 Результат програмного опрацювання у графічному вигляді. Розподілення за трьома фарбами та розмірний стандарт.

Результатом успішної ампліфікації алелю був основний пік, що асоціюється з цілою низкою додаткових піків меншої інтенсивності, що отримуються в результаті так званого «ковзання» полімерази. Кількість основних піків залежить від кількості алелів даного локусу в геномі досліджуваної тварини. Якщо кількість піків – один – гомозигота, якщо – два основних піки – гетерозигота. (Рис. 2.3, 2.4) [611-613, 615-617].

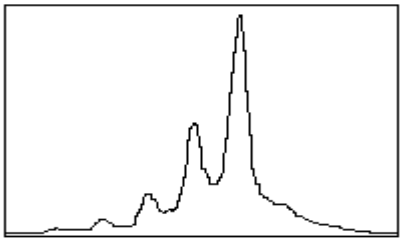


Рис. 2.3 Типовий малюнок піку гомозиготи.

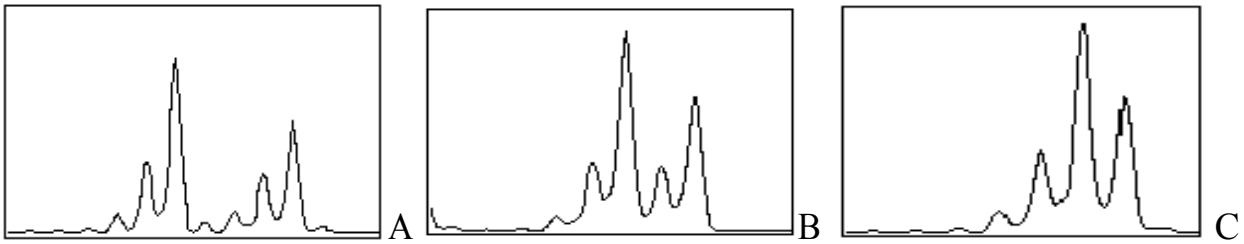


Рис. 2.4 Типовий малюнок піків гетерозиготи. А –різниця між піками 8 пар нуклеотидів, В – різниця в 4 пари нуклеотидів, С –різниця в 2 пари нуклеотидів.

2.4 Математико-статистичний аналіз одержаних даних

Для аналізу алелофондів досліджуваних популяцій (порід) свійських тварин нами було розраховано частоти фактично виявлених алелів (Na). Визначено частоти породоспецифічних (Na_{unic}), та рідкісних алелів (Na_1) тобто алелів що зустрічались в популяції лише один раз.

Визначали спектри алельної мінливості для кожного дослідженого МСЛ та аналізували характер їхнього розподілу в популяціях. Ступінь відмінностей між тваринами різних порід за частотами алелів було розраховано за використання критерію χ^2 К. Пірсона із визначенням рівня значущості за методом Монте-Карло. Всі розрахунки проведено за використання програмного забезпечення PAST [636].

Оскільки в різних популяціях проаналізовано відмінну кількість особин, для коректного порівняння (як між породами, так і між окремими локусами мікросателітної ДНК) проаналізованих популяцій (груп тварин) різного розміру, було використано різні непараметричні методи, які дозволяють оцінити потенційне різноманіття (за умови, що розмір оцінюваної вибірки прагне до нескінченості), це непараметричний метод А. Чао [637] та *rarefaction*-метод із застосуванням програмного забезпечення HP-Rare [638].

З метою оцінки відповідності характеру розподілу виявлених алелів певній мутаційній моделі, теоретичну кількість алелів для різних мікросателітних локусів

було розраховано за моделями SMM [639, 640] та IAM [641, 642] за використання програмного забезпечення MICROSATELLITE ANALYSER [643].

Для оцінки та аналізу генотипового поліморфізму досліджуваних мікропопуляцій свійських тварин нами було розраховано частоти фактично виявлених генотипів (*Ng*), частоти породоспецифічних генотипів (Ng_{unic}) та рідкісних генотипів (тобто генотипів, які виявлялись в популяції лише один (Ng_1), чи два (Ng_2) рази.

Для оцінки та порівняння генетичної структури та поліморфізму окремих порід різних видів, а також різних видів свійських тварин уцілому визначено середні значення перерахованих показників.

Статистичну вірогідність отриманих результатів обчислювали методами математичної статистики та біометрії за критеріями χ^2 , Ст'юдента, Фішера [645] з використанням стандартних комп'ютерних програм GEN ALEX 6, STATISTICA [644, 645].

З метою оцінювання генетичного різноманіття було здійснено аналіз розподілу частот генотипів з розрахунком апроксимуючої моделі (обрана ступінева функція) і ступеня її адекватності та коефіцієнту детермінації, а також застосовано метод *rarefaction-curves*.

Крім того, з метою оцінки популяційно-генетичних процесів, що мають місце в досліджуваних популяціях (породах), для кожного локусу, за допомогою програмного забезпечення *PowerStats V12 (Promega)* та *PowerMarker V3.0* [646] було розраховано: фактичну кількість алелів (Na) та кількість ефективних алелів (Ae) на локус; фактичну (Ho) очікувану (He) та індивідуальну (Hi) гетерозиготності; індекс поліморфізму (PIC); індекс фіксації (F); індекс шеннона (I); вірогідність виключення випадкового збігу алелів (PE) та комбіновану вирогідність виключення випадкового збігу алелів (CPE) для мікросателітних локусів ДНК було визначено за допомогою програмного забезпечення *Cervus 3.0.3* [647].

Оцінювання стану генетичної рівноваги по кожному мікросателітному локусу було виконано за методом MCMC [648], а розрахунки проведено за допомогою програмного забезпечення GeneALEx [645] та GENEPOP [649].

Індекси фіксації (або F-статистики Райта), що дозволяють визначити ступінь генетичної диференціації, було розраховано за методом запропанованим Б. Вейром і

К. Кохерманом у праці [650], як для всіх мікросателітних локусів, вцілому, так і для кожного, зокрема, за використання програмного забезпечення FSTAT [651].

З метою оцінювання генетичної структури популяцій було розраховано значення потоку генів [645], а також здійснено аналіз молекулярної мінливості (AMOVA) на основі емпіричного розподілу генотипів за дослідженими локусами мікросателітної ДНК із визначенням рівня значущості оцінки Фst за допомогою permutation-методу (використано 999 перестановок) було здійснено за допомогою програмного забезпечення GenALEx [645].

Розраховано assignment-тест за результатами аналізу мультилокусних генотипів [374] за використання програмного забезпечення GenALEx [645] та розраховано матрицю попарних генетичних відстаней [652]. В подальшому за останнім алгоритмом було побудовано дендрограму подібності (метод UPGMA).

Для аналізу «тонкої» генетичної структури досліджених популяцій було використано метод, що базується на байєсівському алгоритмі розрахунку розподілу частот мультилокусних генотипів за мікросателітними локусами ДНК для кожної тварини – оцінки «пропорції суміші» (admixture proportions, Q), що фактично є вірогідністю віднесення її до однієї з «батьківських» груп К. Під час аналізу нами було використано значення К в межах від1 до 7. Всі розрахунки здійснено за використання програми STRUCTURE [653].

Для аналізу мікроеволюційних процесів було розраховано оцінки M-ratio (відношення загальної кількості виявлених алельних варіантів до ліміту розмірів (довжин) цих алельних варіантів [654]. Здійснено порівняння оцінок фактичної гетерозиготності (He) та врівноваженої (Heq), що мала б місце за умови що популяція знаходиться в стані рівноваги між мутаційним процесом та дрейфом генів. Оцінку останньої здійснювали за методами SMM, IAM та TPM, що реалізовані у програмному забезпеченні Bottleneck [655]. Гіпотезу відсутності прояву ефекту «пляшкового горлечка» було перевірено за використання непараметричного тесту знаків [656].

Наявність нерівноваги за зчепленням (LD) між всіма парами використаних для кожного виду свійських тварин мікросателітних локусів ДНК було проаналізовано за допомогою програмного забезпечення PopGene [657].

Оцінки ефективної чисельності популяції (Ne) було розраховано за мультилокусними генотипами досліджених мікросателітів ДНК використовуючи програмне забезпечення NeEstimator [658].

Аналіз та узагальнення отриманих даних було проведено в лабораторії генетики ІРГТ ім. М.В.Зубця НААН України.

РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІХ ДОСЛІДЖЕНЬ
ОПТИМІЗАЦІЯ ТЕХНІКИ ДНК-ТИПУВАННЯ

Мікросателітні маркери характеризуються сайтспецифічністю, тобто відома їхня локалізація в геномі тварини, цей тип маркерів має кодомінантний тип успадкування. Один локус може мати значну кількість алельних варіантів. Відповідно, система ДНК-типування генетичних ресурсів сівійських тварин на основі STR-маркерів набуває значної диференційно-ідентифікаційної здатності. Наразі в світовій літературі описано достатню кількість мікросателітних локусів різних видів свійських тварин та досліджено поліморфізм за цими маркерами. Показано, що більшість з них придатні для оцінки генетичного різноманіття [659].

На даний момент генотипування за мікросателітними локусами ДНК є максимально інформативним для оцінювання генетичного поліморфізму популяцій свійських тварин різних видів лише за використання великої кількості маркерів. Відповідно, такі дослідження вимагають великої кількості часу і реактивів. Нашим завданням було розробити мультиплексну систему генотипування за STR-маркерами, що дозволило б суттєво знизити витрати реактивів та часу необхідних для таких досліджень, і дало б можливість суттєво знизити вартість досліджень.

3.1 Підбір мікросателітних локусів ДНК для проведення молекулярно-генетичного типування генетичних ресурсів різних видів свійських тварин

Для вирішення поставлених завдань використовували тандемні повтори з довжиною елементарної одиниці в 2 нуклеотиди для особин видів *Bos taurus, Equs caballus* та, *Gallus domesticus,* а для виду *Canis familliaris* було застосовано тетрануклеотидні локуси ДНК,

Для генетичного аналізу, за результатами опрацювання великої кількості літературних даних наявних у вільному доступі та в мережі інтернет, нами було відібрано мікросателітні локуси ДНК які входять до переліку найінформативніших для досліджуваних видів тварин та рекомендованих для проведення експертизи достовірності походження та досліджень генетичного поліморфізму FAO та ISAG, а також профільними для окремих видів міжнародними організаціями: для коропових риб 6 мікросателітних локусів (MFW 7, MFW 9, Hmo 11, Hmo 13, Hmo 34, Cca 02, Cca 72), для осетрових – 4 (Ls 19, Ls 68 Aox 23, Aox 45), для великої рогатої худоби 10 –

(TGLA126, TGLA1227, INRA023, ETH003, ETH225, BM1824, TGLA227, BM2113, ETH010 та SPS115) (ICAR); для коней – 11 (HTG04, HMS06, AHT04, ASB23, HTG07, HTG06, CA425, VHL20, HMS03, HMS07 та ASB17) (ISBC); для собак – 5 (PEZ01, PEZ06, PEZ08, FHC2010 та FHC2054) (AKC); для свійської курки – 5 (ADL0268, ADL0278, MCW0248, LEI0094 та MCW0216).

Інформація щодо послідовностей праймерів для ампліфікації мікросателітних локусів та ділянок геному, які містять відповідний мікросателіт уточнювалась в генетичній базі даних результатів сиквенування геному [660]. Уточнення проводилось з метою корекції послідовностей праймерів та підбору можливих альтернативних варіантів праймерів. Олігонуклеотидні послідовності маркерів, що використовувалися в наших дослідженнях, наведені в табл. 3.1, де також зазначено барвник, яким було помічено кожен маркер.

Таблиця 3.1

Послідовності праймерів, використаних для дослідження

Назва маркеру	Послідовність праймерів		Барвник
Велика рогата худоба			
TGLA126	F: R:	CTAATTTAGAATGAGAGAGGCTTCT TTGGTCCTCTATTCTCTGAATATTCC	TAMRA
TGLA122	F: R:	AATCACATGGCAAATAAGTACATAC CCCTCCTCCAGGTAAATCAGC	R6G
INRA023	F: R:	GAGTAGAGCTACAAGATAAACTTC TAACTACAGGGTGTTAGATGAACTC	TAMRA
ETH003	F: R:	GAACCTGCCTCTCCTGCATTGG ACTCTGCCTGTGGCCAAGTAGG	R6G
ETH225	F: R:	GATCACCTTGCCACTATTTCCT ACATGACAGCCAGCTGCTACT	R6G
BM1824	F: R:	GAGCAAGGTGTTTTTCCAATC CATTCTCCAACTGCTTCCTTG	R6G
TGLA227	F: R:	GGAATTCCAAATCTGTTAATTTGCT ACAGACAGAAACTCAATGAAAGCA	FAM
BM2113	F: R:	GCTGCCTTCTACCAAATACCC CTTCCTGAGAGAAGCAACACC	FAM
ETH10	F: R:	GTTCAGGACTGGCCCTGCTAACA CCTCCAGCCCACTTTCTCTTCTC	FAM
SPS115	F: R:	AAAGTGACACAACAGCTTCACCAG AACCGAGTGTCCTAGTTTGGCTGTG	FAM
Свійські коні			
HTG04	F: R:	CTATCTCAGTCTTGATTGCAGGAC CTCCCTCCCTCCCTCTGTTCTC	FAM
HMS06	F: R:	GAAGCTGCCAGTATTCAACCATTG CTCCATCTTGTGAAGTGTAACTCA	R6G
HTG06	F: R:	CCTGCTTGGAGGCTGTGATAAGAT GTTCACTGAATGTCAAATTCTGCT	R6G

Продовж. табл. 3.1

ATH04	F: R:	AACCGCCTGAGCAAGGAAGT GCTCCCAGAGAGTTTACCCT	FAM
ASB23	F: R:	GCAAGGATGAAGAGGGCAGC CGTGTGGGTTAGATGAGAAGTC	R6G
ASB17	F: R:	ACCAGTCAGGATCTCCACCG GAGGGCGGTACCTTTGTACC	TAMRA
CA425	F: R:	AGCTGCCTCGTTAATTCA CTCATGTCCGCTTGTCTC	R6G
HTG07	F: R:	CCTGAAGCAGAACATCCCTCCTTG ATAAAGTGTCTGGGCAGAGCTGCT	TAMRA
HMS03	F: R:	CCATCCTCACTTTTTCACTTTGTT CCAACTCTTTGCACATAACAAGA	TAMRA
VHL20	F: R:	CAAGTCCTCTTACTTGAAGACTAG AACTCAGGGAGAATCTTCCTCAG	FAM
HMS07	F: R	CAGGAAACTCATGTTGATACCATC TGTTGTTGAAACATACCTTGACTGT	FAM
Свійські собаки			
PEZ01	F: R:	GGCTGTCACTTTTCCCTTTC CACCACAATCTCTCTCATAAATAC	FAM
PEZ06	F: R:	ATGAGCACTGGGTGTTATAC ACACAATTGCATTGTCAAAC	FAM
PEZ08	F: R:	TATCGACTTTATCACTGTGG ATGGAGCCTCATGTCTCATC	FAM
FHC2010	F: R:	AAATGGAACAGTTGAGC ATGCCCCCTTACAGCTTCATTTTCC	FAM
FHC2054	F: R:	GCCTTATTCATTGCAGTTAGGG ATGCTGAGTTTTGAACTTTCCC	FAM
Свійська курка			
ADL0268	F: R:	CTCCACCCCTCTCAGAACTA CAACTTCCCATCTACCTACT	FAM
ADL0278	F: R:	CCAGCAGTCTACCTTCCTAT TGTCATCCAAGAACAGTGTG	FAM
MCW0248	F: R:	GTTGTTCAAAAGAAGATGCAG TTGCATTAACTGGGCACTTTC	FAM
LEI0094	F: R:	GATCTCACCAGTATGAGCTGC TCTCACACTGTAACACAGTGC	FAM
MCW0216	F: R:	GGGTTTTACAGGATGGGACG AGTTTCACTCCCAGGGCTCG	FAM

3.2 Підбір та оптимізація умов ПЛР

Відомо, що ефективність ампліфікації ділянки ДНК залежить від двох основних факторів температури відпалу праймера та концентрації іонів магнію (Mg^{2+}) [661]. Варіювання цих двох факторів дозволяє досягти максимальної ефективності ампліфікації з мінімальною кількістю відпалу неспецифічних фрагментів, що можуть ускладнювати процес визначення довжини сайт специфічних ампліконів. Для

розробки системи ДНК-типування першим етапом було визначення оптимального співвідношення температури відпалу праймера та концентрації іонів магнію в буферному розчині. Було проведено серію експериментів. Ефективність ампліфікації визначали шляхом розподілу продуктів ампліфікації в 2 % агарозному гелі з 1xTBE буфером. Оптимальними вважали ті умови, за яких були відсутні неспецифічні продукти ампліфікації, а кількість специфічного амплікону була більшою за 20 ng/5мкл, що оцінювалось за маркером молекулярних мас. Проведено ампліфікацію всіх досліджуваних локусів при температурах відпалу праймерів 55^0C, 60^0C та 65^0C та кількістю концентрацією іонів магнію Mg^{2+} 1,5 mM, 2 mM та 3 mM.

При ампліфікації із підвищенням концентрації іонів магнію та зниженням температури відпалу праймерів зростала кількість неспецифічних фрагментів, і навпаки. В результаті проведеної роботи було визначено, що оптимальними умовами, за яких відсутні неспецифічні продукти ампліфікації, а кількість продукту ампліфікації є достатньою для візуалізації є температура відпалу для всіх праймерів 60°C та концентрація іонів магнію 1,5 mM.

Для спрощення роботи щодо розділення продуктів ампліфікації на генетичному аналізаторі 3130 необхідно було вирівняти за концентрацією специфічні продукти ампліфікації, що утворювалися в наслідок ампліфікації у обраному режимі, в зв’язку із тим, що при внесенні в прилад значної кількості продукту ампліфікації точність визначення розміру фрагментів знижується, а спектрофотометричне вимірювання стає неможливим у зв’язку з наявністю флуоресцентної мітки.

Було проведено ампліфікацію з різною кількістю ДНК, що вноситься в ПЛР суміш, оптимальною кількістю за умови проведення 35 циклів була кількість в 10 нг. За умови внесення 10 нг ДНК кількість ПЛР продукту, що вноситься для розподілу в капілярному гель електрофорезі становила 1 мкл. Така кількість продукту ПЛР є необхідною і достатньою для нормального розділення в приладі (табл. 2.2, 2.5, 2.8, 2.11). Уніфіковані умови ампліфікації для всіх мікросателітних маркерів та однакова кількість ПЛР продукту є важливими для спрощення роботи з генотипування.

Оптимальні умови проведення ПЛР та концентрації компонентів ПЛР-суміші визначали експериментальним шляхом. Важливим елементом проведення ПЛР є температура відпалу праймерів, яка була нами уніфікована для усіх праймерів і встановлена на рівні 60^0C (табл. 2.3, 2.6, 2.9, 2.12)

3.3 Розробка мультиплексів для STR-PCR

З метою розробки ефективної системи генотипування за SSR-маркерами та дослідження ДНК-структури порід різних видів було проведено значну кількість ПЛР-реакцій. В результаті експериментального визначення оптимальної концентрації компонентів ПЛР-суміші, підбору оптимальних температурних умов для проведення ампліфікації та уніфікації всього процесу ПЛР, було запропоновано проведення мультиплексного ампліфікування генотипів за комплексом мікросателітних маркерів, що в свою чергу, дозволило суттєво зекономити витрату реактивів та апаратного часу на проведення досліджень. Для створення мультиплексу було проаналізувано довжини отриманих мікросателітних фрагментів (найбільший і найменший розмір фрагментів ДНК для кожного локусу) та барвник яким фарбували SSR-маркери.

Риба була використана нами в якості модельного об’єту через низку технологічних моментів, які роблять її найоптимальнішим об’єктом для розробки і опрацювання методичних підходів, але, в з’вязку з тетраплоїдною структурою геному, осетрових і неможливістю розрахунків показників популяційногенетичних та мікроеволюційних процесів, що мають місце в популяціях тварин, всі подальші роботи було зосереджено на чотирьох видах – велика рогата худоба, коні, собаки та курка, а результати досліджень риби не увійшли до даного рукопису і будуть предметом подальших досліджень.

Для розрахунку відповідних комбінацій було враховувано розміри мікросателітних локусів, що були обрані для типуванні генотипів тварин, барвник яким позначено маркер та співвідношення GC складу. Врахувавши ці показники було розроблено та відпрацьовано наступні поєднання:

для великої рогатої худоби – 10 STR-маркерів у 3 мультиплексні комбінації:

1. TGLA227, BM2113, TGLA122, ETH003;
2. TGLA126, INRA023, SPS115;
3. ETH225, BM1824, ETH10;

для коней – 11 маркерів у 4 мультиплексні комбінації:

1. HTG04, HMS06, HTG06;
2. AHT04, HTG07, ASB23;
3. VHL20, CA425, HMS03;
4. HMS07; ASB17;

для собак – 5 мікросателітів у 2 мультиплексні комбінації:

1. PEZ01, PEZ06, PEZ08;
2. FHC2010, FHC2054

для курки – 5 маркерів у 2 мультиплексні комбінації:

1. ADL0268, MCW0248, MCW0216;
2. ADL0278, LEI0094.

Візуалізацію продуктів ампліфікації за використання мультиплексної комбінації маркерів з різними розмірами ампліфікованих фрагментів проводили за допомогою генетичного аналізатора ABI Prism 3130 (рис. 2.2) та відповідного програмного забезпечення.

3.4 Висновки по розділу

З метою розробки ефективної системи генотипування різних видів свійських тварин за STR-маркерами було проведено значну кількість ПЛР-реакцій. В результаті експериментального визначення оптимальної концентрації компонентів ПЛР-сумішей, підбору оптимальних температурних умов ампліфікації та уніфікації всього процесу ПЛР, нами запропоновано проведення мультиплексного ампліфікування генотипів з комплексом мікросателітних маркерів, що в свою чергу, дозволило суттєво зекономити витрату реактивів на проведення досліджень та часу на аналіз одержаних результатів. Для створення мультиплексів було проаналізувано розміри отриманих мікросателітних фрагмнтів та барвник, яким було помічено кожен маркер. Для кожного з досліджуваних видів було розроблено мікросателітні мультиплекси які дозволили зменшити кількість необхідних ПЛР: у великої рогатої худоби – з 10 до 3х; коней – з 11 до 4х; а у собак та курки – з 5 реакцій до 2х.

Матеріали досліджень розділу викладено у наукових публікаціях [611-617, 662].

РОЗДІЛ 4 АЛЕЛОФОНДИ ТА ГЕНОТИПОВИЙ ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНЕТИЧНИХ РЕСУРСІВ ТВАРИН РІЗНИХ ВИДІВ ЗА МІКРОСАТЕЛІТНИМИ ЛОКУСАМИ ДНК

Поліморфізм (різноманіття) алельних варіантів генів та їхня комбінаторика на рівні генотипів є базовими молекулярно-генетичними характеристиками генетичного поліморфізму. Якщо для структурних генів, здебільшого, характерною є наявність невеликої кількості алельних варіантів, то мікросателітні ділянки геному характеризуються поліалельністю, що робить їх одним з найзручніших інструментів для оцінки генетичного поліморфізму [286].

4.1 Структура різних порід великої рогатої худоби

Аналіз алелофондів великої рогатої худоби різних порід. Застосування методів інтенсивної селекції, а в останні десятиріччя впровадженняя в практику селекції генетичних (MAS, GS) та біотехнологічних методів (кріоконсервація гамет та ембріотрансплантація) призвели до різкого звуження біорізноманіття як окремих порід різних видів, так і видів вцілому. Тому, актуальності набувають дослідження генетичної структури порід ВРХ з метою оцінювання, контролю та збереження генетичного різноманіття племінних ресурсів даного виду [663].

В результаті проведенної роботи щодо дослідження генетичної структури представників *Bos taurus* за поліморфізмом мікросателітних локусів ДНК нами були одержані наступні результати: кількість виявлених алельних варіантів для української червоно-рябої молочної (УЧеР) породи коливалась від 7-и – для локусів ETH3 та ETH10 до 13-ти – для TGLA227, і становила в середньому 9,5±0,637 алеля на локус (табл. 4.1).

Таблиця 4.1.

Структура української червоно-рябої молочної (УЧеР) худоби

Локус	Na	Розмір п.н. / (частота) алелів								
TGLA126	8	114 (0,044)	116 (0,344)	118 (0,233)	120 (0,189)	122 (0,011)	124 (0,044)	126 (0,089)	128 (0,044)	
TGLA122	11	144 (0,200)	146 (0,189)	148 (0,100)	150 (0,100)	154 (0,200)	156 (0,056)	158 (0,022)	164 (0,033)	166 (0,044)
		168 (0,022)	188 (0,033)							

Продовж. табл. 4.1

INRA023	11	208 (0,078)	210 (0,222)	212 (0,011)	214 (0,089)	216 (0,056)	218 (0,133)	220 (0,133)	222 (0,067)	224 (0,056)
		226 (0,100)	228 (0,056)							
ETH3	7	114 (0,078)	118 (0,356)	120 (0,156)	122 (0,022)	126 (0,089)	128 (0,233)	130 (0,067)		
ETH225	8	142 (0,122)	144 (0,122)	146 (0,089)	148 (0,167)	150 (0,156)	152 (0,178)	154 (0,122)	156 (0,044)	
BM1824	10	178 (0,133)	180 (0,078)	182 (0,222)	184 (0,100)	186 (0,178)	188 (0,067)	190 (0,067)	192 (0,022)	194 (0,067)
		196 (0,067)								
TGLA227	13	80 (0,011)	82 (0,044)	84 (0,022)	86 (0,100)	90 (0,100)	92 (0,211)	94 (0,133)	96 (0,078)	98 (0,133)
		100 (0,078)	102 (0,056)	104 (0,022)	110 (0,011)					
BM2113	11	122 (0,222)	124 (0,033)	126 (0,089)	128 (0,100)	130 (0,089)	132 (0,089)	134 (0,067)	136 (0,033)	138 (0,089)
		140 (0,111)	142 (0,078)							
ETH10	7	218 (0,056)	220 (0,122)	222 (0,067)	224 (0,189)	226 (0,233)	228 (0,178)	230 (0,156)		
SPS115	9	246 (0,022)	248 (0,233)	250 (0,178)	252 (0,233)	256 (0,144)	258 (0,033)	260 (0,033)	262 (0,089)	264 (0,033)

За локусом TGLA126 виявлено 8 алельних варіантів розміром від 114 до 128 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,344) зустрічався алель TGLA126^{116}, а найменш часто (0,011) – алель TGLA126^{122}. Локус TGLA122 характеризувався 11 алельними варіантами розміром від 144 до 188 п.н., найчастіше (0,200) зустрічались алелі TGLA122^{144} та TGLA122^{154}, а найменш часто (0,022) – алелі TGLA122^{158} та TGLA122^{168}. За INRA023, також, виявлено 11 алельних варіантів розміром від 208 до 228 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,222) зустрічався алель INRA023^{210}, а INRA023^{212} – найменш часто (0,011). Для ETH3 описано 7 алельних варіантів розміром від 114 до 130 п.н., серед яких наймасовішим (0,356) був алель ETH3^{118}, а найменш масовим (0,022) – ETH3^{122}. Локус ETH225 має 8 алельних варіантів розміром від 142 до 156 п.н., з найбільшою частотою (0,178) зустрічався алель ETH225^{152}, а найменш часто (0,044) – ETH225^{156}. Для BM1824 було діагностовано 10 алельних варіантів , розміром від 178 до 196 п.н., серед яких найбільшою частотою (0,222) характеризувався алель BM1824^{182}, а найменшою (0,022) – BM1824^{192}. За локусом TGLA227 зафіксовано 13 алельних варіантів, розміром від 80 до 110 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,211) зустрічався алель TGLA227^{92}, а найменш часто (0,011) – TGLA227^{80}, та TGLA227^{110}. BM2113 відрізнявся 11 алельними варіантами розміром від 122 до 142 п.н., серед яких, з найчастіше (0,222) зустрічався алель BM2113^{122}, а

найменш часто (0,033) – BM2113^{124} та BM2113^{136}. Локус ETH10 характеризувався 7 алельними варіантами розміром від 218 до 230 п.н., серед яких з найбільш масовим (0,233) був алель ETH10^{226}, а найменш (0,056) – ETH10^{218}. SPS115 відрізнявся 9 алельними варіантами розміром від 246 до 264 п.н., серед яких найбільше поширення (0,233) мали алелі SPS115^{248} та SPS115^{252}, а найменш поширеним (0,022) був SPS115^{246}.

Кількість виявлених алельних варіантів для чорно-рябої молочної (УЧР) породи коливалась від 6-ти – для маркеру TGLA126 до 14-ти – для TGLA227, і становила в середньому 9,2±0,841 алеля на локус. (табл. 4.2).

Таблиця 4.2.

Алелофонд української чорно-рябої молочної (УЧР) породи

Локус	Na	Розмір п.н. / (частота) алелів								
TGLA126	6	116 (0,453)	118 (0,279)	120 (0,151)	124 (0,047)	126 (0,035)	128 (0,035)			
TGLA122	11	144 (0,186)	146 (0,267)	148 (0,070)	150 (0,047)	152 (0,023)	154 (0,151)	156 (0,047)	158 (0,140)	162 (0,012)
		164 (0,023)	166 (0,035)							
INRA023	12	208 (0,047)	210 (0,116)	212 (0,012)	214 (0,128)	216 (0,140)	218 (0,163)	220 (0,093)	222 (0,151)	224 (0,047)
		226 (0,035)	228 (0,023)	232 (0,047)						
ETH3	7	118 (0,302)	120 (0,116)	122 (0,035)	124 (0,070)	126 (0,081)	128 (0,302)	130 (0,093)		
ETH225	8	142 (0,105)	144 (0,058)	146 (0,128)	148 (0,093)	150 (0,209)	152 (0,326)	154 (0,047)	156 (0,035)	
BM1824	11	156 (0,012)	178 (0,058)	180 (0,081)	182 (0,244)	184 (0,256)	186 (0,093)	188 (0,012)	190 (0,047)	192 (0,105)
		194 (0,070)	196 (0,023)							
TGLA227	14	76 (0,023)	80 (0,058)	82 (0,093)	84 (0,070)	86 (0,035)	88 (0,023)	90 (0,081)	92 (0,047)	94 (0,174)
		96 (0,081)	98 (0,174)	100 (0,070)	108 (0,035)	110 (0,035)				
BM2113	9	122 (0,244)	124 (0,140)	126 (0,070)	128 (0,012)	132 (0,116)	134 (0,035)	136 (0,151)	138 (0,198)	140 (0,035)
ETH10	7	218 (0,116)	220 (0,349)	222 (0,140)	224 (0,058)	226 (0,140)	228 (0,128)	230 (0,070)		
SPS115	7	246 (0,314)	248 (0,151)	250 (0,198)	252 (0,105)	256 (0,070)	258 (0,105)	262 (0,058)		

За локусом TGLA126 виявлено 6 алельних варіантів розміром від 116 до 128 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,453) зустрічався алель TGLA126^{116}, а найменш часто (0,035) – TGLA126^{126} та TGLA126^{128} п.н. Локус TGLA122 характеризувався 11 алельними варіантами

розміром від 144 до 166 п.н., серед яких наймасовішим (0,267) був алель TGLA122^{146}, а найменш масовим (0,012) – TGLA122^{162}. За INRA023 виявлено 12 алельних варіантів розміром від 208 до 232 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,163) зустрічався алель INRA023^{218}, а найменш часто (0,012) – INRA023^{212} п.н. Для ETH3 зареєстровано 7 алельних варіантів розміром від 118 до 130 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,302) зустрічались алелі ETH3^{118} та ETH3^{128}, а найменш часто (0,035) – ETH3^{122}. Локус ETH225 має 8 алельних варіантів розміром від 142 до 156 п.н., серед яких з найпоширенішим (0,326) був алель ETH225^{152}, а найменш поширеним (0,035) – ETH225^{156}. Для BM1824 діагностовано було 11 алельних варіантів, розміром від 156 до 196 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,256) зустрічався алель BM1824^{184}, а найменш часто (0,012) – BM1824^{156} та BM1824^{188}. За локусом TGLA227 зафіксовано 13 алельних варіантів, розміром від 80 до 110 п.н., серед яких найбільшою частотою (0,174) характеризувались алелі TGLA227^{94} та TGLA227^{98}, а найменшою (0,023) – TGLA227. BM2113 відрізнявся 9 алельними варіантами розміром від 122 до 140 п.н., серед яких, з найбільшою частотою (0,244) зустрічався алель BM2113^{122}, а найменш часто (0,012) – BM2113^{128}. За локусом ETH10 було виявлено 7 алельних варіантів розміром від 218 до 230 п.н., серед яких з найбільш масовим (0,349) був ETH10^{220}, а найменш (0,058) – ETH10^{224}. За локусом SPS115 виявлено 7 алельних варіантів розміром від 246 до 262 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,314) зустрічався алель SPS115^{246}, а найменш часто (0,058) – SPS115^{262}.

Кількість виявлених алельних варіантів для сірої української (СУ) породи коливалась від 6-ти – для маркеру TGLA126 до 14-ти – для TGLA122, і становила в середньому 9,2±0,712 алеля на локус (табл. 4.3).

Таблиця 4.3.

Структура сірої української (СУ) худоби за частотамі виявлених алельних варіантів

Локус	Na	Розмір п.н. / (частота) алелів								
TGLA126	6	114 (0,067)	116 (0,200)	118 (0,244)	120 (0,289)	122 (0,144)	124 (0,056)			
TGLA122	14	144 (0,089)	146 (0,111)	148 (0,100)	150 (0,056)	152 (0,133)	154 (0,133)	156 (0,178)	158 (0,056)	166 (0,067)
		168 (0,011)	170 (0,022)	176 (0,022)	178 (0,011)	186 (0,011)				
INRA023	9	206 (0,011)	212 (0,056)	214 (0,056)	216 (0,133)	218 (0,200)	220 (0,178)	222 (0,067)	224 (0,233)	226 (0,067)

Продовж. табл. 4.3

ETH3	8	116 (0,067)	118 (0,333)	120 (0,078)	122 (0,044)	124 (0,011)	126 (0,178)	128 (0,211)	130 (0,078)	
ETH225	11	142 (0,033)	144 (0,022)	146 (0,056)	148 (0,089)	150 (0,156)	152 (0,244)	154 (0,167)	156 (0,178)	158 (0,011)
		160 (0,033)	162 (0,011)							
BM1824	9	180 (0,044)	182 (0,244)	184 (0,156)	186 (0,211)	188 (0,144)	190 (0,033)	192 (0,122)	194 (0,022)	196 (0,022)
TGLA227	11	80 (0,011)	82 (0,122)	84 (0,033)	86 (0,022)	88 (0,011)	90 (0,044)	92 (0,178)	94 (0,133)	96 (0,144)
		98 (0,089)	100 (0,211)							
BM2113	8	122 (0,044)	126 (0,022)	128 (0,011)	132 (0,067)	134 (0,322)	136 (0,189)	138 (0,322)	142 (0,022)	
ETH10	8	214 (0,022)	218 (0,078)	220 (0,044)	222 (0,333)	224 (0,222)	226 (0,022)	228 (0,056)	230 (0,222)	
SPS115	8	246 (0,100)	248 (0,333)	250 (0,078)	252 (0,311)	254 (0,022)	256 (0,033)	258 (0,111)	262 (0,011)	

Локус TGLA126 характеризувався 6 алельними варіантами розміром від 114 до 124 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,289) зустрічався алель $TGLA126^{120}$, а найменш часто (0,056) – $TGLA126^{124}$. За локусом TGLA122 виявлено 14 алельних варіантів розміром від 144 до 186 п.н., серед яких з найпоширенішим (0,178) був $TGLA122^{156}$, а найменш поширеними (0,011) – $TGLA122^{168}$, $TGLA122^{178}$ та $TGLA122^{186}$. По локусу INRA023 зареєстровано 9 алельних варіантів розміром від 206 до 226 п.н., серед яких з найбільш масовим (0,233) був алель $INRA023^{224}$, а найменш (0,011) – $INRA023^{206}$. Для ETH3 виявлено 8 алельних варіантів розміром від 116 до 130 п.н., серед яких з найчастіше (0,333) виявляли алель $ETH3^{118}$, а найменш часто (0,011) – $ETH3^{124}$. ETH225 відрізняється наявністю 11 алельних варіантів розміром від 142 до 162 п.н., серед яких з найбільш поширеним (0,244) був алель $ETH225^{152}$, а найменш (0,011) – $ETH225^{158}$ та $ETH225^{162}$. За BM1824 виявлено 9 алельних варіантів, розміром від 1180 до 196 п.н., серед яких з наймасовішим (0,244) був $BM1824^{182}$, а найменш масовим (0,022) – $BM1824^{194}$ та $BM1824^{196}$. Локус TGLA227 мав 11 алельних варіантів, розміром від 80 до 100 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,211) зустрічався алель $TGLA227^{100}$, а найменш часто (0,011) – $TGLA227^{80}$ та $TGLA227^{88}$. За локусом BM2113 діагностовано 8 алельних варіантів розміром від 122 до 142 п.н., серед яких, з найпоширенішим (0,322) були алелі $BM2113^{134}$ та $BM2113^{138}$, а найрідкіснішими (0,011) – $BM2113^{128}$. Для мікросателіту ETH10 зафіксовано 8 алельних варіантів розміром від 214 до 230 п.н., серед яких з найбільшого поширення (0,333) набув алель $ETH10^{222}$, а виявляли найрідше (0,022) – алелі $ETH10^{214}$ та $ETH10^{226}$. А за SPS115 також,

зафіксовано 8 алельних варіантів розміром від 246 до 262 п.н., серед яких з наймасовішим (0,333) був алель $SPS115^{248}$, а найменш поширеним (0,011) – $SPS115^{262}$.

В результаті аналізу алельного різноманіття встановлено, що найбільший рівень алельного поліморфізму у *Bos taurus* спостерігався за локусами TGLA227 та TGLA122 (13-14 алелів на локус), а наменш поліморфними в УЧеР породи були локуси ETH3 та ETH10 (7 алелів) , а в УЧР та СУ – TGLA126 (6 алелів на локус). Частоти окремих алельних варіантів локусу TGLA126 достовірно відрізнялась у тварин різних порід (p = 0,0001). При цьому спостерігається нерівномірність розподілу різних алелів (рис. 4.1). Так, з 8 алелів відносно високу частоту (0,10-0,15) мали лише 3, а ще 3 зустрічались з частотою меншою за 0,05.

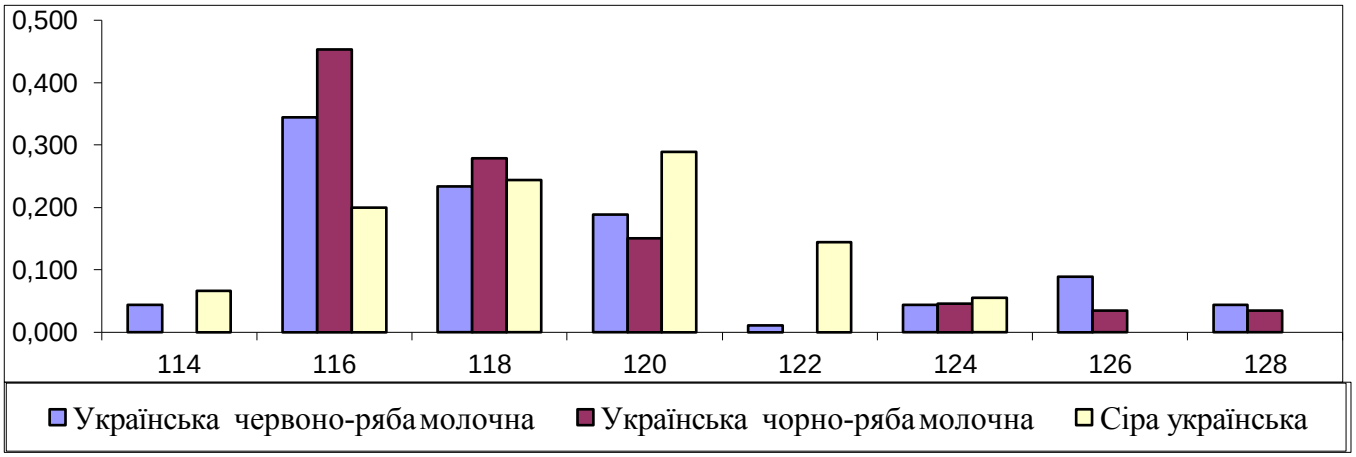


Рис. 4.1 Алельні спектри різних порід великої рогатої худоби за локусом TGLA126.

Серед тварин УЧеР та УЧР частіше спостерігався алель $TGLA126^{116}$, а, у СУ породи – $TGLA126^{120}$. Алель $TGLA126^{116}$ у СУ худоби виявлявся зі значно нижчою частотою ніж у решти порід. Серед особин УЧР були відсутні алелі $TGLA126^{114}$ та $TGLA126^{122}$, а у СУ були відсутніми алелі $TGLA126^{126}$ та $TGLA126^{128}$.

Відмінності частот окремих алельних варіантів локусу TGLA122 у тварин різних порід були достовірними (p=0,0001). При цьому спостерігалось тяжіння порід до зменшення розмірів мікросателітних фрагментів за даним локусом, так з 17 алелів відносно високу частоту (0,10-0,15) мали лише 6, а 8 зустрічались з частотою меншою за 0,05 (рис. 4.2).

Серед тварин породи УЧеР частіше спостерігались алелі $TGLA122^{144}$, $TGLA122^{146}$ та $TGLA122^{154}$, УЧР – алель $TGLA122^{146}$, а у СУ породи – $TGLA122^{156}$. Алелі $TGLA122^{144}$ та $TGLA122^{146}$ у СУ худоби виявлявся зі значно нижчою частотою

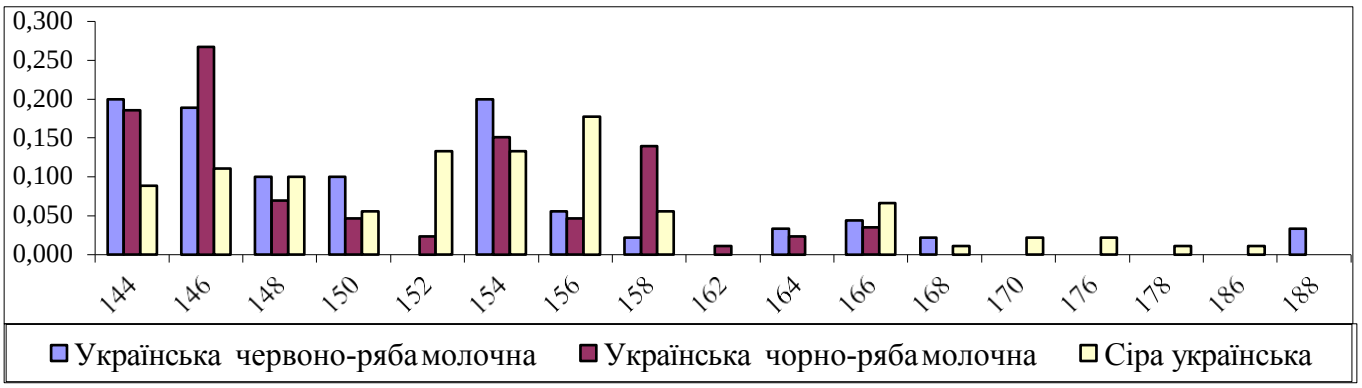


Рис. 4.2 Алельні спектри різних порід великої рогатої худоби за локусом TGLA122.

ніж у решти порід. Серед особин УЧеР відсутній алель TGLA122^{152}, серед особин УЧР відсутній алель TGLA122^{168}, а у СУ – TGLA122^{164}. В той же час алель TGLA122^{188} виявляли лише у УЧеР породи, TGLA122^{162} – лише у УЧР, а TGLA122^{170}, TGLA122^{176}, TGLA122^{178} та TGLA122^{186} – лише у СУ.

Різниця між дослідженими породами за локусом INRA23 також були високодостовірними (p=0,0001). При цьому УЧеР виявляла тенденцію до зменшення довжин повторів, СУ – навпаки, до збільшення, а основна маса виявлених в УЧР ампліконів знаходилась в середині спектру (рис 4.3). Так, з 13 алелів відносно високу частоту (0,10-0,15) мали лише 7, а 4 зустрічались з частотою меншою за 0,05.

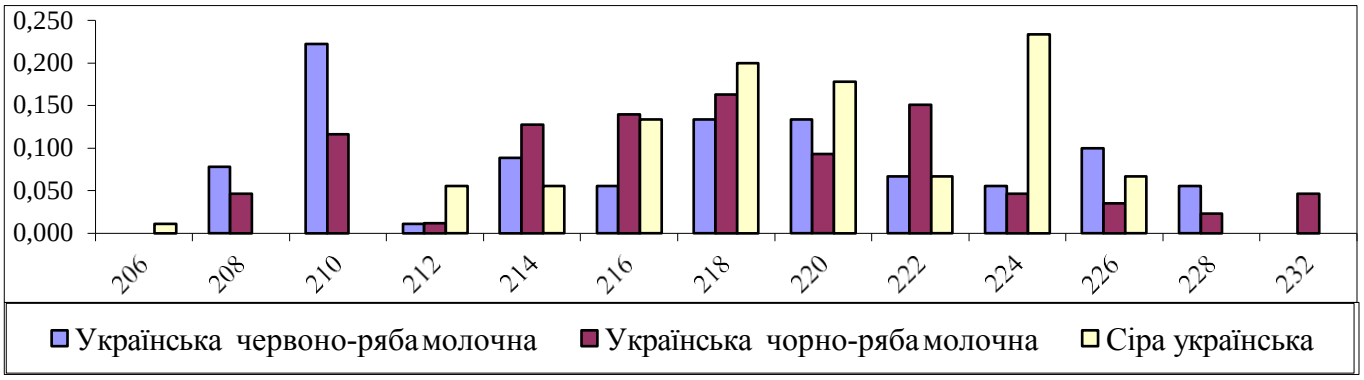


Рис. 4.3 Алельні спектри різних порід великої рогатої худоби за локусом INRA23.

Серед тварин груп УЧеР частіше спостерігались алель INRA23^{210}, УЧР – алелі INRA23^{214}, INRA23^{216}, INRA23^{218}, та INRA23^{222}, у СУ породи – INRA23^{218}, INRA23^{220} та INRA23^{224}. Алель INRA23^{216} у УЧеР худоби виявлявся зі значно нижчою частотою ніж у решти порід, у УЧР худоби такими алелями був INRA23^{226}, а у СУ – INRA23^{214}. Серед особин СУ були відсутні алелі INRA23^{208}, INRA23^{210} та INRA23^{228}. Алель INRA23^{232} спостерігався лише у тварин УЧР породи, а INRA23^{206} – СУ.

Алельні частоти ETH3 достовірно відрізнялись у тварин різних порід (p=0,0001), за практично однакового характеру розподілу алельних спектрів в усіх трьох породах (рис. 4.4). Так, з 9 алелів відносно високу частоту (0,10-0,15) мали 4 і лише 1 зустрічався з частотою меншою за 0,05.

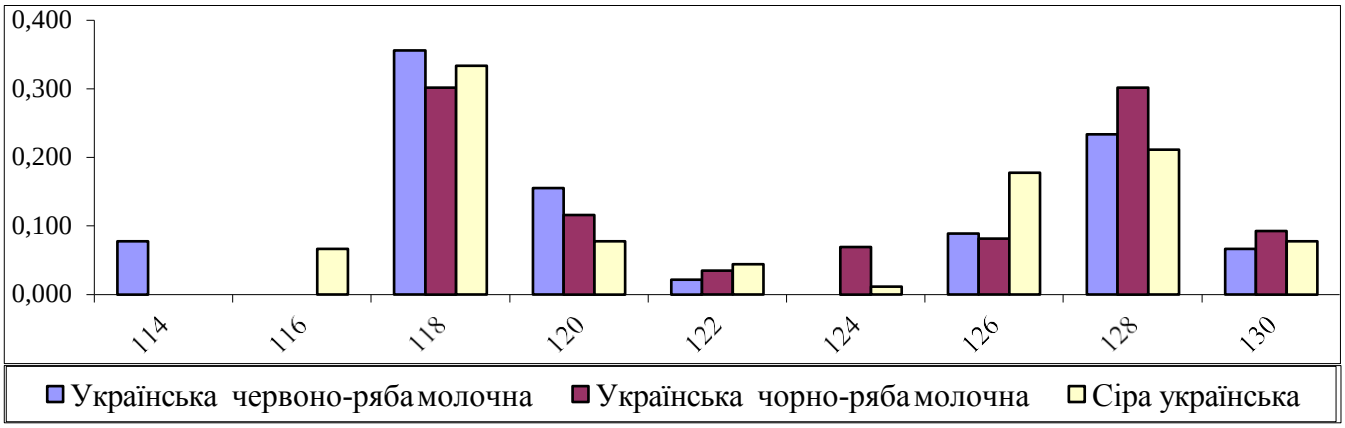


Рис. .4.4 Алельні спектри різних порід великої рогатої худоби за локусом ETH3.

Особини УЧР породи переважали тварин решти порід за частотою алеля ETH3^{128}, а СУ – алеля ETH3^{126}. За частотою алеля ETH3^{124}, тварини УЧР суттєво переважали особин СУ породи, а серед особин УЧеР він був відсутнім. Алель ETH3^{114} було відмічено лише у тварин УЧеР, а ETH3^{116} – у СУ.

У тварин різних порід достовірно відрізнялись частоти алельних варіантів локусу ETH225 (p=0,0002), за однакового характеру розподілу частот виявлених алельних варіантів (рис. 4.5). Так, з 11 алелів відносно високу частоту (0,10-0,15) мали 8, а решта зустрічались з частотою меншою за 0,05.

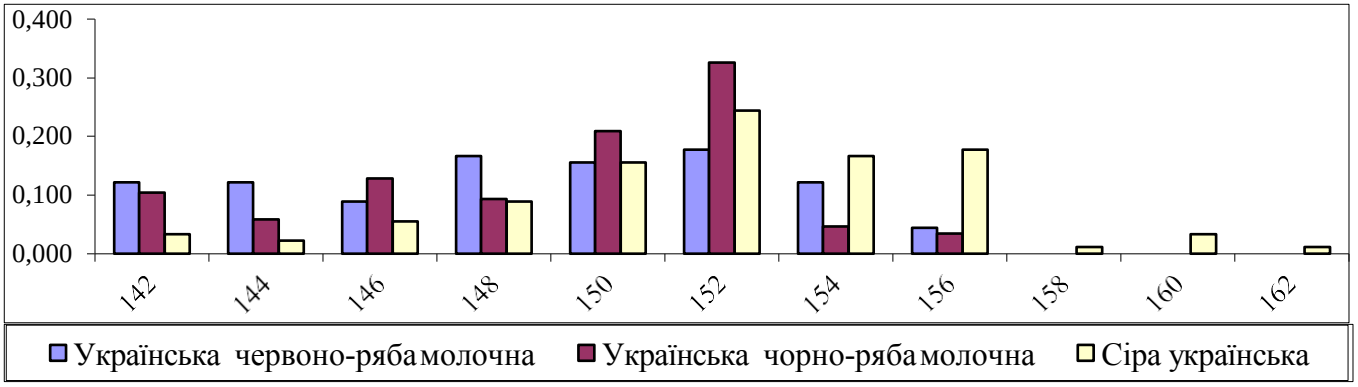


Рис. 4.5 Алельні спектри різних порід великої рогатої худоби за локусом ETH225.

Локус BM1824 достовірно різнився у тварин різних порід за частотами виявлених алелів (p=0,0001). При цьому спостерігається нерівномірний але практично однаковий розподіл частот різних алелів (рис. 4.6). Так, з 11 алелів

відносно високу частоту (0,10-0,15) мали 6, а решта зустрічались з середньою частотою, крім алелю BM1824^{156}, частота якого була меншою за 0,05.

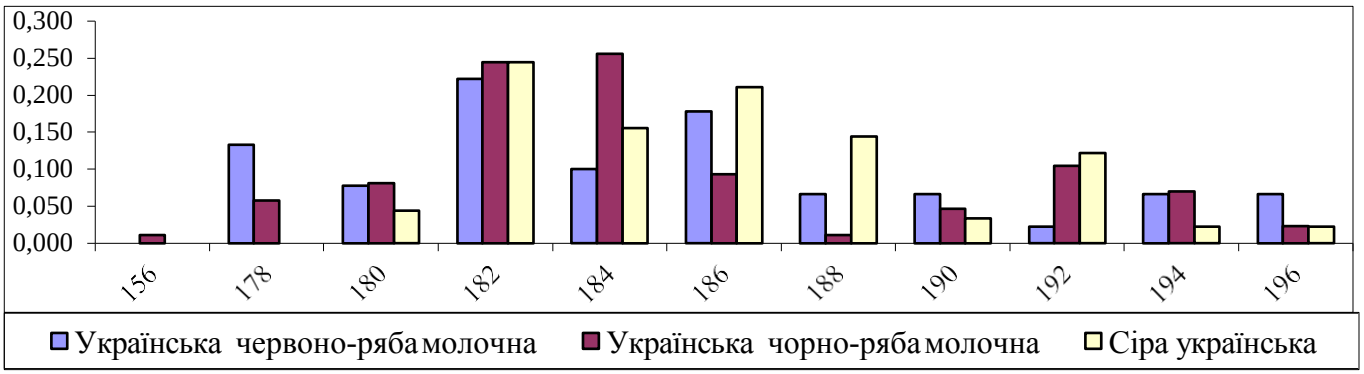


Рис. 4.6 Алельні спектри різних порід великої рогатої худоби за локусом BM1824.

Тварини УЧеР породи суттєво переважали решту порід за частотою алелів BM1824^{178} та BM1824^{196}, УЧР – BM1824^{184}, а СУ – алелю BM1824^{188}. Алелі BM1824^{184} та BM1824^{192} у УЧеР худоби виявлялись зі значно нижчою частотою ніж у решти порід, у УЧР – BM1824^{186} та BM1824^{188}, у СУ – BM1824^{180}, BM1824^{190} та BM1824^{194}. Слід відмітити, що у СУ худоби був відсутній алель BM1824^{178}, а алель BM1824^{156} діагностувався лише у особин УЧР породи.

Для TGLA227 характерною була достовірна відмінність частот окремих алельних варіантів для тварин різних порід (p=0,0001). При цьому спостерігається що навищою частотою характеризувались різні алелі у різних порід, всі вони належали до центральної частини алельних спектрів (рис. 4.7). Так, з 16 алелів високу частоту (0,10-0,15) мали лише 6, а 5 зустрічались з частотою меншою за 0,05.

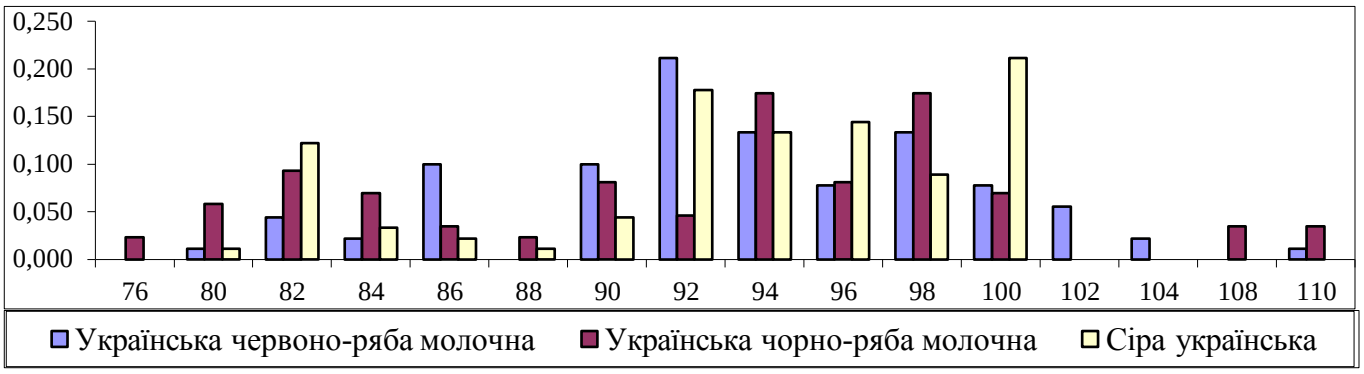


Рис. 4.7 Алельні спектри різних порід великої рогатої худоби за локусом TGLA227.

За частотами визначених алелів тварини УЧеР породи суттєво переважали решту порід за частотою алелю TGLA227^{86}, УЧР – TGLA227^{80}, TGLA227^{84}, TGLA227^{94} та TGLA227^{98}, а СУ – алелів TGLA227^{96} та TGLA227^{100}. Алелі TGLA227^{82},

TGLA227^{84} та TGLA227^{110} у УЧеР худоби виявлялись зі значно нижчою частотою ніж у інших порід, у УЧР – TGLA227^{92}, у СУ – TGLA227^{90} та TGLA227^{98}. Слід відмітити, що у УЧеР худоби був відсутній алель TGLA227^{88}, а у СУ – TGLA227^{110}. Алелі TGLA227^{102} та TGLA227^{104} виявлялись лише у тварин УЧеР породи, а TGLA227^{76} та TGLA227^{108} – лише у УЧР.

Достовірно відрізнялась за своїми частотами й алельні варіанти локусу TGLA126 у тварин різних порід (p=0,0001). За даним локусом відмічено специфічний характер розподілу частот алелів у СУ худоби (рис. 4.8). Так, з 11 алелів відносно високу частоту (0,10-0,15) мали 6, а решта зустрічались з середньою частотою (0,05 – 0,10).

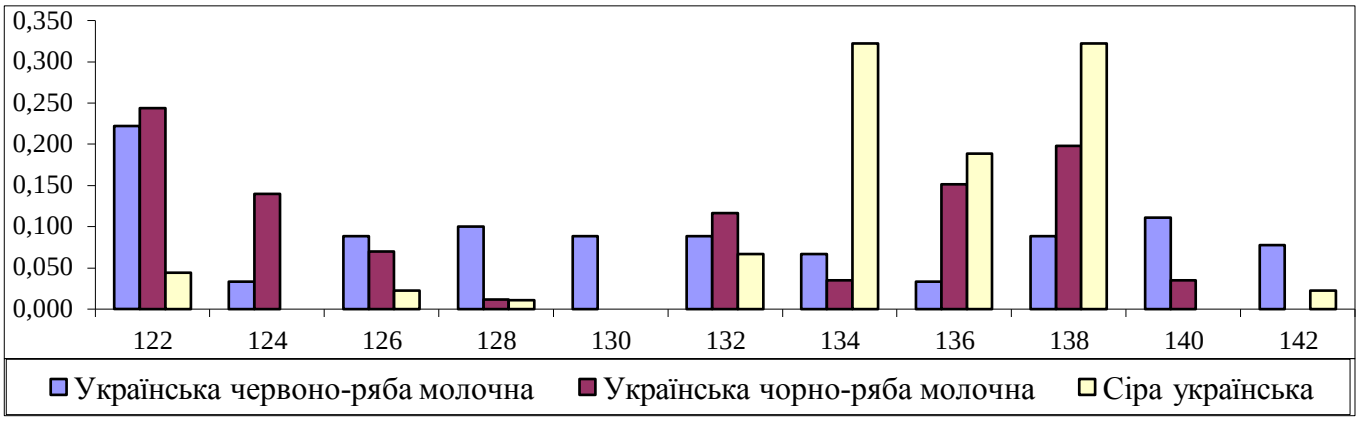


Рис. 4.8 Алельні спектри різних порід великої рогатої худоби за локусом BM2113.

За частотами визначених алелів тварини УЧеР породи суттєво переважали решту порід за частотою алеля TGLA126^{128}, а СУ – алелів TGLA126^{134} та TGLA126^{138}. Алелі TGLA126^{124}, TGLA126^{136} та TGLA126^{138} у УЧеР худоби виявлялись зі значно нижчою частотою ніж у інших порід, у УЧР – алелі TGLA126^{134} та TGLA126^{140}, а у СУ – TGLA126^{122}, TGLA126^{126}, TGLA126^{132} та TGLA126^{142}. Слід відмітити, що у УЧР худоби був відсутній алель TGLA126^{142}, а у СУ – TGLA126^{124} та TGLA126^{140}. Алель TGLA126^{130} виявлялись лише у тварин УЧеР породи.

Локус ETH10 характеризувався достовірними відмінностями між тварин різних порід за частотами окремих алельних варіантів (p=0,0001). За майже рівномірного розподілу різних алелів (рис. 4.9). Так, з 8 алелів з частотою меншою за 0,05 зустрічався лише один алель, а решта зустрічались з відносно високою частотою (0,10-0,15).

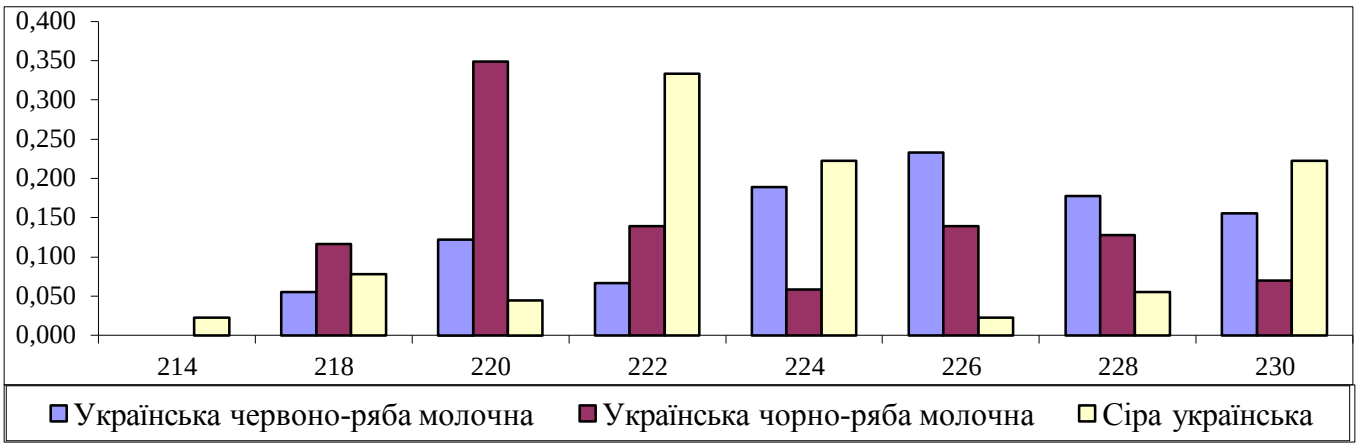


Рис. 4.9 Алельні спектри різних порід великої рогатої худоби за локусом ETH10.

За частотами визначених алелів тварини УЧеР породи суттєво переважали решту порід за частотою алелів $ETH10^{226}$ та $ETH10^{228}$, УЧР – $ETH10^{220}$, а СУ – $ETH10^{222}$. Алелі $ETH10^{218}$ та $ETH10^{222}$ у УЧеР худоби виявлялись з нижчою частотою ніж у інших порід, у УЧР – алелі $ETH10^{224}$ та $ETH10^{230}$, а у СУ – $ETH10^{220}$, $ETH10^{226}$ та $ETH10^{228}$. Слід відмітити, що алель 214 виявлявся лише у тварин СУ породи.

Достовірно відрізнялись частоти окремих алельних варіантів у тварин різних порід і за локусом SPS115 (p=0,0001). При цьому спостерігається нерівномірність розподілу різних алелів і зсув основних частин спектрів в бік зменшення розмірів алелів у всіх досліджених порід (рис. 4.10). З 10 алелів відносно високу частоту (0,10-0,15) мали лише 5, а 3 зустрічались з частотою меншою за 0,05.

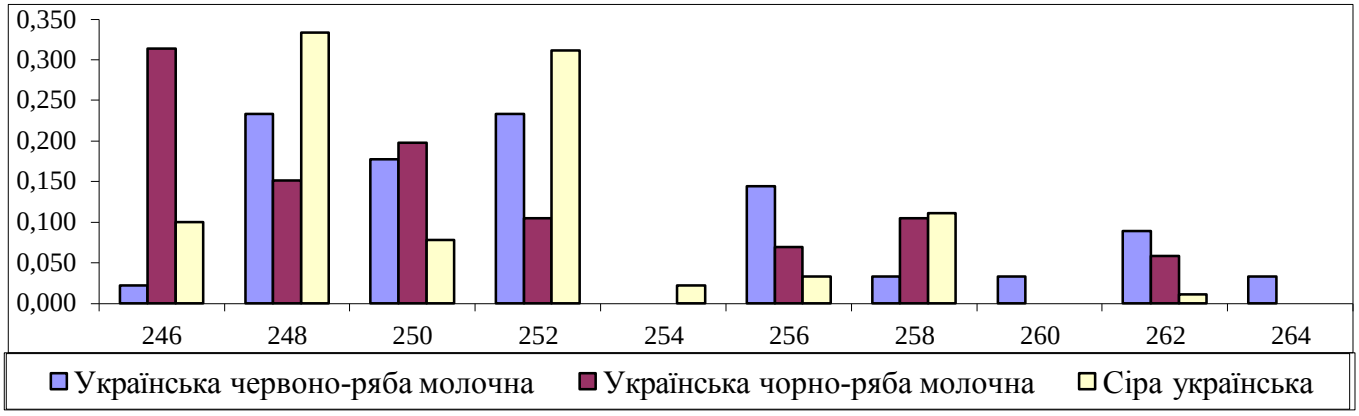


Рис. 4.10 Алельні спектри різних порід великої рогатої худоби за локусом SPS115.

За частотами визначених алелів тварини УЧеР породи суттєво переважали решту порід за частотою алелів $SPS115^{256}$ та $SPS115^{262}$, УЧР – $SPS115^{246}$, а СУ – $SPS115^{248}$ та $SPS115^{252}$. Алелі $SPS115^{246}$ та $SPS115^{258}$ у УЧеР худоби виявлялись з нижчою частотою ніж у інших порід, у УЧР – алель $SPS115^{258}$, а у СУ – $SPS115^{250}$,

SPS115^{256} та SPS115^{262}. Слід відмітити, що алелі SPS115^{260} та SPS115^{264} виявлялись лише у особин УЧеР породи, а алель SPS115^{254} – лише у тварин СУ породи.

В кожному з 10 досліджуваних мікросателітних локусів, крім TGLA126, було встановлено наявність породоспецифічних алелів. Найбільшу кількість алелів (11, що становило 48% від загальної кількості алельних варіантів діагностованих у даного виду за цим локусом) було відмічено у тварин СУ худоби, 7 (30%) у популяції УЧеР і найменшу кількість – 5 (22%). Такий самий розподіл зберігався і відносно кількості локусів в яких зареєстровано породоспецифічні алелі: найбільшу кількість (6 (40%) виявлено у СУ породи, середню (5 (33%) – у УЧеР і найменшу (4 (27%) – у УЧР худоби. Найбільшу кількість породоспецифічних алелів – по чотири та по три, зареєстровано у СУ породи за локусами TGLA122 та ETH225, відповідно. У популяціях УЧеР та УЧР по два породоспецифічні алелі зустрічались у двох та одному локусі (TGLA227, SPS115 та TGLA227, відповідно). Слід відмітити, що лише за локусом TGLA122 породоспецифічні алелі було виявлено у всіх трьох досліджених породах. За локусом INRA23 по одному породоспецифічні алелю було виявлено у тварин УЧР та СУ порід, а за локусом TGLA227 – по два породоспецифічні алелі у УЧеР та УЧР порід (табл. 4.4).

Таблиця 4.4

Частота породоспецифічних алелів (Na_{unic}) для великої рогатої худоби.

	УЧеР		УЧР		СУ	
Локус	алель	частота	алель	частота	алель	частота
TGLA122	188	0,033	162	0,012	170	0,022
TGLA122	-	-	-	-	176	0,022
TGLA122	-	-	-	-	178	0,011
TGLA122	-	-	-	-	186	0,011
INRA23	-	-	232	0,047	206	0,011
ETH3	114	0,078	-	-	116	0,067
ETH225	-	-	-	-	158	0,011
ETH225	-	-	-	-	160	0,033
ETH225	-	-	-	-	162	0,011
BM1824	-	-	156	0,012	-	-
TGLA227	102	0,056	76	0,023	-	-
TGLA227	104	0,022	108	0,035	-	-
BM2113	130	0,089	-	-	-	-
ETH10	-	-	-	-	214	0,022
SPS115	260	0,033	-	-	254	0,022
SPS115	264	0,033	-	-	-	-
В цілому	7	0,049	5	0,026	11	0,022

Зважаючи на різний розмір проаналізованих виборок з метою оцінювання адекватності одержаних результатів, нами було застосовано непараметричний rarefaction-метод (табл. 4.5). Одержані оцінки кількості алелів, у перерахунку на 25 випадково обраних особин, значно варіювала, як для тварин різних порід, так і для різних локусів. Відповідно до одержаних даних найполіморфнішою є УЧеР порода. Найбільший рівень алельного різноманіття відмічено у її особин за локусом TGLA227 (13,40), а найнижчий – у тварин тієї ж породи за локусом TGLA126 (5,83). І загалом одержані дані підтвердили результати безпосереднього аналізу.

Таблиця 4.5.

Кількість алелів, в т.ч. унікальних, розрахована, за rarefaction-методом (n=25) для 10 мікросателітних локусів великої рогатої худоби

Локус	Порода					
	УЧеР		УЧР		СУ	
	Na	c	Na	Na_{unic}	Na	Na_{unic}
TGLA126	7,45	0,14	5,83	0,04	5,98	0,48
TGLA122	10,39	1,43	10,11	0,65	12,24	3,01
INRA23	10,50	0,20	11,26	0,99	8,51	0,74
ETH3	6,80	1,00	6,92	0,45	7,51	1,01
ETH225	7,96	0,002	7,89	0	9,73	2,03
BM1824	9,78	0,05	9,95	0,58	8,49	0,004
TGLA227	11,67	1,85	13,40	2,45	9,80	0,10
BM2113	10,82	1,45	8,44	0,09	7,12	0,003
ETH10	6,98	0	6,99	0	7,56	0,81
SPS115	8,55	1,84	6,99	0,001	7,27	0,81
В середньому	9,09	0,80	8,78	0,53	8,42	0,90

Кількість породоспецифічних алелів була найвищою у тварин СУ породи за локусом TGLA122 (3,01), а найнижчою (0,00) – у особин УЧеР та УЧР порід за локусом ETH10 а у УЧР породи, ще й за локусом ETH225. Середня кількість унікальних алелів найвищою була у тварин СУ породи 0,90, проти 0,80 у УЧеР та 0,55 у УЧР порід. Така ж тенденція спостерігалась за локусами TGLA126, TGLA122, ETH3 та ETH10, причому, найнижчі частоти за цими локусами зафіксовано у УЧР породи. Для якої характерними були найвищі частоти за локусами INRA23, BM1824 та TGLA227, найнижчі значення за двома останніми локусами зафіксовано у СУ породи, а за INRA23 – у УЧеР, У СУ також зареєстровано найменшу кількість унікальних алелів за локусами BM2113 та SPS115, найбільшу кількість яких було виявлено у УЧеР худоби.

Отримані оцінки критерію χ^2 Пірсона (табл. 4.6) вказують на високодостовірні (p<0,001) відмінності у розподілі за частотами алелів за всіма дослідженими локусами порід великої рогатої худоби.

Таблиця 4.6

Генетична диференціація порід великої рогатої худоби за алелями мікросателітних локусів ДНК

Локус	*df*	χ^2	*p*
TGLA126	14	53,12	0,0001
TGLA122	32	75,76	0,0001
INRA23	24	80,88	0,0001
ETH3	16	44,51	0,0001
ETH225	20	50,44	0,0002
BM1824	20	49,49	0,0001
TGLA227	30	72,49	0,0001
BM2113	20	113,62	0,0001
ETH10	14	86,78	0,0001
SPS115	18	79,57	0,0001

Механізм, що забезпечує появу та існування таких гіперваріабельних молекулярно-генетичних маркерів, як мікросателіти ДНК, дотепер остаточно не встановлений. Існує декілька основних мутаційних моделей, що пояснюють, як алельну різноманітність, так і характер розподілу алелів мікросателітної ДНК за певним локусом. Це – модель нескінченої кількості алелів (*IAM – infinite alleles model* [641]) та покрокова мутаційна модель (*SMM – stepwise mutation model* [640]). На рис. 4.11 наведено одержані результати оцінки алельного різноманіття для кожного з використаних в аналізі локусів (у розрізі окремих порід), а також за умови справедливості, кожної з моделей.

Отже, для всіх досліджених порід модель *SMM* була більш адекватною для апроксимації рівня алельного різноманіття за всіма, без виключень, дослідженими мікросателітними локусами, ніж модель *IAM*. Остання значно завищує фактичні величини, як по кожній породі зокрема (рис 4.11 (А-В), так і по виду (рис 4.11 (А) в цілому (χ^2_{10} (p<0,0001) = 151,41).

Рис. 4.11 Відповідність фактино виявлених частот мутаційним моделям. Для УЧеР (А), УЧР (Б), СУ (В) та загальна для великої рогатої худоби (Г).

Для тварин УЧеР результати одержані за допомогою моделі *SMM* за чотирьма локусами (INRF23, ETH3, BM1824 та BM2113) практично співпадали з фактичною кількістю виявлених алелів і ще за одним SPS115 відхилення не перевищувало 1,0 (0,99). Дана модель в цієї породи була більш адекватною для апроксимації рівня алельного різноманіття за мікросателітними локусами ДНК, ніж модель *IAM* (χ^2_{10} (p<0,0001) = 70,39).

У особин УЧР результати одержані за допомогою моделі *SMM* за шістьма локусами (INRA23, ETH3, ETH225, BM2113, ETH10 та SPS115) повністю співпадали з фактичною кількістю виявлених алелів і ще за одним (TGLA126) відхилення не перевищувало 1,0 (0,99). Для цієї породи була більш адекватною для апроксимації рівня алельного різноманіття за *IAM* (χ^2_{10} (p<0,0001) = 45,99).

Для СУ породи результати одержані за допомогою моделі *SMM* повністю (відхилення <0,5) співпадали з фактичною кількістю виявлених алелів лише за

локусом INRA23 і ще за трьома – TGLA126, ETH3 та BM1824 відхилення не перевищувало 1,0. І в цієї породи *SMM* була більш адекватною, ніж модель *IAM* (χ^2_{10} (p<0,0001) = 40,73).

Генотипова мінливість великої рогатої худоби. За локусом TGLA126 виявлено 26 різних генотипових варіантів (19,55% від загальної кількості виявлених генотипів), у тварин УЧеР та УЧР – 16 (що становить 61% та від кількості генотипів виявлених за даним локусом у великої рогатої, 35,56% та 37,21%, відповідно, від кількості голів даної породи й 12,03% від чисельності проаналізованого поголів'я даного виду) й 13 (50%, 28,89%, 9,77%) у СУ худоби. Деякі з них були широко представлені серед досліджуваних тварин – генотипи TGLA126$^{116/116}$ (відмічено у 26 особин (19,5% від чисельності проаналізованого поголів'я даного виду), TGLA126$^{120/120}$ (16 особин (12% від проаналізованого поголів'я худоби), TGLA126$^{116/118}$ (14 особин (10,5%) TGLA126$^{118/118}$ (13 особин (10%) (рис. 4.12).

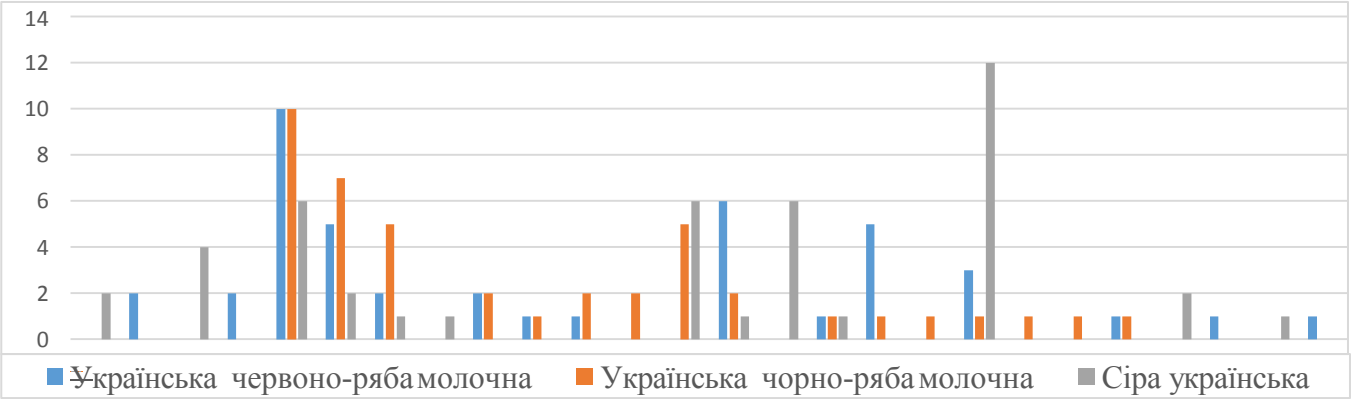


Рис. 4.12 Генотипові спектри різних порід великої рогатої худоби за локусом TGLA126.

Особини УЧеР та УЧР порід найчастіше мали генотип TGLA126$^{116/116}$ (у 10 особин в кожній породі (22%, 7,5% та 23%, 7,5%, відповідно), а у СУ худоби – генотип TGLA126$^{120/120}$ (12 особин (27%, 9%).

За TGLA122 було виявлено 48 різних генотипових варіантів, у тварин УЧеР – 21 (44%, 16%), УЧР – 25 (50%, 19%) та 20 (42%, 15%) у СУ худоби. Найпоширенішим серед досліджуваних тварин був генотип TGLA122$^{146/154}$ (відмічено у 11 особин (8%). У тварин УЧеР найчастіше зустрічались генотипи – TGLA122$^{146/154}$ та TGLA122$^{154/154}$ (у 5 особин (11% від кількості особин даної породи, 4% від чисельності проаналізованого поголів'я даного виду), кожен), у УЧР TGLA122$^{146/154}$ та TGLA122$^{144/144}$ (у 4 особин (9%, 3%), кожен), а у СУ худоби – генотип TGLA122$^{156/156}$ (7 особин (16%, 5%) (рис. 4.13).

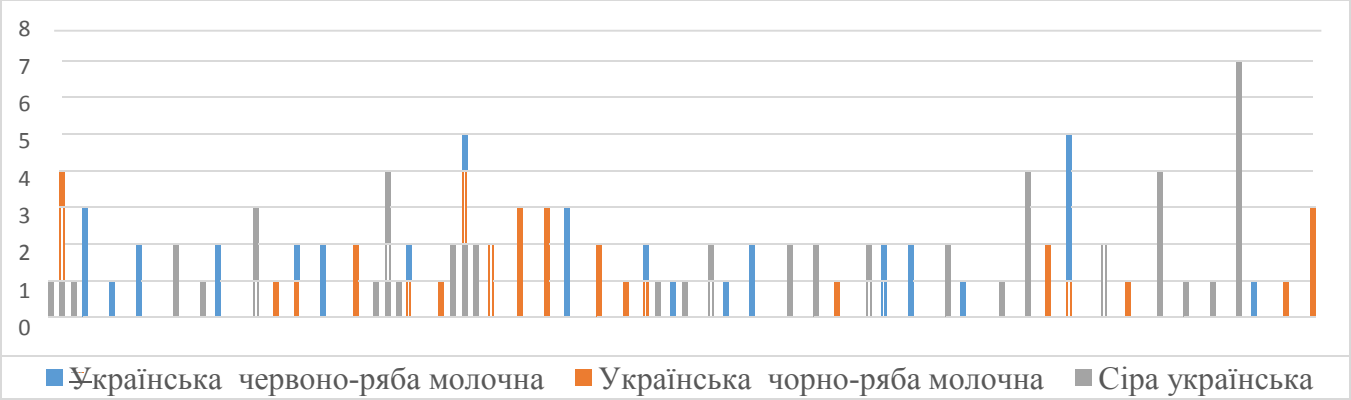


Рис. 4.13 Генотипові спектри різних порід великої рогатої худоби за локусом TGLA122.

INRA23 характеризувався 54 різними генотиповими варіантами, у тварин УЧеР – 32 (59%, 24%), УЧР – 31 (57%, 23%) та 20 (37%, 15%) у СУ худоби. Найбільш поширеним серед досліджуваних тварин (відмічено у 8 особин (6%) був генотип $INRA23^{218/220}$ (рис. 4.14).

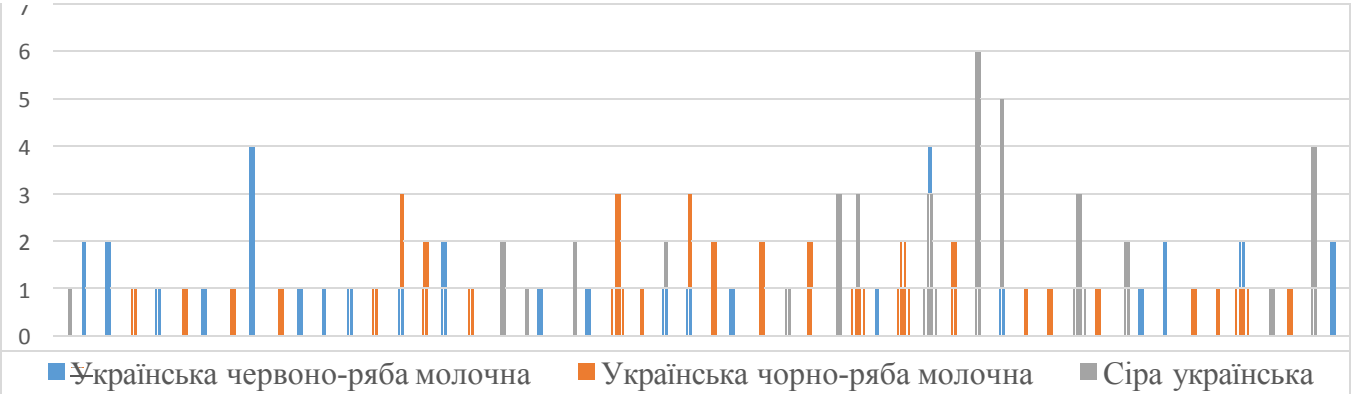


Рис. 4.14 Генотипові спектри різних порід великої рогатої худоби за локусом INRA23.

Для УЧеР наймасовішими були генотипи – $INRA23^{210/210}$ та $INRA23^{218/220}$ (у 4 особин, кожен (9%, 3%), у УЧР $INRA23^{210/222}$, $INRA23^{214/216}$ та $INRA23^{214/222}$ (у 3 особин (7%, 2%), кожен), а у СУ худоби – генотип $INRA23^{218/224}$ (6 особин (13% 4,5%). За локусом ETH3 було виявлено 26 різних генотипових варіантів, по 15 (58%, 11%)у тварин УЧеР та СУ порід та 18 (69%, 13,5%) – у УЧР худоби (рис. 4.15).

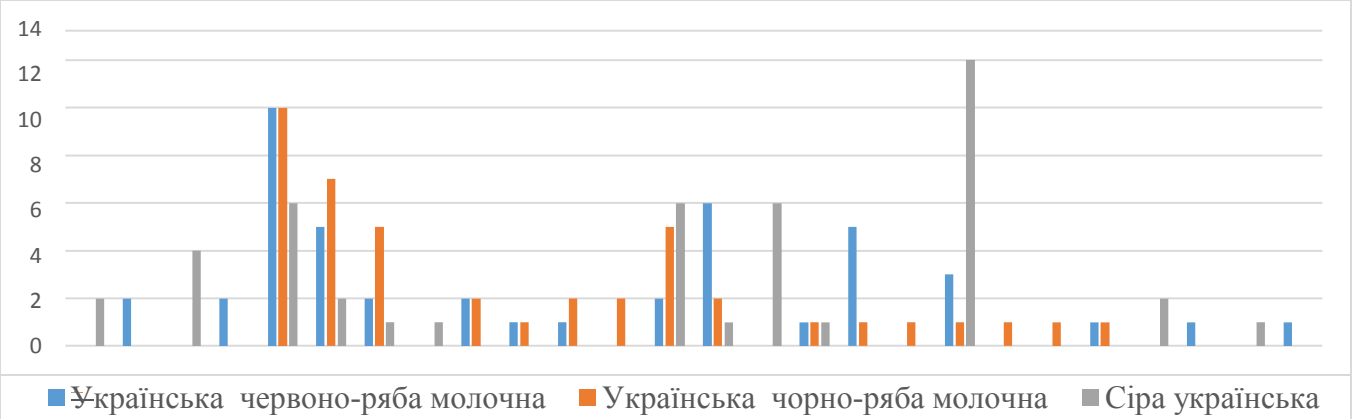


Рис. 4.15 Генотипові спектри різних порід великої рогатої худоби за локусом ETH3.

Серед досліджуваних тварин найпоширенішими виявились генотипи ETH3$^{118/128}$ (відмічено у 25 особин (19%), ETH3$^{118/118}$ (12 особин (9%) та ETH3$^{118/126}$ (11 особин (8%). У тварин УЧеР та УЧР порід найчастіше зустрічався генотип ETH3$^{118/128}$ (у 7 (16%, 5%) та 13 особин (30%, 10%), відповідно), а у СУ худоби – генотип ETH3$^{118/118}$ (6 особин (13%, 4,5%).

38 різних генотипових варіантів було виявлено за локусом ETH225, по 25 (66%, 19%) у тварин УЧеР, 19 (50%, 14%) у УЧР та 21 (55%, 16%) у СУ худоби. Найпоширенішими серед досліджуваних тварин був генотип ETH225$^{150/152}$ (відмічено у 18 особин (13,5%) та ETH225$^{148/152}$ (11 особин (8%) (рис. 4.16).

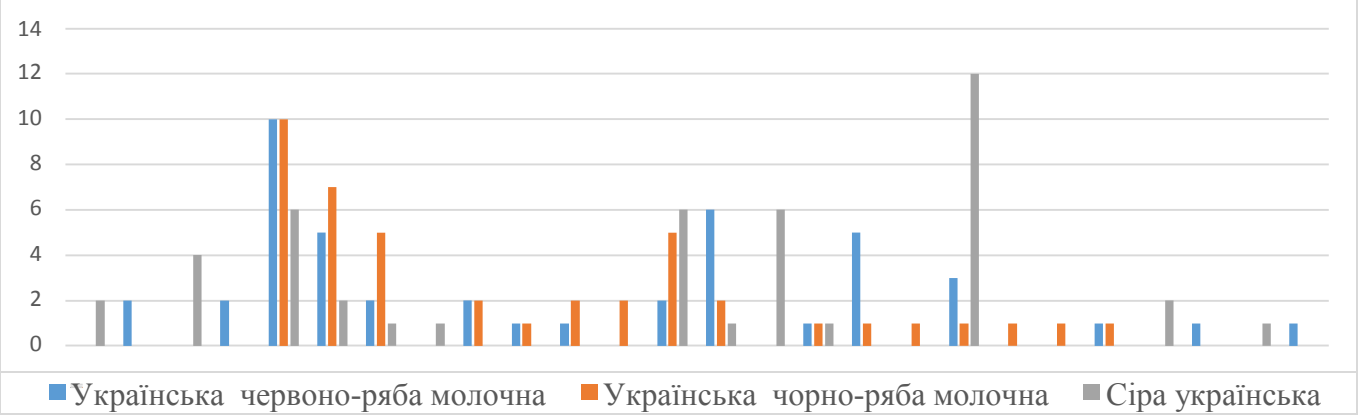


Рис. 4.16 Генотипові спектри різних порід великої рогатої худоби за локусом ETH225.

Генотип ETH225$^{150/152}$ був найпоширенішим у всіх групах тварин УЧеР (5 особин (11%, 4%), УЧР (9 особин (21%, 7%), СУ (4 особини (9%, 3%) але у СУ з такою самою частотою (виявлено в 4 особин (9%, 3%) спостерігали, також, генотипи ETH225$^{152/154}$, ETH225$^{152/156}$ та ETH225$^{154/156}$.

Для BM1824 було діагностовано 42 різні генотипові варіанти, у тварин УЧеР – 24 (57%, 18%), у УЧР – 25 (59,5% 19%), і 20 (48%, 15%) у СУ худоби. Найбільш масовим серед досліджуваних тварин були генотипи BM1824$^{182/186}$ (відмічено у 16 особин (12%) та BM1824$^{184/186}$ (15 особин (11%) (рис. 4.17). У тварин УЧеР – 7

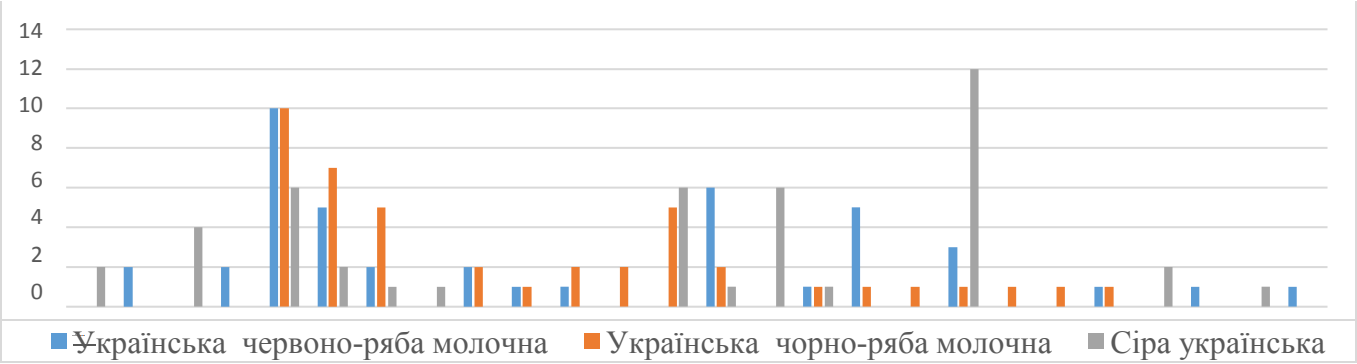


Рис. 4.17 Генотипові спектри різних порід великої рогатої худоби за локусом BM1824.

(16%, 5%) та 5 голів (11%, 4%), відповідно, а у СУ худоби – по 7 голів (16%, 5%), кожен. У УЧР худоби, з високою частотою (5 особин (12%, 4%) зустрічався лише генотип BM1824$^{182/184}$.

Мікросателітний локус TGLA227 вирізнявся наявністю 60 різних генотипових варіантів, у тварин УЧеР -32 (53%, 24%), УЧР – 31 (52%, 23%) та 22 (37%, 16,5%) у СУ худоби. Найбільше поширення серед досліджуваних тварин мав генотип TGLA227$^{92/94}$ (відмічено у 7 особин (5%). Але, в групах тварин найпоширенішими були інші генотипи (рис. 4.18).

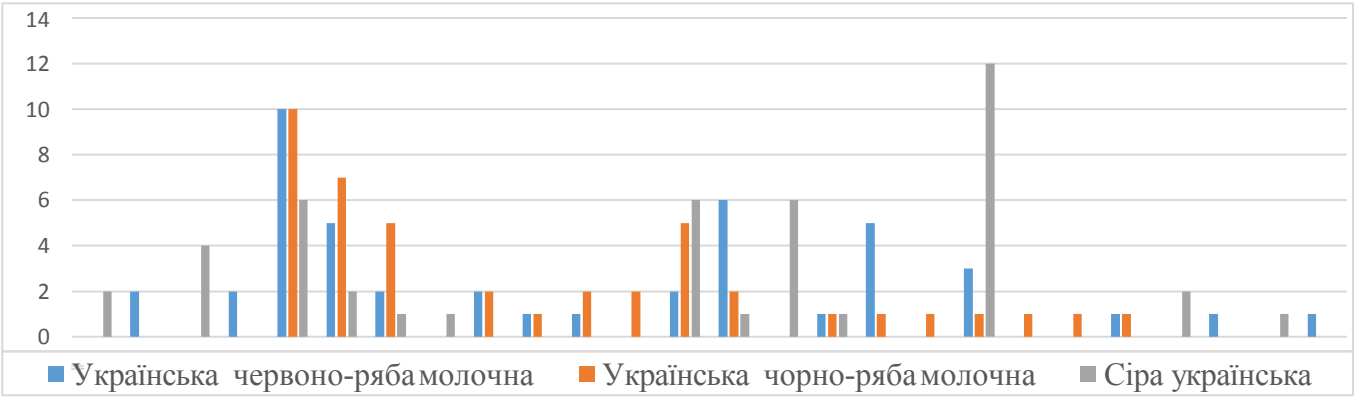


Рис. 4.18 Генотипові спектри різних порід великої рогатої худоби за локусом TGLA227.

Так, у УЧеР породи найчастіше (в 4 особин (9%, 3%), кожен), зустрічались генотипи TGLA227$^{90/98}$ та TGLA227$^{92/92}$, у УЧР породи в 4 особин (9%, 3%) зустрічався алель TGLA227$^{82/98}$, а у СУ – TGLA227$^{82/92}$ у 5 особин (11%, 4%).

За локусом BM2113 було виявлено 46 різних генотипових варіанти, у тварин УЧеР – 31 (67%), у УЧР – 20 (43%), а у СУ – 11 (24%). Генотипи BM2113$^{138/138}$ (відмічено у 17 особин (13%) та BM2113$^{134/134}$ (14 особин (10,5 %) були найпоширенішими серед досліджуваних тварин. Ці ж генотипи мали найбільше поширення у тварин СУ породи але вони були виявлені у 13 (29%, 10%) та 14 особин (31%, 10,5%), відповідно, тобто всі виявлені у великої рогатої худоби генотипи BM2113$^{134/134}$ належали особинам СУ худоби (рис. 4.19).

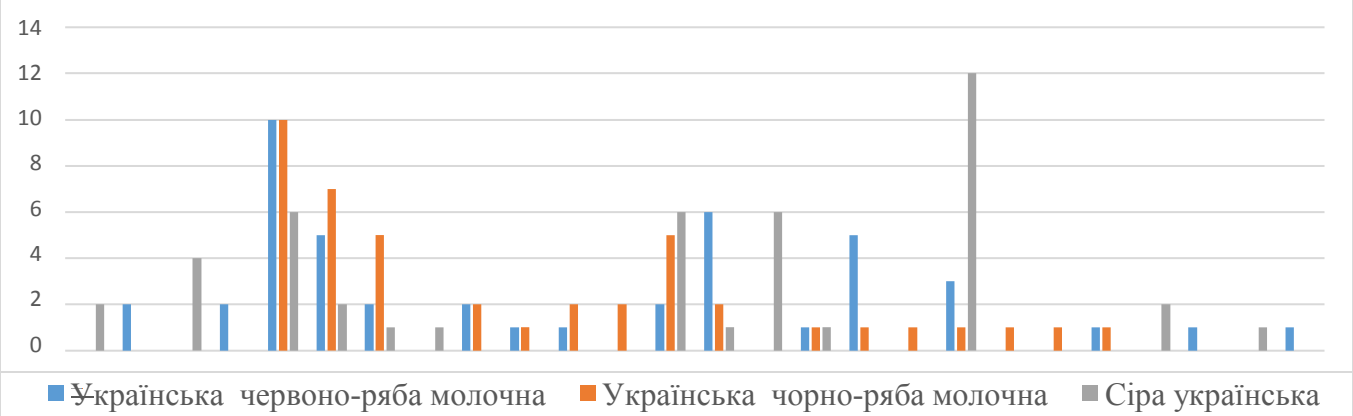


Рис. 4.19 Генотипові спектри різних порід великої рогатої худоби за локусом BM2113.

В УЧеР худоби найчастіше (у 4 голів (9%, 3%), кожен) виявляли генотипи BM2113$^{122/132}$ та BM2113$^{128/140}$, а у УЧР породи зустрічались в однакової кількості особин (у 5 голів (12%, 4%), кожен), генотипи BM2113$^{122/138}$ та BM2113$^{124/136}$.

Для ETH10 було виявлено 38 різних генотипових варіанти, по 22 (58%, 16,5%) у тварин УЧеР та УЧР порід та 18 (47%, 13,5%) у СУ худоби. Найпоширенішим серед досліджуваних тварин був генотип ETH10$^{222/222}$ (відмічено у 11 особин (8%). Він же переважав У СУ худоби – 9 голів (20%, 7%) (рис.4.20). Алель ETH10$^{220/220}$ був найпоширенішим (6 голів (14%, 4,5%) в УЧР породи, а серед тварин УЧеР породи

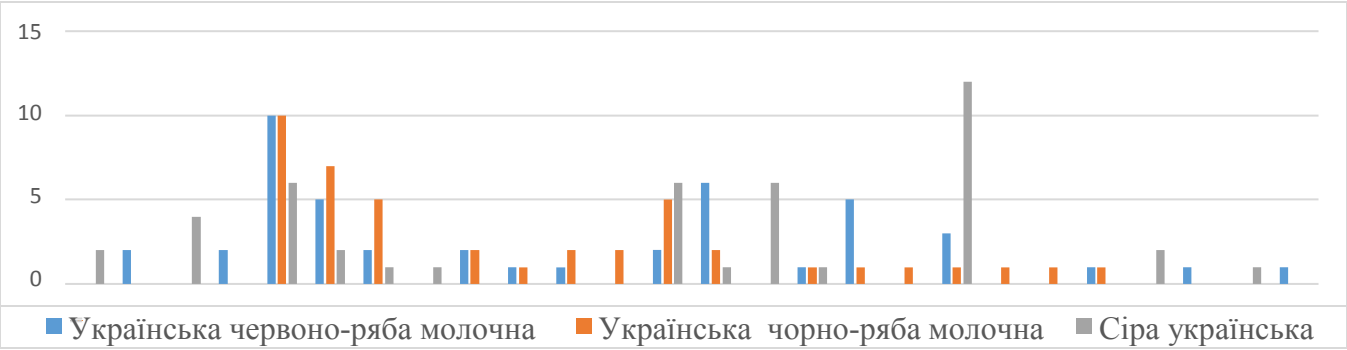


Рис. 4.20 Генотипові спектри різних порід великої рогатої худоби за локусом ETH10.

найбільшого поширення (по 4 голови (9%, 3%), кожен) набули алелі ETH10$^{224/226}$, ETH10$^{226/228}$, ETH10$^{226/230}$ та ETH10$^{228/230}$.

За локусом SPS115 було виявлено 34 різних генотипових варіантів (табл. 4.7), по 22 (65%, 16,5%) у тварин УЧеР та УЧР порід та 14 (41%, 10,5%) у СУ худоби (рис. 4.21).

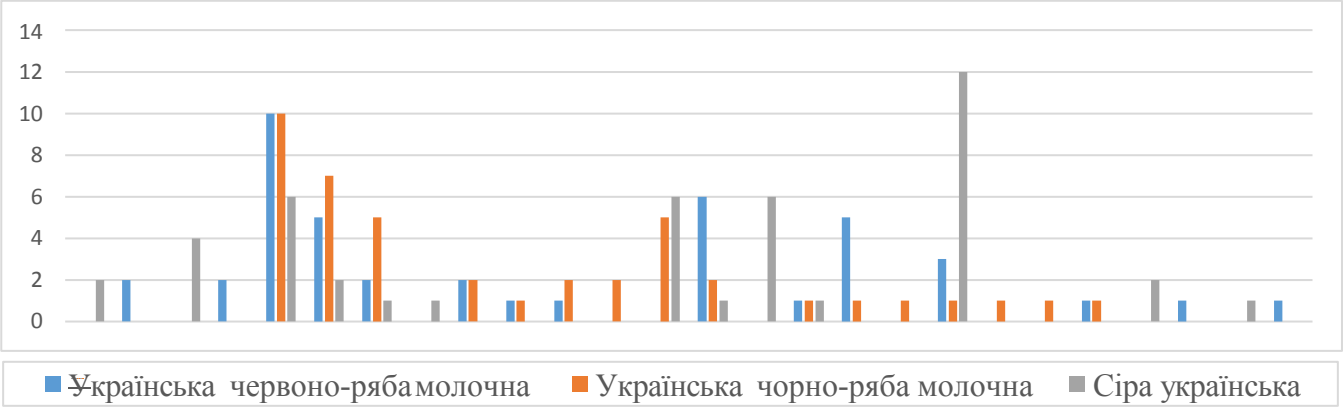


Рис. 4.21 Генотипові спектри великої рогатої худоби за локусом SPS115.

Найбільшим поширеням проміж досліджуваних тварин характеризівався генотип SPS115$^{248/252}$ (у 24 особини (70,5%). У тварин СУ худоби він також суттєво переважав решту генотипів (21 особина (47%, 16%), у УЧеР з найбільшою частотою виявлявся генотип – SPS115$^{248/250}$ (5 особин (11%, 4%), а у УЧР – SPS115$^{246/250}$ (7 особин (16%, 5%).

Таблиця 4.7

Кількість виявлених генотипів (Ng) у різних породах ВРХ

Локус	По породі			По виду, загалом	По виду, в середньому
	УЧеР	УЧР	СУ		
TGLA126	16	16	13	26	15,00
TGLA122	21	25	20	48	22,00
INRA 23	32	31	20	54	27,67
ETH 3	15	18	15	26	16,00
ETH225	25	19	21	38	21,67
BM1824	24	25	20	42	23,00
TGLA227	32	31	22	60	28,33
BM2113	31	20	11	46	20,67
ETH10	22	22	18	38	20,67
SPS115	22	22	14	34	19,33
Середнє	24	22,9	17,4	41,2	21,433

Одержані оцінки генотипового різноманіття різних порід великої рогатої худоби відзначались високим рівнем диференціації порід, за високої за 9

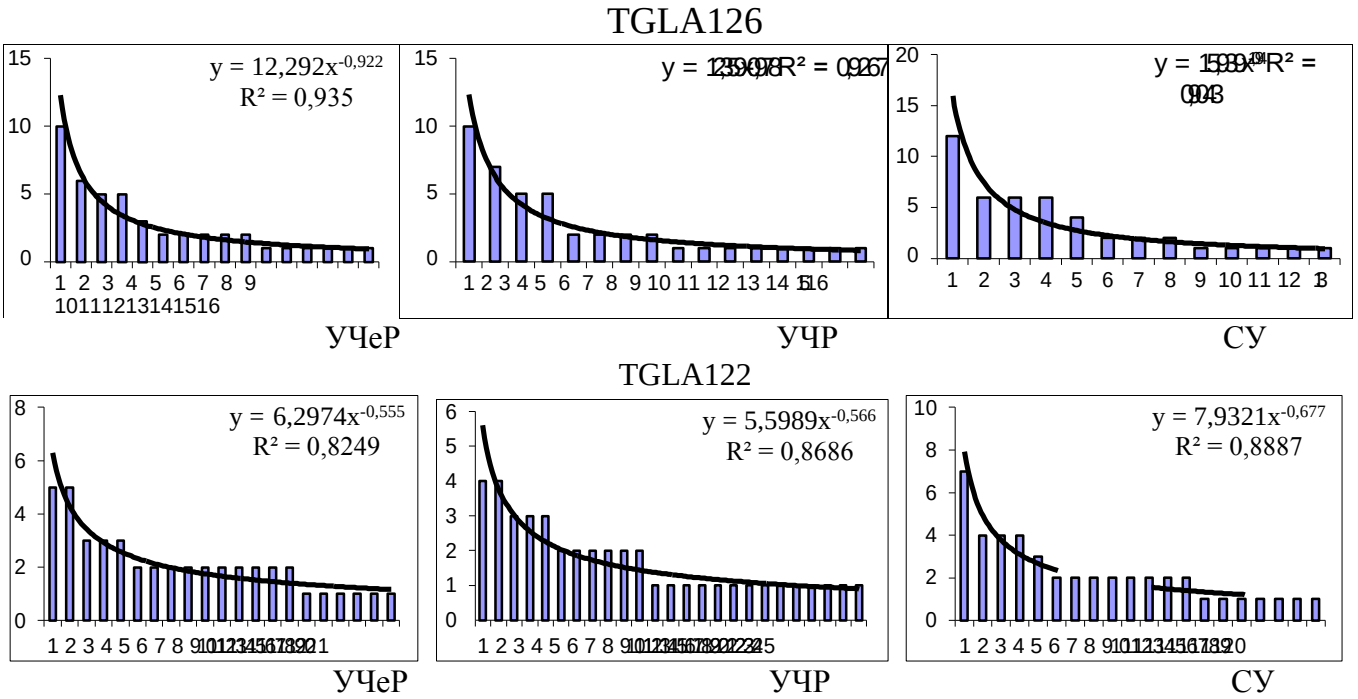
мікросателітними локусами, за 8 достовірність була найвищою (p<0,001), за ETH225 достовірність відмінностей була дещо нижчою (p<0,01). Крім BM1824, за яким відмінності в частотах виявлених генотипів були недостовірними (p=0,073) (табл. 4.8.)

Таблиця 4.8

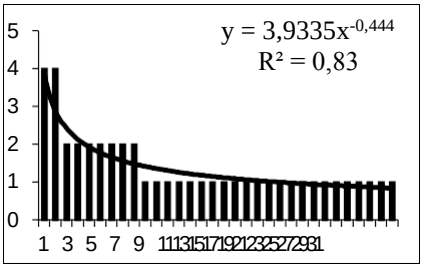
Диференціація порід великої рогатої худоби за розподілом частот генотипів мікросателітних локусів ДНК

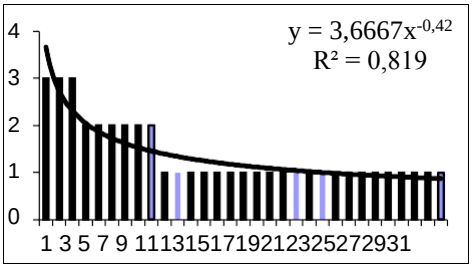
Локус	*df*	χ^2	*P*
TGLA126	50	93,37	0,0001
TGLA122	95	166,61	0,0001
INRA23	106	141,4	0,0003
ETH3	50	80,31	0,0007
ETH225	72	101,44	0,0016
BM1824	82	94,81	0,073
TGLA227	118	150,89	0,0001
BM2113	90	166,68	0,0001
ETH10	74	139,92	0,0001
SPS115	66	134,85	0,0001

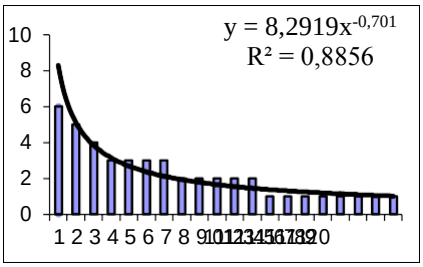
Для оцінювання генетичного різноманіття було здійснено аналіз характеру розподілу частот генотипів за всіма дослідженими мікросателітними локусами ДНК. Дані одержані в результаті проведеної роботи наведено на рис. 4.22.



INRA23

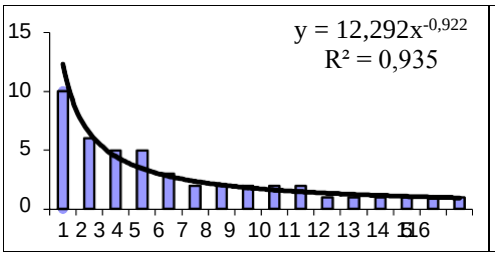


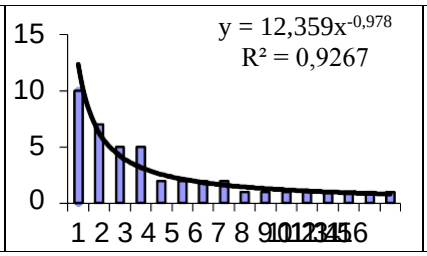


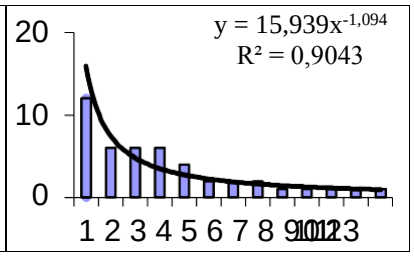


УЧеР УЧР СУ

ETH3

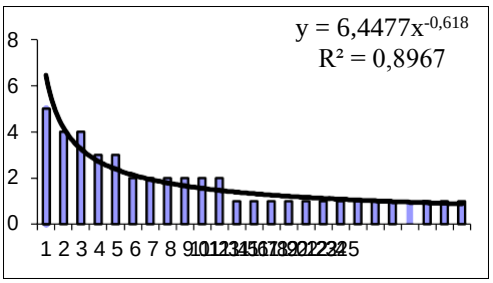


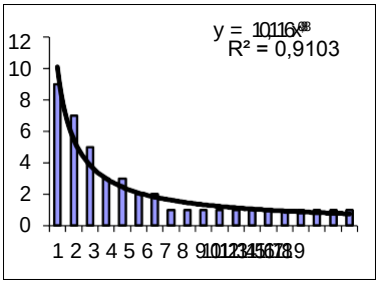


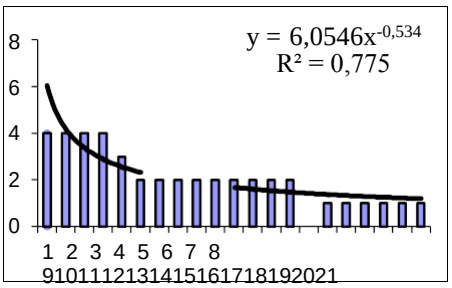


УЧеР УЧР СУ

ETH225

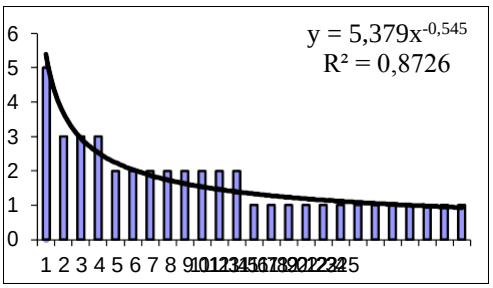


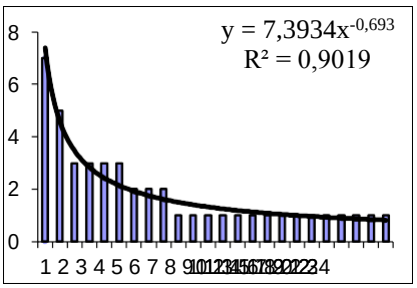


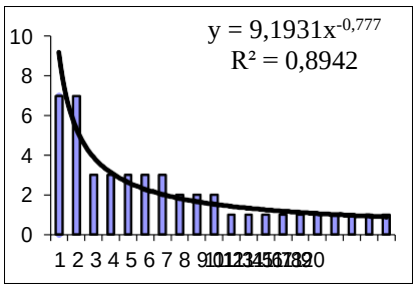


УЧеР УЧР СУ

BM1824

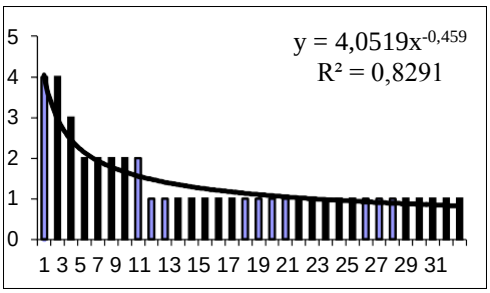


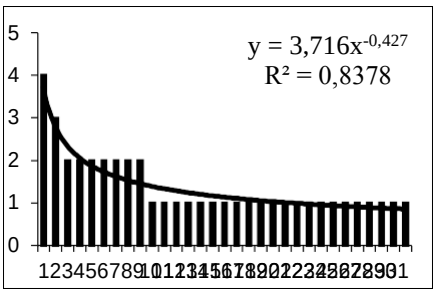


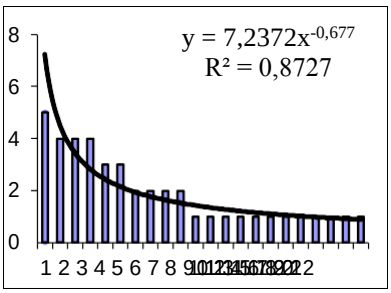


УЧеР УЧР СУ

TGLA227







УЧеР УЧР СУ

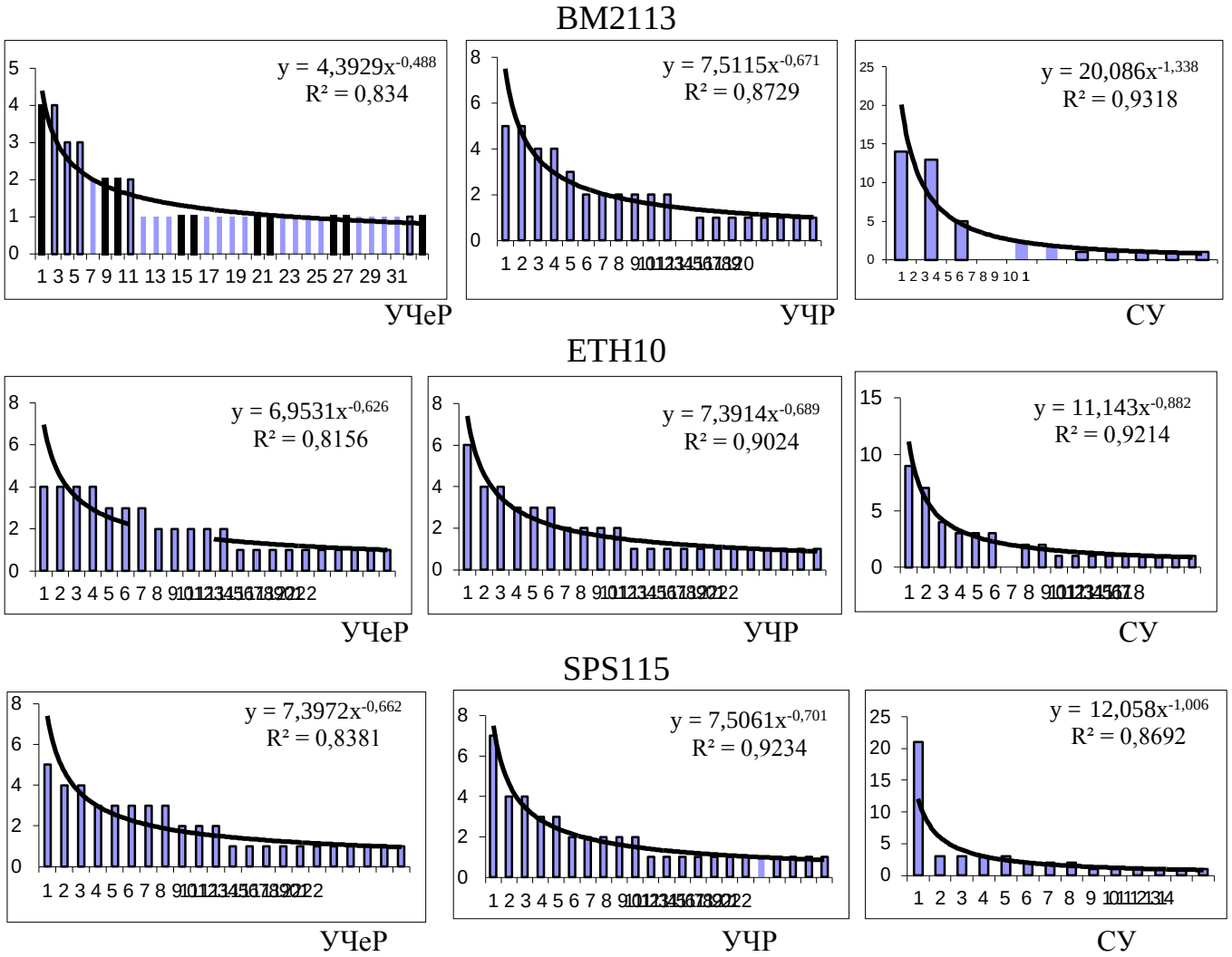
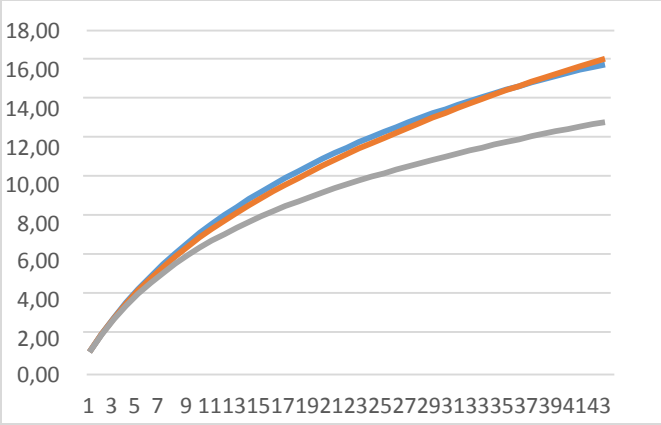


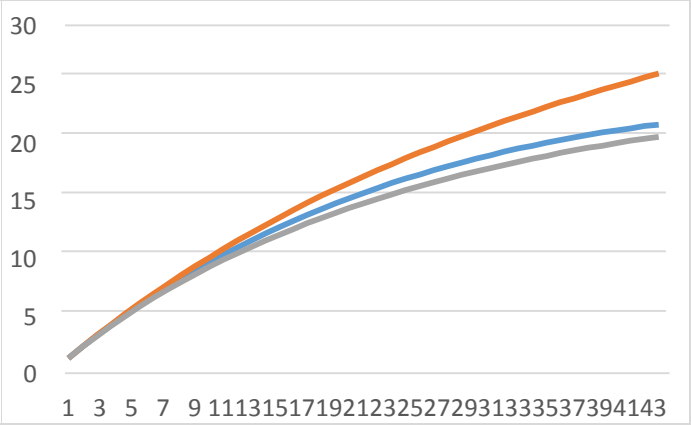
Рис. 4.22 Розподіл генотипів у великої рогатої худоби за 10-ма локусами мікросателітної ДНК (y – апроксимуюча модель (обрана ступінева функція) і ступінь її адекватності; R^2 – коефіцієнт детермінації)

УЧеР та УЧР породи виявляють більше подібності щодо характеру розподілу частот виявлених генотипів відносно СУ породи. Слід відмітити, що за 9 з 10 досліджених мікросателітних локусів ДНК, крім локусу, з яким більша подібність виявлена між породами УЧеР та СУ, а у особин породи УЧР виявлено найменшу кількість генотипів, що в решті випадків є характерним для СУ породи. УЧеР та УЧР породи демонструють вищий рівень поліморфізму за кількістю та характером розподілу частот виявлених генотипів, свідченням чого є наведені на рис. 4.22 діаграми.

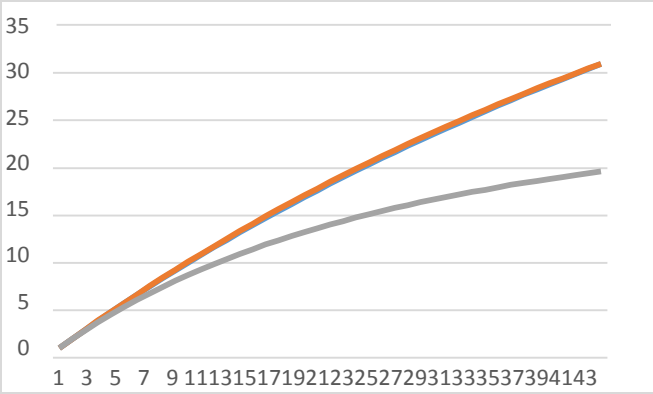
Розподіл частот генотипів у дослідженого поголів’я великої рогатої худоби за 10-ма локусами мікросателітної ДНК із застосуванням методу *rarefaction-curves* наведено на рис. 4.23. Преважна більшість локусів у тварини молочних порід



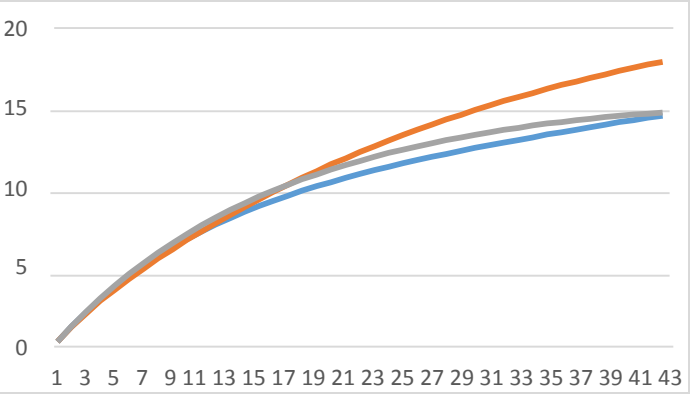
TGLA126



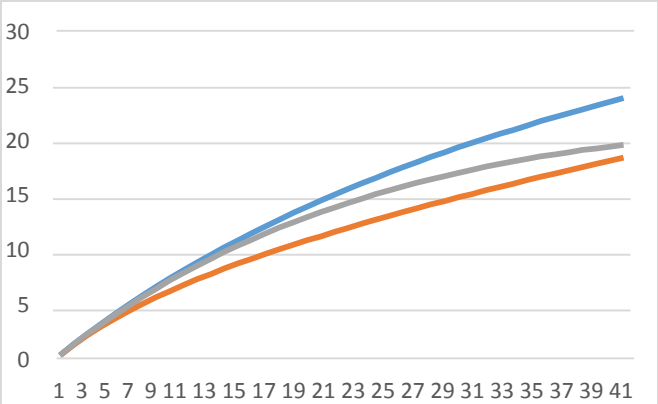
TGLA122



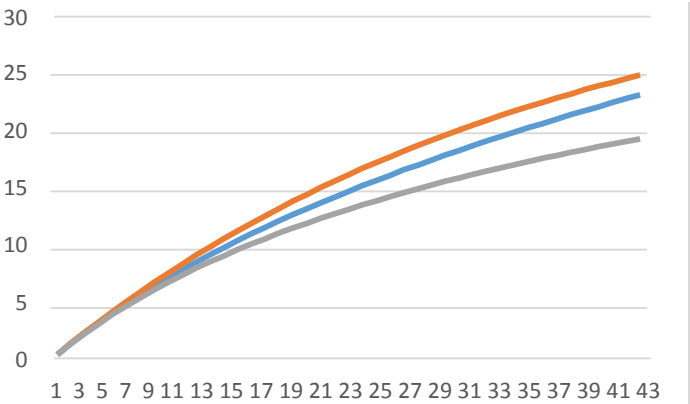
INRA23



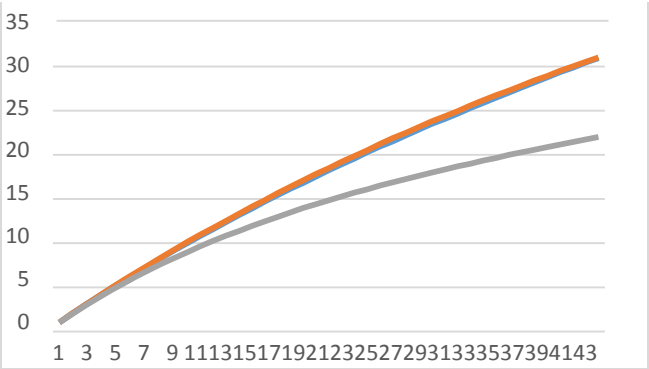
ETH3



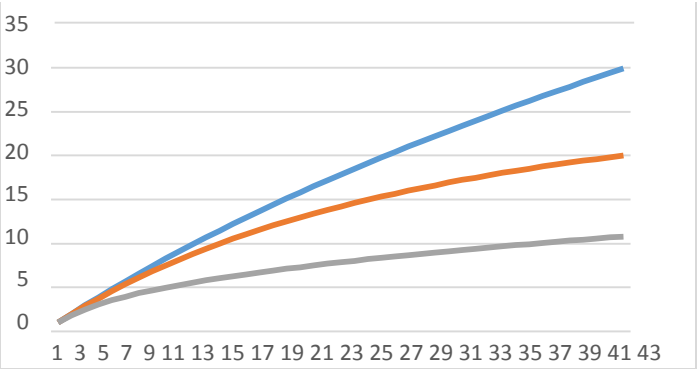
ETH225



BM1824



TGLA227



BM2113

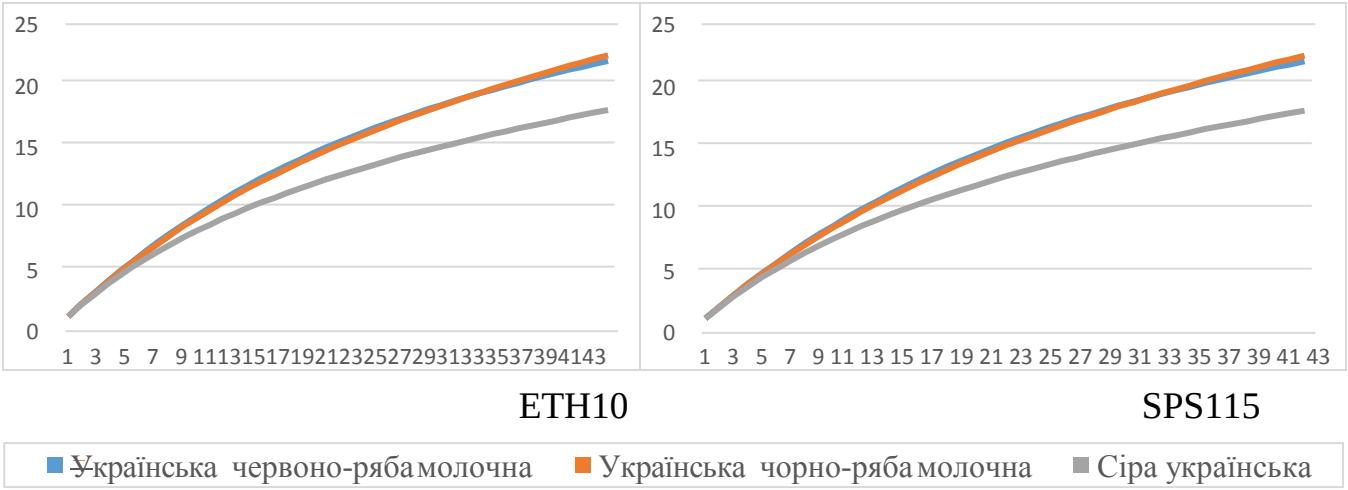


Рис. 4.23 Потенційний розподіл генотипів у дослідженого поголів'я великої рогатої худоби по 10-ом локусам мікросателітної ДНК за параметричним методом rarefaction-curves.

УЧеР та УЧР мали більшу схожість і відокремлені від СУ породи, також і за особливостями розподілу частот генотипів. За локусами TGLA126, INRA23, TGLA227, ETH10 та SPS115 спостерігається тенденція подібна до загальної, тобто розподіл частот у тварин УЧеР та УЧР порід практично співпадає, на відміну від СУ породи, за локусами TGLA122, ETH3 характер розподілу частот співпадав у УЧеР та СУ порід на відміну від УЧР. За локусами ETH225, BM1824 та BM2113 всі породи демонстрували специфічний характер розподілу частот генотипів.

За локусом TGLA126 було діагностовано сім різноманітних генотипових варіантів (27% від загальної кількості генотипів виявлених за даним локусом у великої рогатої худоби, 5% від загальної кількості голів даного виду) зустрічались лише по одному разу, серед тварин породи УЧеР було відмічено 6 таких генотипів (37,5% від кількості генотипів виявлених у даної породи, 23% від загальної кількості генотипів виявлених за даним локусом у великої рогатої худоби, 13% від чисельності проаналізованого поголів'я цієї породи, 4,5% від загального поголів'я проаналізованого поголів'я великої рогатої худоби). Серед особин породи УЧР – 8 (50%, 31%, 18%, 6%) (табл. 4.9). Тоді, як у СУ худоби – лише 5 (38,5%, 19%, 11%, 4%). Також, за даним локусом було виявлено 7 генотипів (27%, 5%), що зустрічались по два рази: у УЧеР – 5 (31%, 19%, 12%, 4%), у УЧР – 4 (25%, 15%, 9%, 3%) і у СУ – 3 (23%, 11,5%, 7%, 2%). Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 14 разів (54%, 10,5%). Серед тварин УЧеР породи – 11 разів (69%, 42%, 24%, 8%), УЧР породи – 12 разів (75%, 46%, 28%, 9%), СУ породи – 8 разів (61,5%, 31%, 18%, 6%).

TGLA122 характеризувався 14 різноманітними генотиповими варіантами (29%, 1,5), що зустічались лише по одному разу, серед тварин породи УЧеР було відмічено 6 таких варіантів (29%, 12,5%, 13%, 4,5%), а серед особин УЧР породи – 14 (56%, 29%, 33%, 10,5%). Тоді, як у СУ худоби – лише 7 (35%, 15%, 16%, 5%). Виявлено 13 генотипів (27%, 10%), що зустрічались по два рази: у УЧеР – 10 (48%, 21%, 22%, 7,5%), у УЧР – 6 (24%, 12,5%, 14%, 4,5%) і у СУ – 8 (40%, 17%, 18%, 6%). Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 27 разів (56%, 20%). У тварин УЧеР породи – 16 разів (76%, 33%, 35%, 12%), УЧР породи – 20 разів (80%, 42%, 46,5%, 15), СУ породи – 15 разів (75%, 31%, 33%,11%).

По локусу INRA23 21 різноманітний генотиповий варіант (39%, 16%) зустічався лише один раз. Серед тварин породи УЧеР було відмічено 23 генотипи, що зустрічались лише по одному разу (72%, 43%, 51%, 17%) (табл. 4.9). Серед особин породи УЧР було виявлено 22 таких генотипів (71%, 41%, 51%, 16,5%). Тоді, як у СУ худоби – лише 8 (40%, 15%, 18%, 6%). Також, за даним локусом було виявлено 14 генотипів (26% 10,5%), що зустрічались по два рази: у УЧеР – 7 (22%, 13%, 16%, 5%), у УЧР – 6 (19%, 11%, 14%, 4,5%) і уСУ – 5 (25%, 19%, 9%, 4%) (табл. 4.10). Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 35 разів (65%, 26%). Серед тварин УЧеР породи – 30 разів (93%, 56%, 67%, 22,5%), УЧР породи – 28 разів (90%, 52%, 65%, 21%), СУ породи – 13 разів (65%, 24%, 29%, 10%).

Таблиця 4.9

Кількість рідкісних генотипів (Ng_1) у різних порід ВРХ

Локус	По породі			По виду, загалом	По виду, в середньому
	УЧеР	УЧР	СУ		
TGLA126	6	8	5	7	6,33
TGLA122	6	14	7	14	9,00
INRA023	23	22	8	21	17,67
ETH003	6	8	2	5	5,33
ETH225	14	12	6	12	10,67
BM1824	15	13	10	18	12,67
TGLA227	24	22	12	31	19,33
BM2113	23	8	5	23	12,00
ETH10	10	12	9	12	10,33
SPS115	11	12	6	11	9,67
Середнє	13,8	13,1	7	15,4	11,300

За локусом ETH003 5 різноманітних генотипових варіанти (19%, 4%) зустічались лише по одному разу. Серед тварин породи УЧеР було відмічено 6 генотипів, що зустрічались лише по одному разу (40%, 23%, 13%, 4,5%). Серед особин породи УЧР було виявлено 8 таких генотипів (44%, 31%, 19%, 6%). А у СУ худоби – лише 2 (13%, 8%, 4%, 1,5%). За даним локусом було виявлено 6 генотипів (23%, 4,5%), що зустрічались по два рази: у УЧеР – 2 (13%, 8%, 4%, 1,5%), у УЧР – 5 (28%, 19%, 12%, 4%) і у СУ – 7 (47%, 27%, 16%, 5%). Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 11 разів (42%, 8%). Серед тварин УЧеР породи – 8 разів (53%, 31%, 18%, 6%), УЧР породи – 13 разів (87%, 50%, 30%, 10%), СУ породи – 9 разів (60%, 34%, 20%, 7%).

ETH225 було представлено 12 різноманітними генотиповими варіантами (31,5%, 9%), що зустічались лише по одному разу. Серед тварин породи УЧеР було відмічено 14 таких генотипів (56%, 10,5%, 31%, 10,5%). Серед особин породи УЧР – 12 (63%, 32%, 28%, 9%). Тоді, як у СУ худоби – лише 6 (29%, 16%, 13%, 4,5%). Також за даним локусом було виявлено 5 генотипів (13%, 4%), що зустрічались по два рази: у УЧеР – 6 (24%, 16%, 13%, 4,5%), у УЧР – 2 (10,5%, 5%, 5%, 1,5%) і у СУ – 10 (48%, 26%, 22%, 7,5%). Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 17 разів (45%, 13%). Серед тварин УЧеР породи – 20 разів (80%, 53%, 44%, 15%), УЧР породи – 14 разів (74%, 37%, 33%, 10,5%), СУ породи – 16 разів (76%, 42%, 36%, 12%).

За локусом BM1824 18 різноманітних генотипових варіантів (43%, 13,5%) зустічались лише по одному разу, серед тварин породи УЧеР було відмічено 15 таких генотипів (62,5%, 35,7%, 33%, 11%). Серед особин породи УЧР – 13 (52%, 31%, 30%, 10%), у СУ худоби – лише 10 (50%, 24%, 22%, 7,5%). Також за даним локусом було виявлено 6 генотипів (14%, 4,5%), що зустрічались по два рази: у УЧеР – 3 (12,5%, 7%, 7%, 2%), у УЧР – 8 (32%, 19%, 19%, 6%) і у СУ – 3 (31%, 19%, 12%, 4%). Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 24 рази (57%, 18%). Серед тварин УЧеР породи – 18 разів (75%, 43%, 40%, 13,5%) УЧР породи – 21 разів (84%, 50%, 49%, 16%), СУ породи – 13 разів (65%, 31%, 29%, 10%).

За локусом TGLA227 31 (52%, 23%) різноманітних генотипових варіанти зустрічались лише по одному разу, серед тварин породи УЧеР було відмічено 24 такі генотипи (75, 40%, 53%, 18%). Серед особин породи УЧР було виявлено 22 подібні генотипи (71%, 37%, 51%, 16,5%), а у СУ худоби – лише 12 (54,5%, 20%, 27%, 9%). Також за даним локусом було виявлено 12 генотипів (20%, 9%), що зустрічались по

два рази: у УЧеР – 5 (16%, 8%, 11%, 4%), у УЧР – 7 (23%, 12%, 16%, 5%) і у СУ – 4 (18%, 7%, 9%, 3%). Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 43 разів (72%, 32%). Серед тварин УЧеР породи – 29 разів (91%, 48%, 64%, 22%), УЧР породи – 29 разів (93%, 48%, 67%, 22%), СУ породи – 16 разів (73%, 27%, 36%, 12%).

Таблиця 4.10

Кількість рідкісних генотипів (Ng_2) у рзних породах ВРХ

Локус	По породі			По виду, загалом	По виду, в середньому
	УЧеР	УЧР	СУ		
TGLA126	5	3	4	7	4,00
TGLA122	10	6	8	13	8,00
INRA023	7	6	5	14	6,00
ETH003	2	5	7	6	4,67
ETH225	6	2	10	5	6,00
BM1824	3	8	3	6	4,67
TGLA227	5	7	4	12	5,33
BM2113	4	7	2	9	4,33
ETH10	5	4	2	3	3,67
SPS115	3	5	3	3	3,67
Середнє	5	5,3	4,8	7,8	5,033

За локусом BM2113 23 різноманітних генотипових варіанти (50%, 17%) зустічались лише по одному разу, серед тварин породи УЧеР було відмічено 23 таких генотипи (74%, 50%, 51%, 17%). Серед особин породи УЧР таких генотипів було 8 (40%, 17%, 19%, 6%), у СУ худоби – лише 5 (45,5%, 11%, 11%, 4%). Також за даним локусом було виявлено 9 генотипів (20%, 7%), що зустрічались по два рази: у УЧеР – 4 (13%, 9%, 9%, 3%), у УЧР – 7 (35%, 15%, 16%, 5%) і у СУ – 2 (18%, 4%, 4%, 1,5%). Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 32 рази (70%, 24%). Серед тварин УЧеР породи – 27 разів (87%, 59%, 60%, 20%), УЧР породи – 12 разів (35%, 15%, 16%, 5%), СУ породи – 7 разів (64%, 15%, 16%, 5%).

За локусом ETH10 12 різноманітних генотипових варіантів (32%, 9%) зустрічались лише по одному разу, серед тварин породи УЧеР було відмічено 10 таких генотипів (45,5%, 26%, 22%, 7,5%). Серед особин породи їх УЧР було виявлено 12 (54,5%, 32%, 28%, 9%), тоді як у СУ худоби –9 (50%, 24%, 20%, 7%). Також, за даним локусом було виявлено 3 генотипи (8%, 2%), що зустрічались по два рази: у УЧеР – 5 (23%, 13%, 11%, 4%), у УЧР – 4 (18%, 10,5%, 9%, 3%) і у СУ – 2 (11%, 5%, 4%, 1,5%). Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 15 разів (39,5%, 11%). Серед

тварин УЧеР породи – 15 разів (68%, 39,5%, 33%, 11%), УЧР породи – 16 разів (73%, 42%, 37%, 12%), СУ породи – 11 разів (61%, 29%, 24%, 8%).

За локусом SPS115 11 різноманітних генотипових варіантів (32%, 8%) зустрічались лише по одному разу, серед тварин породи УЧеР було відмічено 11 подібних генотипів (50%, 32%, 24%, 8%). Серед особин породи УЧР виявлено 12 генотипів такого типу (45,5%, 35%, 5%, 9%). Тоді, як у СУ худоби – лише 6 (443%, 18%, 13%, 4,5%). Також за даним локусом було виявлено 3 генотипи (9%, 2%), що зустрічались по два рази: у УЧеР – 3 (14%, 8%, 7%, 2%), у УЧР – 5 (23%, 15%, 12%, 4%) і у СУ – 3 (21%, 8%, 7%, 2%). Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 14 разів (41% від кількості визначених генотипів і 10,5% від загальної чисельності популяції). Серед тварин УЧеР породи – 14 разів (64%, 41%, 31%, 10,5%), УЧР породи – 17 разів (77%, 50%, 16%, 13%), СУ породи – 9 разів (64%, 26,5%, 20%, 7%).

За локусом TGLA126 серед особин групи УЧеР було відмічено лише чотири породоспецифічні генотипи (25%, 15%, 9%, 3%), серед представників породи УЧР також чотири (25%, 15%, 9%, 3), а в СУ – 6 (46%, 23%, 13%, 4,5%). За локусом TGLA122 серед особин групи УЧеР було відмічено 11 породоспецифічних генотипів (52%, 23%, 24%, 8%), серед представників породи УЧР – 12 (48%, 25%, 28%, 9) і СУ – 10 (50%, 21%, 22%, 7,5%). За локусом INRA23 серед особин групи УЧеР та УЧР було відмічено по 12 породоспецифічних генотипів (37,5%, 22%, 27%, 9%) та (39%, 22%, 28%, 9%) відповідно, а СУ – 6 (30%, 11%, 13%, 4,5%). За локусом ETH003 серед особин групи УЧеР було відмічено лише п’ять породоспецифічних генотипів (33%,

Таблиця 4.11

Кількість породоспецифічних генотипів (Ng_{unik}) у різних порід ВРХ

Локус	По породі			По виду, загалом	По виду, в середньому
	УЧеР	УЧР	СУ		
TGLA126	4	4	6	14	4,67
TGLA122	11	12	10	33	11,00
INRA023	12	12	6	30	10,00
ETH003	5	4	3	12	4,00
ETH225	8	4	6	18	6,00
BM1824	4	4	6	14	4,67
TGLA227	14	17	7	38	12,67
BM2113	20	8	5	33	11,00
ETH10	5	10	4	19	6,33
SPS115	7	6	2	15	5,00
Середнє	9	8,1	5,5	22,6	7,533

19%, 11%, 4%), серед представників УЧР (табл. 4.11) породи – чотири (22%, 15%, 9%, **3)** і СУ – 3 (20%, 11,5%, 7%, 2%). За локусом ETH225 серед особин групи УЧеР було відмічено 8 породоспецифічних генотипів (32%, 21%, 18%, 6%), серед представників породи УЧР – 4 (21%, 10,5%, 9%, 3) і СУ – 6 (27%, 16%, 13%, 4,5%). За локусом BM1824 серед особин УЧеР та УЧР було відмічено лише по чотири породоспецифічних генотипи (17%, 9,5%, 9%, 3%) та (16%, 9,5%, 9%, 3%), відповідно, а серед представників СУ породи – 6 (30%, 14%, 13%, 4,5%). За локусом TGLA227 серед особин групи УЧеР було відмічено 14 породоспецифічних генотипів (44%, 23%, 31%, 10,5%), серед представників породи УЧР – 17 (55%, 28%, 39,5%, 13%) і СУ – 7 (32%, 12%, 16%, 5%). За локусом BM2113 серед особин групи УЧеР було відмічено 20 породоспецифічних генотипів (64,5%, 43,5%, 44%, 15%), серед представників породи УЧР – 8 (40%, 17%, 19%, 6%) і СУ – 5 (45,5%, 11%, 11%, 4%). За локусом ETH10 серед особин групи УЧеР було відмічено 5 породоспецифічних генотипів (23%, 13%, 23%, 4%), серед представників породи УЧР – 10 (45,5%, 26%, 23%, 7,5%) і СУ – 4 (22%, 10,5%, 9%, 3%). За локусом SPS115 серед особин групи УЧеР було відмічено 7 породоспецифічних генотипів (32%, 20,5%, 16%, 5%), серед представників породи УЧР – 6 (27%, 18%, 14%, 4,5) і СУ – 2 (14%, 6%, 4%, 1,5%).

Наведені вище оцінки, базуються на різних розмірах проаналізованих популяцій, тому, з метою коректного аналізу (як між породами, так між окремими локусами мікросателітної ДНК) нами було використано спеціальні методи, які дозволяють оцінити потенційне різноманіття (за умови, що розмір оцінюваної виборки прагне до нескінченості), насамперед це непараметричний метод А. Чао [638]. На рис. 4.24. наведено одержані за використання цього методу результати оцінки частот генотипів за досліджуваними мікросателітними локусами ДНК у розрізі трьох порід великої рогатої худоби.

За цим методом найвищим рівнем генотипового різноманіття характеризуються локуси INRA23, TGLA227 та BM2113 – для них кількість зареєстрованих генотипів може сягати 80 та більше. Тим часом, як найнижчим рівнем генотипової мінливості характеризувались локуси TGLA126 та ETH03.

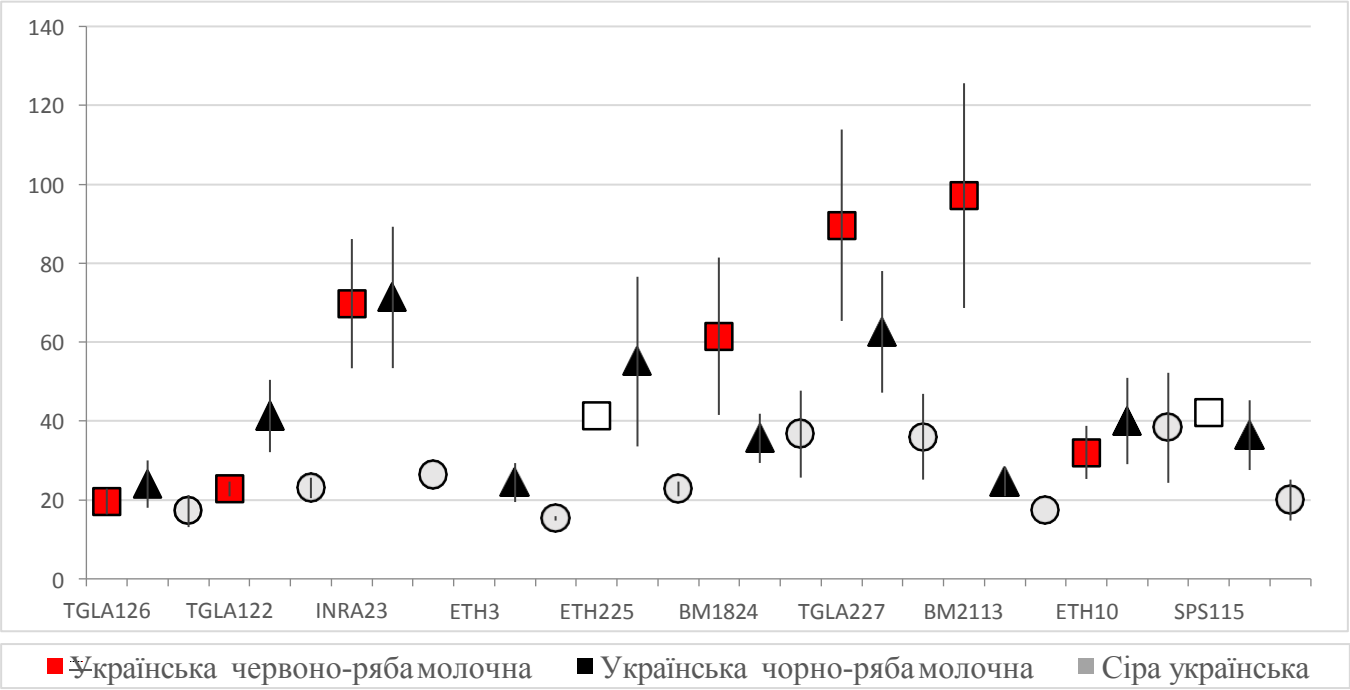


Рис. 4.24 Оцінки потенційної кількості генотипів (±1*SD*), одержані за допомогою непараметричного методу А.Чао.

В цілому, відмічається різний характер розподілу кількості генотипів за методом А. Чао. Так, за локусами TGLA126 та ETH10 достовірної різниці між породами не відмічалось, за локусом BM2113 у тварини УЧеР породи потенційна кількість генотипів була набагато вищою ніж у решти порід, за локусами TGLA122 тварини УЧР породи суттєво відрізнялись від решти, і, нарешті, сіра українська порода характеризувалась певною обособленістю за низкою локусів, а саме: INRA23, ETH03, ETH225, від рябих порід, ці цілком підтверджує адекватність результатів безпосередніх оцінок генотипового різноманіття досліджуваних порід великої рогатої худоби.

4.2. Особливості мінливості мікросателітних ділянок геному у представників виду *Equs caballus*

Алелофонд різних за історією походження порід коней за поліморфізмом мікросателітних локусів ДНК. В результаті проведення мікросателітного аналізу кількість виявлених алельних варіантів для коней гуцульської (ГУЦ) породи коливалась від 7-и – для локусів CA425 до 13-ти – для ASB17, і становила в середньому 10±0,505 алеля на локус (табл. 4.12).

Таблиця 4.12

Структура гуцульської породи коней (ГУЦ) за мікросателітними -локусами ДНК

Локус	Na	Розмір п.н. (частота) алелів								
HTG04	10	119 (0,013)	121 (0,019)	125 (0,038)	127 (0,090)	129 (0,199)	131 (0,372)	133 (0,103)	135 (0,058)	137 (0,083)
		139 (0,026)								
HMS06	9	155 (0,006)	157 (0,019)	159 (0,083)	161 (0,167)	163 (0,263)	165 (0,045)	167 (0,155)	169 (0,288)	171 (0,013)
HTG06	11	76 (0,013)	82 (0,006)	84 (0,154)	88 (0,038)	90 (0,115)	92 (0,083)	94 (0,032)	96 (0,026)	98 (0,154)
		100 (0,372)	102 (0,006)							
ATH04	11	140 (0,006)	144 (0,135)	146 (0,154)	148 (0,026)	150 (0,077)	152 (0,038)	154 (0,064)	156 (0,032)	158 (0,122)
		160 (0,276)	162 (0,071)							
ASB23	11	128 (0,103)	130 (0,109)	132 (0,269)	134 (0,071)	140 (0,013)	144 (0,013)	146 (0,026)	148 (0,115)	150 (0,045)
		152 (0,128)	154 (0,109)							
ASB17	13	90 (0,019)	92 (0,051)	94 (0,006)	96 (0,013)	98 (0,013)	100 (0,058)	102 (0,006)	104 (0,192)	106 (0,090)
		108 (0,051)	110 (0,071)	112 (0,173)	114 (0,256)					
CA425	7	230 (0,006)	232 (0,083)	234 (0,103)	236 (0,038)	238 (0,173)	240 (0,462)	242 (0,135)		
TG07	8	118 (0,019)	120 (0,199)	122 (0,019)	124 (0,103)	126 (0,218)	128 (0,372)	130 (0,058)	132 (0,013)	
HMS03	10	150 (0,019)	152 (0,090)	158 (0,026)	160 (0,269)	162 (0,019)	164 (0,128)	166 (0,288)	168 (0,103)	170 (0,032)
		172 (0,026)								
VHL20	11	83 (0,006)	85 (0,051)	87 (0,321)	89 (0,032)	93 (0,141)	95 (0,109)	97 (0,109)	99 (0,071)	101 (0,083)
		103 (0,058)	105 (0,019)							
HMS07	9	168 (0,006)	170 (0,032)	172 (0,071)	174 (0,244)	176 (0,160)	178 (0,090)	180 (0,359)	182 (0,032)	184 (0,006)

За локусом HTG04 виявлено 10 алельних варіантів розміром від 119 до 139 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,372) зустрічався алель розміром у 131 п.н., а найменш часто (0,013) – алелі $HTG04^{119}$. За локусом HMS06 виявлено 9 алельних варіантів розміром від 155 до 171 п.н., з найбільшою частотою (0,288) зустрічався алель $HMS06^{169}$, а найменш часто (0,006) – $HMS06^{155}$. За локусом HTG06 виявлено 11 алельних варіантів розміром від 76 до 102 п.н.,

серед яких з найбільшою частотою (0,372) зустрічався алель HTG06^{100}, а найменш часто (0,006) – HTG06^{82} та HTG06^{102}. За локусом ATH04 виявлено 11 алельних варіантів розміром від 140 до 162 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,276) зустрічався алель ATH04^{160}, а найменш часто (0,006) – алель ATH04^{140} п.н. За локусом ASB23 виявлено 11 алельних варіантів розміром від 128 до 154 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,269) зустрічався алель ASB23^{132}, а найменш часто (0,013) – ASB23^{140} та ASB23^{144}. За локусом ASB17 виявлено 13 алельних варіантів, розміром від 90 до 114 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,256) зустрічався алель ASB17^{114}, а найменш часто (0,006) – ASB17^{94} та ASB17^{102}. За локусом CA425 виявлено 7 алельних варіантів, розміром від 230 до 242 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,462) зустрічався алель CA425^{240}, а найменш часто (0,006) – CA425^{230}. За локусом HTG07 виявлено 8 алельних варіантів розміром від 118 до 132 п.н., серед яких, з найбільшою частотою (0,372) зустрічався алель HTG07^{128}, а найменш часто (0,013) – HTG07^{132}. За локусом HMS03 виявлено 10 алельних варіантів розміром від 150 до 172 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,288) зустрічався алель HMS03^{166}, а найменш часто (0,019) – HMS03^{150} та HMS03^{162}. За локусом VHL20 виявлено 11 алельних варіантів розміром від 83 до 105 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,321) зустрічався алель VHL20^{87}, а найменш часто (0,006) – VHL20^{83}. За локусом HMS07 виявлено 9 алельних варіантів розміром від 168 до 184 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,359) зустрічався алель HMS07^{180}, а найменш часто (0,006) – HMS07^{168} та HMS07^{184}.

Кількість виявлених алельних варіантів для коней британської чистокровної породи коливалась від 5-ти – для маркеру HTG04 до 13-ти – для ASB23, і становила в середньому 8±0,632 алелі на локус (табл.4.13).

Таблиця 4.13

Структура алелофонду чистокровної верхової породи коней (ЧВ)

Локус	Na	Розмір п.н. (частота) алелів								
HTG04	5	125 (0,039)	127 (0,392)	129 (0,118)	131 (0,402)	133 (0,049)				
HMS06	7	157 (0,010)	159 (0,118)	161 (0,069)	163 (0,176)	167 (0,010)	169 (0,578)	171 (0,039)		
HTG06	7	84 (0,333)	86 (0,010)	90 (0,578)	92 (0,010)	98 (0,010)	100 (0,049)	104 (0,010)		

Продовж. табл. 4.13

ATH04	9	142 (0,010)	144 (0,039)	146 (0,147)	148 (0,118)	150 (0,196)	152 (0,098)	158 (0,069)	160 (0,225)	162 (0,098)
ASB23	13	124 (0,010)	126 (0,010)	128 (0,059)	130 (0,196)	132 (0,275)	134 (0,186)	136 (0,059)	138 (0,020)	144 (0,010)
		146 (0,029)	148 (0,088)	150 (0,049)	152 (0,010)					
ASB17	8	92 (0,147)	94 (0,049)	104 (0,029)	106 (0,333)	108 (0,157)	110 (0,020)	112 (0,088)	114 (0,176)	
CA425	7	228 (0,010)	230 (0,029)	232 (0,176)	234 (0,010)	238 (0,069)	240 (0,696)	242 (0,010)		
HTG07	7	118 (0,010)	120 (0,147)	122 (0,029)	124 (0,069)	126 (0,255)	128 (0,431)	130 (0,059)		
HMS03	10	150 (0,078)	152 (0,510)	154 (0,078)	158 (0,010)	160 (0,069)	162 (0,029)	164 (0,118)	166 (0,069)	168 (0,020)
		170 (0,020)								
VHL20	7	85 (0,137)	87 (0,108)	91 (0,029)	93 (0,108)	95 (0,206)	97 (0,402)	99 (0,010)		
HMS07	8	170 (0,059)	172 (0,039)	174 (0,118)	176 (0,157)	178 (0,255)	180 (0,275)	182 (0,078)	184 (0,020)	

За локусом HTG04 виявлено 5 алельних варіантів розміром від 125 до 133 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,402 та 0,392) зустрічались алелі $HTG04^{131}$ та $HTG04^{127}$, відповідно, а найменш часто (0,039 та 0,049) – $HTG04^{125}$ та $HTG04^{133}$, відповідно. За локусом HMS06 виявлено 7 алельних варіантів розміром від 157 до 171 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,578) зустрічався алель $HMS06^{169}$, а найменш часто (0,010) – $HMS06^{157}$ та $HMS06^{167}$. За локусом HTG06 виявлено 7 алельних варіантів розміром від 84 до 104 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,578) зустрічався алель $HTG06^{90}$, а найменш часто (0,010) – $HTG06^{86}$, $HTG06^{92}$, $HTG06^{98}$ та $HTG06^{104}$. За локусом ATH04 виявлено 9 алельних варіантів розміром від 142 до 162 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,225) зустрічався алель $ATH04^{160}$, а найменш часто (0,010) – $ATH04^{142}$ п.н. За локусом ASB23 виявлено 13 алельних варіантів розміром від 124 до 152 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,275) зустрічався алель $ASB23^{132}$, а найменш часто (0,010) – $ASB23^{124}$, $ASB23^{126}$, $ASB23^{144}$ та $ASB23^{152}$. За локусом ASB17 виявлено 8 алельних варіантів, розміром від 92 до 114 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,333) зустрічався алель $ASB17^{106}$, а найменш часто (0,020) – $ASB17^{110}$. За локусом CA425 виявлено 7 алельних варіантів, розміром від 228 до 242 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,696) зустрічався алель $CA425^{240}$, а найменш часто (0,010) – $CA425^{228}$, $CA425^{234}$ та $CA425^{242}$. За локусом HTG07 виявлено 7 алельних варіантів розміром від 118 до 130 п.н., серед яких, з найбільшою частотою (0,431) зустрічався алель $HTG07^{128}$, а найменш

часто (0,010) – HTG07^{118}. За локусом HMS03 виявлено 10 алельних варіантів розміром від 150 до 170 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,510) зустрічався алель HMS03^{152}, а найменш часто (0,010) – HMS03^{158}. За локусом VHL20 виявлено 7 алельних варіантів розміром від 85 до 99 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,402) зустрічався алель VHL20^{97}, а найменш часто (0,010) – VHL20^{99}. За локусом HMS07 виявлено 8 алельних варіантів розміром від 170 до 184 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,275) зустрічався алель HMS07^{180}, а найменш часто (0,020) – HMS07^{184}.

Кількість виявлених алельних варіантів для української верхової породи (УВП) коней коливалась від 11-ти – для маркеру HTG07 до 16-ти – для ASB17, CA425 та HMS03 і становила в середньому 14,273±0,506 алелю на локус (табл. 4.14).

Таблиця 4.14

Алелофонд української верхової породи (УВП)

Локус	Na	Розмір п.н. / (частота) алелів								
HTG04	13	115 (0,016)	117 (0,043)	119 (0,089)	121 (0,072)	123 (0,063)	125 (0,204)	127 (0,089)	129 (0,174)	131 (0,095)
		133 (0,102)	135 (0,030)	137 (0,020)	141 (0,003)					
HMS06	12	151 (0,010)	153 (0,026)	155 (0,026)	157 (0,059)	159 (0,122)	161 (0,095)	163 (0,115)	165 (0,066)	167 (0,207)
		169 (0,237)	171 (0,030)	173 (0,007)						
HTG06	15	76 (0,023)	78 (0,030)	80 (0,063)	2 (0,105	84 (0,247)	86 (0,059)	88 (0,105)	90 (0,151)	92 (0,013
		94 (0,026)	6 (0,023	98 (0,095)	100 (0,030)	104 (0,026)	106 (0,003)			
ATH04	15	138 (0,010)	140 (0,010)	142 (0,020)	144 (0,072)	146 (0,092)	148 (0,151)	150 (0,099)	152 (0,026)	154 (0,049)
		156 (0,069)	158 (0,109)	160 (0,230)	162 (0,039)	166 (0,010)	168 (0,013)			
ASB23	14	128 (0,056)	130 (0,145)	132 (0,204)	134 (0,184)	136 (0,066)	138 (0,079)	140 (0,013)	142 (0,020)	144 (0,039)
		146 (0,033)	148 (0,033)	150 (0,049)	152 (0,039)	154 (0,039)				
ASB17	16	84 (0,003)	90 (0,046)	92 (0,066)	94 (0,043)	96 (0,026)	98 (0,033)	100 (0,046)	102 (0,089)	104 (0,155)
		106 (0,188)	108 (0,063)	110 (0,049)	112 (0,105)	114 (0,039)	116 (0,036)	118 (0,013)		
CA425	16	224 (0,003)	226 (0,033)	228 (0,010)	230 (0,030)	232 (0,072)	234 (0,039)	236 (0,069)	238 (0,079)	240 (0,359)
		242 (0,194)	244 (0,059)	246 (0,013)	248 (0,003)	252 (0,010)	254 (0,016)	256 (0,010)		
HTG07	11	110 (0,003)	112 (0,013)	114 (0,059)	116 (0,033)	118 (0,039)	120 (0,148)	122 (0,053)	124 (0,076)	126 (0,141)

Продовж. табл. 4.14

		128 (0,326)	130 (0,109)							
HMS03	16	142 (0,003)	146 (0,010)	148 (0,039)	150 (0,049)	152 (0,188)	154 (0,036)	156 (0,020)	158 (0,020)	160 (0,105)
		162 (0,138)	164 (0,072)	166 (0,181)	168 (0,092)	170 (0,026)	172 (0,016)	174 (0,003)		
VHL20	15	79 (0,003)	81 (0,013)	83 (0,026)	85 (0,164)	87 (0,082)	89 (0,030)	91 (0,082)	93 (0,247)	95 (0,122)
		97 (0,122)	99 (0,020)	101 (0,010)	103 (0,023)	105 (0,043)	107 (0,013)			
HMS07	14	160 (0,003)	162 (0,003)	164 (0,023)	166 (0,016)	168 (0,049)	170 (0,053)	172 (0,056)	174 (0,112)	176 (0,201)
		178 (0,181)	180 (0,168)	182 (0,102)	184 (0,023)	186 (0,010)				

За локусом HTG04 виявлено 13 алельних варіантів розміром від 115 до 141 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,204) зустрічався алель $HTG04^{125}$, а найменш часто (0,016) – $HTG04^{115}$. За локусом HMS06 виявлено 12 алельних варіантів розміром від 151 до 173 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,237) зустрічався алель $HMS06^{169}$, а найменш часто (0,007) – $HMS06^{173}$. За локусом HTG06 виявлено 15 алельних варіантів розміром від 76 до 106 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,247) зустрічався алель $HTG06^{84}$, а найменш часто (0,003) – $HTG06^{106}$. За локусом ATH04 виявлено 15 алельних варіантів розміром від 138 до 168 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,151) зустрічався алель $ATH04^{148}$, а найменш часто (0,010 та 0,013) – $ATH04^{138}$, $ATH04^{140}$, $ATH04^{166}$ та $ATH04^{168}$, відповідно. За локусом ASB23 виявлено 14 алельних варіантів розміром від 128 до 154 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,204) зустрічався алель $ASB23^{132}$, а найменш часто (0,013) – $ASB23^{140}$. За локусом ASB17 виявлено 16 алельних варіантів, розміром від 84 до 118 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,188) зустрічався алель $ASB17^{106}$, а найменш часто (0,003) – $ASB17^{84}$. За локусом CA425 виявлено 16 алельних варіантів, розміром від 224 до 256 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,259) зустрілись алелі $CA425^{240}$, а найменш часто (0,003) – $CA425^{224}$ та $CA425^{248}$. За локусом HTG07 виявлено 11 алельних варіантів розміром від 110 до 130 п.н., серед яких, з найбільшою частотою (0,326) зустрічався алель $HTG07^{128}$, а найменш часто (0,003) – $HTG07^{110}$. За локусом HMS03 виявлено 16 алельних варіантів розміром від 142 до 174 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,188 та 0,181) зустрічався алелі $HMS03^{152}$ та $HMS03^{166}$, а найменш часто (0,003) – $HMS03^{142}$ та $HMS03^{174}$. За локусом VHL20 виявлено 15 алельних варіантів розміром від 79 до 107 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,247) зустрічався алель $VHL20^{93}$, а найменш часто (0,003) – $VHL20^{79}$. За локусом HMS07 виявлено 14 алельних варіантів розміром від 160

до 186 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,201) зустрічався алель HMS07^{176}, а найменш часто (0,003) – HMS07^{160} та HMS07^{162}.

В результаті аналізу алельного різноманіття встановлено, що частоти окремих алельних варіантів локусу HTG04 достовірно відрізнялась у тварин різних порід (p = 0,0001). При цьому, спостерігається майже однаковий розподім частот алелів (рис. 4.25). Так, з 15 алелів відносно високу частоту (0,10-0,15) в усіх породах мали лише 3 (129, 131 та 133 п.н.), а ще 5 зустрічались з частотою меншою за 0,05.

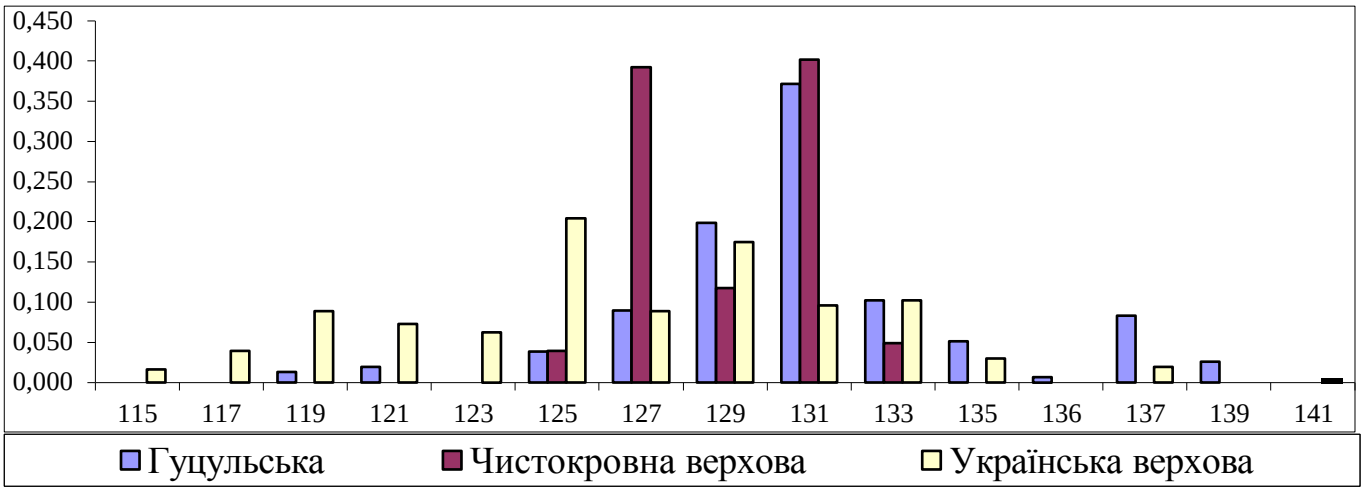


Рис. 4.25 Алельні спектри різних порід коней за локусом HTG04.

Серед тварин груп ГУЦ частіше спостерігався алель HTG04^{131}, ЧВ – алель HTG04^{127} та HTG04^{131}, в УВП – HTG04^{125}. Найбільший розмах алельного різноманіття було зафіксовано за УВП коней – від HTG04^{115} до HTG04^{141}, крім того, алелі HTG04^{115}, HTG04^{117}, HTG04^{123} та HTG04^{141} було виявлено лише у представників даної породи. Слід відмітити, що найвижчим алельним спектром характеризувалась ЧВ порода від HTG04^{125} до HTG04^{133} п.н.

Частота окремих алельних варіантів локусу HMS06 достовірно відрізнялась у тварин різних порід (p = 0,0001). При цьому спостерігається нерівномірність розподілу різних алелів (рис. 4.26). Так, з 12 алелів відносно високу частоту (0,10-0,15) мали лише 2, а 5 зустрічались з частотою меншою за 0,05.

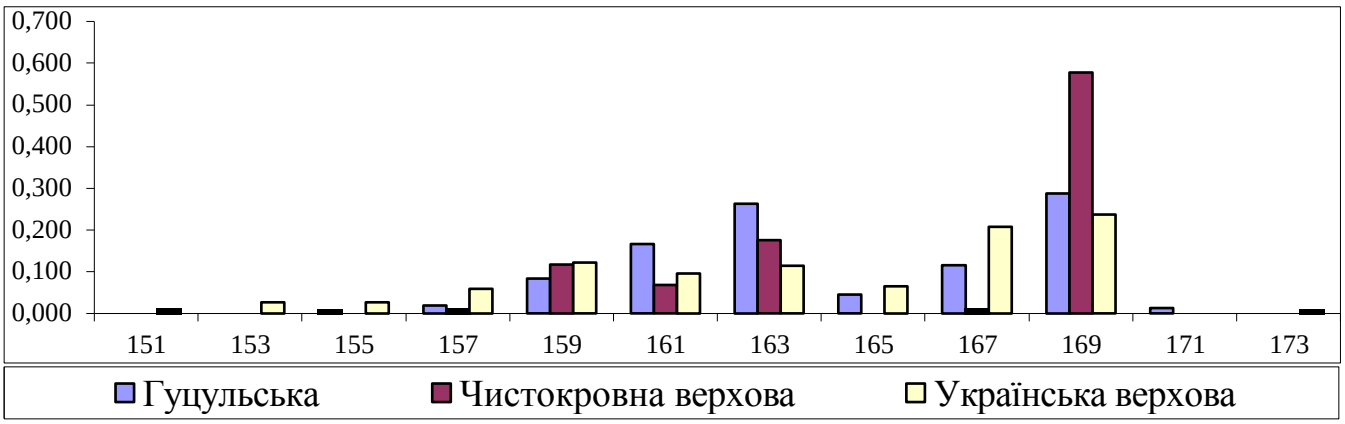


Рис. 4.26 Генетична структура різних порід коней за локусом HMS06.

В усіх порід найчастіше спостерігався алель та $HMS06^{169}$, а у ГУЦ з високою частотою також спостерігався алель $HMS06^{163}$. Алелі $HMS06^{151}$, $HMS06^{153}$ та $HMS06^{173}$ виявляли лише у тварин УВП, а у коней ЧВ породи було виявлено лише алелі, $HMS06^{157}$, $HMS06^{159}$, $HMS06^{161}$, $HMS06^{163}$, $HMS06^{167}$, $HMS06^{169}$ та $HMS06^{171}$. Коні УВП характеризувались найбільшим алельним спектром, а ЧВ – найвужчим.

Частота окремих алельних варіантів локусу INRA23 достовірно відрізнялась у тварин різних порід (p = 0,0001). При цьому, спостерігається нерівномірність розподілу різних алелів (рис. 4.27). Так, з 16 алелів відносно високу частоту (0,10-0,15) мали лише 2, а 7 зустрічались з частотою меншою за 0,05.

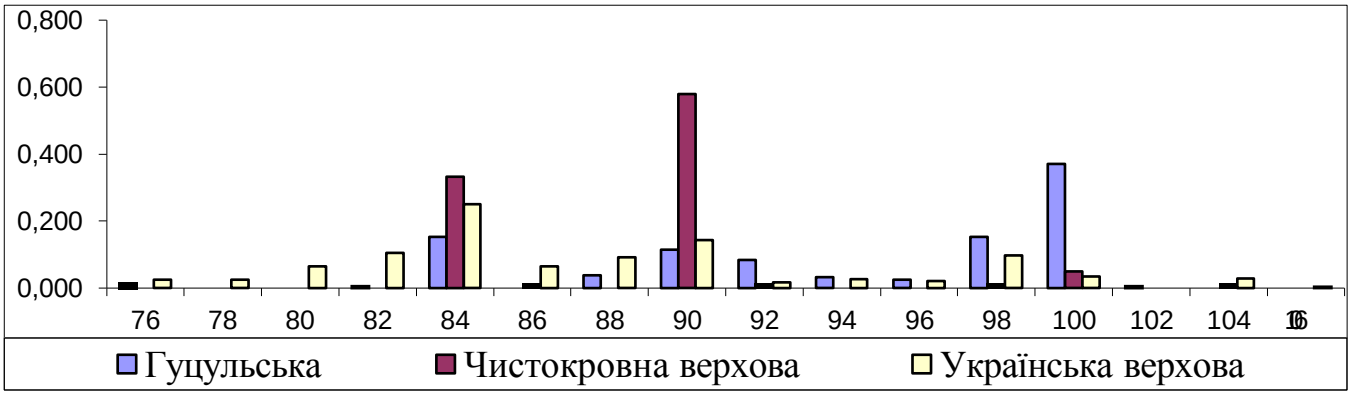


Рис. 4.27 Алельні спектри різних порід коней за локусом HTG06.

Найбільший розмах алельного різноманіття спостерігався в УВП (16), а найменший – у ЧВ коней (7), у ГУЦ – 11. Серед гуцулів найчастіше спостерігався алель $INRA23^{100}$, ЧВ – $INRA23^{90}$ та $INRA23^{84}$, в УВП – $INRA23^{84}$. Слід відмітити, що у ЧВ з виявлених7 алелів переважна більшість алелів за цим локусом (>90%) представлена $INRA23^{84}$ та $INRA23^{90}$. Алель $INRA23^{102}$ було виявлено лише у ГУЦ, а алелі $INRA23^{78}$, $INRA23^{80}$ та $INRA23^{106}$ – лише в УВП коней.

Частота окремих алельних варіантів локусу АНТ04 достовірно відрізнялась у тварин різних порід (p = 0,0001) (рис. 4.28). При цьому, з 15 алелів відносно високу частоту (0,10-0,15) мали 2 і ще 5 зустрічались з частотою меншою за 0,05.

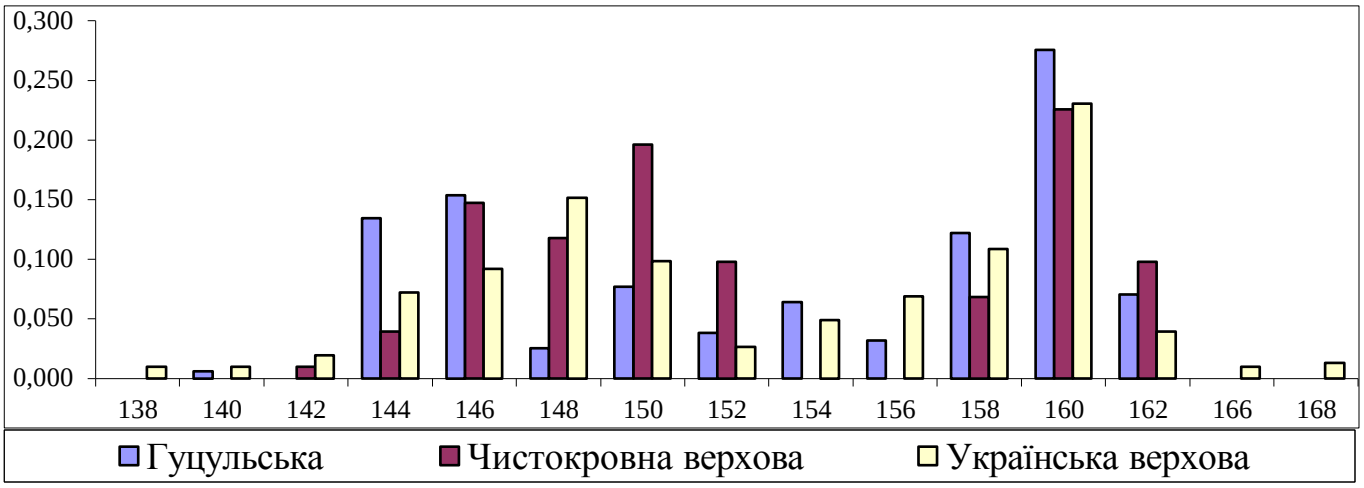


Рис. 4.28 Алельні спектри різних порід коней за локусом АНТ04.

За частотами визначених алелів у всіх досліджуваних породах найчастіше зустрічався алель 160 (>0,200), а у коней породи ЧВ алель АНТ04^{150} також зустрічався з досить високою частотою (0,196). Найширший алельний спектр було зафіксовано у коней УВП (АНТ04^{138}- АНТ04^{168}), для ГУЦ характерними були коротші алельні варіанти (АНТ04^{138}- АНТ04^{162}) і найвужчий спектр був притаманний коням ЧВ породи (АНТ04^{142}- АНТ04^{162}). Слід також відмітити, що алелі АНТ04^{154} та АНТ04^{156} були відсутні у ЧВ коней, а АНТ04^{142} – у ГУЦ.

Частота окремих алельних варіантів локусу ASB23 достовірно відрізнялась у тварин різних порід (p=0,0001). При цьому спостерігалась нерівномірність розподілу різних алелів (рис. 4.29). Так, з 11 алелів відносно високу частоту (0,10-0,15) мали 3, а 7 зустрічались з частотою меншою за 0,05.

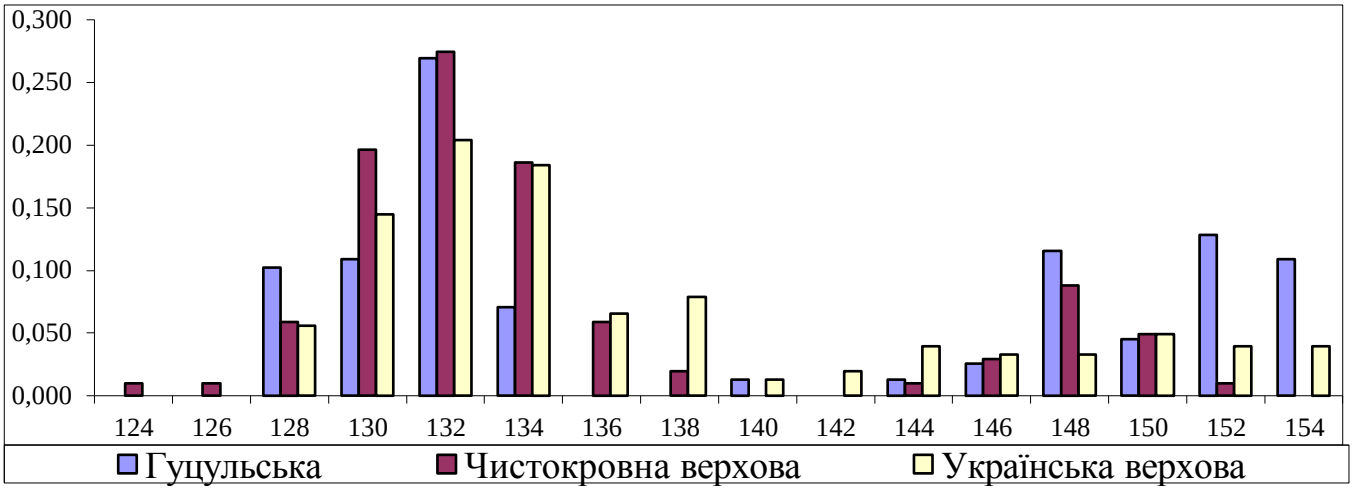


Рис. 4.29 Алельні спектри різних порід коней за локусом ASB23.

За частотами визначених алелів у всіх досліджених порід коней найчастіше (>0,200) відмічався алель $ASB23^{132}$, а найнижчою частотою характеризувались алелі у ГУЦ – $ASB23^{140}$, $ASB23^{144}$ (0,013), у ЧВ – $ASB23^{124}$, $ASB23^{126}$, $ASB23^{144}$ та $ASB23^{152}$ (0,010), і в УВП – $ASB23^{140}$ (0,013). За даним локусом найбільшим алельним спектром характеризувались коні породи ЧВ ($ASB23^{124}$- $ASB23^{152}$), ГУЦ та УВП – $ASB23^{128}$- $ASB23^{154}$. При цьому у ГУЦ були відсутні алелі $ASB23^{136}$, $ASB23^{138}$ та $ASB23^{142}$, а у ЧВ коней – $ASB23^{140}$ та $ASB23^{142}$.

Частота алельних варіантів локусу ASB17 достовірно відрізнялась у тварин різних порід (p = 0,0001). При цьому спостерігалась нерівномірність розподілу різних алелів (рис 4.30) Так, з 16 алелів не було жодного, за яким би всі породи демонстрували відносно високу частоту (0,10-0,15), а 7 зустрічались з частотою меншою за 0,05.

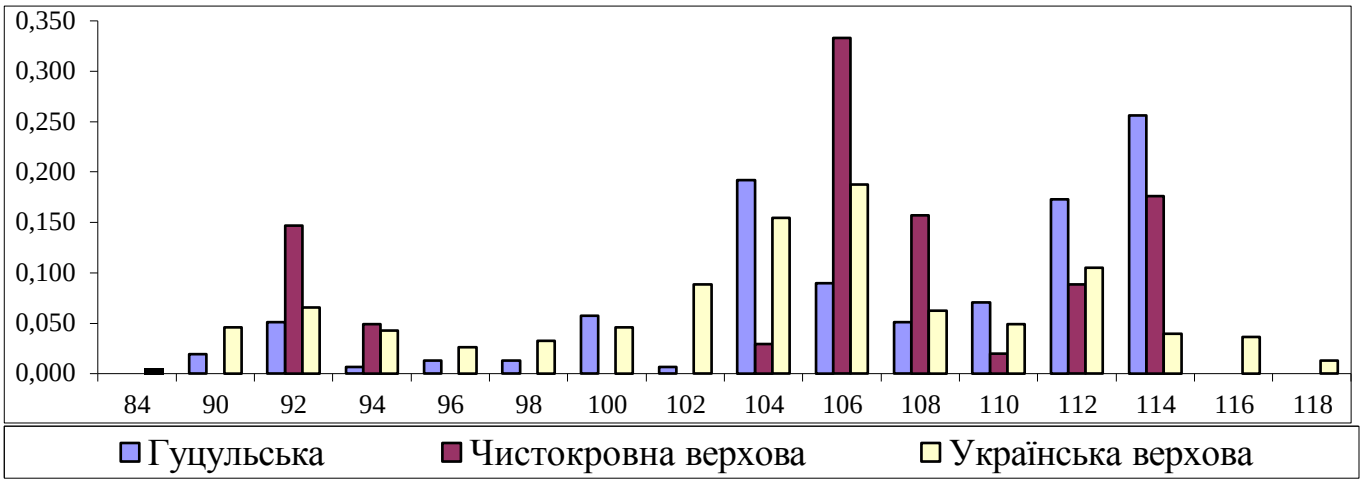


Рис. 4.30 Алельні спектри різних порід коней за локусом ASB17.

За частотами визначених алелів тварини ЧВ породи суттєво переважали решту порід за частотою алелю $ASB17^{106}$. (0,333), у ГУЦ найчастіше (0,256) зустрічався алель $ASB17^{114}$, а в УВП – $ASB17^{106}$ (0,188). Найменш часто виявляли алелі $ASB17^{84}$ (0,003) у ГУЦ, у ЧВ – $ASB17^{110}$ (0,020), а в УВП – $ASB17^{118}$ (0,013). Найширший алельний спектр було зафіксовано в УВП коней ($ASB17^{90}$- $ASB17^{118}$), у ГУЦ – $ASB17^{84}$- $ASB17^{114}$, а у ЧВ – $ASB17^{92}$- $ASB17^{114}$, при чому у тварин даної породи в спектрі були відсутні алельні варіанти $ASB17^{96}$, $ASB17^{98}$, $ASB17^{100}$ та $ASB17^{102}$.

Частота окремих алельних варіантів локусу CA425 достовірно відрізнялась у тварин різних порід (p = 0,0001). При цьому мала місце нерівномірність розподілу різних алелів. Так, з 16 алелів відносно високу частоту (0,10-0,15) мав лише $ASB17^{106}$, а 9 зустрічались з частотою меншою за 0,05 (рис. 4.31).

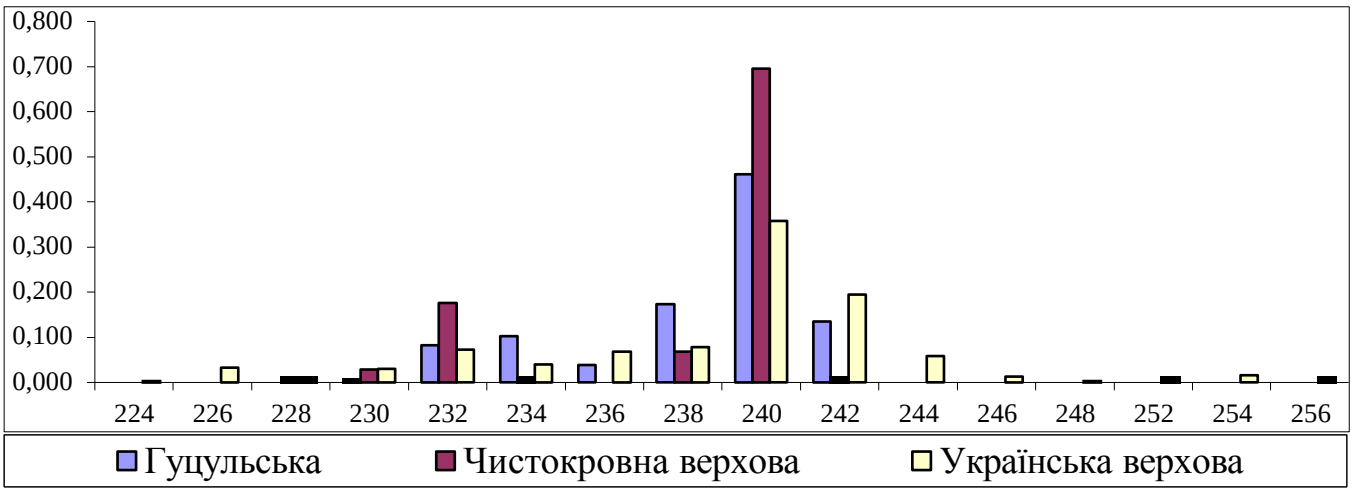


Рис. 4.31 Алельні спектри різних порід коней за локусом CA425.

Найширший спектр алеьного різноманіття було зафіксовано за УВП (16), а найвужчий (7) за ГУЦ, у ЧВ коней було виявлено 7 алельних варіантів. В усіх досліджених нами популяціях коней за даним локусом найчастіше виявлявся алель, $CA425^{240}$. У ГУЦ з частотою 0,462, в УВП – 0,359, а найчастіше – у ЧВ, з частотою 0,696. Алелі $CA425^{224}$, $CA425^{226}$, $CA425^{244}$, $CA425^{246}$, $CA425^{248}$, $CA425^{252}$, $CA425^{254}$ та $CA425^{256}$ було виявлено лише в УВП. Слід, також, відмітити, що у ЧВ коней був відсутній алель $CA425^{236}$.

Частота окремих алельних варіантів локусу HTG07 достовірно відрізнялась у тварин різних порід (p = 0,0001). При цьому, спостерігалась нерівномірність розподілу різних алелів (рис. 4.32). Так, з 12 алелів відносно високу частоту (0,10-0,15) мали 3, а 5 зустрічались з середньою частотою (0,05 – 0,10).

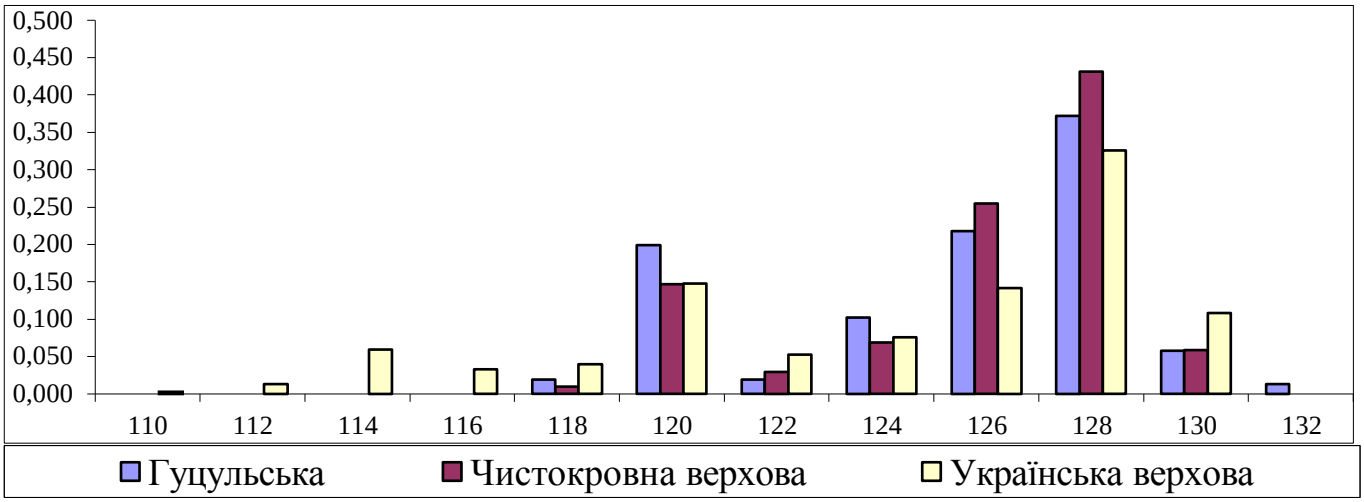


Рис. 4.32 Алельні спектри різних порід коней за локусом HTG07.

За спектром виявлених алельних варіантів найширший було виявлено у тварин УВП (11), а у ГУЦ та ЧВ – 8 та 7, відповідно. З найвищою частотою в усіх породах

зустрічались локуси HTG07^{128}, HTG07^{126} та HTG07^{120}. Алелі HTG07$^{110-116}$ було виявлено лише у тварин УВП, а HTG07^{132} – тільки у представників ГУЦ.

Частота окремих алельних варіантів локусу HMS03 достовірно відрізнялась у тварин різних порід (p = 0,0001). При цьому спостерігалась нерівномірність розподілу різних алелів (рис. 4.33). Так, з 16 алелів з частотою більшою за 0,10 зучтрічались лише 4-алельні варіанти, а з меншою за 0,05 –7.

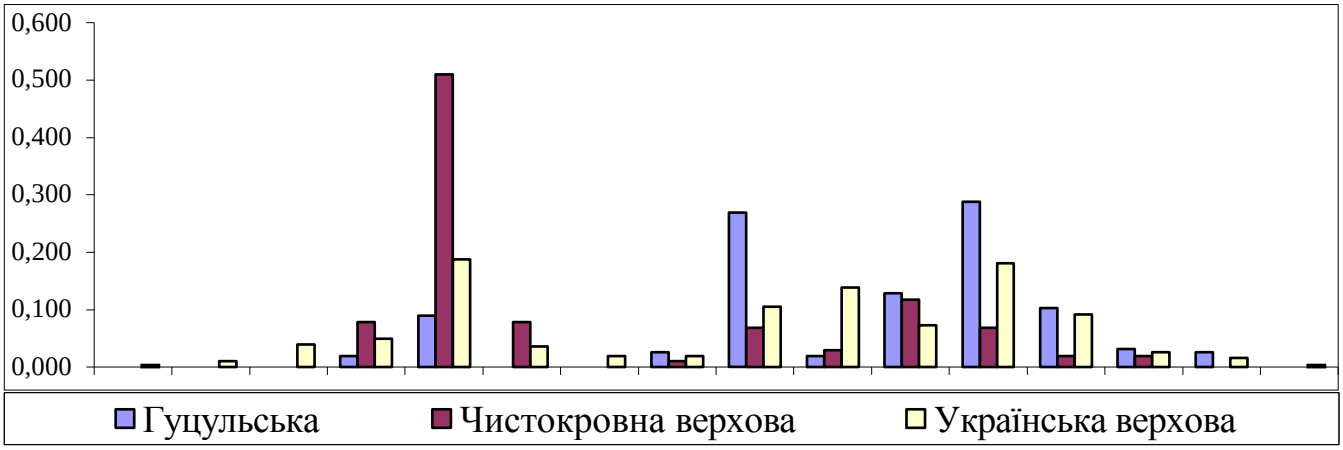


Рис. 4.33 Алельні спектри різних порід коней за локусом HMS03.

Серед коней гуцульської породи найчастіше (0,372) зустрічався алель HMS03^{100}, а найменш часто – HMS03^{82} та HMS03^{102} (0,006). У коней ЧВ породи найбільшою частотою характеризувались алелі HMS03^{90} (0,578) та HMS03^{84} (0,333), середньою частотою (0,049) характеризувався алель HMS03^{100}, а алелелі HMS03^{86}, HMS03^{92}, HMS03^{98} та HMS03^{104} виявляли з найнижчою частото (0,010). УВП – характеризувалась найвищою частотою алелю HMS03^{84} (0,250) і найнижчою – за алелем HMS03^{92} (0,017).

Найширшим алельним сперктром характеризувалась УВП (HMS03^{142}-HMS03^{174}), середнім – ГК (HMS03^{150}- HMS03^{172}) і найвужчим – коні ЧВ породи (HMS03^{150}- HMS03^{170}). При цьому слід відмітити, що у ГУЦ були відсутні алелі HMS03^{154} та HMS03^{156}, а у БЧ – HMS03^{156}. УВП коней характеризувались повним алельним спектром.

Частота окремих алельних варіантів локусу VHL20 достовірно відрізнялась у тварин різних порід (p = 0,0001). При цьому мала місце нерівномірність розподілу різних алелів (рис. 4.34). Так, з 15 алелів відносно високу частоту (0,10-0,15) мали лише 5, а 6 зустрічались з частотою меншою за 0,05.

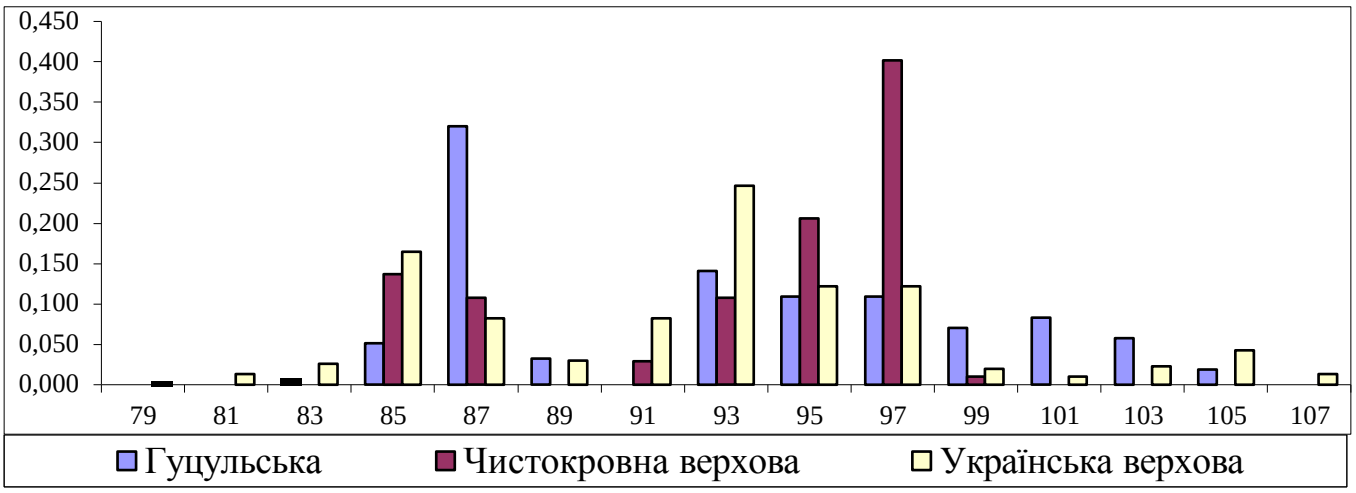


Рис. 4.34 Алельні спектри різних порід коней за локусом VHL20.

Найбільший розмах алельного різноманіття за даним локусом мали тварини УВП (15), середній – ГУЦ (11), і найменший – ЧВ (7). У ГУЦ найчастіше виявляли алель $VHL20^{87}$, у ЧВ – $VHL20^{97}$, а в УВП – $VHL20^{93}$. Слід відмітити, що алелі $VHL20^{79}$, $VHL20^{81}$ та $VHL20^{107}$ визначались лише в УВП, алелі $VHL20^{83}$, $VHL20^{89}$, $VHL20^{101}$, $VHL20^{103}$ та $VHL20^{105}$ – тільки у ГУЦ та УВП, а $VHL20^{91}$ – лише у ЧВ та УВП. Частота окремих алельних варіантів локусу HMS07 достовірно відрізнялась у тварин різних порід (p = 0,001). При цьому спостерігається нерівномірність розподілу різних алелів (рис. 4.35). Так, з 14 алелів відносно високу частоту (0,10-0,15) мали лише 4, а 8 зустрічались з частотою меншою за 0,05.

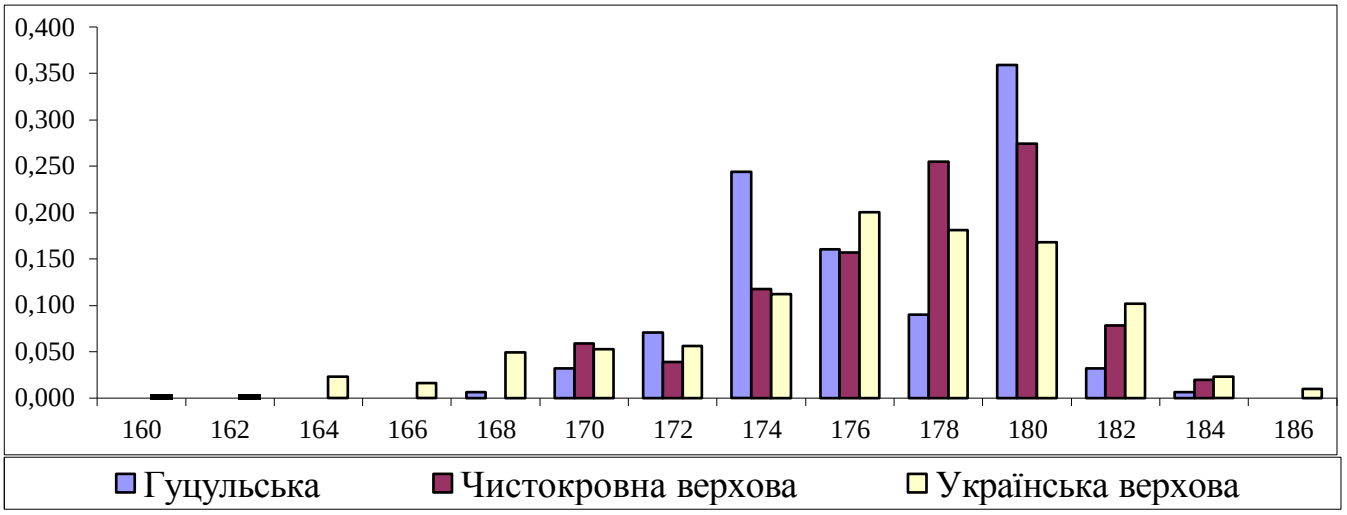


Рис. 4.35 Алельні спектри різних порід коней за локусом HMS07.

Найбільший розмах алельного різноманіття зафіксовано у тварин УВП 14, а у ГУЦ і ЧВ – 9 та 8, відповідно. В популяції ГУЦ переважали алелі $HMS07^{174}$ та $HMS07^{180}$. У ЧВ – $HMS07^{178}$ та $HMS07^{180}$, а в УВП – $HMS07^{176}$, $HMS07^{178}$ та $HMS07^{180}$. Алелі $HMS07^{160}$- $HMS07^{166}$ було виявлено лише в УВП, а $HMS07^{168}$ – у ГУЦ та УВП.

З 11 досліджуваних мікросателітних локусів, в кожному, було зареєстровано породоспецифічні алелі (табл. 4.15). Причому, найбільшу кількість алелів (41 (89%) було відмічено в УВП коней, 3 (6,5%) у популяції ГУЦ і 2 (4,3%) –у ЧВ породи. Такий самий розподіл зберігався і відносно кількості локусів в яких зареєстровано породоспецифічні алелі: найбільшу кількість (11 (100%) виявлено у тварин УВП породи, у ГУЦ – 3 (27,3%), а у ЧВ – 1 (9,1%). Найбільшу кількість породоспецифічних алелів – 8 зареєстровано в УВП за локусом CA425. У популяції ЧВ породоспецифічні алелі (2) вивлено лише за локусом ASB23, а у ГУЦ, по одному за локусами HTG04, HTG06 та HTG07, в УВП один породоспецифічний алельний варіант виявлено лише за локусом ASB23.

Таблиця 4.15

Частота породоспецифічних алелів для різних порід коней

Локус	ГУЦ		ЧВ		УВП	
	алель	Частота	алель	частота	алель	частота
HTG04	139	0,026	-	-	115	0,016
HTG04	-	-	-	-	117	0,043
HTG04	-	-	-	-	123	0,063
HTG04	-	-	-	-	141	0,003
HMS06	-	-	-	-	151	0,010
HMS06	-	-	-	-	153	0,026
HMS06	-	-	-	-	173	0,007
HTG06	102	0,006	-	-	78	0,030
HTG06	-	-	-	-	80	0,063
HTG06	-	-	-	-	106	0,003
ATH04	-	-	-	-	138	0,010
ATH04	-	-	-	-	166	0,010
ATH04	-	-	-	-	168	0,013
ASB23	-	-	124	0,010	142	0,020
ASB23	-	-	126	0,010	-	-
ASB17	-	-	-	-	84	0,003
ASB17	-	-	-	-	116	0,036
ASB17	-	-	-	-	118	0,013
CA425	-	-	-	-	224	0,003
CA425	-	-	-	-	226	0,033
CA425	-	-	-	-	244	0,059
CA425	-	-	-	-	246	0,013
CA425	-	-	-	-	248	0,003
CA425	-	-	-	-	252	0,010
CA425	-	-	-	-	254	0,016
CA425	-	-	-	-	256	0,010

Продовж. табл. 4.15

HTG07	132	0,013	-	-	110	0,003
HTG07	-	-	-	-	112	0,013
HTG07	-	-	-	-	114	0,059
HTG07	-	-	-	-	116	0,033
HMS03	-	-	-	-	142	0,003
HMS03	-	-	-	-	146	0,010
HMS03	-	-	-	-	148	0,039
HMS03	-	-	-	-	156	0,020
HMS03	-	-	-	-	174	0,003
VHL20	-	-	-	-	79	0,003
VHL20	-	-	-	-	81	0,013
VHL20	-	-	-	-	107	0,013
HMS07	-	-	-	-	160	0,003
HMS07		-	-	-	162	0,003
HMS07	-	-	-	-	164	0,023
HMS07	-	-	-	-	166	0,016
В цілому	3	0,015	2	0,01	41	0,019

За використання rarefaction-методу, було виявлено, що кількість алелів (у перерахунку на 50 випадково обраних особин) значно варіює, як для тварин різних порід, так і для різних локусів (табл. 4.16). Найбільший рівень алельного різноманіття відмічено у тварин УВП за локусом ASB17 (15,04), а найнижче – у тварин ЧВ породи за локусом HTG04 (5,00)

Таблиця 4.16

Кількість алелів, в т.ч. породоспецифічних, розрахована, за 11 мікросателітними локусами rarefaction-методом (n=50)

Локус	Порода					
	ГУЦ		ЧВ		УВП	
	Na	Na_{unic}	Na	Na_{unic}	Na	Na_{unic}
HTG04	9,81	0,34	5,00	0,22	12,08	3
HMS06	8,47	0,03	6,96	0,003	11,14	2,56
HTG06	10,13	0,79	6,92	0,04	13,88	2,84
ATH04	10,62	0,20	8,98	0,09	13,76	2,47
ASB23	10,73	0,18	12,92	1,96	13,65	1,02
ASB17	11,98	0,06	8,00	0,002	15,04	2,77
CA425	6,64	0,0003	6,94	0,30	13,37	5,37
HTG07	7,78	0,87	6,98	0,0004	10,10	3,11
HMS03	9,87	0,13	9,98	0,01	13,99	3,27
VHL20	10,59	0,42	6,98	0	13,41	2,32

Продовж. табл. 4.16

HMS07	8,27	0,001	8,00	0,02	12,10	3,52
В середньому	9,54	0,28	7,97	0,24	12,96	2,93

У цілому тварини різних порід досить істотно різнились за кількістю алелів на локус – 9,54 (ГУЦ), 7,97 (ЧВ) та 12,96 (УВП), Кількість породоспецифічних алелів була найвищою у тварин УВП за локусом ASB17 (15,04), а найнижчою (0,00) – у особин ЧВ за локусом VHL20 а за локусами HTG07, ASB17 й HMS06 у ЧВ та локусами HMS07 й CA425 в ГУЦ наближалась до нуля. Середня кількість породоспецифічних алелів була найвищою у тварин УВП 2,93 проти 0,28 у ГУЦ та 0,24 у ЧВ порід. У ГУЦ найбільшу кількість породоспецифічних алелів було зафіксовано за локусом HTG07 (0,87), а найменшу – за CA425 (0,0003) та HMS07 (0,001). У ЧВ найбільше породоспецифічних алелів зафіксовано за локусом ASB23 (1,96), а найменше за VHL20 (0) та за локусами HTG07 (0,0004), ASB17 (0,002) й HMS06 (0,003). В УВП найбільшу кількість породоспецифічних алелів виявлено за локусом CA425 (5,37), а найменшу – за локусом ASB23 (1,02). За полокусного аналізу встановлено, що найбільшу кількість породоспецифічних алелів за всіма локусами виявлено в УВП, анайменшу за переважною більшістю локусів – у ЧВ, за виключенням ASB23, CA425 та HMS07, за якими найменшу кількість унікальних алелів продемонстрували ГУЦ.

Отримані оцінки критерію Хі-квадрат Пірсона (табл. 4.17) вказують на високодостовірні ($p \leq 0,001$) відмінності у розподілі за частотами алелів за всіма дослідженими локусами.

Таблиця 4.17

Ступінь генетичної диференціації між породами коней за розподілом частот алелів мікросателітних локусів ДНК

Локус	df	χ^2	p
HTG04	28	235,29	0,0001
HMS06	22	103,59	0,0001
HTG06	30	333,98	0,0001
ATH04	28	80,126	0,0001
ASB23	30	111,2	0,0001
ASB17	30	159,01	0,0001
CA425	30	119,47	0,0001

Продовж. табл. 4.17

HTG07	22	55,89	0,0001
HMS03	30	163,81	0,0001
VHL20	28	183,14	0,0001
HMS07	26	75,96	0,001

На рис. 4.34 наведено одержані в результаті оцінки алельного різноманіття для кожного з використаних в аналізі локусів (у розрізі окремих порід), в порівнянні з моделлю нескінченої кількості алелів (IAM) та покроковою мутаційною моделлю (SMM). Для всіх досліджених порід модель SMM виявилась більш адекватною для апроксимації рівня алельного різноманіття, ніж модель IAM (рис. 4.36). Хоча, для виду вцілому обидві використані моделі достовірно відрізнялись від фактичної кількості виявлених алельних варіантів SMM (χ^2_{11} (p<0,01) = 25,83) IAM (χ^2_{11} (p<0,0001) = 140,60).

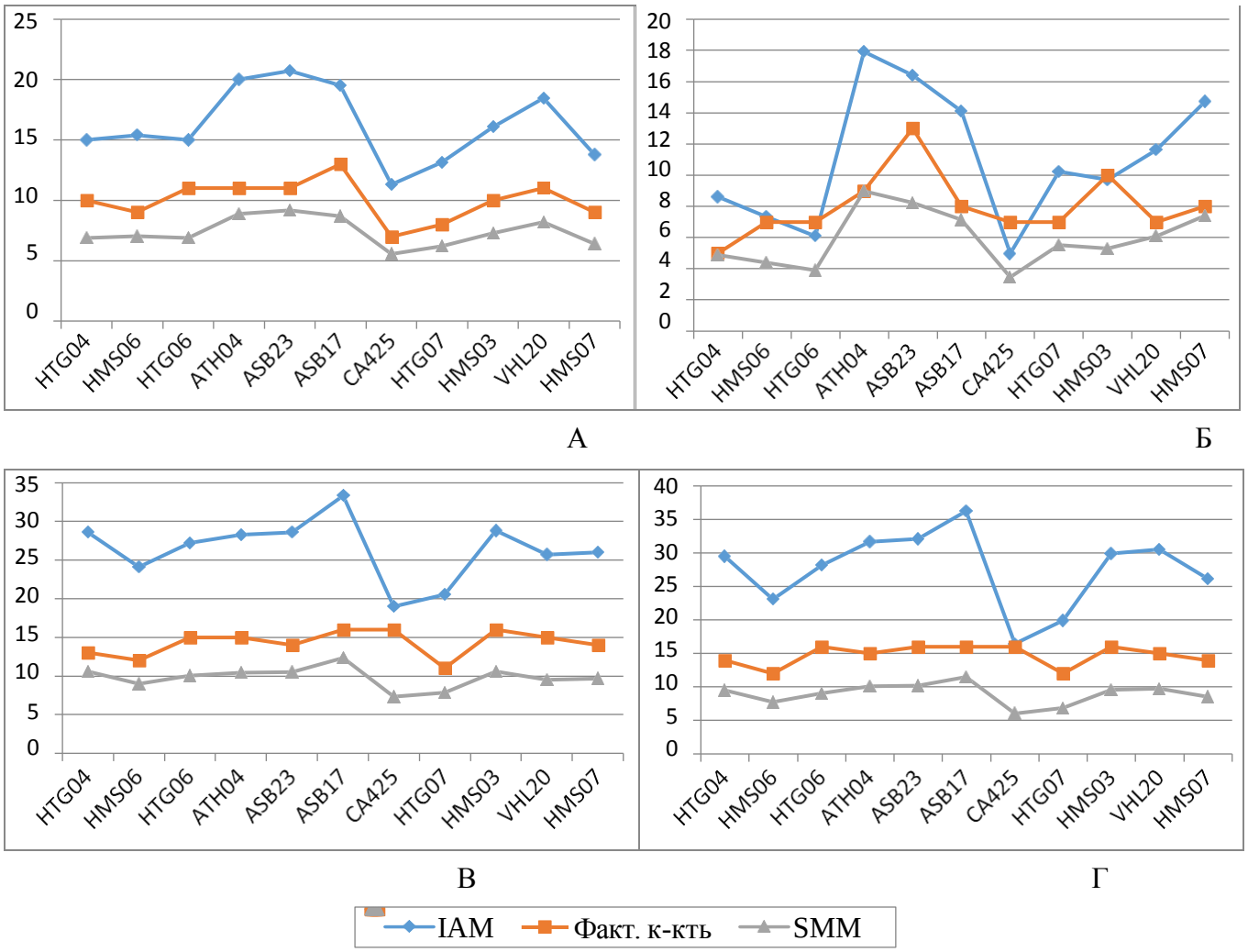


Рис. 4.36 Кількість виявлених алелів за мікросателітними локусами ДНК (ГУЦ (А), ЧВ (Б), УВП (В) та загальна для виду (Г).

Хоча чистокровна верхова порода є єдиною з досліджених, в якій за локусами HTG06 та CA425 значення одержані за допомогою моделі IAM виявились нижчими, а за локусами HMS06 та HMS03 дорівнювали фактичним значенням, відхилення не перевищувало 1,0 (0,6). В цілому, у цієї породи модель SMM була більш адекватною для апроксимації рівня алельного різноманіття за мікросателітними локусами ДНК, ніж модель IAM (χ^2_{11} (p<0,01) = 27,87).

Для особин ЧВ графічна модель одержана за допомогою SMM, за тенденціями, практично повністю співпадала з фактичною кількістю виявлених алелів, але була дещо заниженою *(до 5 пунктів)*. Дана модель в цієї породи була більш адекватною для апроксимації рівня алельного різноманіття за мікросателітними локусами ДНК, ніж модель IAM (χ^2_{11} (p<0,0001) = 123,49).

Для УВП породи профілі обох використаних математичних моделей SMM та IAM практично повністю (за виключенням локусів HTG06, HMS06 та ASB17) співпадали з фактичною кількістю виявлених алелів, але SMM була дещо заниженою *(до 3 пунктів)*, а IAM – завищеною *(до 10 пунктів)*. Модель SMM в цієї породи була більш адекватною для апроксимації рівня алельного різноманіття за мікросателітними локусами ДНК, ніж модель IAM (χ^2_{11} (p<0,0001) = 45).

Отже, модель IAM значно завищує фактичні величини, а SMM –занижує, як в цілому (рис 4.35) так і по породах ЧВ та УВП. По ГУЦ породі обидві моделі занижують значення за 2 локусами (HTG06 та CA425) і за 2 локусами дані одержані при розрахунках моделей IAM (HMS06 та HMS03) та за одним – SMM (ATH04) дорівнювали фактичним.

Генотиповий поліморфізм різних порід свійських коней за мікросателітними локусами ДНК. За локусом HTG04 було виявлено 48 (17,08%) різних генотипових варіантів, по 25 (52,08%, 32,05%, 8,90%) у тварин ГУЦ, 9 (18,75%, 17,65%, 3,20%) у ЧВ та 46 (95,83%, 30,26%, 16,37%) в УВП. Деякі з них були широко представлені серед досліджуваних тварин – генотипи $HTG04^{127/131}$ (відмічено у 27 особин (9,61%), $HTG04^{131/131}$ (23 особин (8,19%), $HTG04^{125/129}$ (20 особин (7,12). У тварин ГУЦ найчастіше зустрічався генотип $HTG04^{129/131}$ (у 14 особин (17,95%, 4,98%), у ЧВ – $HTG04^{127/131}$ (у 18 особин (35,29%, 6,41%), а в УВП – генотип $HTG04^{125/129}$ (18 особин (11,84%, 6,41%) (рис. 4.37).

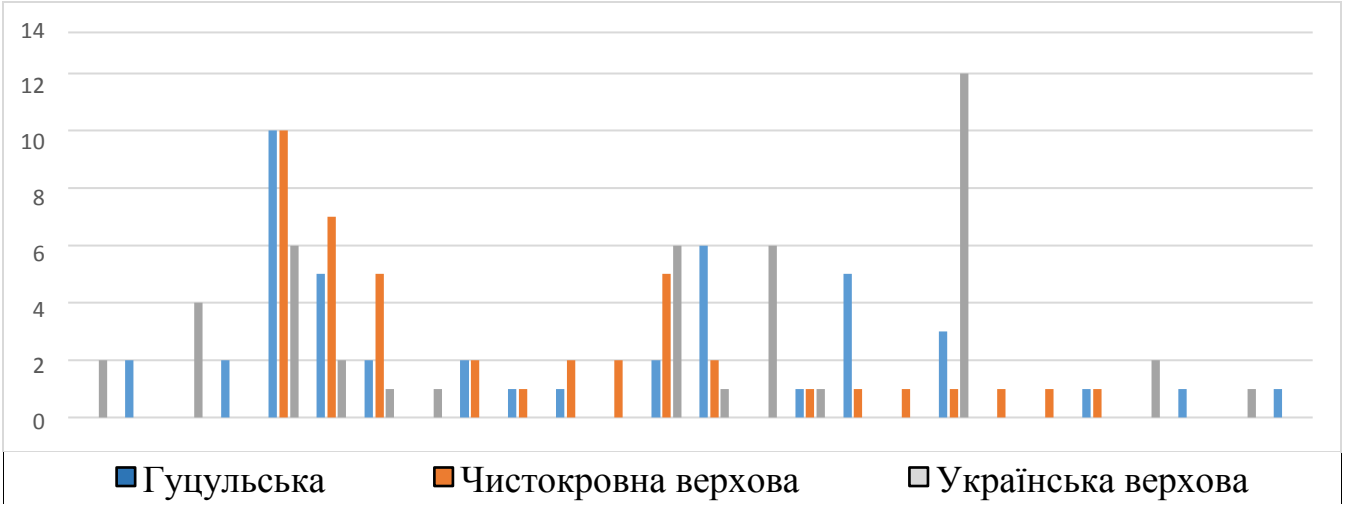


Рис.4.37 Генотипові спектри різних порід коней за локусом HTG04.

За локусом HMS06 (рис. 4.38) було виявлено 44 (15,66%) різні генотипові варіанти, у ГУЦ – 24 (54,55%, 30,77%, 8,54%), ВЧ – 10 (22,73%, 19,61%, 3,56%) та 40 (90,91%, 26,32%, 14,24%) в УВП коней.

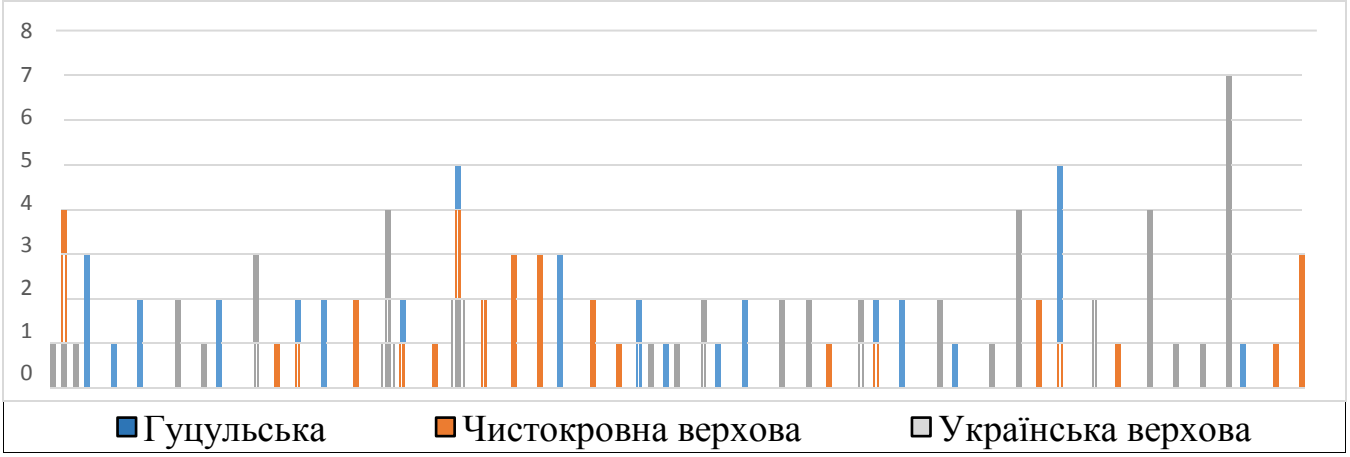


Рис. 4.38 Генотипові спектри різних порід коней за локусом HMS06.

Найпоширенішим серед досліджуваних тварин був генотип $HMS06^{163/169}$ (відмічений у 40 особин (14,24%). Він же найчастіше зустрічався у ГУЦ (у 17 особин (21,80%, 6,05%), у коней ЧВ породи найчастіше виявлявся генотип $HMS06^{169/169}$ (у 16 особин (31,37%, 5,69%), а в УВП коней – генотип $HMS06^{159/169}$ (19 особин (12,5%, 6,76%).

За локусом HTG06 було виявлено 64 (22,78%) різні генотипові варіанти, у ГУЦ – 24 (37,5%, 30,77%, 8,54%), ЧВ – 8 (12,5%, 15,39%, 2,85%) та 52 (81,25%, 34,21%, 18,51%) в УВП (рис. 4.39).

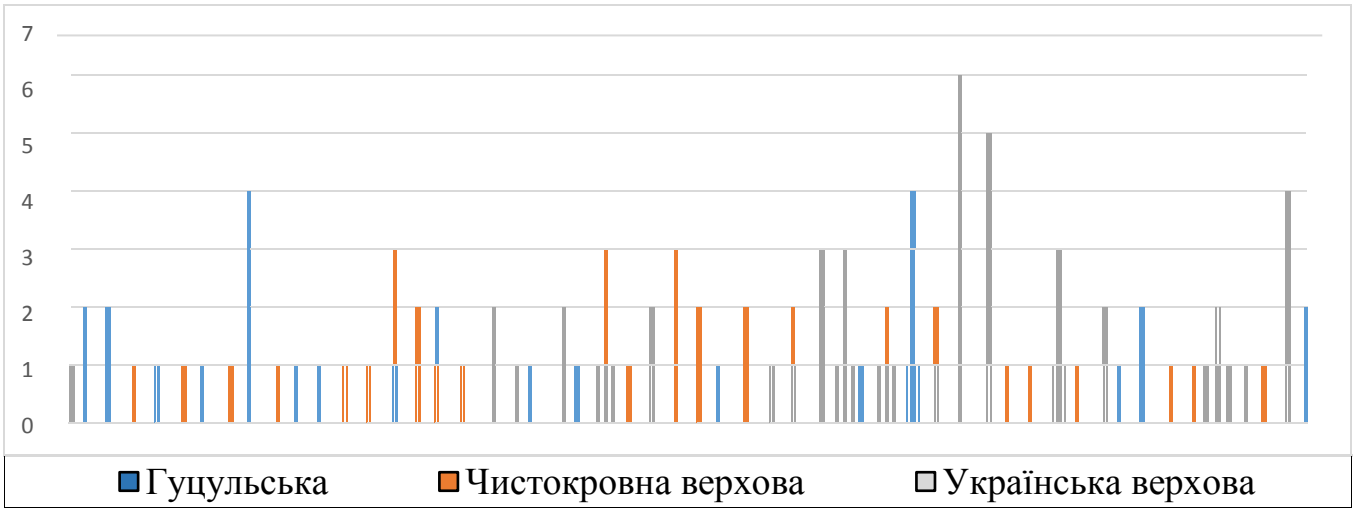


Рис. 4.39 Генотипові спектри різних порід коней за локусом HTG06.

Найпоширенішим серед досліджуваних тварин був генотип 84/90 (відмічено у 44 особин (15,66%). Він же був наймасовішим у ЧВ (23 особини (45,1%, 8,19%) та УВП (19 особин (12,5%, 6,76%). У ГУЦ найчастіше зустрічався генотип – $HTG06^{100/100}$ (у 12 особин (15,39%, 4,27%).

За локусом АНТ04 було виявлено 63 (22,42%) різних генотипових варіанти, по 29 (46,03%, 37,18%, 10,32%) у ГК, 21 (33,33%, 40,39%, 7,47%) у ЧВ та 53 (84,13%, 34,87%, 18,86%) в УВП (рис. 4.40). Найпоширенішими серед досліджуваних тварин були генотипи $АНТ04^{146/160}$ (відмічений у 30 особин (10,68%). Цей же генотип був наймасовішим у ГУЦ (10 особин (12,82%, 3,56%), УВП (13 особин (8,55%, 4,62%) та одним з найпоширеніших у ЧВ (7 особин (13,73%, 2,49%), але найпоширенішим у ЧВ був генотип $АНТ04^{150/160}$ (8 ососбин (15,69%, 2,85%).

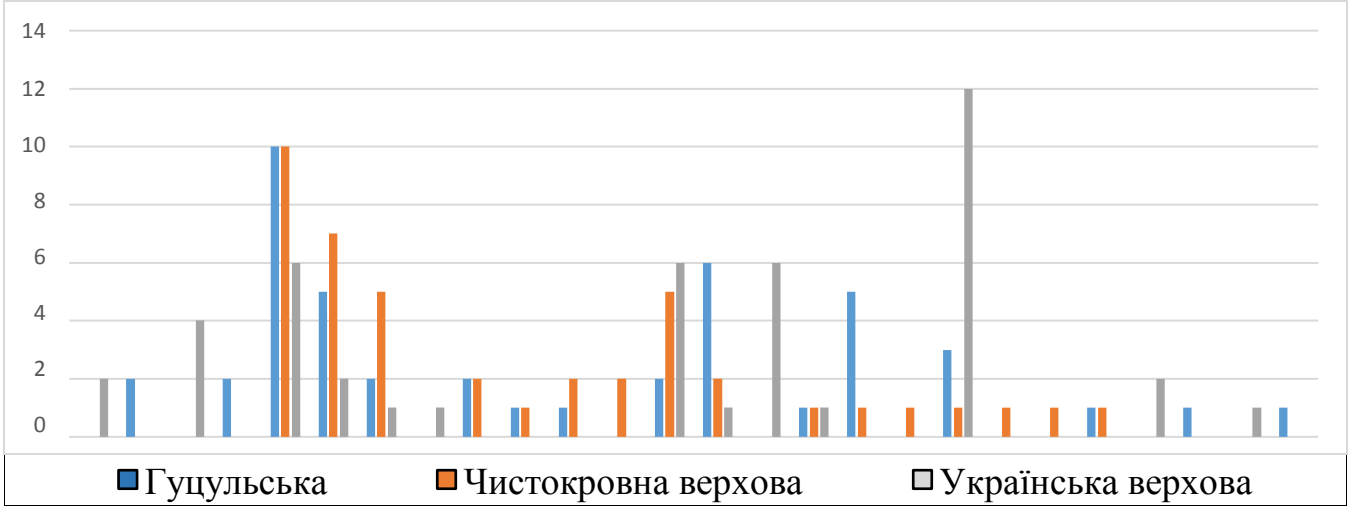


Рис. 4.40 Генотипові спектри різних порід коней за локусом АНТ04.

За локусом ASB23 було виявлено 72 (25,62%) різних генотипових варіанти, по 34 (47,22%, 43,59%, 12,10%) у тварин ГУЦ, 23 (31,95%, 45,1%, 8,19%) у ЧВ та 58 (80,56%, 38,16%, 20,64%) в УВП коней (рис. 4.41).

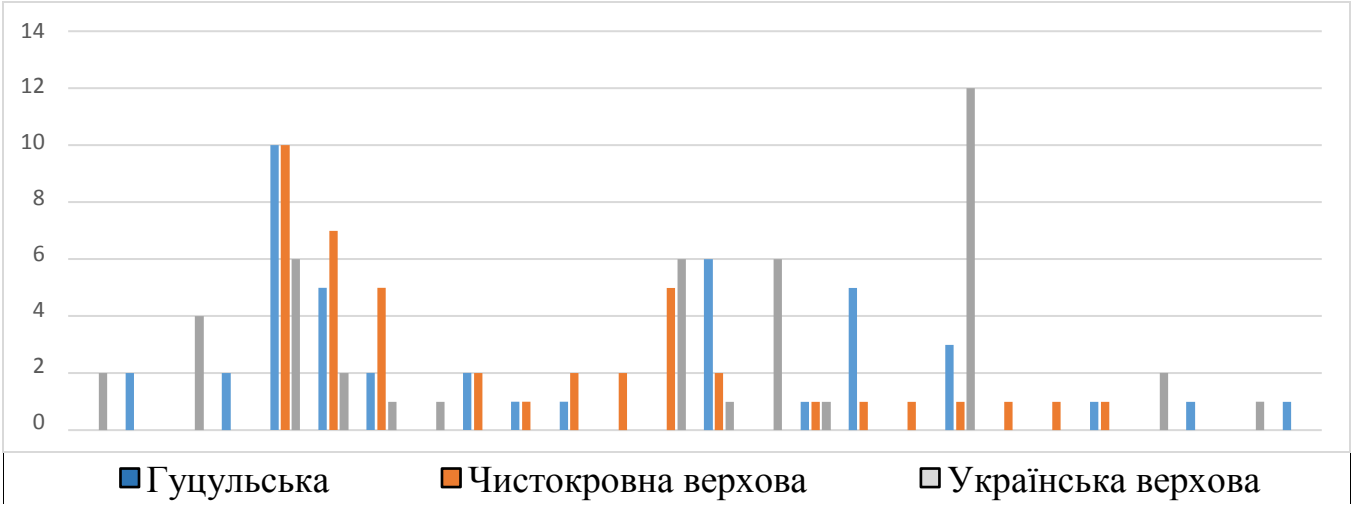


Рис. 4.41 Генотипові спектри різних порід коней за локусом ASB23.

Найпоширенішим серед досліджуваних тварин був генотип $ASB23^{130/132}$ (відмічений у 21 особини (7,47%). Цей же генотип був найпоширенішим в УВП коней (відмічений у 13 особин (8,55%, 4,64%). У ГУЦ найпоширенішим був генотип $ASB23^{132/148}$ (відмічений у 8 особини (10,26%, 2,85%), а ЧВ – $ASB23^{132/134}$ (відмічений у 9 особини (17,65%, 3,2%).

За локусом ASB17 було виявлено 76 (27,05%) різних генотипових варіантів (рис. 4.40), у ГУЦ – 34 (44,74%, 43,59%, 12,1%), у ЧВ – 18 (23,68%, 35,29%, 6,41%), і 66 (86,84%, 43,42%, 23,49%) в УВП коней. Найпоширенішими серед досліджуваних тварин був генотип $ASB17^{106/114}$ (відмічений у 16 особин (5,69%). У ГУЦ – $ASB17^{104/114}$ (відмічений у 13 особин (16,67%, 4,63%), у ЧВ – $ASB17^{106/106}$ (відмічений у 7 особин (13,73%, 2,49%) й в УВП – генотипи $ASB17^{104/110}$, $ASB17^{104/112}$ та $ASB17^{106/116}$ (відмічені у 7 особин (4,61%, 2,49%), кожен) (рис. 4.42).

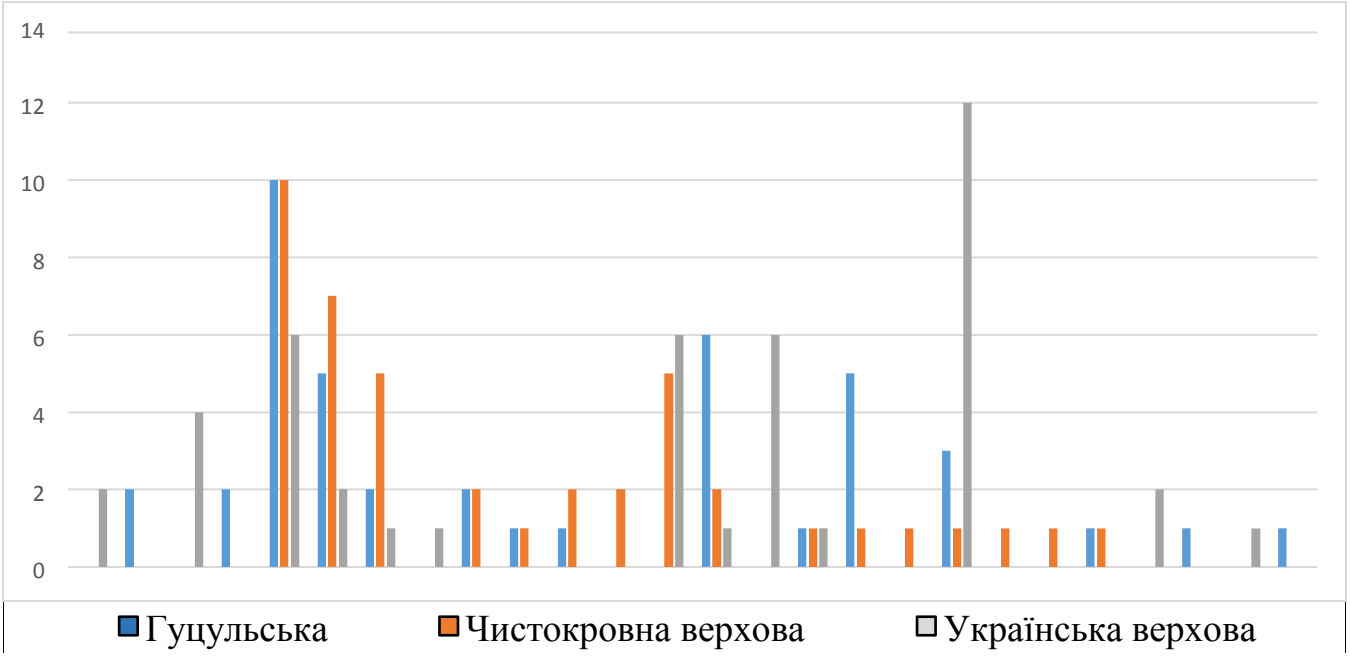


Рис. 4.42 Генотипові спектри різних порід коней за локусом ASB17.

За локусом CA425 було виявлено 48 (17,08%) різних генотипових варіантів (рис. 4.43), у ГУЦ – 17 (35,42%, 6,05%), ЧВ – 10 (20,83%, 3,56%) та 43 (89,58%, 15,3%) в УВП. Найпоширенішим серед досліджуваних тварин

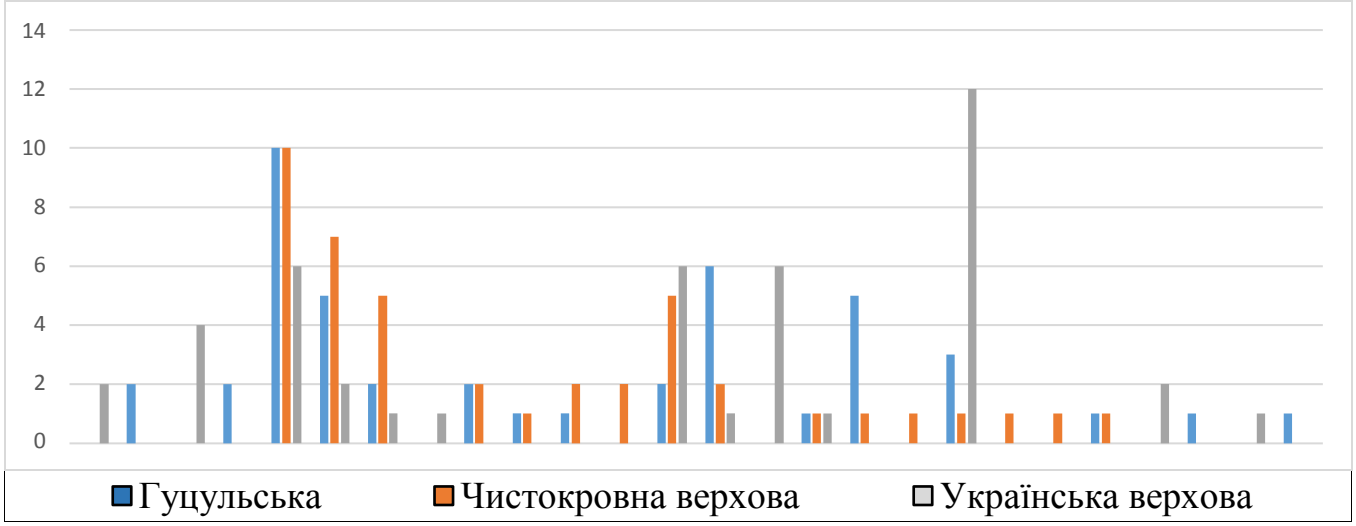


Рис. 4.43 Генотипові спектри різних порід коней за локусом CA425.

був генотип $CA425^{240/240}$ (відмічений у 75 особин (26,7%). Цей же генотип був найпоширенішим в усіх досліджуваних породах коней. У ГУУЦ – 17 особин (21,8%, 6,05%), а у ЧВ та УВП – по 29 особин (56,86%, 10,32% та 19,08%, 10,32%, відповідно).

За локусом HTG07 було виявлено 41 різний генотиповий варіант, у ГУЦ – 17 (41,46%, 6,05%), у ЧВ – 16 (39,02%, 5,69%), а в УВП – 37 (80,44%, 13,17%). Найпоширенішими серед досліджуваних тварин були генотипи $HTG07^{128/128}$ (рис. 4.44)

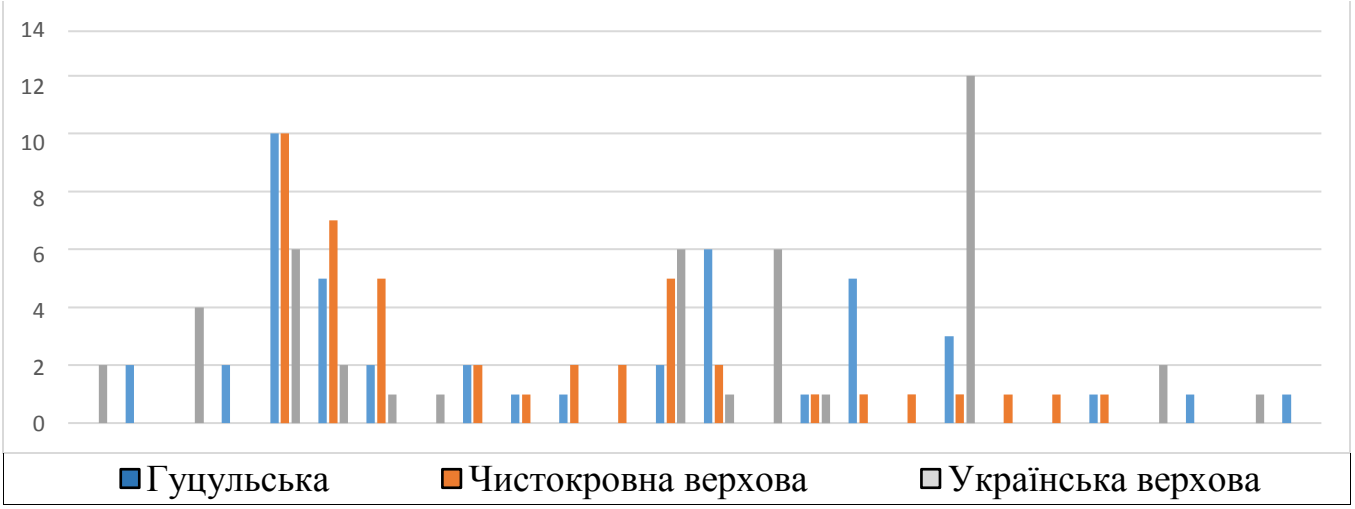


Рис. 4.44 Генотипові спектри різних порід коней за локусом HTG07.

(відмічений у 46 особин (16,37%) та HTG07$^{126/128}$ (43 особини (15,30%). Ці ж генотипи мали найбільше поширення в кожній з досліджуваних порід, у ГУЦ – 14 (17,95% 4,98%) та 13 (16,67%, 4,63%) особин, у ЧВ – по 11 (21,57%, 3,91%), а в УВП по 21 (13,82%, 7,47%) та 19 (12,5%, 6,76%), відповідно.

За локусом HMS03 було виявлено 67 (23,84%) генотипових варіантів (рис. 4.43), у ГУЦ – 30 (44,78%, 38,46%, 10,68%), у тварин ЧВ породи – 17 (25,37%, 33,33%, 6,05%) та 58 (86,57%, 38,16%, 20,29%) в УВП (рис. 4.45).

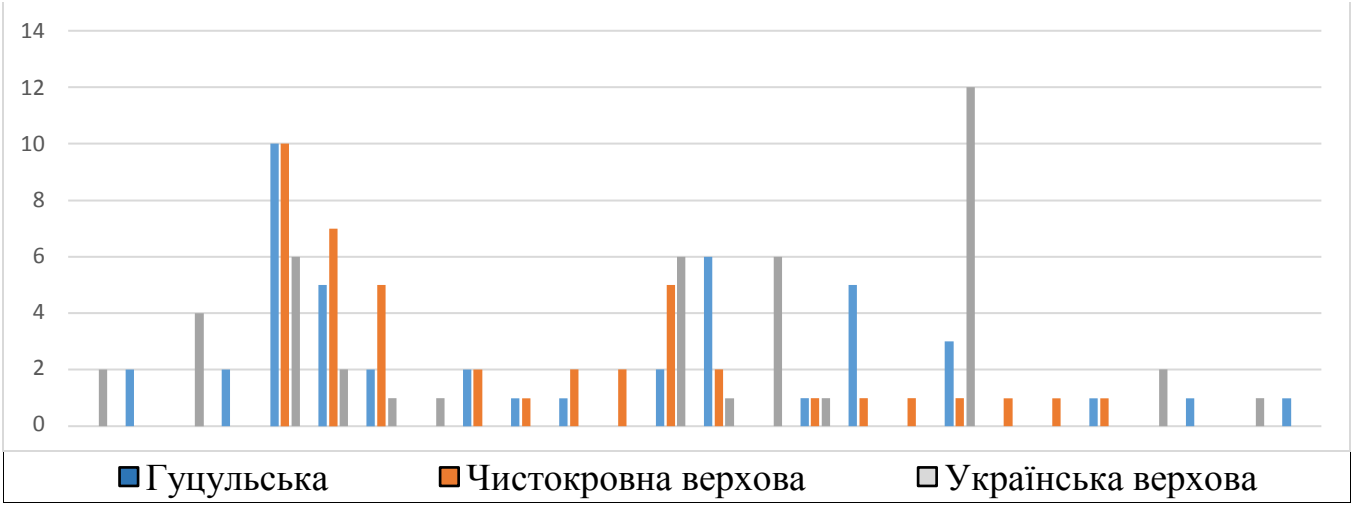


Рис. 4.45 Генотипові спектри різних порід коней за локусом HMS03.

Найпоширенішим серед досліджуваних тварин був генотип HMS03$^{152/152}$ (відмічений у 25 особин (8,9%). Він же переважав У ЧВ коней – 16 особин (31,37%, 5,69%). У ГУЦ найпоширенішим (13 голів (16,67%, 4,63%) був алель 160/166, а серед тварин УВП найбільшого поширення (14 особин (9,21%, 4,98%) набув алель HMS03$^{152/166}$.

За локусом VHL20 було виявлено 62 (22,06%) генотипових варіанти, по 32 (51,61%, 11,39%) у ГУЦ, 17 (27,42%, 6,05%) у ЧВ та 46 (74,19%, 16,37%) в УВП. Найпоширенішими серед досліджуваних тварин був генотип VHL20$^{85/97}$ (відмічений у 19 особини (6,76%). У ГУЦ найбільш поширеними були алелі VHL20$^{87/93}$, VHL20$^{87/95}$ та VHL20$^{87/97}$ особин (відмічені у 7 особини (2,49%), кожен) у ЧВ коней найпоширенішим був алель VHL20$^{95/97}$ (відмічений у 11 особини (3,92%), а в УВП – VHL20$^{85/93}$ (відмічений у 14 особини (4,98%) (рис. 4.46).

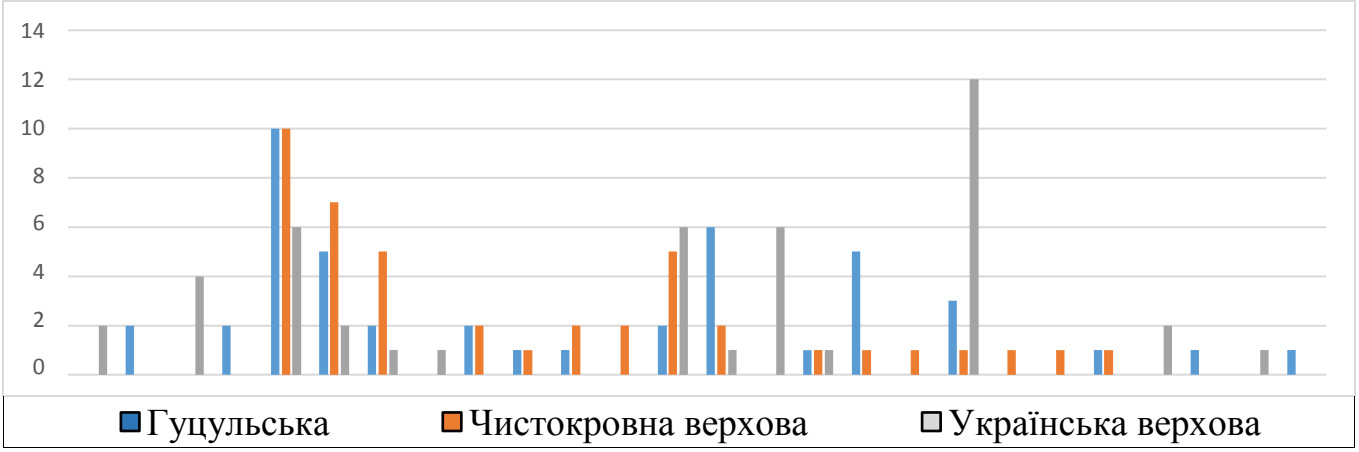


Рис. 4.46 Генотипові спектри різних порід коней за локусом VHL20.

За локусом HMS07 було виявлено 58 різних генотипових варіантів, по 20 (34,48%, 7,12%) у ГУЦ та ЧВ коней та 54 (93,1%, 19,22%) в УВП. Найпоширенішими серед досліджуваних тварин був генотип HMS07$^{176/180}$ (рис. 4.47)

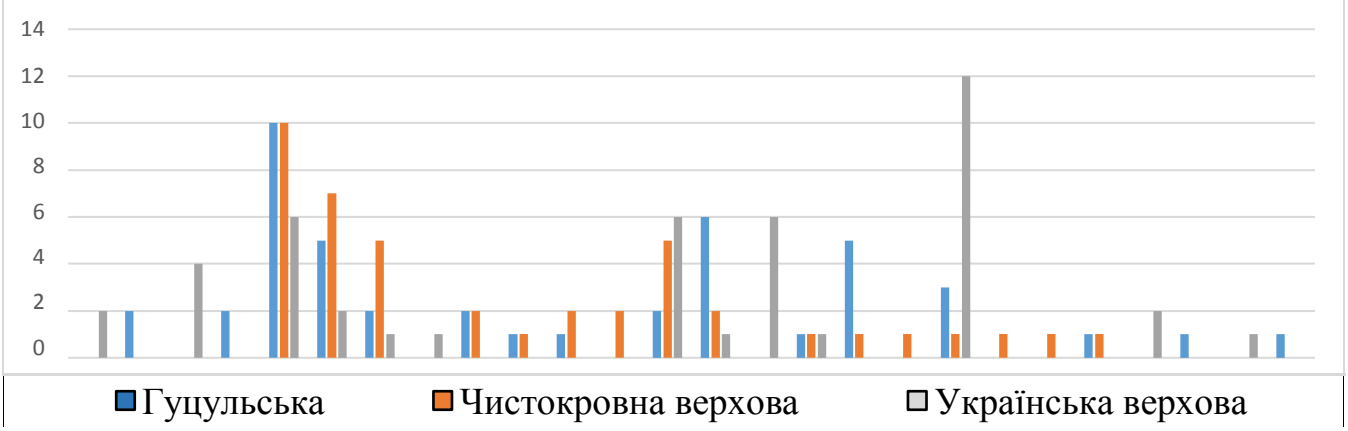


Рис. 4.47 Генотипові спектри різних порід коней за локусом HMS07.

(відмічено у 33 особини (11,74%). Він же переважав і в популяції УВП коней (15 особин (9,87% 5,34%), у ГУЦ найпоширенішим був алель HMS07$^{180/180}$ (15 особин (19,23%, 5,34%), а у ЧВ – HMS07$^{178/180}$ (10 особин (19,61%, 3,56%) (табл. 4.17).

Таблиця 4.17

Кількість виявлених генотипів (Ng) у різних порід коней

Локус	По породі			По виду	По виду, в середньому
	ГУЦ	ЧВ	УВП		
HTG04	25	9	46	48	26,67
HMS06	24	10	40	44	29,50
HTG06	24	8	52	64	37,00
AHT04	29	21	50	62	29,25
ASB23	34	23	51	67	43,75
ASB17	34	18	51	71	43,50
CA425	17	10	43	48	29,50
HTG07	17	16	37	41	27,75
HMS03	30	17	57	66	42,50
VHL20	32	17	46	62	39,25
HMS07	20	20	54	58	31,33
Середнє	26	15,4	43,8	57,4	34,545

Одержані оцінки генотипового різноманіття різних порід коней характеризувались високим рівнем диференціації порід, за високої достовірності за десятьма мікросателітними локусами з одинадцяти за дев’ятьма з них достовірність відмінностей була максимальною (p<0,001), за HMS07 – дещо нижчою (p<0,05). А за локусом HTG07 відмінності в частотах виявлених генотипів були не достовірними (p=0,098) (табл. 4.18)

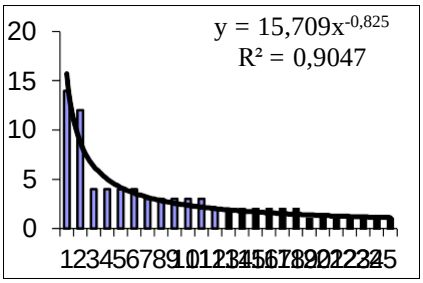
Таблиця 4.18

Диференціація порід коней за розподілом частот генотипів мікросателітних локусів ДНК

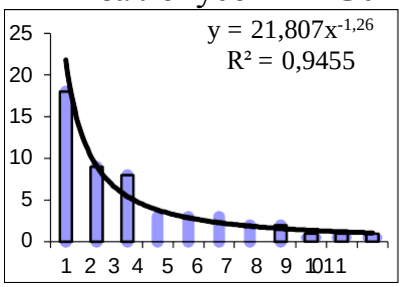
Локус	*df*	χ^2	*p*
HTG04	120	256,69	0,0001
HMS06	86	147,44	0,0001
HTG06	126	302,05	0,0001
ATH04	122	185,3	0,0001
ASB23	134	195,32	0,0001
ASB17	103	173,52	0,0001
CA425	94	168,12	0,0001
HTG07	80	94,292	0,0979
HMS03	113	89,5	0,0001
VHL20	122	225,59	0,0001
HMS07	114	140,94	0,0147

З метою оцінки генетичного різноманіття було здійснено аналіз характеру розподілу частот генотипів за всіма дослідженими мікросателітними локусами ДНК. Дані одержані в результаті проведеної роботи наведено на рис. 4.48.

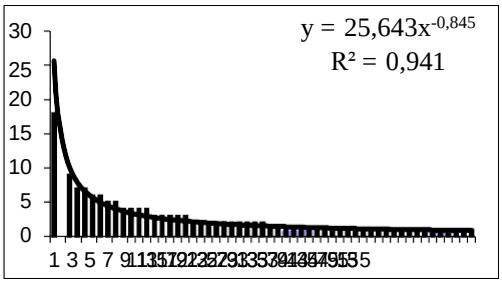
за локусом HTG04



ГУЦ

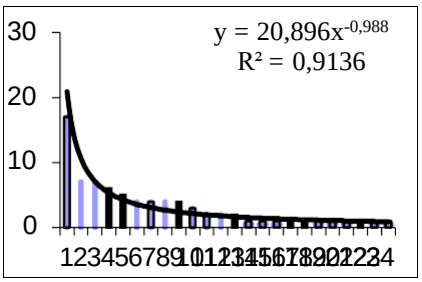


ЧВ

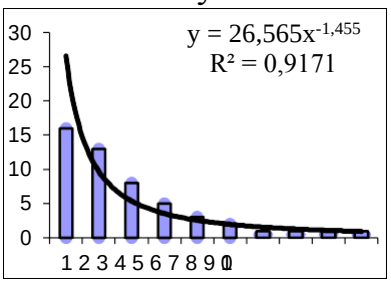


УВП

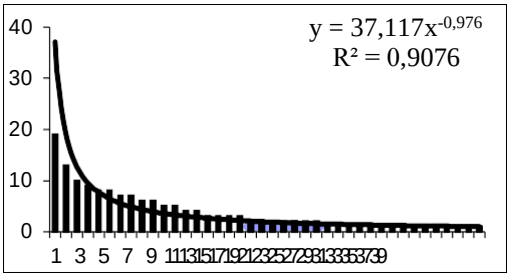
за локусом HMS06



ГУЦ

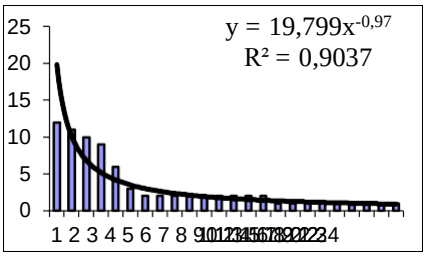


ЧВ

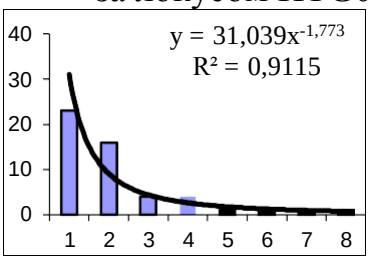


УВП

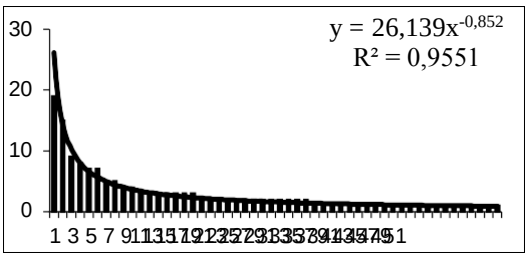
за локусом HTG06



ГУЦ

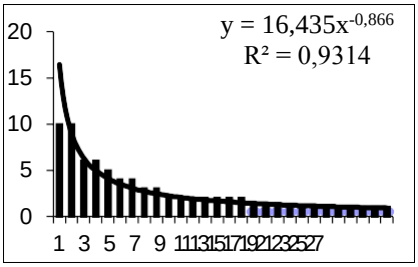


ЧВ

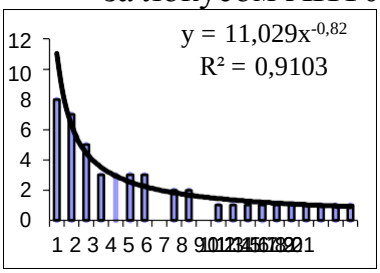


УВП

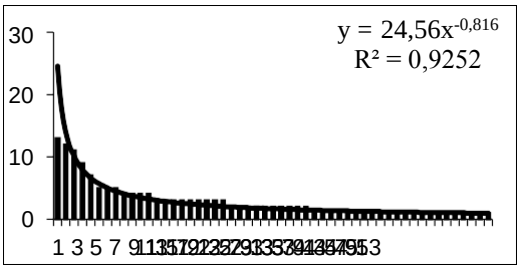
за локусом AHT04



ГУЦ

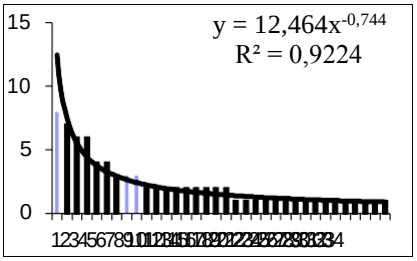


ЧВ

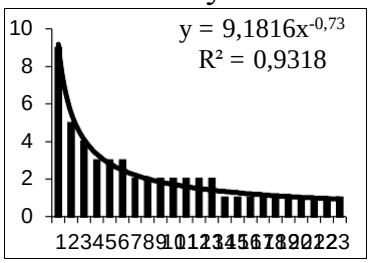


УВП

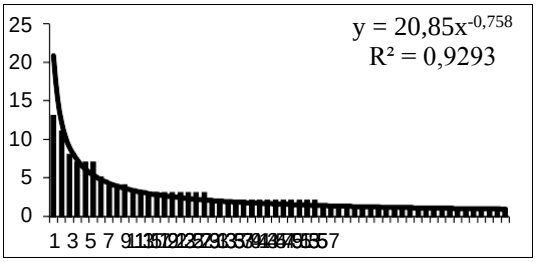
за локусом ASB23



ГУЦ

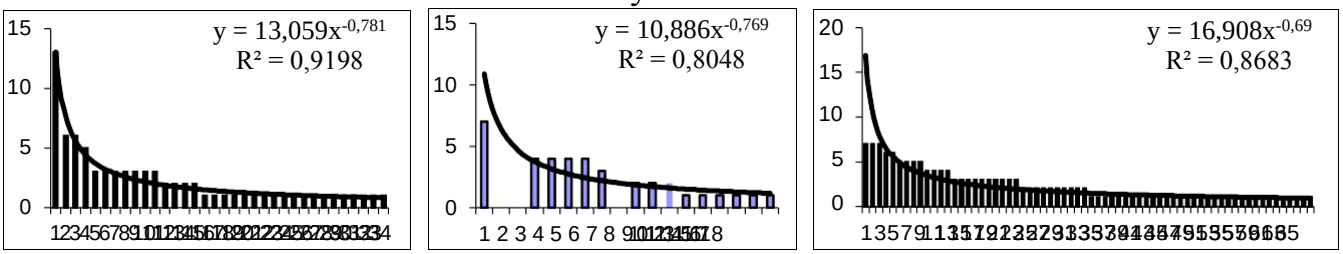


ЧВ



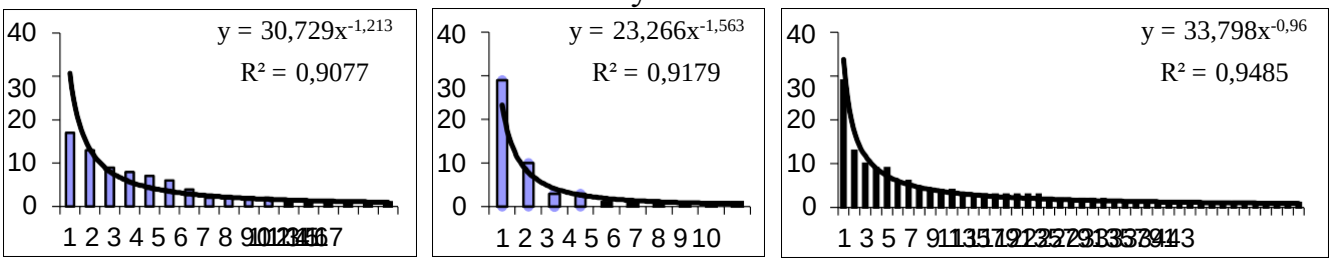
УВП

за локусом ASB17



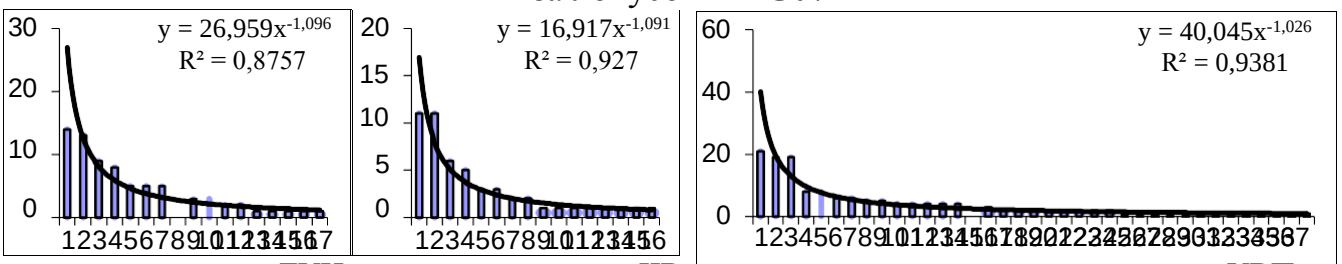
ГУЦ ЧВ УВП

за локусом CA425



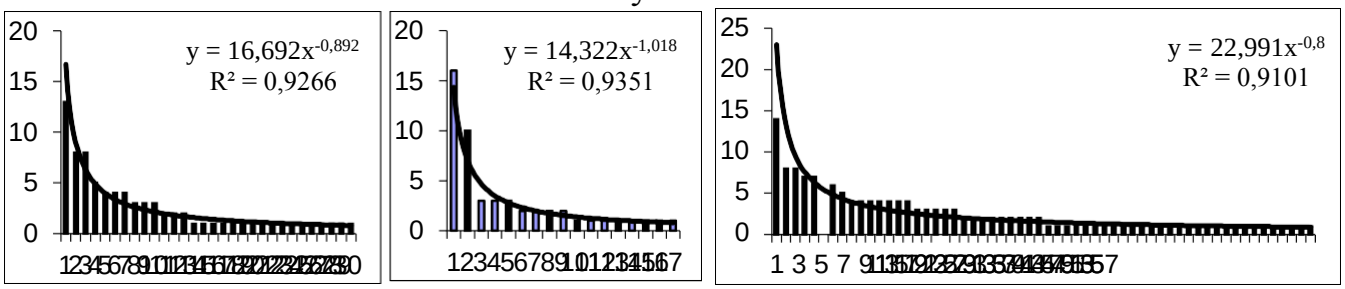
ГУЦ ЧВ УВП

за локусом HTG07



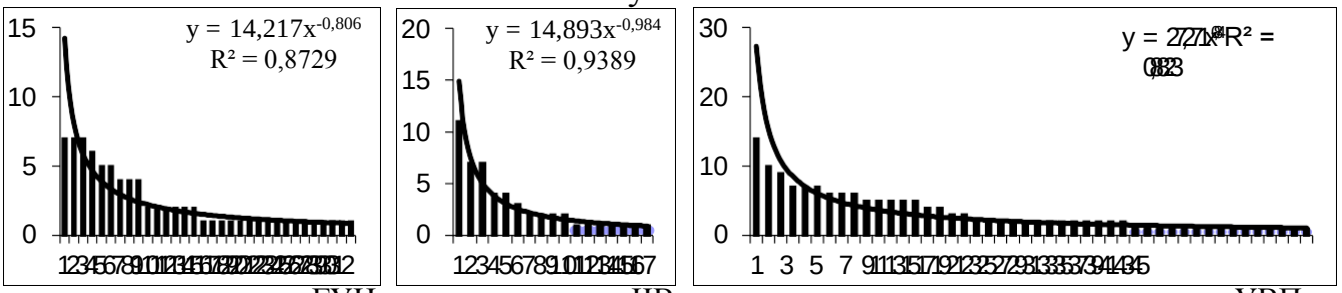
ГУЦ ЧВ УВП

за локусом HMS03



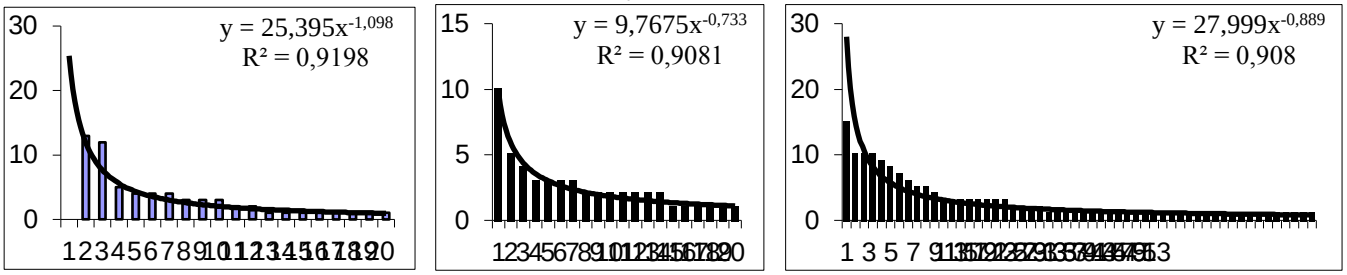
ГУЦ ЧВ УВП

за локусом VHL20



ГУЦ ЧВ УВП

за локусом HMS07



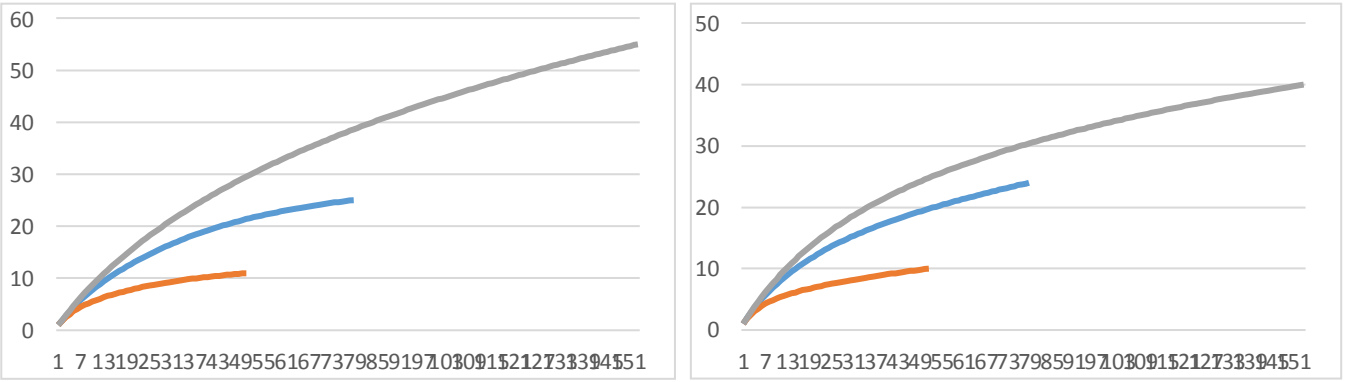
ГУЦ ЧВ УВП

Рис. 4.48 Розподіл генотипів у дослідженого поголів'я коней за 11-ма локусами мікросателітної ДНК (у – апроксимуюча модель (обрана ступінева функція) і ступінь її адекватності; R^2 – коефіцієнт детермінації).

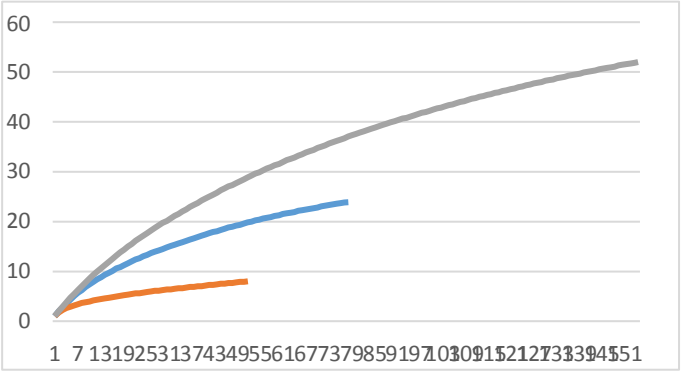
Аналізу наведених діаграм дає можливість стверджувати, що найбільший рівень поліморфізму за характером розподілу частот виявлених генотипів зафіксовано у породи УВП, середній – в ГУЦ і найнижчий у коней породи ЧВ. свідченням чого є наведені на рис. 4.46 значення апроксимуючої моделі (обраної ступіневої функції) і ступінь її адекватності та коефіцієнту детермінації.

Найвищим рівнем генотипового різноманіття характеризується локус HMS07 – для нього кількість зареєстрованих генотипів може сягати 200 та більше. Найнижчим рівнем генотипової мінливості (кількість виявлених генотипів може не перевищувати 8) характеризувався локус HTG06, але у особин УВП за локусом ASB17 кількість зареєстрованих генотипів може падати до нуля. Для решти локусів характерною буде середня кількість зареєстрованих алелів (до 42).

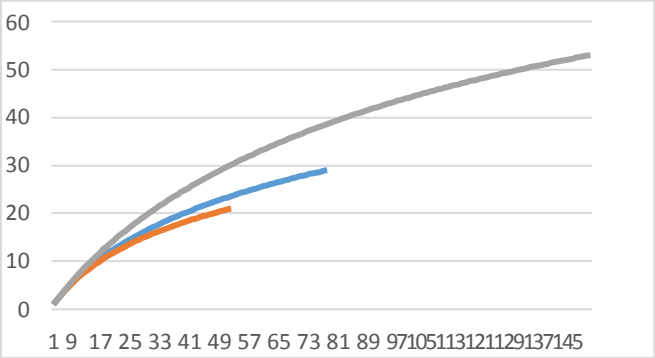
Для оцінки генотипового різноманіття свійських коней було, крім іншого, використано параметричний метод *rarefaction-curves.* В результаті аналізу одержаних даних (рис. 4.49) з'ясовано, що тварини різних порід демонструють індивідуальний і для кожного локусу відмінний характер розподілу частот генотипів.



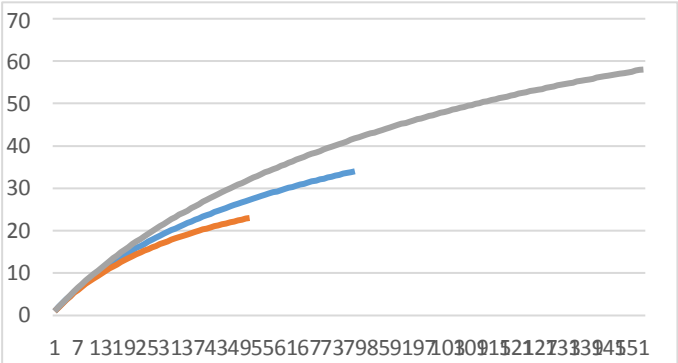
HTG04 HMS06



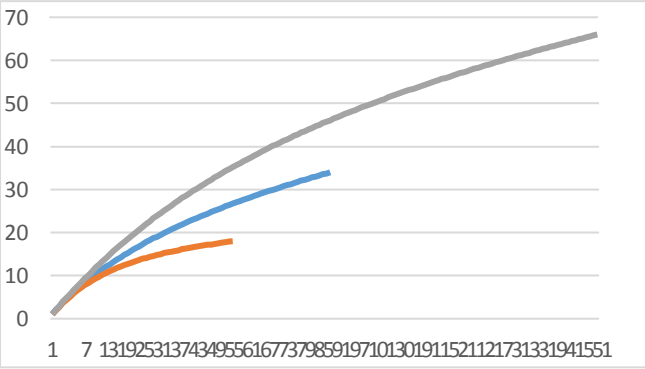
HTG06



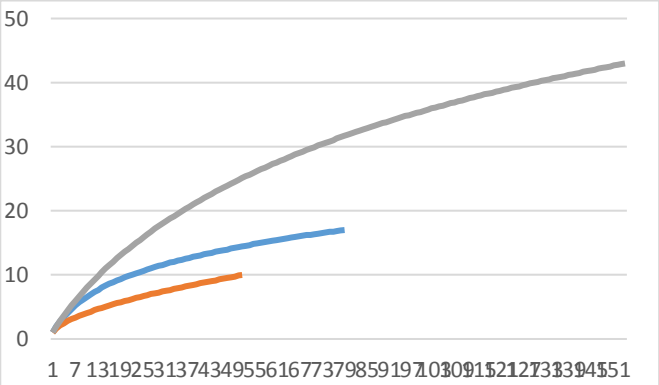
AHT04



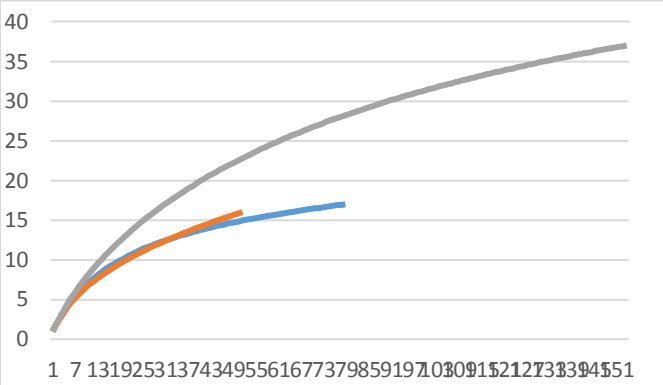
ASB23



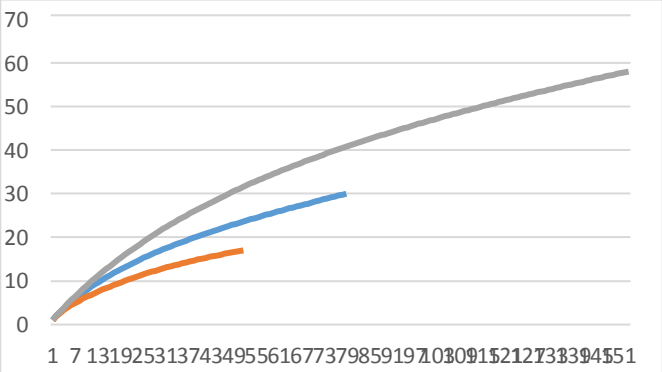
ASB17



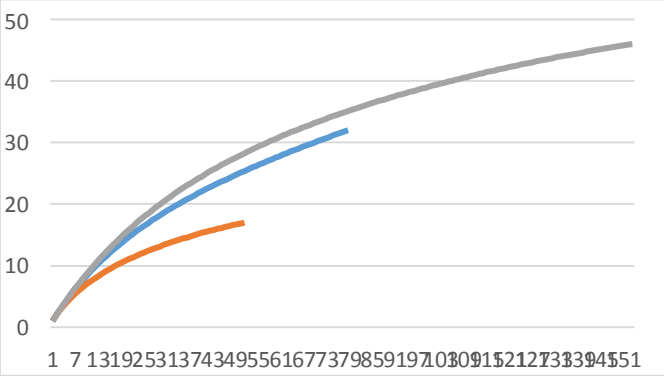
CA425



HTG07



HMS03



VHL20

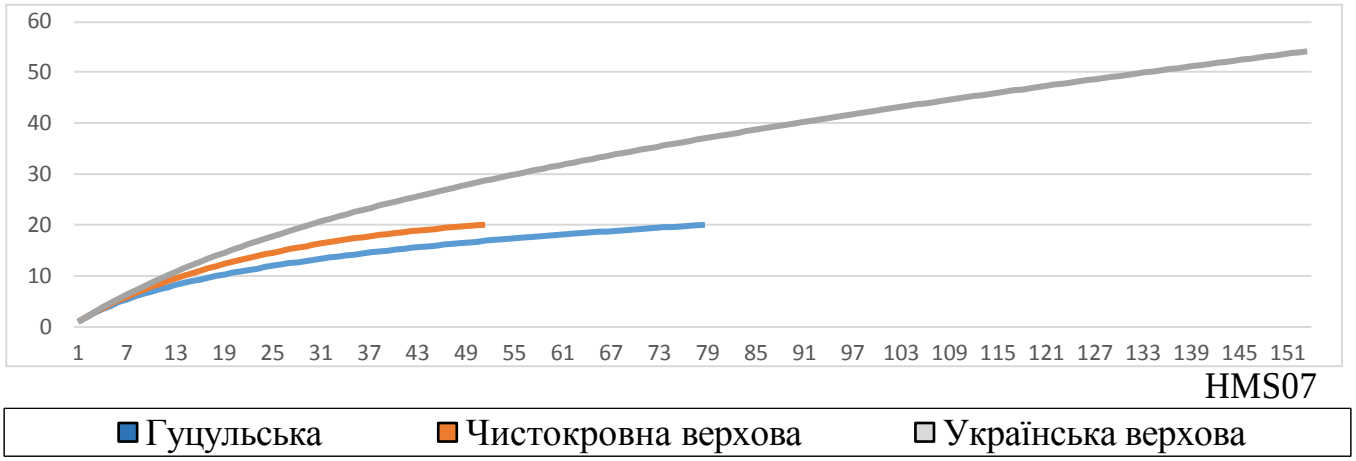


Рис. 4.49 Розподіл генотипів у дослідженого поголів'я коней по 11 локусам мікросателітної ДНК (rarefaction-curves).

За локусом HTG04 23 різноманітні генотипові варіанти (47,92% від кількості визначених генотипів, 8,19% від загальної чисельності популяції коней) зустічались лише по одному разу, серед тварин породи ГУЦ було відмічено 7 генотипів, що зустрічались лише по одному разу (28% від кількості генотипів виявлених у даної породи, 14,58% від загальної кількості генотипів виявлених за даним локусом у коней, 8,97% від чисельності проаналізованого поголів'я цієї породи, 2,49% від загального поголів'я проаналізованого поголів'я даного виду). Серед особин породи ЧВ було виявлено 3 такі генотипи (33,33%, 6,25%, 5,88%, 1,07%) (табл. 4.19). Тоді, як в УВП коней – 27 (58,7%, 56,25%, 17,76%, 9,61%). Також за даним локусом було виявлено 8 генотипів (16,67%, 2,85%), що зустрічались по два рази: у ГУЦ – 7 (28%, 14,58%, 8,97%, 2,49%), у ЧВ – 2 (22,22%, 4,17%, 3,92%, 0,71%) і в УВП – 10 (21,74%, 20,83%, 6,58%, 3,56%) (табл. 4.20). Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 31 раз (64,58% в і 11,03%). Серед тварин ГУЦ – 14 разів (56%, 29,17%, 17,95%, 4,98%), ЧВ породи – 5 разів (55,56%, 10,42%, 9,8%, 1,78%), УВП – 37 разів (80,44%, 77,08%, 24,34%, 13,17%).

За локусом HMS06 13 різноманітних генотипових варіантів (29,55%, 4,63%) зустічались лише по одному разу, серед тварин ГУЦ було відмічено 11 генотипів такого типу (45,83%, 25%, 14,1%, 3,92%). Серед особин породи ЧВ було виявлено 4 таких генотипи (40%, 9,09%, 7,84%, 1,42%). Тоді, як в УВП – 15 (37,5%, 34,09%, 9,87%, 5,34%). Також, за даним локусом було виявлено 7 генотипів (15,91%, 2,49%), що зустрічались по два рази: у ГУЦ – 3 (12,5%, 6,82%, 3,85%, 1,07%), у ЧВ – 1 (10%, 2,27%, 1,96%, 1,07%) і в УВП – 7 (17,5%, 15,91%, 4,61%, 2,49%). Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 20 разів (45,46% від кількості визначених генотипів і 7,12% від

загальної чисельності популяції). Серед ГУЦ – 14 разів (58,33%, 31,82%, 17,95%, 4,98%), ЧВ породи – 5 разів (50%, 11,36%, 9,8% 1,78%), УВП – 22 рази (55%, 50%, 14,47%, 7,83%).

За локусом HTG06 27 різноманітних генотипових варіантів (42,19%, 9,61%) зустрічались лише по одному разу, серед ГУЦ було відмічено 9 таких генотипів (37,5%, 14,06%, 11,54%, 3,2%). Серед ЧВ було виявлено 4 таких генотипи (50%, 6,25%, 7,84%, 1,42%). Тоді, як в УВП – 22 (42,31%, 34,38%, 14,47%, 7,83%) (табл. 4.18). Також, за даним локусом було виявлено 12 генотипів (18,75% 4,27%), що зустрічались по два рази: у ГУЦ – 9 (37,5%, 14,06%, 11,54%, 3,2%), в УВП – 13 (25%, 20,13%, 8,55%, 4,63%), а у ЧВ коней за даним локусом жоден гентип не було виявлено двічі. Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 39 разів (60,94%, 13,88%). Серед ГУЦ – 18 разів (75%, 28,13%, 23,08%, 6,41%), УВП – 4 рази (50%, 6,25%, 7,84%, 1,42%), і 4 (50%, 6,25%, 7,84%, 1,42%) рази у ЧВ породи коней.

Таблиця 4.19

Кількість рідкісних генотипів генотипів (Ng_1) у рзних породах коней

Локус	По породі			По виду, загалом	По виду, в середньому
	ГУЦ	ЧВ	УВП		
HTG04	7	3	27	23	12,33
HMS06	11	4	15	13	10,75
HTG06	9	4	22	27	15,50
AHT04	13	10	19	22	16,00
ASB23	16	10	20	19	16,25
ASB17	19	6	26	23	18,50
CA425	6	6	18	18	12,00
HTG07	5	8	13	12	9,50
HMS03	17	9	28	24	19,50
VHL20	17	7	15	21	15,00
HMS07	8	6	31	29	18,50
Середнє	11,6	6,6	21,3	21,0	15,136

За локусом AHT04 22 різноманітні генотипові варіанти (34,92%, 7,83%) зустічались лише по одному разу, серед тварин породи ГУЦ було відмічено 13 генотипів, що зустрічались лише по одному разу (44,82%, 20,64%, 16,67%, 4,63%). Серед особин породи ЧВ було виявлено 10 таких генотипів (47,62%, 15,87%, 19,61%, 3,56%). Тоді, як в УВП коней – 22 (41,51%, 34,92%, 14,47%, 7,83%). Також, за даним локусом було виявлено 6 генотипів (9,52%, 2,14%), що зустрічались по два рази: у

ГУЦ – 7 (24,14%, 11,11%, 8,97%, 2,49%), у БЧ – 3 (14,29%, 4,76%, 5,88%, 1,07%) і в УВП – 10 (18,87%, 15,87%, 6,58%, 3,56%). Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 28 разів (44,45%, 9,97%). Серед ГУЦ – 20 разів (68,97%, 31,75%, 25,64%, 7,12%), ЧВ породи – 13 разів (61,91%, 20,64%, 25,49%, 4,63%), УВП – 32 разів (60,38%, 50,79%, 21,05%, 11,39%).

За локусом ASB23 22 різноманітних генотипових варіанти (30,56%, 7,83%) зустічались лише по одному разу, серед ГУЦ було відмічено 16 таких генотипів (47,06%, 22,22%, 20,51%, 5,69%). Серед коней ЧВ породи було виявлено 10 таких генотипів (43,48%, 13,89%, 19,61%, 3,56%). Тоді, як в УВП коней – 24 (41,38%, 33,33%, 15,79%, 8,54%). Також, за даним локусом було виявлено 15 генотипів (20,83%, 5,34%), що зустрічались по два рази: у ГУЦ – 9 (26,47%, 12,5%, 11,54%, 3,2%), у ЧВ – 7 (30,44%, 9,72%, 13,73%, 2,49%) і в УВП – 14 (24,14%, 19,44%, 9,21%, 4,98%). Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 37 разів (51,39%, 13,17%). Серед ГУЦ – 25 разів (73,53%, 34,72%, 32,05%, 8,9%), ЧВ породи – 17 разів (73,91%, 23,61%, 33,33%, 6,05%), УВП – 38 разів (65,52%, 52,78%, 25%, 13,52%).

За локусом ASB17 24 різноманітних генотипових варіантів (31,58%, 8,54%) зустрічались лише по одному разу, серед ГУЦ було відмічено 19 таких генотипів (55,88%, 25%, 24,36%, 6,76%). Серед особин породи ЧВ було виявлено 6 таких генотипів (33,33%, 7,9%, 11,77%, 2,14%). Тоді, як в УВП коней – 33 (50%, 43,42%, 21,71%, 11,74%). Також, за даним локусом було виявлено 14 генотипів (18,42%, 4,98%), що зустрічались по два рази: у ГУЦ – 4 (11,77%, 5,26%, 5,13%, 1,42%), у ЧВ – 3 (16,67%, 3,95%, 5,88%, 1,07%) та в УВП – 10 (15,15%, 13,16%, 6,58%, 3,56%). Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 38 разів (50%, 13,52%). Серед ГУЦ– 23 рази (67,65%, 30,26%, 29,49%, 8,19%), ЧВ породи – 9 разів (50%, 11,84%, 17,65%, 3,2%), УВП коней – 43 рази (65,15%, 56,58%, 28,29%, 15,3%).

За локусом CA425 18 (37,5%, 6,41%) різноманітних генотипових варіантів зустрічались лише по одному разу, серед ГУЦ було відмічено 6 генотипів, що зустрічались лише по одному разу (35,29%, 12,5%, 7,69%, 2,14%). Серед особин породи ЧВ також було виявлено 6 таких генотипів (60%, 12,5%, 11,77%, 2,14%). Тоді, як в УВП – 18 (41,86%, 37,5%, 11,84%, 6,41%). Також за даним локусом було виявлено 7 генотипів (14,58%, 2,49%), що зустрічались по два рази: у ГУЦ – 4 (23,53%, 8,33%, 5,13%, 1,42%), в УВП – 6 (13,95%, 12,5%, 3,95%, 2,14%), а у ЧВ жодного алелю за цим локусом виявлено не було. Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 40 разів

(83,33%, 14,24%). Серед ГУЦ – 10 разів (58,82%, 20,83%, 12,82%, 3,56%), ЧВ – по 6 разів (60%, 12,5%, 11,77%, 2,14%), а в УВП – 24 рази (55,81%, 50%, 15,79%, 8,54%).

Таблиця 4.20

Кількість рідкісних генотипів генотипів (Ng_2) у різних породах коней

Локус	По породі			По виду, загалом	По виду, в середньому
	ГУЦ	ЧВ	УВП		
HTG04	7	2	10	8	6,33
HMS06	3	1	7	7	4,50
HTG06	9	0	13	12	8,50
AHT04	7	3	10	6	6,50
ASB23	9	7	12	15	10,75
ASB17	4	3	7	14	7,00
CA425	4	0	6	7	4,25
HTG07	2	2	8	6	4,50
HMS03	3	4	9	15	7,75
VHL20	6	4	13	13	9,0
HMS07	2	7	4	5	4,50
Середнє	5,1	3,0	9,0	9,8	5,697

За локусом HTG07 12 різноманітних генотипових варіантів (29,27%, 4,27%) зустічались лише по одному разу, серед ГУЦ було відмічено 5 генотипів, що зустрічались лише по одному разу (29,41%, 12,2%, 6,41%, 1,78%). Серед особин породи ЧВ було виявлено 8 таких генотипів (50%, 19,51%, 15,69%, 2,85%). Тоді, як УВП характеризувались 13 (35,14%, 31,7%, 8,55%, 4,63%). Також за даним локусом було виявлено 6 генотипів (14,63%, 2,14%), що зустрічались по два рази: у ГУЦ та ЧВ – по 2 генотипи (11,76%, 4,88%, 2,56%, 0,71% та 12,5%, 4,88%, 3,92%, 0,71%, відповідно) і в УВП – 8 (21,62%, 19,51%, 5,26%, 2,85%). Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 18 рази (43,9%, 6,41%). Серед ГУЦ – 7 рази (41,18%, 17,07%, 8,97%, 2,49%), ЧВ породи – 10 раз (62,5%, 24,39%, 19,61%, 3,56%), УВП – 21 разів (56,76%, 51,22%, 13,82%, 7,47%).

За локусом HMS03 25 різноманітних генотипових варіантів (37,31%, 8,9%) зустрічались лише по одному разу, серед ГУЦ було відмічено 17 генотипів, що зустрічались лише по одному разу (56,67%, 25,37%, 21,8%, 6,05%). Серед особин породи ЧВ було виявлено 8 таких генотипів (47,06%, 11,94%, 15,69%, 2,85%). Тоді, як в УВП коней – 29 (50%, 43,28%, 19,08%, 10,32%). Також, за даним локусом було виявлено 15 генотипів (22,39%, 5,34%), що зустрічались по два рази: у ГУЦ – 3 (10%,

4,48%, 3,85%, 1,07%), у ЧВ – 4 (23,53%, 5,97%, 7,84%, 1,42%) і в УВП – 9 (15,52%, 13,43%, 5,92%, 3,2%). Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 40 разів (59,7%, 14,24%). Серед ГУЦ – 20 разів (66,67%, 29,85%, 25,64%, 7,12%), ЧВ породи – 12 разів (70,59%, 17,91%, 23,53%, 4,27%), УВП – 38 разів (65,52%, 56,72%, 25%, 13,52%).

За локусом VHL20 21 різноманітний генотиповий варіант (33,87%, 7,47%) зустрічались лише по одному разу, серед ГУЦ було відмічено 17 генотипів, що зустрічались лише по одному разу (53,13%, 27,42%, 21,8%, 6,05%). Серед особин ЧВ було виявлено 7 таких генотипів (41,18%, 11,29%, 13,73%, 2,49%). Тоді, як в УВП коней – 15 (32,61%, 24,19%, 9,87%, 5,34%). Також за даним локусом було виявлено 13 генотипів (20,97%, 4,63%), що зустрічались по два рази: у ГУЦ – 6 (18,75%, 9,68%, 7,69%, 2,14%), у ЧВ – 4 (23,53%, 6,45%, 7,84%, 1,42%) і в УВП – 13 (28,26%, 20,97%, 8,55%, 4,63%). Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 34 разів (54,84%, 12,1%). Серед ГУЦ – 23 разів (71,88%, 37,1%, 29,49%, 8,19%), ЧВ породи – 10 раз (58,82%, 16,13%, 19,61%, 3,56%), УВП – 28 рази (60,87%, 45,16%, 18,42%, 9,96%).

За локусом HMS07 29 різноманітних генотипових варіантів (50%, 10,32%) зустрічались лише по одному разу, серед ГУЦ було відмічено 8 генотипів, що зустрічались лише по одному разу (40%, 13,79%, 10,26%, 2,85%). Серед особин породи ЧВ було виявлено 6 таких генотипів (30%, 10,35%, 11,77%, 2,14%). Тоді, як в УВП – 31 (57,41%, 53,45%, 20,4%, 11,03%). Також за даним локусом було виявлено 5 генотипів (8,62%, 1,78%), що зустрічались по два рази: у ГУЦ – 2 (10%, 3,45%, 2,56%, 0,71%), у ЧВ – 7 (35%, 12,07%, 13,73%, 2,49%) і в УВП – 4 (7,41%, 6,9%, 2,63%, 1,42%). Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 34 разів (58,62%, 12,1%). Серед ГУЦ – 10 разів (50%, 17,24%, 12,82%, 3,56%), ЧВ –13 разів (65%, 22,41%, 25,49%, 4,63%), УВП – 35 разів (64,82%, 60,35%, 23,03% 12,46%).

За локусом HTG04 породоспецифічні генотипи зустрічались 41 раз (85,42%, 14,59%). Серед тварин ГУЦ – 5 разів (20%, 10,42%, 6,41%, 1,78%), ЧВ породи – 1 раз (11,11%, 2,08%, 1,96%, 0,36%), УВП – 35 разів (76,09%, 72,92%, 23,03%, 12,46%). Породоспецифічні генотипи за локусом HMS06 зустрічались 23 рази (52,27%, 8,19%). Серед ГУЦ – 4 рази (16,67%, 9,09%, 5,13%, 1,42%), ЧВ породи – 1 раз (10%, 2,27%, 1,96% 0,36%), УВП – 18 разів (45%, 40,91%, 11,84%, 6,41%). За локусом HTG06 породоспецифічні генотипи зустрічались 48 разів (75%, 17,09%). Серед ГУЦ – 12 разів (50%, 18,75%, 15,39%, 4,27%), УВП – 36 разів (69,23%, 56,25%, 23,68%, 12,81%), і жодного разу у ЧВ породи коней. За локусом AHT04 породоспецифічні генотипи

зустрічались 33 рази (53,23% від кількості визначених генотипів і 11,39% від загальної чисельності популяції) (табл. 4.21).

Таблиця 4.21

Кількість породоспецифічних генотипів генотипів (Ng_{unik}) у коней

Локус	По породі			По виду, загалом	По виду, в середньому
	ГУЦ	ЧВ	УВП		
HTG04	5	1	35	41	13,67
HMS06	4	1	18	23	7,67
HTG06	12	0	36	48	16,00
AHT04	8	4	21	33	11,00
ASB23	5	1	35	41	13,67
ASB17	10	3	29	42	14,00
CA425	2	2	26	30	10,00
HTG07	3	1	20	24	8,00
HMS03	6	1	28	35	11,67
VHL20	14	1	24	39	13,00
HMS07	1	1	35	37	12,33
Середнє	6,4	1,5	27,9	35,7	11,909

Серед особин групи ГУЦ було відмічено 8 таких генотипів (24,14%, 11,11%, 8,97%, 2,49%), серед представників породи ЧВ – 4 (14,29%, 4,76%, 5,88%, 1,07) й УВП – 21 (41,51%, 34,92%, 14,47%, 7,83%). За локусом ASB23 породоспецифічні генотипи зустрічались 41 разів (59,7, 14,24). Серед особин групи ГУЦ було відмічено 5 таких генотипів (20,59%, 9,72%, 8,97%, 2,49%), серед представників породи ЧВ – 1 (21,74%, 6,95%, 9,8%, 1,78%) і УВП – 28 (48,28%, 38,89%, 18,42%, 9,97%). За локусом ASB17 породоспецифічні генотипи зустрічались 41 рази (57,75%, 14,59%). Серед ГУЦ було відмічено 6 таких генотипів (17,65%, 7,9%, 7,69%, 2,14%), ЧВ – 1 (5,56%, 1,32%, 1,96%, 0,36%), а серед представників УВП – 34 (51,52%, 44,74%, 22,37%, 12,1%).

За локусом CA425 породоспецифічні генотипи зустрічались 30 разів (62,5%, 10,68%). Серед ГУЦ та ЧВ – по 2 рази (11,77%, 4,17%, 2,56%, 0,71% та 20%, 4,17%, 3,92%, 22%), а в УВП – 26 разів (60,47%, 54,17%, 17,11%, 9,25%). За локусом HTG07 породоспецифічні генотипи зустрічались 24 рази (58,54%, 8,54%). Серед ГУЦ – 3 рази (17,65%, 7,32%, 3,85%, 1,07%), ЧВ породи – 1 раз (6,25%, 2,44%, 1,96%, 0,36%), УВП – 20 разів (54,05%, 48,78%, 13,16%, 7,12%).

За локусом HMS03 породоспецифічні генотипи зустрічались 36 разів (54,55%, 12,81%). С серед особин групи ГУЦ було відмічено 6 таких генотипів (20%, 8,96%,

7,69%, 2,14%), серед представників породи ЧВ – 1 (5,88%, 1,49%, 1,96%, 0,36%) й УВП – 29 (50%, 43,28%, 19,08%, 10,32%).

За локусом HMS06 породоспецифічні генотипи зустрічались 39 разів (62,90%, 13,88%). Серед ГУЦ – 14 разів (43,75%, 22,58%, 17,95%, 4,98%), ЧВ породи – 1 раз (5,88%, 1,61%, 1,96%, 0,36%), УВП – 24 рази (52,17%, 38,71%, 15,79%, 8,54%). За локусом HMS06 породоспецифічні генотипи зустрічались 37 разів (63,79%, 13,17%). Серед ГУЦ та ЧВ – по 1 разу (5%, 1,72%, 1,82%, 0,36% та 5%, 1,72%, 1,96%, 0,36%, відповідно), УВП – 35 разів (64,82%, 60,35%, 23,03% 12,46%).

На рис. 4.50 наведено одержані за використання непараметричного методу А. Чао результати оцінки частот генотипів за досліджуваними мікросателітними локусами ДНК у розрізі трьох досліджуваних порід. Найвищим рівнем генотипового різноманіття характеризується локус HMS07 – для нього кількість зареєстрованих генотипів може сягати 200 та більше. Найнижчим рівнем генотипової мінливості (кількість виявлених генотипів може не перевищувати 8) характеризувався локус HTG06, але у особин УВП за локусом ASB17 кількість зареєстрованих генотипів може падати до нуля. Для решти локусів характерною буде середня кількість зареєстрованих алелів (до 42).

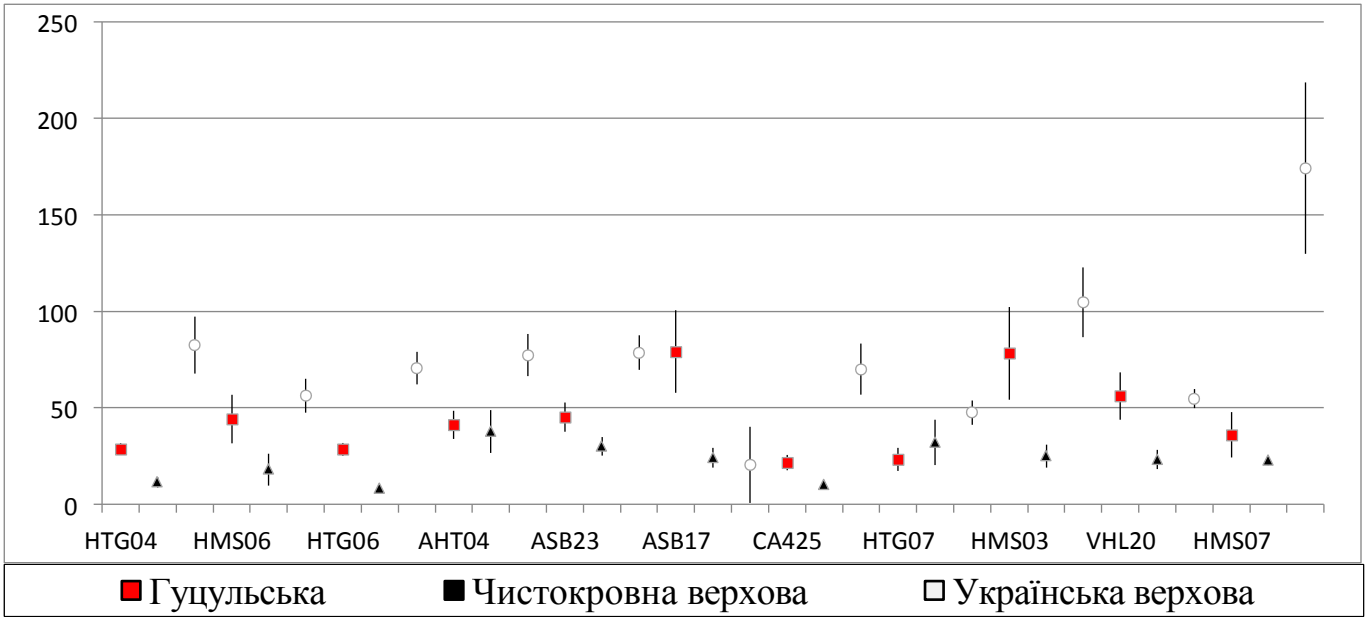


Рис. 4.50 Оцінки потенційної кількості генотипів (±1SD), одержані за допомогою непараметричного методу А.Чао за мікросателітними локусами ДНК

В цілому, відмічається породоспецифічний характер розподілу кількості генотипів за методом А. Чао. Так, найбільшау кількість потенційних генотипів за 9 з 11 локусів виявлено у породи УВП, причому, за 5 з них ці відмінності є достовірними.

Коні БЧ породи характеризувались найнижчими значеннями потенційної кількості генотипів за 9 локусами з 11, причому за 7 з них – достовірно. Тварини породи ГК за 8 локусами демонстрували середні значення потенційної кількості генотипів.

4.3 Алельний та генотиповий поліморфізм мікросателітів ДНК у представників трьох порід виду *Canis familliaris*

Алелофонд собак різних порід за STR локусами ДНК. Свійський собака, як один з видів тварин, що були доместиковані найраніше зазнали мабуть найбільшого впливу штучного добору та селекції з боку людини. Наразі в світі існує більш ніж 400 порід собак. Отже, даний вид є одним з найцікавіших об'єктів для вивчення генетичного різноманіття.

В результаті проведенної роботи кількість виявлених алельних варіантів для собак породи німецька вівчарка коливалась від 5-и – за локусом PEZ06 до 13-ти – за PEZ08, і становила в середньому 9,2 алеля на локус (табл. 4.22).

Таблиця 4.22

Структура породи німецька вівчарка (НВ) за мікросателітними локусами ДНК

Локус	Na	Розмір п.н. (частота) алелів								
PEZ01	12	96 (0,103)	100 (0,026)	104 (0,038)	108 (0,231)	112 (0,077)	116 (0,179)	120 (0,026)	124 (0,128)	128 (0,038)
		132 (0,115)	136 (0,026)	140 (0,013)						
PEZ08	13	210 (0,090)	214 (0,077)	218 (0,179)	222 (0,115)	226 (0,103)	230 (0,038)	234 (0,026)	238 (0,064)	242 (0,038)
		246 (0,103)	250 (0,051)	254 (0,090)	258 (0,026)					
FHC2010	9	220 (0,051)	224 (0,026)	228 (0,179)	232 (0,090)	236 (0,141)	240 (0,115)	244 (0,346)	248 (0,026)	252 (0,026)
PEZ06	5	166 (0,205)	174 (0,179)	182 (0,359)	190 (0,077)	206 (0,179)				
FHC2054	7	140 (0,269)	148 (0,051)	156 (0,103)	160 (0,179)	164 (0,077)	168 (0,154)	172 (0,167)		

За локусом PEZ01 виявлено 12 алельних варіантів розміром від 96 до 140 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,231) зустрічався алель $PEZ01^{108}$, а найменш часто (0,013) – $PEZ01^{140}$. За локусом PEZ08 виявлено 13 алельних варіантів розміром від 210 до 258 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,179) зустрічався алель $PEZ08^{218}$, а найменш часто (0,026) – $PEZ08^{234}$ та $PEZ08^{258}$. За локусом FHC2010 виявлено 9 алельних варіантів розміром від 220 до 252 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,346) зустрічався алель $FHC2010^{244}$, а найменш часто (0,026) – $FHC2010^{224}$, $FHC2010^{248}$ та $FHC2010^{252}$. За локусом PEZ06 виявлено 5

алельних варіантів розміром від 166 до 174 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,359) зустрічались алель PEZ06^{182}, а найменш часто (0,077) – PEZ06^{190}. За локусом FHC2054 виявлено 7 алельних варіантів розміром від 140 до 172 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,269) зустрічався алель FHC2054^{140}, а найменш часто (0,051) – FHC2054^{148}.

Кількість виявлених алельних варіантів для собак породи німецький дог (НД) коливалась від 6-ти – за локусом PEZ01 до 13-ти – за PEZ08, і становила в середньому 8,4 алеля на локус (табл. 4.23).

Таблиця 4.23

Структура породи німецький дог (НД) за алелофондом

Локус	Na	Розмір п.н. (частота) алелів								
PEZ01	6	104 (0,050)	108 (0,225)	116 (0,200)	116 (0,200)	120 (0,300)	124 (0,025)			
PEZ08	13	210 (0,025)	214 (0,050)	218 (0,025)	222 (0,200)	226 (0,125)	230 (0,075)	234 (0,050)	238 (0,125)	242 (0,025)
		246 (0,200)	250 (0,025)	254 (0,025)	258 (0,050)					
FHC2010	7	224 (0,050)	228 (0,175)	232 (0,175)	236 (0,200)	240 (0,275)	244 (0,075)	248 (0,050)		
PEZ06	8	166 (0,175)	170 (0,250)	174 (0,100)	178 (0,125)	182 (0,050)	186 (0,075)	202 (0,125)	206 (0,100)	
FHC2054	8	140 (0,150)	144 (0,175)	152 (0,150)	156 (0,150)	160 (0,075)	164 (0,025)	168 (0,150)	172 (0,125)	

За локусом PEZ01 виявлено 6 алельних варіантів розміром від 104 до 124 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,300) зустрічався алель PEZ01^{120}, а найменш часто (0,025) – PEZ01^{124}. За локусом PEZ08 виявлено 13 алельних варіантів розміром від 210 до 258 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,200) зустрічались алелі PEZ08^{222} та PEZ08^{246}, а найменш часто (0,025) – PEZ08^{210}, PEZ08^{218}, PEZ08^{242}, PEZ08^{250} та PEZ08^{254}. За локусом FHC2010 виявлено 7 алельних варіантів розміром від 224 до 248 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,275) зустрічався алель FHC2010^{240}, а найменш часто (0,050) – алелі FHC2010^{224} та FHC2010^{248}. За локусом PEZ06 виявлено 8 алельних варіантів розміром від 166 до 206 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,250) зустрічався алель PEZ06^{170}, а найменш часто (0,050) – PEZ06^{182}. За локусом FHC2054 виявлено 8 алельних варіантів розміром від 140 до 172 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,175) зустрічався алель FHC2054^{144}, а найменш часто (0,025) – FHC2054^{164}.

Кількість виявлених алельних варіантів для собак породи російський тойтер`єр (РТ) коливалась від 6-ти – за локусом FHC2010 до 11-ти – за PEZ06, і становила в середньому 8,2 алелю на локус (табл. 4.24).

Таблиця 4.24

Струтура породи російський той-тер`єр (РТ) за алелофондом

Локус	Na	Розмір п.н. / (частота) алелів								
PEZ01	9	96 (0,231)	100 (0,077)	108 (0,282)	112 (0,154)	116 (0,103)	120 (0,051)	128 (0,051)	136 (0,026)	140 (0,026)
PEZ08	7	210 (0,150)	214 (0,175)	218 (0,300)	226 (0,075)	234 (0,075)	250 (0,050)	254 (0,175)		
FHC2010	6	220 (0,150)	224 (0,025)	228 (0,200)	232 (0,025)	244 (0,525)	252 (0,075)			
PEZ06	11	166 (0,125)	170 (0,225)	174 (0,050)	178 (0,150)	182 (0,025)	186 (0,050)	190 (0,025)	194 (0,025)	198 (0,025)
		202 (0,175)	206 (0,125)							
FHC2054	8	140 (0,200)	144 (0,075)	152 (0,175)	156 (0,125)	160 (0,075)	164 (0,025)	166 (0,175)	168 (0,150)	

За локусом PEZ01 виявлено 6 алельних варіантів розміром від 96 до 140 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,282) зустрічався алель $PEZ01^{108}$, а найменш часто (0,026) – $PEZ01^{136}$ та $PEZ01^{140}$. За локусом PEZ08 виявлено 7 алельних варіантів розміром від 210 до 254 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,300) зустрічався алель $PEZ08^{218}$, а найменш часто (0,050) – $PEZ08^{250}$. За локусом FHC2010 виявлено 6 алельних варіантів розміром від 220 до 252 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,525) зустрічався алель $FHC2010^{244}$, а найменш часто (0,025) – $FHC2010^{224}$ та $FHC2010^{232}$. За локусом PEZ06 виявлено 11 алельних варіантів розміром від 166 до 206 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,225) зустрічався алель $PEZ06^{170}$, а найменш часто (0,025) – $PEZ06^{182}$, $PEZ06^{190}$, $PEZ06^{194}$ та $PEZ06^{198}$. За локусом FHC2054 виявлено 8 алельних варіантів розміром від 140 до 168 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,200) зустрічався алель $FHC2054^{140}$, а найменш часто (0,025) – $FHC2054^{164}$.

В результаті аналізу алельного різноманіття встановлено, що частота окремих алельних варіантів локусу PEZ01 у тварин різних порід відрізнялась недостовірно (p = 0,395). Рівномірність розподілу різних алелів наведено на рис 4.51. Так, з 12 алелів відносно високу частоту (0,10-0,15) мали лише 5, а ще 6 зустрічались з частотою меншою за 0,05. У особин породи НВ та РТ.

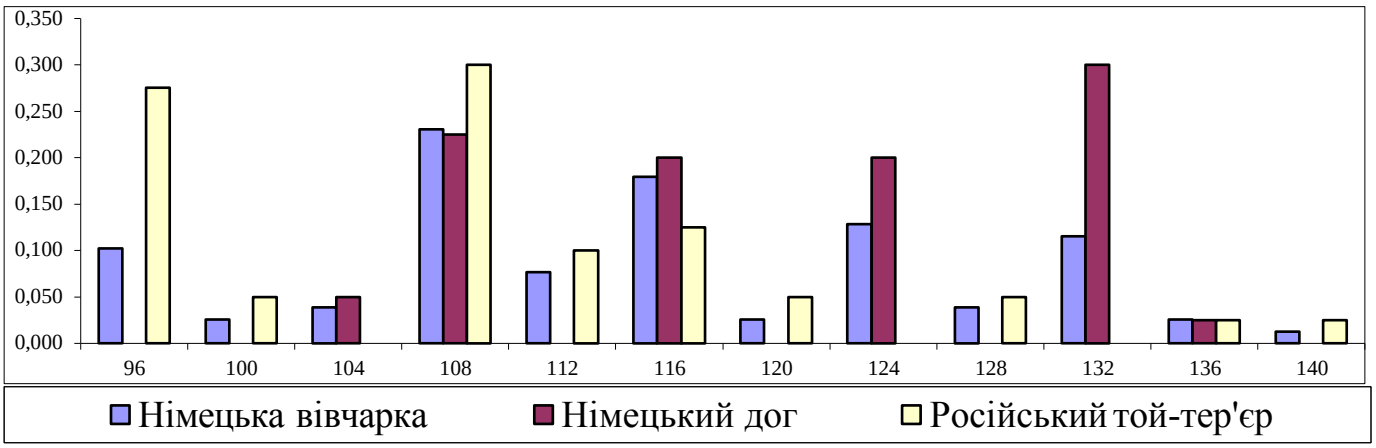


Рис. 4.51 Алельні спектри різних порід собак за локусом PEZ01.

Серед тварин породи НВ найчастіше виявляли алель $PEZ01^{108}$ (0,231), найменш часто (<0,050) – $PEZ01^{100}$, $PEZ01^{104}$, $PEZ01^{120}$, $PEZ01^{128}$, $PEZ01^{136}$ та $PEZ01^{140}$. У породи НД найчастіше виявляли алель $PEZ01^{132}$ п.н. (0,300), найменш часто – $PEZ01^{104}$ та $PEZ01^{136}$, а алелів $PEZ01^{96}$, $PEZ01^{100}$, $PEZ01^{112}$, $PEZ01^{120}$, $PEZ01^{128}$ та $PEZ01^{140}$ у представників даної породи виявлено не було. У породи РТ найчастіше зустрічались алелі $PEZ01^{96}$ (0,231) та $PEZ01^{108}$ (0,282), а алелі $PEZ01^{100}$, $PEZ01^{120}$, $PEZ01^{128}$, $PEZ01^{136}$ та $PEZ01^{140}$ зустрічались з частотою меншою за 0,050. Алелі $PEZ01^{104}$ та $PEZ01^{124}$ у даної породи були відсутні.

Частоти окремих алельних варіантів локусу PEZ08, у тварин різних порід відрізнялись недостовірно (p= 0,769). Характер алельних спектрів різних порід та розподілу частот алелів за локусом PEZ08 продемонстровано на рис. 4.52.

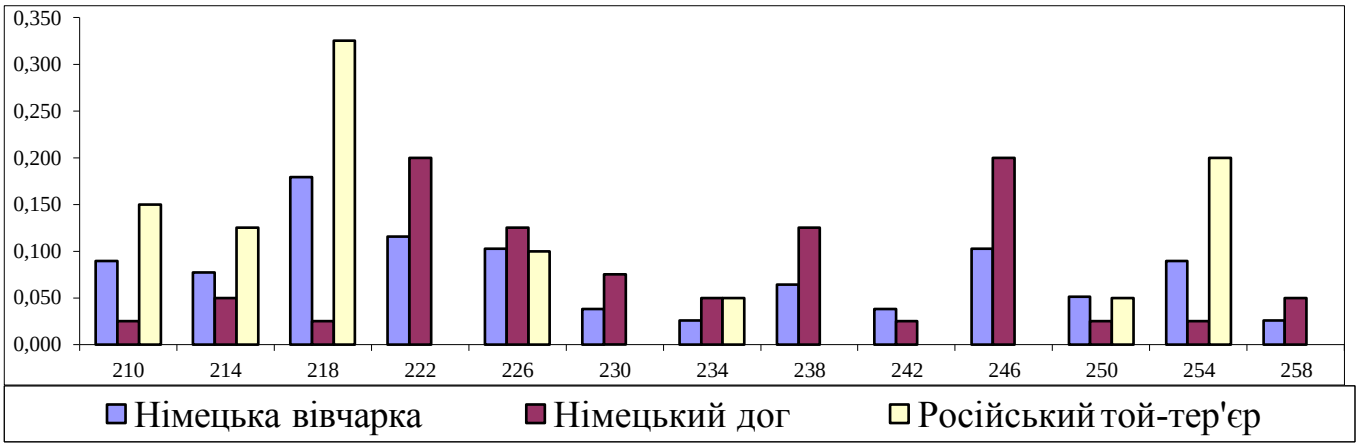


Рис. 4.52 Алельні спектри різних порід собак за локусом PEZ08.

У НВ та РТ найпоширенішим був $PEZ08^{218}$ (0,179 та 0,325, відповідно), а найменш поширеним (з частотою <0,050) – $PEZ08^{230}$, $PEZ08^{234}$, $PEZ08^{242}$, $PEZ08^{250}$ й $PEZ08^{258}$ та $PEZ08^{234}$ й $PEZ08^{250}$, відповідно. У особин породи НД найчастіше (0,200) виявляли алелі $PEZ08^{222}$ та $PEZ08^{246}$, а низькою частотою (<0,050) характеризувались

алелі PEZ08^{210}, PEZ08^{214}, PEZ08^{218}, PEZ08^{234}, PEZ08^{242}, PEZ08^{250}, PEZ08^{254} та PEZ08^{258}. Для породи РТ характерною була відсутність в спектрі алелів PEZ08^{222}, PEZ08^{230}, PEZ08^{238}, PEZ08^{242}, PEZ08^{246} та PEZ08^{258}.

Відмінності в частотах окремих алельних варіантів у тварин різних порід за локусом FHC2010 виявились недостовірними (p = 0,205). При цьому спостерігається практично рівномірний розподіл частот виявлених алелів (рис. 4.53).

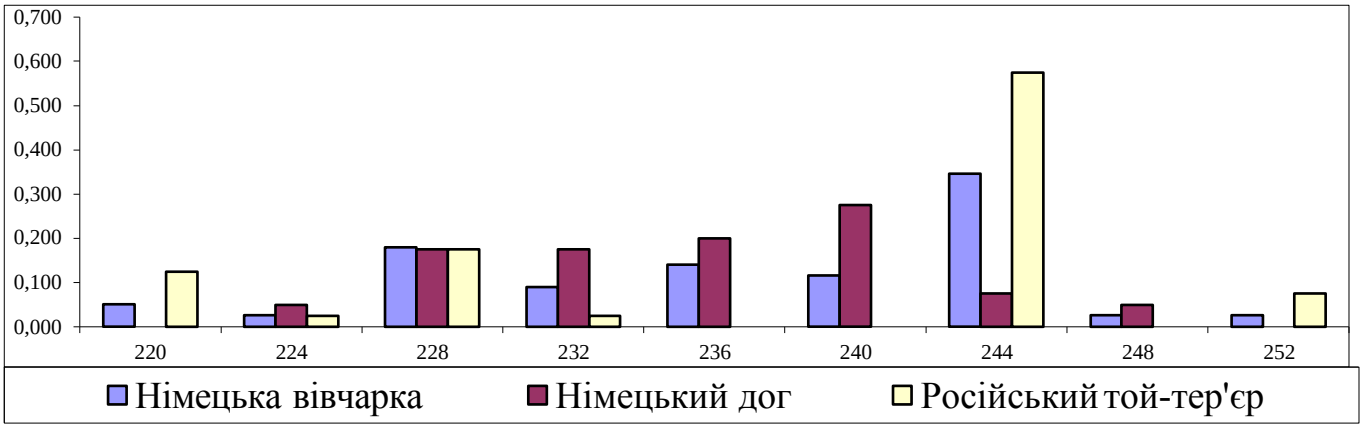


Рис. 4.53 Алельні спектри різних порід собак за локусом FHC2010.

Серед тварин групи НВ та РТ найчастіше (0,346 та 0,575) виявляли алель FHC2010^{244}, а найменш часто (<0,05) алелі FHC2010^{220} FHC2010^{224} FHC2010^{248} й FHC2010^{252} та FHC2010^{224} й FHC2010^{232}, відповідно. Розподіл частот в породі НД був практично рівномірним, але найчастіше (0,275) виявляли алель FHC2010^{240}, а найменш часто (0,050) – FHC2010^{224} та FHC2010^{248}. Відсутність алелів FHC2010^{220} та FHC2010^{240} дещо звужувало спектр породи НД, а порода РТ характеризувалась випадінням лелів FHC2010^{236}, FHC2010^{240} та FHC2010^{248}.

Розподіл чатом алелів за локусом PEZ06 був досить нерівномірним, за високої достовірності (p = 0,0002) відмінностей між породами (рис. 4.52).

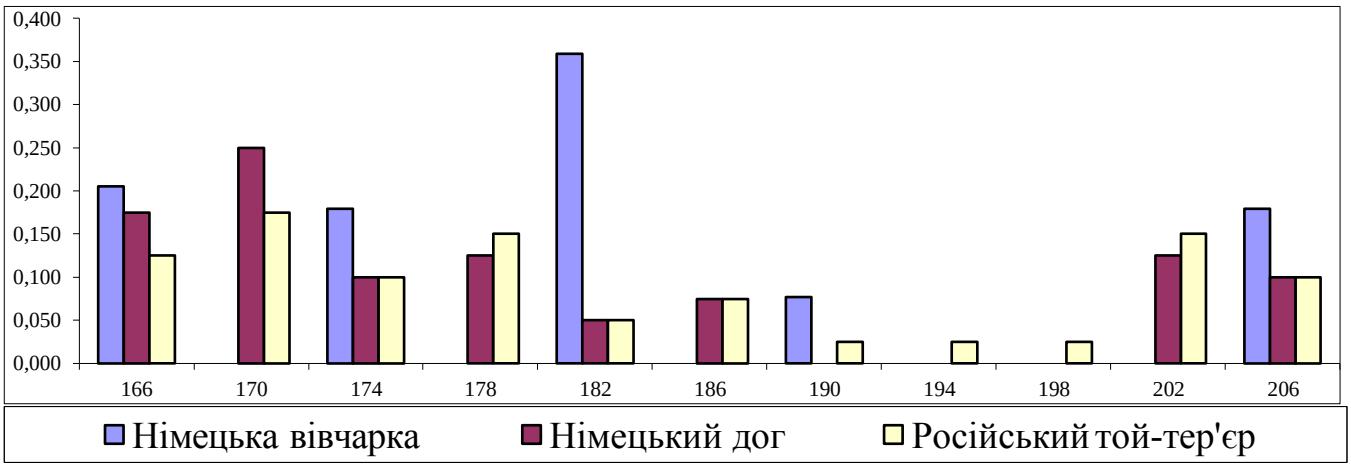


Рис. 4.52 Алельні спектри різних порід собак за локусом PEZ06.

У особин породи НВ найчастіше виявляли алель PEZ06^{182} (0,359), а найменш часто алель PEZ06^{190}. (0,077), алелі PEZ06^{170}, PEZ06^{178}, PEZ06^{186}, PEZ06^{194}, PEZ06^{198} та PEZ06^{202} у представників даної породи були відсутні. У особин породи НД найчастіше (0,250) виявляли алель PEZ06^{170}, а низькою частотою (<0,050) характеризувався алель PEZ06^{182} (0,050), алелі PEZ06^{190}, PEZ06^{194} та PEZ06^{198} у даної породи не діагностувались. У породи РТ алель PEZ06^{170} зустрічався частіше за інших (0,170), а PEZ06^{190}, PEZ06^{194} та PEZ06^{198} PEZ06^{196} – з найнижчою частотою (0,025).

Частота окремих алельних варіантів локусу FHC2054 достовірно відрізнялась у тварин різних порід (p = 0,0489). Характер розподілу частот виявлених алелів, який буп майже рівномірним, зображено на рис. 4.53.

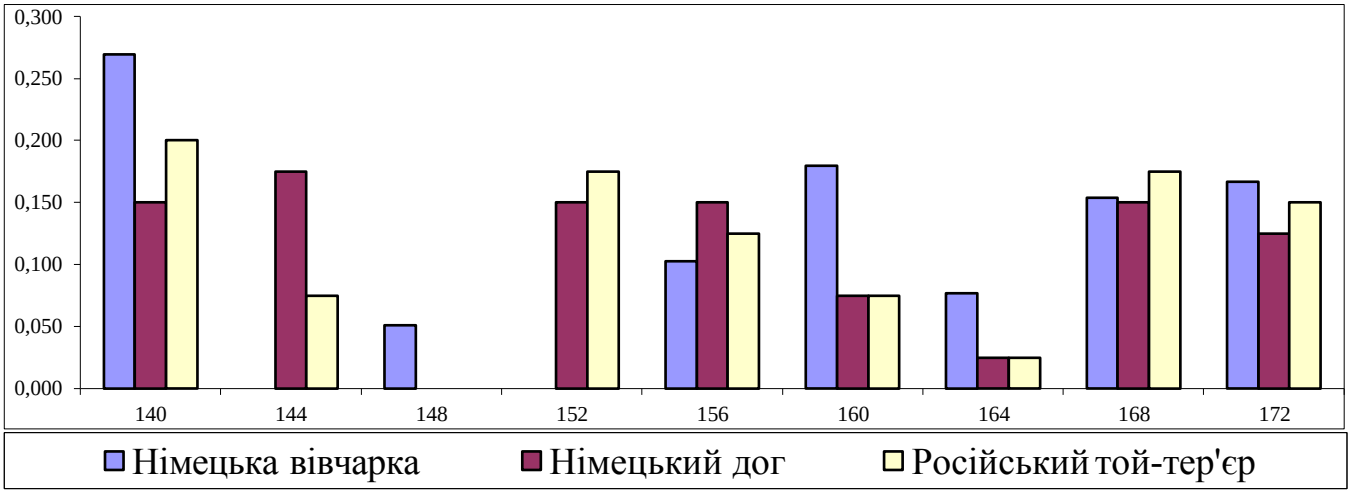


Рис. 4.53 Алельні спектри різних порід собак за локусом FHC2054.

У особин породи НВ та РТ найчастіше виявляли алель FHC2054^{140} (0,269 та 0,200, відповідно), найменш часто у тварин породи НВ зустрічався алель FHC2054^{148} (0,051), а у РТ – FHC2054^{164} (0,025). В алельному спектрі тварин НВ були відсутні алелі FHC2054^{144} та FHC2054^{152}, а у РТ – FHC2054^{148}. У особин породи НД розподіл був близьким до рівномірного, найчастіше (0,175) виявляли алель FHC2054^{144}, а найменш часто (0,025) – FHC2054^{164}. Для цієї породи, як і для РТ характерною була відсутність в спектрі алелю FHC2054^{148}.

З 5 досліджуваних мікросателітних локусів, породоспецифічні алелі було зареєстровано лише в породах НВ та РТ. У вівчарок породоспецифічним був алель FHC2054^{152}, з частотою 0,051, а у тойтер`єрів – PEZ06^{194} та PEZ06^{198}, з частотою 0,025, кожен. За рештою локусів породоспецифічних алелів виявлено не було (табл 4.25).

Таблиця 4.25

Частота породоспецифічних алелів для різних порід собак

	НВ		НД		РТ	
Локус	алель	частота	алель	частота	алель	частота
PEZ06	-	-	-	-	194	0,025
PEZ06	-	-	-	-	198	0,025
FHC2054	148	0,051	-	-	-	-
В цілому	1	0,051	0	-	2	0,025

Як і в попередніх дослідах, з метою одержання коректного порівняння виборок різного розміру нами було застосовано rarefaction-метод. В результаті було з’ясовано, що кількість алелів (у перерахунку на 20 випадково обраних особин) на породному рівні варіює несуттєво, від 8,2 у РТ до 8,58 у НВ і за кількістю унікальних алелів практично однакові показники спостерігались у німецьких вівчарок (0,19) та догів (0,17), в той час, як російські тойтер`єри демонстрували майже в п`ять разів вищу частоту (0,68) унікальних алелів. (табл. 4.26). Найбільший рівень алельного різноманіття відмічено у тварин породи НД за локусом PEZ08 (13), а найнижче – у тварин породи НВ за локусом PEZ06 (5). Кількість породоспецифічних алелів була найвищою у тварин породи РТ за локусом PEZ06 (2,01), а найнижчою (0,11) – у особин породи НД за локусом PEZ01.

Таблиця 4.26

Кількість алелів, в т.ч. породоспецифічних, розрахована, за *rarefaction*-методом (*n*=40) для 10 мікросателітних локусів трьох порід собак

Локус	Порода					
	НВ		НД		РТ	
	Na	Na_{unic}	Na	Na_{unic}	Na	Na_{unic}
PEZ01	10,6	0	6	0,11	9	1,08
PEZ08	12,2	0	13	0,48	7	0
FHC2010	8,2	0	7	0,24	6	0,29
PEZ06	5,0	0	8	0	11	2,01
FHC2054	6,9	0,95	8	0	8	0
В середньому	8,58	0,19	8,4	0,17	8,2	0,68

У НВ породоспецифічні алелі було виявлено лише за локусом FHC2054 (0,95, за загалької кількості виявлених алелів розрахованих за допомогою за rarefaction-методом (n=40) цього локусу на рівні 6,9). У собак породи НД породоспецифічні алелі

було виявлено за трьома мікросателітними локусами PEZ01 (0,11), PEZ08 (0,48) та FHC2010 (0,24) за загальної кількості алелів по 6, 13 та 7, відповідно. Для особин породи РТ характерними виявились породоспецифічні алелі за локусами PEZ01 (1,08), FHC2010 (0,29) та PEZ06 (2,01)) за загальної кількості алелів по 9, 6 та 11, відповідно.

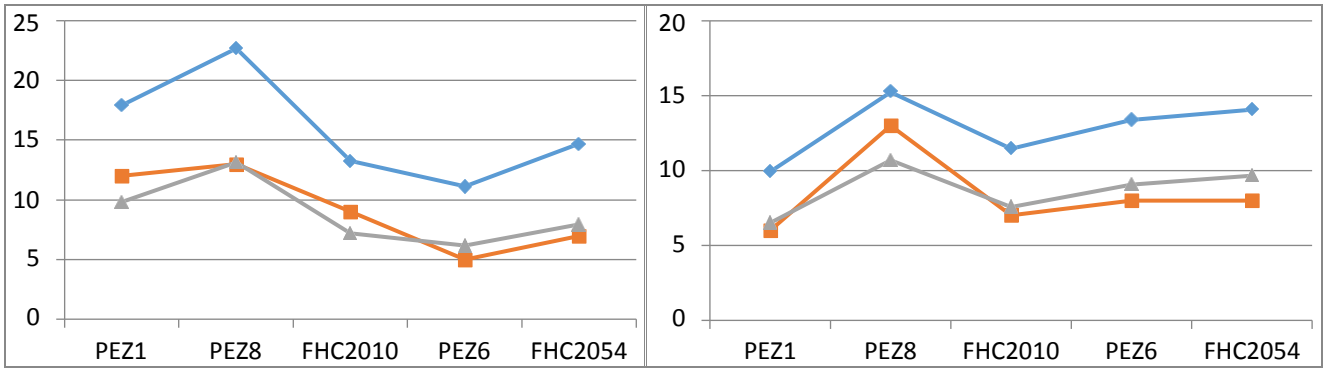
Незважаючи на різну кількість алелів (у т.ч. унікальних), що було відмічено у тварин окремих порід, отримані оцінки критерію Хі-квадрат (χ^2) Пірсона (табл. 4.27) дозволяють стверджувати про достовірні відмінності у їхньому розподілі за частотами алелів лише за локусами FHC2054 (p<0,05) та PEZ06 (p<0,001).

Таблиця 4.27

Ступінь генетичної диференціації між породами собак за розподілом частот алелів мікросателітних локусів ДНК

Локус	*df*	χ^2	*p*
PEZ01	42	44,01	0,395
PEZ08	50	45,017	0,769
FHC2010	28	33,707	0,205
PEZ06	42	82,838	0,0002
FHC2054	52	65,413	0,0489

З метою аналізу характеру розподілу алелів мікросателітної ДНК за певним локусами нами, як і в попередніх дослідах, було використано дві основні моделі (*IAM* та *SMM*). На рис. 4.54 наведено одержані в результаті оцінки алельного різноманіття для кожного з використаних в аналізі локусів (у розрізі окремих порід), а також оцінки, за умови справедливості, кожної з моделей.



А Б

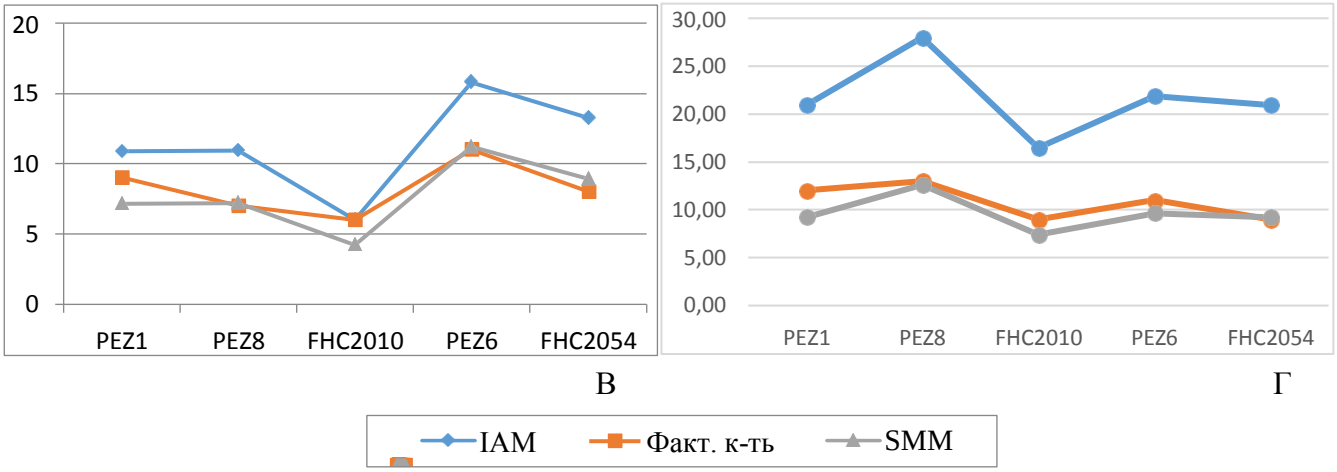


Рис. 4.54 Фактична кількість виявлених алелів за мікросателітними локусами ДНК та розраховані за допомогою різних мутаційних моделей(німецька вівчарка (А), німецький дог (Б), російський тойтер`єр (В) та загальна для *Canis familliaris* (Г).

Модель *IAM* значно завищує фактичні величини, як по виду в цілому (рис 4.53 (А) так і по кожній породі, зокрема.

Для всіх досліджених порід модель *SMM* була більш адекватною (χ^2_5 (p<0,0001) = 56,65) для апроксимації рівня алельного різноманіття за всіма, без виключень, дослідженими мікросателітними локусами, ніж модель *IAM.* Для НВ результати одержані за допомогою моделі *SMM* лише за одним локусом PEZ08 повністю співпадали з фактичною кількістю виявлених алелів, за локусами PEZ06 та FHC2054 відхилення не перевищувало 1,2 (1,17 та 0,95, відповідно), і 2,17 та 1,79 за локусами PEZ01 та FHC2010 (χ^2_5 (p<0,0001) = 28,03). Для особин породи НД результати одержані за допомогою моделі *SMM* за двома локусами PEZ01 та FHC2010 практично співпадали (±0,5) для решти локусів відхилення становило 1,07, 1,65 та 2,30 за PEZ06, FHC2054 та PEZ08, відповідно (χ^2_5 (p<0,01) = 14,02). Модель *SMM* була більш адекватною для апроксимації рівня алельного різноманіття, ніж модель *IAM* (χ^2_5 (p<0,01) = 14,02). Для породи РТ результати одержані за допомогою моделі *SMM* повністю (відхилення <0,5) співпадали з фактичною кількістю виявлених алелів за локусами PEZ08 та PEZ06, за локусом FHC2054 відхилення не перевищувало 1,0, а за локусами PEZ01 та FHC2010 – 2,0, хоча, відмінності обох моделей для даної породи були недостовірними χ^2_5 (p>0,05) = 1,03 та 8,10, відповідно).

Обливості генотипової структури різних порід свійських собак. За локусом PEZ01 було виявлено 22 (27,85%) генотипових варіанта, всі вони 22 (100%, 56,41%, 27,85%) були наявні у тварин породи НВ, 10 (45,46%, 50%, 12,66%) з них виявляли у представників породи НД і 9 (40,91%, 45%, 11,39%) у РТ. Деякі генотипи були

широко представлені серед досліджуваних тварин – генотип PEZ01$^{96/108}$ відмічено у 10 особин (13,92%). Цей самий генотип найчастіше зустрічався у собак породи НВ (відмічений у 5 особин (12,82%, 6,33%) та РТ (відмічений у 5 особин (30%, 7,6%). У тварин породи НД найпоширенішими були генотипи PEZ01$^{116/132}$ та PEZ01$^{124/132}$ (відмічені у 4 особин (20%, 5,06%, кожен) (рис. 4.55).

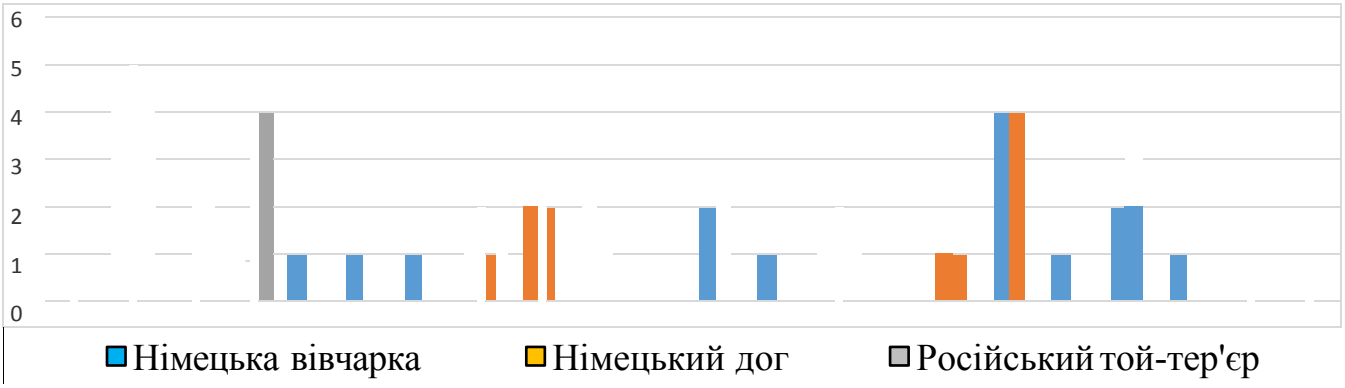


Рис.4.55 Генотипові спектри різних порід собак за локусом PEZ01.

За локусом PEZ08 було виявлено 26 (32,91%) різних генотипових варіантів (рис. 4.56), у тварин породи НВ – 24 (92,31%, 61,54%, 30,38%), НД – 13 (50%, 65%, 16,46%) та 11 (42,31%, 55%, 13,92%) у РТ породи. Найпоширенішим серед досліджуваних тварин був генотип PEZ08$^{218/218}$ (відмічено у 8 особин (11,39%). Він же був наймасовішим у собак порід НВ та РТ (у 4 особин (10,26%, 5,06% та 25%, 6,33%, відповідно). У тварин породи НД найчастіше зустрічався генотип PEZ08$^{222/246}$ (виявлено у 5 особин (25%, 6,33%).

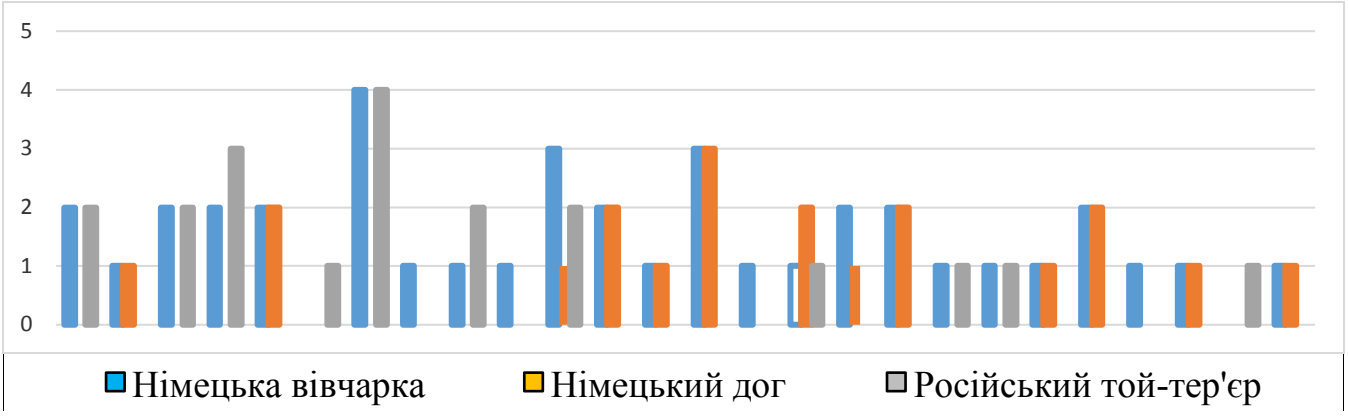


Рис.4.56 Генотипові спектри різних порід собак за локусом PEZ08.

За локусом HFC2010 було виявлено 15 (18,99%) різних генотипових варіантів, у тварин породи НВ – 15 (100%, 38,46%, 18,99%), НД – 11 (73,33%, 58,90%, 14,10%) та 7 (46,67%, 35%, 8,97%) у РТ (рис. 4.57). Найпоширенішим серед досліджуваних тварин був генотип HFC2010$^{244/244}$ (відмічений у 13 особин (17,95%). Цей самий алель

був найпоширенішим у собак порід НВ та НД (відмічені у 7 особин в кожній (17,95%, 8,97% та 36,84%, 8,97%, відповідно), а у собак РТ породи – генотип HFC2010$^{228/236}$ (відмічений у 4 особин (20%, 5,13%).

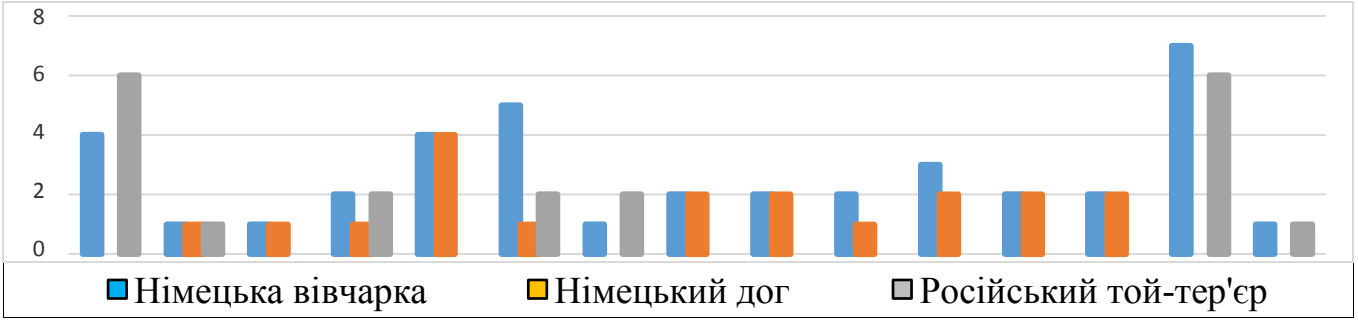


Рис.4.57 Генотипові спектри різних порід собак за локусом HFC2010.

За локусом PEZ06 було виявлено 22 (27,85%) різних генотипових варіантів, у тварин породи НВ – 11 (50%, 28,21%, 13,92%), НД – 8 (36,36%, 40%, 10,13%) та 14 (63,64%, 70%, 17,72%) у РТ (рис. 4.58). Найпоширенішим серед досліджуваних тварин були генотипи PEZ06$^{170/202}$ та PEZ06$^{182/206}$ (відмічені у 9 особин (11,39%), кожен. У собак породи НВ найпоширенішим був алель PEZ06$^{186/202}$ (відмічений у 9 особин (2,56%, 11,39%), у НД – PEZ06$^{166/178}$ та PEZ06$^{170/202}$ (відмічені у 5 особин (25%, 6,33%), кожен), а у собак РТ породи – генотип PEZ06$^{170/202}$ (відмічений у 4 особин (20%, 5,06%).

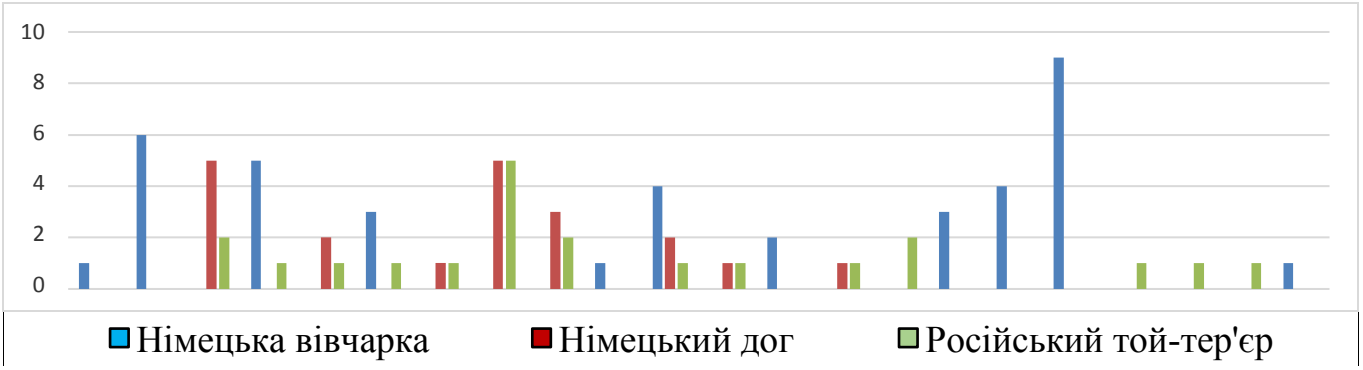


Рис.4.58 Генотипові спектри різних порід собак за локусом PEZ06.

За локусом FHC2054 було виявлено 27 (34,18%) різних генотипових варіантів (рис. 4.59), у тварин породи НВ – 20 (74,07%, 51,28%, 25,32%), НД – 10 (37,04%, 50%, 12,66%) та 13 (48,15%, 65%, 16,46%) у РТ. Найпоширенішим серед досліджуваних тварин були генотипи FHC2054$^{140/168}$ та FHC2054$^{144/156}$ (відмічені у 7 особин (8,86%), кожен. У собак породи НВ найпоширенішим (відмічений у 5 особин (12,82%, 6,33%) був генотип FHC2054$^{168/172}$, а у НД – FHC2054$^{144/156}$ (відмічений у 4 особин (20%,

5,06%), а у собак РТ породи – генотипи FHC2054$^{144/172}$ та FHC2054$^{144/156}$ (відмічені у 3 особин (15%, 3,80%).

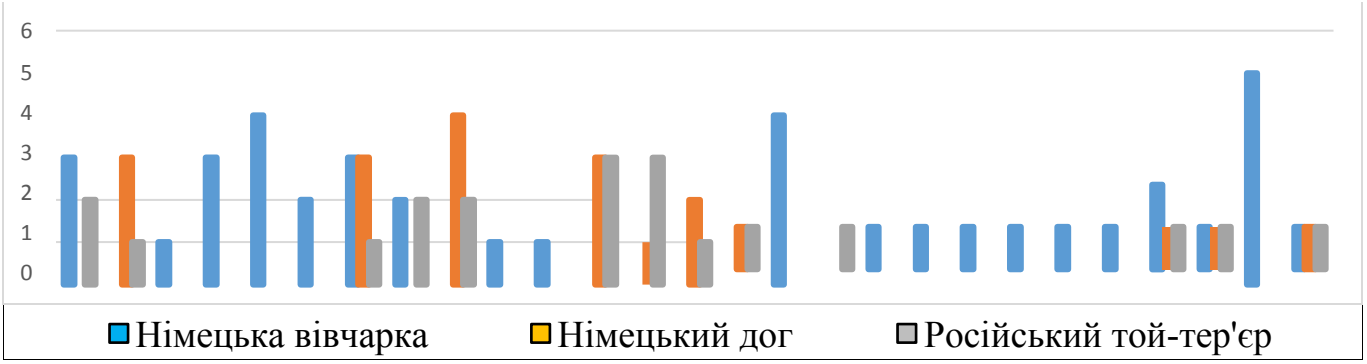


Рис.4.59 Генотипові спектри різних порід собак за локусом HFC2054.

За чотирма локусами з п’яти (всі крім PEZ06) у тварин породи НВ встановлений вищий рівень поліморфізму ніж у представників решти досліджених порід. А за останнім локусом характер розподілу частот виявлених генотипів виявився практично ідентичним (табл. 4.28).

Таблиця 4.28

Кількість виявлених генотипів (Ng) у різних породах собак

Локус	По породі			По виду, загалом	По виду, в середньому
	НВ	НД	РТ		
PEZ01	22	10	9	22	15,75
PEZ08	24	13	11	26	18,5
FHC2010	15	11	7	15	12
PEZ06	11	8	14	22	13,75
FHC2054	20	10	13	27	17,5
середнє	18,4	10,4	10,8	22,4	15,5

Одержані оцінки генотипового різноманіття різних порід собак характеризувались високим рівнем диференціації порід, за високої достовірності лише за локусом PEZ06 (p<0,001), за FHC2054 – дещо нижчою (p<0,05). А за рештою локусів (PEZ01, FHC2010 та PEZ08) відмінності в частотах виявлених генотипів були не достовірними (p>0,205) (табл. 4.29).

Таблиця 4.29

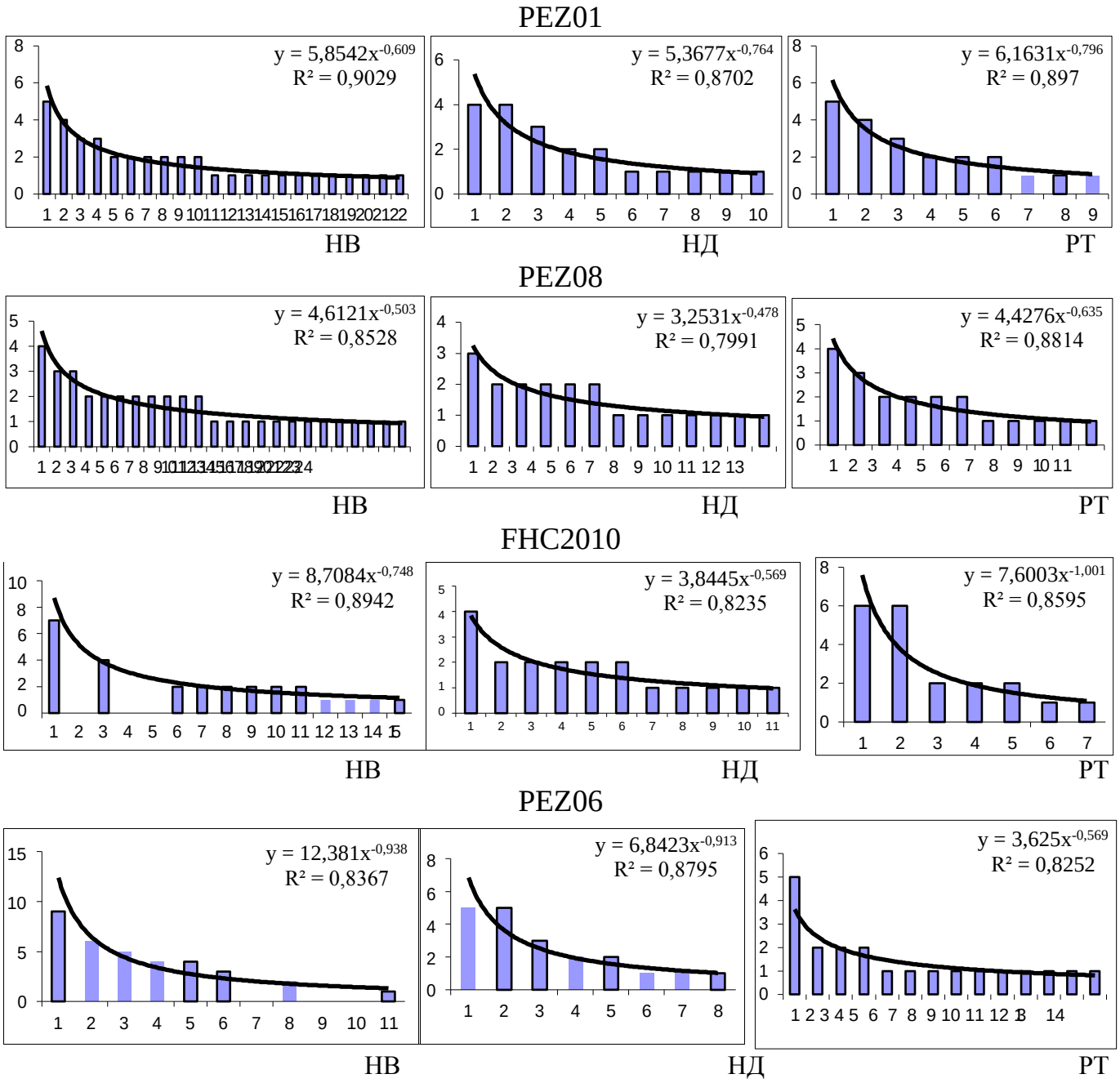
Диференціація порід собак за розподілом частот генотипів мікросателітних локусів ДНК

Локус	*df*	χ^2	*p*
PEZ01	42	44,01	0,395

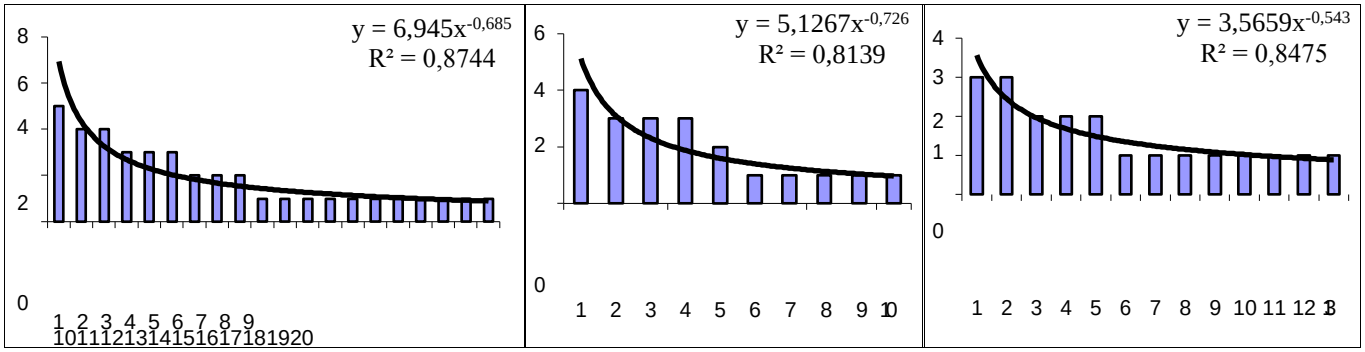
Продовж. табл. 4.29

PEZ08	50	45,017	0,769
FHC2010	28	33,707	0,205
PEZ06	42	82,838	0,0002
FHC2054	52	65,413	0,0489

Для оцінювання генетичного різноманіття було здійснено аналіз характеру розподілу частот генотипів за всіма дослідженими мікросателітними локусами ДНК. Дані одержані в результаті проведеної роботи наведено на рис. 4.60.



FHC2054

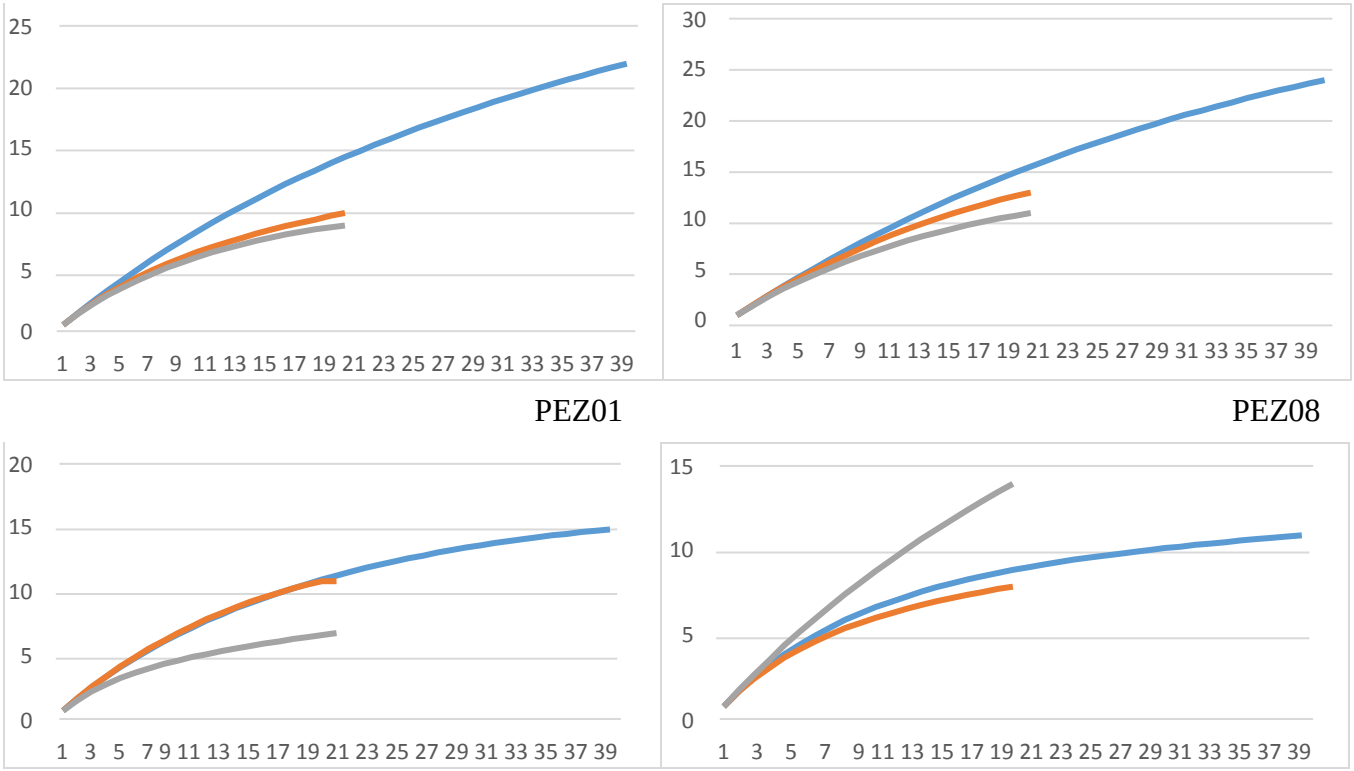


НВ НД РТ

Рис. 4.60 Характер розподілу частот генотипів у дослідженого поголів'я собак за 5-ма локусами мікросателітної ДНК (у – апроксимуюча модель (обрана ступінева функція) і ступінь її адекватності; R^2 – коефіцієнт детермінації).

Аналіз наведених діаграм підтверджує, що найбільший рівень поліморфізму за розподілом виявлених генотипів зафіксовано у породи німецька вівчарка і дещо нижчий в решти порід собак. підтвердженням чого є наведені на рис. 4.60 значення апроксимуючої моделі (обраної ступіневої функції) і ступінь її адекватності та коефіцієнту детермінації.

З метою оцінки генотипового різноманіття нами, також, було здійснено аналіз характеру розподілу частот генотипів у дослідженого поголів'я свійських собак за 5-ма локусами мікросателітної ДНК із застосуванням параметричного методу *rarefaction-curves* (рис. 4.61).



PEZ01 PEZ08

FHC2010 PEZ06

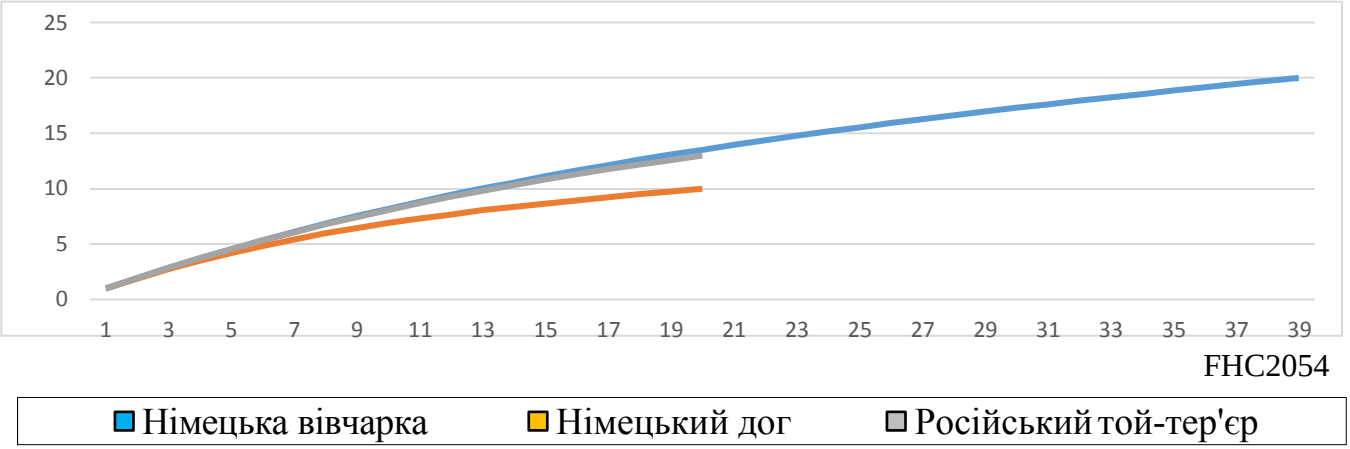


Рис. 4.61 Характер розподілу частот генотипів у собак за 10-ма локусами мікросателітної ДНК.

Як ми можемо побачити на приведених графіках за всіма дослідженими локусами тварини різних порід демонструють специфічний і кожного разу відмінний характер розподілу частот генотипів.

За локусом PEZ01 п’ять різноманітних генотипових варіантів (22,73%, 6,33%) зустрічались лише по одному разу, серед тварин породи НВ було відмічено 12 генотипів, що зустрічались лише по одному разу (54,55% від кількості генотипів виявлених у даної породи, 54,55% від загальної кількості генотипів виявлених за даним локусом у собак, 30,77% від чисельності проаналізованого поголів’я цієї породи, 15,19% від загального поголів’я проаналізованого поголів’я *Canis familliaris*) (рис. 4.60). Серед особин породи НД було виявлено 5 таких генотипів (50%, 22,73%, 25%, 6,33%). Тоді, як у РТ – лише 3 (33,33%, 13,64%, 15%, 3,8%). Також за даним локусом було виявлено 6 генотипів (27,27%, 7,6%), що зустрічались по два рази: у НВ – 6 (27,27%, 27,27%, 15,39%, 7,6%), у РТ – 3 (33,33%, 13,64%, 15%, 3,8%) і у НД – 2 (20%, 9,09%, 10%, 2,53%). Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 11 разів (50% від кількості визначених генотипів і 13,93% від загальної чисельності популяції). У тварин породи НВ – 18 разів (81,82%, 81,82%, 46,15%, 22,79%), у НД – 7 (70%, 31,82%, 35%, 8,86%) а у РТ – 6 разів (66,66%, 27,28%, 30% та 7,60%За локусом PEZ08 6 різноманітних генотипових варіантів (23,08%, 7,6%) зустрічались лише по одному разу, серед тварин породи НВ було відмічено 13 генотипів, що зустрічались лише по одному разу (54,17%, 50%, 33,33%, 16,46%). Серед особин породи НД було виявлено 7 таких генотипів (53,85%, 26,92%, 35%, 8,86%). Тоді, як у РТ – лише 5 (45,46%, 19,23%, 25%, 6,33%). Також, за даним локусом було виявлено 7 генотипів (26,92%, 8,86%), що зустрічались по два рази: у НВ – 8 (33,33%, 30,77%, 20,51%, 10,13%), у НД

– 5 (38,46%, 19,23%, 25%, 6,33%) й у РТ – 4 рази (45,46%, 19,23%, 25%, 6,33%). Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 13 разів (50% від кількості визначених генотипів і 16,46% від загальної чисельності популяції). У собак породи НВ – 21 раз (87,5%, 80,77%, 53,85%, 26,58%), у НД – 12 разів (92,31%, 46,15%, 60%, 15,19%) і у РТ – 9 разів (90,91%, 38,46%, 50%, 12,66%).

Хоча за локусом HFC2010, по виду загалом, генотипові варіанти, які б зустічались лише по одному разу були відсутні, по кожній породі окремо, такі генотипи було виявлено, так, наприклад, серед тварин породи НВ було відмічено 4 таких генотипи (26,67%, 26,67%, 10,26%, 5,13%) . Серед особин породи НД таких генотипів було виявлено 5 (табл. 4.30)

Таблиця 4.30

Кількість виявлених генотипів (Ng_1) у різних порід собак

Локус	По породі			По виду, загалом	По виду, в середньому
	НВ	НД	РТ		
PEZ01	12	5	3	5	6,25
PEZ08	13	7	5	6	7,75
FHC2010	4	5	2	0	3,66
PEZ06	3	3	10	7	5,33
FHC2054	11	5	8	10	8,5
середнє	8,6	5	5,8	5,4	6,467

(45,46%, 33,33%, 26,32%, 6,41%). А у собак породи РТ – лише 2 (42,86%, 20,0%, 15,0%, 3,85%). Також, за даним локусом було виявлено 2 генотипи (13,33% 2,56%), що зустрічались загалом по виду два рази: у НВ – 6 (40,0%, 40,0%, 15,39%, 7,69%), у НД – 5 (45,46%, 33,33%, 26,32%, 6,41%) і у РТ – 3 (42,87%, 20,01%, 15,0%, 3,84%). Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 2 рази (13,33%, 2,56%) (табл. 4.31). Серед тварин пород НВ та НД по 10 разів (66,67%, 66,67%, 25,64%, 12,82% та 90,91%, 66,67%, 52,63%, 12,82%, відповідно), РТ породи – 5 разів (57,14%, 26,67%, 20,0%, 5,13%).

За локусом PEZ06 7 різноманітних генотипових варіантів (27,27%, 7,60%) зустрічались лише по одному разу, серед тварин порід НВ та НД було відмічено по 3 таких генотипи (27,27%, 13,64%, 7,69%, 3,8% та 37,50%, 13,64%, 15%, 3,80%, відповідно). Тоді, як у собак породи РТ – 10 (71,43%, 45,46%, 50%, 12,66%). Також, за даним локусом було виявлено 4 генотипи (18,18% 5,06%), що зустрічались по два рази: у НВ – 1 (9,09%, 4,55%, 2,56%, 1,27%), у НД – 2 (25%, 9,09%, 10%, 2,53%) і у РТ

– 3 (21,43%, 13,64%, 15%, 3,80%). Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 10 разів (45,46%, 12,66%). Серед тварин породи НВ – 4 рази (36,36%, 18,18%, 10,26%, 5,06%), НД – 5 разів (62,50%, 22,73%, 25%, 6,33%), РТ породи – 13 разів (71,43%, 59,09%, 65%, 16,46%).

Таблиця 4.31

Кількість виявлених генотипів (Ng_2) у різних порід собак

Локус	По породі			По виду, загалом	По виду, в середньому
	НВ	НД	РТ		
PEZ01	6	2	3	6	4,5
PEZ08	8	5	4	7	6,25
FHC2010	6	5	3	2	3,5
PEZ06	1	2	3	4	2,5
FHC2054	3	1	3	2	2,25
середнє	4,8	3	3,2	4,2	3,667

За локусом FHC2054 10 різноманітних генотипових варіантів (37,04%, 12,66%) зустрічались лише по одному разу, серед тварин породи НВ було відмічено 11 генотипів, що зустрічались лише по одному разу (55%, 40,74%, 28,21%, 13,92%). Серед особин породи НД було виявлено 5 таких генотипів (50%, 18,52%, 25%, 6,33%). Тоді, як у собак породи РТ – 8 (61,54%, 29,63%, 40%, 10,13%). Також, за даним локусом було виявлено 2 генотипи (7,41% 2,53%), що зустрічались по два рази: у НВ та РТ – по 3 генотипи (15%, 11,11%, 7,69%, 3,80% та 30%, 11,11%, 15%, 3,80%, відповідно), а у НД – 1 (10%, 3,70%, 5%, 1,27%). Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 12 разів (44,45%, 15,19%). Серед тварин пород НВ – 14 разів (70%, 51,85%, 35,90%, 17,72%), НД – 6 разів (60%, 22,22%, 30%, 7,60%), РТ породи – 11 разів (84,62%, 40,74%, 55%, 13,92%).

За локусом PEZ01 п`ять породоспецифічних генотипів (22,73%, 22,73%, 12,82%, 6,33%) було виявлено лише у тварин породи НВ. За локусом PEZ08 серед особин породи НВ було відмічено 3 породоспецифічних генотипи (12,5%, 11,54%, 7,69%, 3,8%), а серед представників породи РТ – 2 (18,18%, 7,69%, 10%, 2,53%) у собак породи НД таких генотипів виявлено не було. За локусом HFC2010 породоспецифічні генотипів були відсутні в усіх досліджених групах (табл. 4.32).

Таблиця 4.32

Кількість виявлених генотипів (Ng_{unik}) у різних порід собак

Локус	По породі			По виду, загалом	По виду, в середньому
	НВ	НД	РТ		
PEZ01	5	0	0	5	1,67
PEZ08	3	0	2	5	1,67
FHC2010	0	0	0	0	0
PEZ06	7	0	4	11	3,67
FHC2054	14	0	1	15	5
середнє	5,8	0	1,4	7,2	2,4

За локусом PEZ06 серед особин породи НВ було відмічено 7 породоспецифічних генотипи (63,64%, 31,82%, 17,95%, 8,86%), а серед представників породи РТ – 4 (28,57%, 18,18%, 20%, 5,06%) у собак породи НД таких генотипів виявлено не було. За локусом FHC2054 серед особин породи НВ було відмічено 14 породоспецифічних генотипів (70%, 51,85%, 35,90%, 17,72%), а серед представників породи РТ – 1 (7,69%, 3,70%, 5%, 1,27%) у собак породи НД таких генотипів виявлено не було.

На рис. 4.62 наведено одержані за використання непараметричного методу А. Чао результати оцінки генотипів за досліджуваними мікросателітними локусами ДНК у розрізі трьох досліджуваних порід. Найвищим рівнем генотипового різноманіття характеризується локус FHC2054 – для нього кількість зареєстрованих генотипів може сягати 50 та більше. Найнижчим рівнем генотипової мінливості (кількість виявлених генотипів не перевищуватиме 17) характеризувався локус FHC2010. Для решти локусів характерною буде середня кількість зареєстрованих алелів (до 42).

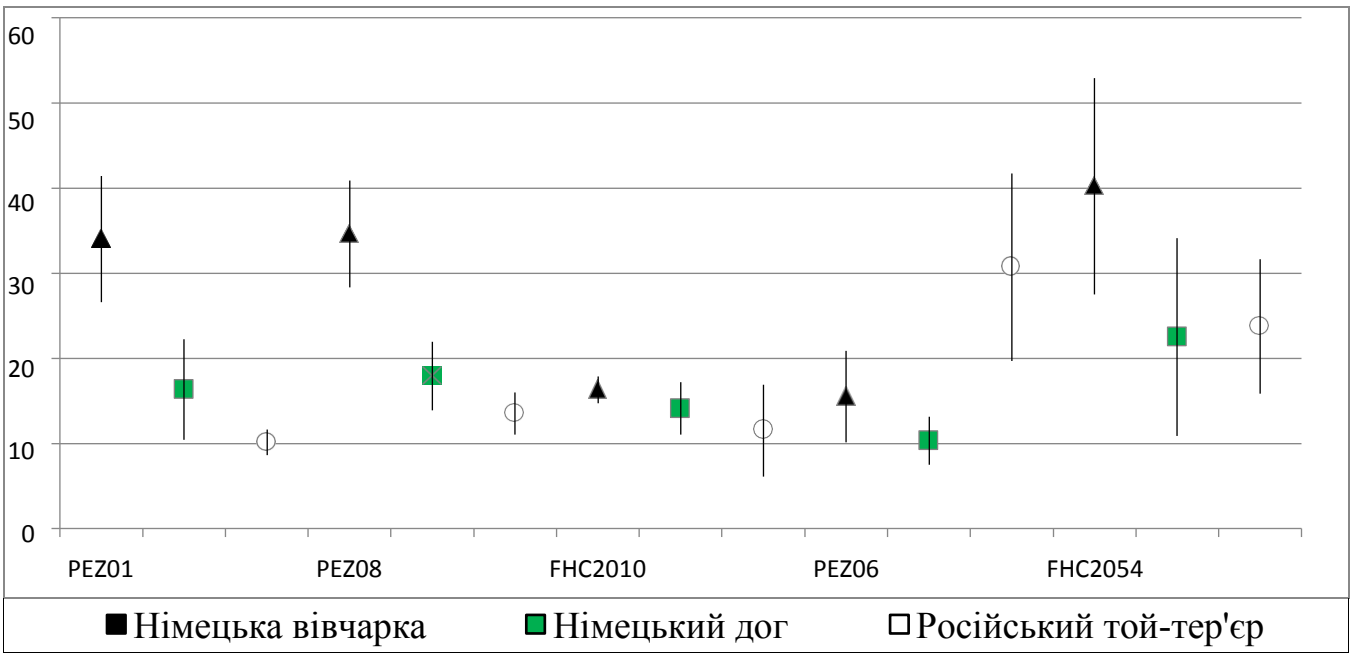


Рис. 4.62 Оцінки потенційної кількості генотипів (±1*SD*), одержані за допомогою непараметричного методу А.Чао за мікросателітними локусами.

В цілому, відмічається різний характер розподілу кількості генотипів за методом А. Чао. Так, найбільшу кількість потенційних генотипів за трьома з пяти локусів (PEZ01, PEZ08 та FHC2054) продемонстрували таварини породи НВ. За PEZ06 найбільшу потенційну кількість генотипів зафіксовано у собак породи РТ. Особини ж породи НД за всіма мікросателітними локусами характеризівались середньою потенційною кількістю генотипів.

4.4. Структура алелофонду та генотипова мінливість у різних промислових кросів свійської курки (*Gallus domesticus)*

Специфіка алелофондів свійської курки за мікросателітними локусами ДНК. Кількість виявлених алельних варіантів для ЛБ кросу коливалась від 3-х – для локусу MCW248 до 8-и – для LEI094, і становила в середньому 4,6±0,872 алелю на локус (табл. 4.33).

Таблиця 4.33

Структура кросу Ломан білий (ЛБ) за алелофондом

Локус	Na	Розмір п.н. (частота) алелів							
ADL268	4	106 (0,060)	108 (0,485)	110 (0,315)	112 (0,140)				
MCW216	4	125 (0,020)	127 (0,050)	135 (0,010)	137 (0,920)				

Продовж. табл. 4.33

LEI094	8	143 (0,015)	157 (0,015)	247 (0,010)	257 (0,065)	259 (0,725)	261 (0,125)	263 (0,015)	279 (0,030)
ADL278	4	106 (0,110)	108 (0,255)	114 (0,470)	116 (0,165)				
MCW248	3	211 (0,205)	213 (0,785)	221 (0,010)					

За локусом ADL268 виявлено 4 алельні варіанти розміром від 106 до 112 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,485) зустрічався алель $ADL268^{108}$, а найменш часто (0,060) – $ADL268^{106}$. За локусом MCW216 також було виявлено 4 алельні варіанти розміром від 125 до 137 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,920) зустрічався алель $MCW216^{137}$, а найменш часто (0,010) – $MCW216^{135}$. За локусом LEI094 виявлено 8 алельних варіантів розміром від 143 до 279 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,725) зустрічався алель $LEI094^{259}$, а найменш часто (0,010) – $LEI094^{247}$. За локусом ADL278 виявлено 4 алельних варіантів розміром від 106 до 116 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,470) зустрічався алель $ADL278^{114}$, а найменш часто (0,110) – $ADL278^{106}$. За локусом MCW248 виявлено 3 алельні варіанти розміром від 211 до 221 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,785) зустрічався алель $MCW248^{213}$, а найменш часто (0,010) – $MCW248^{221}$.

Кількість виявлених алельних варіантів для птиці кросу ЛК коливалась від 5 – для локусу ADL268 до 17 – для LEI094, і становила в середньому 9,2±2,059 алелі на локус (табл. 4.34).

Таблиця 4.34

Структура кросу Ломан коричневий (ЛК) за алелофондом

Локус	Na	Розмір п.н. / (частота) алелів								
ADL268	5	104 (0,024)	106 (0,114)	108 (0,337)	110 (0,367)	112 (0,157)				
MCW216	8	125 (0,012)	127 (0,006)	129 (0,012)	133 (0,036)	135 (0,398)	137 (0,325)	139 (0,199)	141 (0,012)	
LEI094	17	165 (0,006)	245 (0,015)	249 (0,012)	251 (0,024)	255 (0,006)	257 (0,030)	259 (0,259)	261 (0,133)	263 (0,253)
		265 (0,066)	267 (0,012)	271 (0,012)	273 (0,012)	277 (0,018)	279 (0,030)	281 (0,060)	283 (0,030)	
ADL278	7	104 (0,030)	106 (0,078)	108 (0,151)	112 (0,108)	114 (0,343)	116 (0,157)	118 (0,133)		
MCW248	9	207 (0,006)	209 (0,018)	211 (0,024)	213 (0,331)	215 (0,151)	217 (0,265)	219 (0,078)	221 (0,114)	223 (0,012)

За локусом ADL268 виявлено 5 алельні варіанти розміром від 104 до 112 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,367) зустрічався алель ADL268^{110}, а найменш часто (0,024) – ADL268^{104}. За локусом MCW216 виявлено 8 алельних варіантів розміром від 125 до 141 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,398) зустрічався алель MCW216^{135}, а найменш часто (0,006) – MCW216^{127}. За локусом LEI094 виявлено 17 алельних варіантів розміром від 165 до 283 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,259) зустрічався алель LEI094^{259}, а найменш часто (0,006) – LEI094^{165} та LEI094^{255}. За локусом ADL278 виявлено 7 алельних варіантів розміром від 104 до 118 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,343) зустрічався алель ADL278^{114}, а найменш часто (0,030) – ADL278^{104}. За локусом MCW248 виявлено 9 алельних варіанти розміром від 207 до 223 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,331) зустрічався алель MCW248^{213}, а найменш часто (0,006) – MCW248^{207}.

Кількість виявлених алельних варіантів для птиці кросу (ХСБ) породи коливалась від 5 – для локусів ADL268 та MCW216 до 9-ти – для LEI094, і становила в середньому 6,6±0,812 алелю на локус (табл. 4.35).

Таблиця 4.35

Структура кросу Хайсекс білий (ХСБ) за алелофондом

Локус	Na	Розмір п.н. / (частота) алелів								
ADL268	4	106 (0,016)	108 (0,213)	110 (0,367)	112 (0,157)					
MCW216	5	135 (0,066)	137 (0,393)	139 (0,295)	141 (0,238)	143 (0,008)				
LEI094	9	241 (0,008)	245 (0,074)	247 (0,180)	249 (0,082)	259 (0,197)	261 (0,262)	263 (0,131)	265 (0,049)	281 (0,016)
ADL278	8	106 (0,025)	108 (0,057)	110 (0,131)	114 (0,041)	116 (0,180)	118 (0,098)	120 (0,451)	122 (0,016)	
MCW248	6	211 (0,033)	213 (0,262)	215 (0,418)	217 (0,082)	219 (0,172)	221 (0,033)			

За локусом ADL268 виявлено 4 алельні варіанти розміром від 106 до 112 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,367) зустрічався алель ADL268^{110}, а найменш часто (0,016) – ADL268^{106}. За локусом MCW216 виявлено 5 алельних варіантів розміром від 135 до 143 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,393) зустрічався алель MCW216^{137}, а найменш часто (0,008) – MCW216^{143}. За локусом LEI094 виявлено 9 алельних варіантів розміром від 241 до 281 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,262) зустрічався алель LEI094^{261}, а найменш часто (0,008) – LEI094^{241}. За локусом ADL278 виявлено 8 алельних варіантів розміром від 106 до 122 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,451) зустрічався алелі ADL278^{120}, а найменш

часто (0,016) – ADL278^{122}. За локусом MCW248 виявлено 6 алельних варіантів розміром від 211 до 221 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,418) зустрічався алель MCW248^{215}, а найменш часто (0,033) – MCW248 MCW248^{211} та MCW248^{221}.

Кількість виявлених алельних варіантів для СЛБ кросу коливалась від 4 – для локусів MCW0216 та MCW0248 до 6-ти – для решти локусів і становила в середньому 5,2±0,49 алелю на локус (табл. 4.36).

Таблиця 4.36

Структура кросу Хайлайн білий (ХЛБ) за алелофондом

Локус	Na	Розмір п.н. / (частота) алелів					
ADL268	6	104 (0,023)	106 (0,068)	108 (0,500)	110 (0,068)	112 (0,318)	114 (0,232)
MCW216	4	137 (0,250)	139 (0,384)	141 (0,318)	143 (0,045)		
LEI094	6	245 (0,023)	247 (0,023)	255 (0,023)	259 (0,159)	261 (0,477)	263 (0,295)
ADL278	6	106 (0,159)	108 (0,136)	112 (0,045)	114 (0,386)	116 (0,250)	118 (0,023)
MCW248	4	213 (0,636)	215 (0,068)	217 (0,250)	219 (0,045)		

а локусом ADL268 виявлено 4 алельні варіанти розміром від 104 до 114 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,500) зустрічався алель ADL268^{108}, а найменш часто (0,023) – ADL268^{104}. За локусом MCW216 також було виявлено 4 алельні варіанти розміром від 137 до 143 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,384) зустрічався алель MCW216^{139}, а найменш часто (0,045) – MCW216^{143}. За локусом LEI094 виявлено 6 алельних варіантів розміром від 245 до 263 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,477) зустрічався алель LEI094^{261}, а найменш часто (0,023) – LEI094^{245}, LEI094^{247} та LEI094^{255}. За локусом ADL278 виявлено 6 алельних варіантів розміром від 106 до 118 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,386) зустрічався алель ADL278^{114}, а найменш часто (0,023) – ADL278^{118}. За локусом MCW248 виявлено 3 алельні варіанти розміром від 213 до 219 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,636) зустрічався алель MCW248^{213}, а найменш часто (0,045) – MCW248^{219}.

Кількість виявлених алельних варіантів для птиці кросу (ХСК) коливалась від 6 – для локусів ADL0268 та MCW0248 до 11-ти – для LEI094, і становила в середньому 7,4±0,927 алелі на локус (табл. 4.37).

Таблиця 4.37

Структура кросу Хайсекс коричневий (ХСК) за алелофондом

Локус	Na	Розмір п.н. / (частота) алелів								
ADL268	6	104 (0,019)	106 (0,031)	108 (0,272)	110 (0,265)	112 (0,216)	114 (0,198)			
MCW216	7	135 (0,093)	137 (0,185)	139 (0,241)	141 (0,191)	143 (0,136)	145 (0,080)	147 (0,074)		
LEI094	11	245 (0,204)	247 (0,185)	249 (0,148)	251 (0,019)	253 (0,006)	257 (0,025)	259 (0,099)	261 (0,068)	263 (0,136)
		265 (0,105)	281 (0,006)							
ADL278	7	108 (0,185)	110 (0,099)	112 (0,117)	116 (0,179)	118 (0,148)	120 (0,142)	122 (0,130)		
MCW248	6	213 (0,210)	215 (0,179)	217 (0,136)	219 (0,167)	221 (0,272)	223 (0,037)			

За локусом ADL268 виявлено 6 алельних варіантів розміром від 104 до 114 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,265) зустрічався алель $ADL268^{110}$, а найменш часто (0,019) – $ADL268^{104}$. За локусом MCW216 виявлено 7 алельних варіантів розміром від 135 до 147 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,241) зустрічався алель $MCW216^{139}$, а найменш часто (0,074) – $MCW216^{147}$. За локусом LEI094 виявлено 11 алельних варіантів розміром від 245 до 281 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,204) зустрічався алель $LEI094^{245}$, а найменш часто (0,006) – $LEI094^{253}$ та $LEI094^{281}$. За локусом ADL278 виявлено 7 алельних варіантів розміром від 108 до 122 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,185) зустрічався алель $ADL278^{108}$, а найменш часто (0,099) – $ADL278^{110}$. За локусом MCW248 виявлено 3 алельних варіантів розміром від 213 до 223 п.н., серед яких з найбільшою частотою (0,272) зустрічався алель $MCW248^{221}$, а найменш часто (0,037) – $MCW248^{223}$.

Частота окремих алельних варіантів локусу ADL268 достовірно відрізнялась у тварин різних порід (p=0,0001). При цьому спостерігається суттєва нерівномірність розподілу різних алелів (рис. 4.63). Так, в окремих кросах спостерігається значна (>30%) консолідація за окремими алельними варіантами, а саме: у ЛБ – за $ADL268^{110}$ (30%) та $ADL268^{108}$ (48,5%); у ЛК – за $ADL268^{108}$ (33,7%) та $ADL268^{110}$ (36,7%); у ХСБ – за $ADL268^{110}$ (49%); у ХЛБ – за $ADL268^{112}$ (31,8%) та $ADL268^{108}$ (50%); і у ХСК – за $ADL268^{108}$ (31%). З локусом ADL268 з 6 виявлених алельних варіантів відносно високу частоту (0,2-0,3) мали лише 3, а інші $ADL268^{104}$ зустрічався з частотою меншою за 0,025.

Найбільший розмах за даною характеристикою продемонстрували кроси ХЛБ та ХСК ($ADL268^{104}$-$ADL268^{114}$). Середній – ЛК ($ADL268^{104}$ - $ADL268^{112}$) та ХСБ

($ADL268^{106}$ - $ADL268^{114}$) і найбільш консолідованими за даним показником виявились особини кросу ЛБ ($ADL268^{106}$ – $ADL268^{112}$). Спектри алельного різноманіття продемонстрували спільні для всіх досліджуваних груп тварин тенденції.

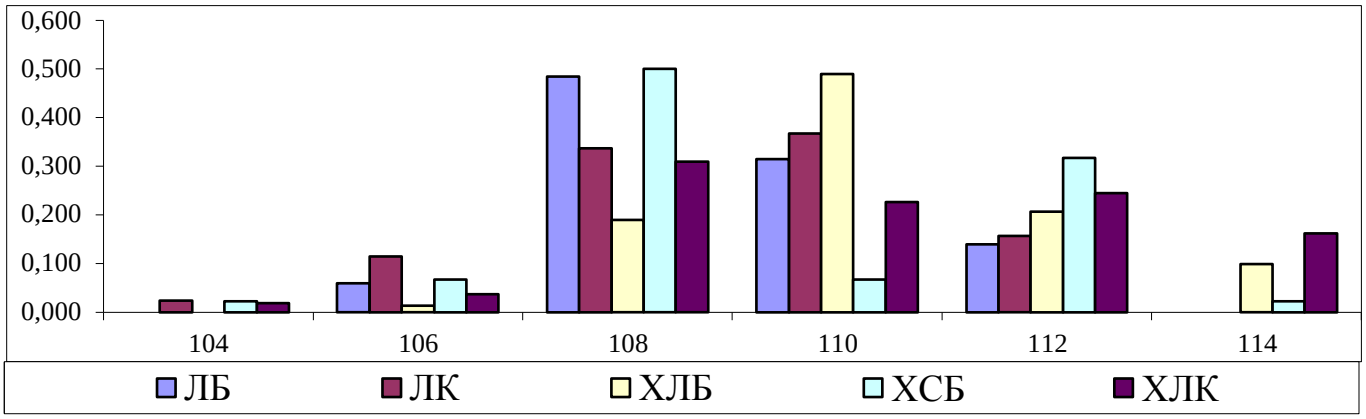


Рис. 4.63 Алельні спектри різних кросів курки за локусом ADL268.

Найвищою частотою, з виявлених алелів, характеризувались $ADL268^{108}$ (0,500 у ХЛБ та 0,485 у ЛБ), а також $ADL268^{110}$ (0,490 у ХСБ). Серед особин кросу ХСБ не було виявлено алелю $ADL268^{104}$, а алель $ADL268^{114}$ був відсутній в кросах ЛБ та ЛК.

Частота окремих алельних варіантів локусу MCW0216 достовірно відрізнялась у особин, що належать до різних кросів (p = 0,0001). При цьому спостерігається нерівномірність розподілу різних алелів (рис. 4.64). Так, з 11 алелів відносно високу частоту (0,10-0,15) мали лише 3, а 4 зустрічались з частотою меншою за 0,05.

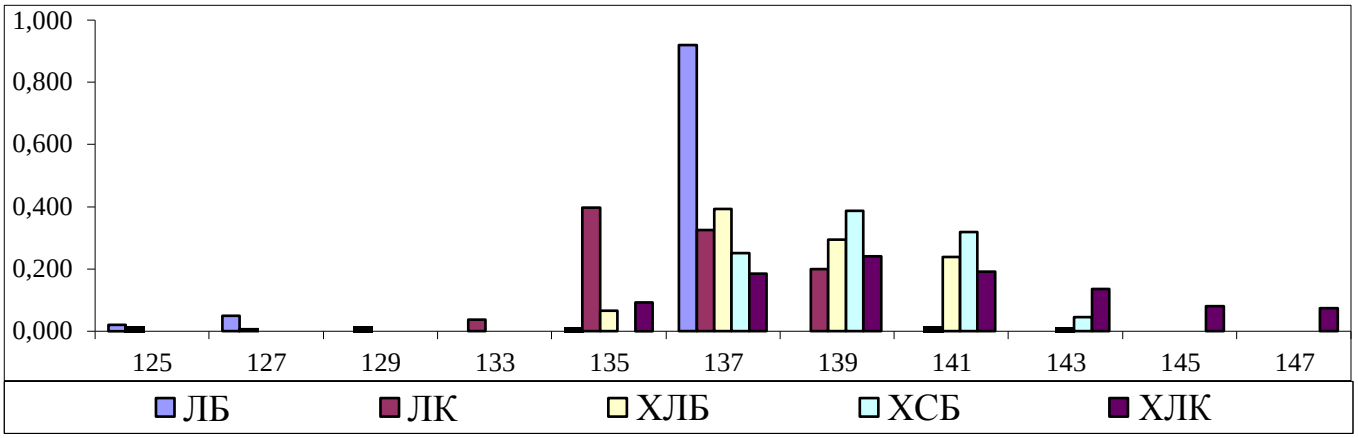


Рис. 4.64 Алельні спектри різних кросів курки за локусом MCW0216.

Серед особин, що належать до кросу ЛБ найпоширенішим був алель $MCW0216^{137}$, а решта виявлялась з частотою меншою за 0,5, спектр цього кросу було зсунуто в бік більш коротких алелів ($MCW0216^{125}$- $MCW0216^{137}$) таку ж тенденцію було виявлено й серед представників кросу ЛК ($MCW0216^{125}$- $MCW0216^{139}$), найчастіше зустрічались алелі $MCW0216^{135}$, $MCW0216^{137}$ та $MCW0216^{139}$. Спектр

кросу ХСБ був одним з найвужчих (MCW0216^{135}- MCW0216^{141}) і більш-менш рівномірним, найменшу частоту демонстрував алель MCW0216^{135} (0,066), решта зустрічалась з частотами вищими за 0,238. Другим кросом в якого за даним локусом було зафіксовано найвужчий алельний спектр був ХЛБ (MCW0216^{137}- MCW0216^{143}), останній виявлявся з частотою 0,045, а решта – більшою за 0,25. І, нарешті, крос ХСК мав один з найширших алельних спектрів (MCW0216^{135}- MCW0216^{147}) з максимальною кількстю довгих аллелів.

Слід відмітити, що алелі MCW0216^{145} та MCW0216^{147} було виявлено лише у особин, що належали до кросу ХСК, MCW0216^{129} та MCW0216^{133} – ЛК, MCW0216^{125} та MCW0216^{127} виявляли в кросах ЛБ та ЛК.

Частота окремих алельних варіантів локусу LEI094 достовірно відрізнялась у тварин різних порід (χ^2=595,42; *df*=84; p=0,0001). При цьому спостерігається суттєва нерівномірність розподілу різних алелів (рис. 4.65). Так, з 22 алелів відносно високу частоту (0,10-0,15) мали лише 3, а 13 зустрічались з частотою меншою за 0,05.

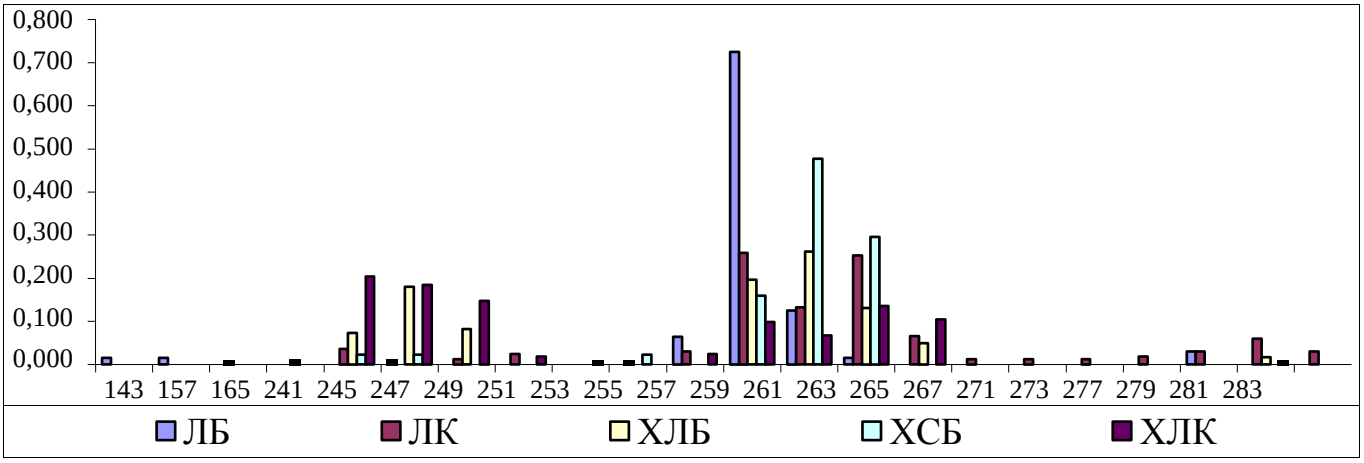


Рис. 4.65 Алельні спектри різних кросів курки за локусом LEI094.

Найбільший розмах за даною характеристикою продемонстрували кроси ЛБ (LEI094^{143}- LEI094^{279}) та ЛК (LEI094^{165}- LEI094^{283}). Середній – ХСБ (LEI094^{241}- LEI094^{281}) та ХСК (LEI094^{245}- LEI094^{281}) і найменший поліморфізм за даним показником виявилась виборка кросу ХЛБ (LEI094^{245}- LEI094^{263}). При цьому спектри алельного різноманіття продемонстрували наступні тенденції: спектри білих кросів (ЛБ) виявили незначне тяжіння до більш коротких алелів, на противагу коричневим кросам (у ЛК зафіксовано найдовший алель (LEI094^{283}). Найвищою частотою, з виявлених алелів, характеризувався алель LEI094^{259} у ЛБ (0,725). Слід відмітити, що алелі LEI094^{143} та LEI094^{157} було виявлено лише у особин кросу ЛБ, LEI094^{165},

LEI094^{267}, LEI094^{271}, LEI094^{273}, LEI094^{277} та LEI094^{283} – лише у ЛК, LEI094^{241} – лише у ХСБ, а LEI094^{253} – лише у ХСК.

Частота окремих алельних варіантів локусу ADL0278 достовірно відрізнялась у тварин різних порід (p=0,0001) (рис. 4.66).

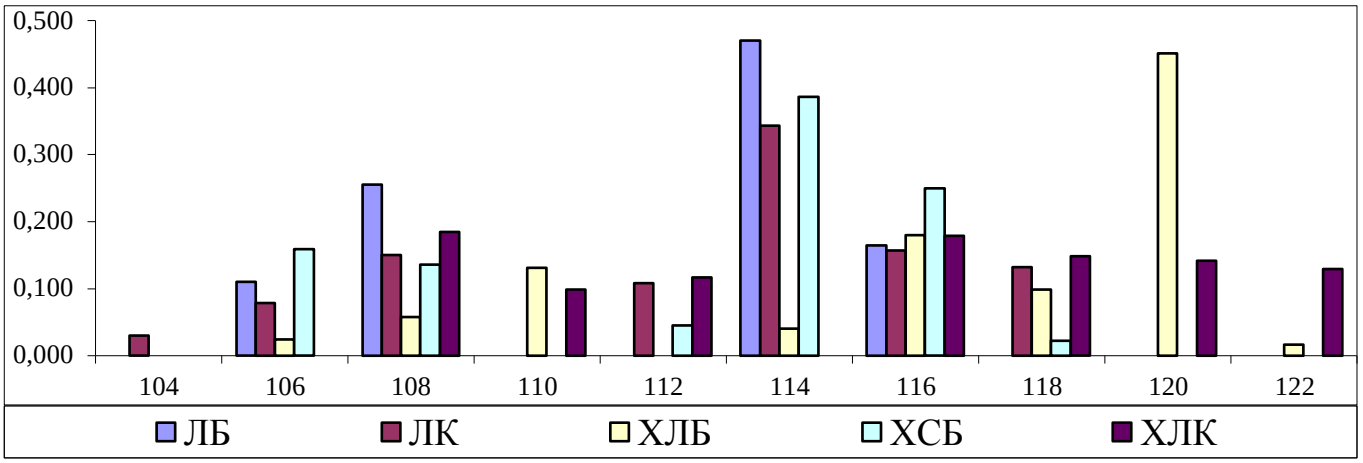


Рис. 4.66 Алельні спектри різних кросів курки за локусом ADL0278.

У птиці кросів ЛБ, ЛК та ХЛБ найчастіше виявляли алель ADL0278^{114}, у особин кросу ХСБ – ADL0278^{120}, а у представників кросу ХСК частоти алелів були приблизно однаковими. Алель ADL0278^{104} було визначено лише у особин кросу ЛК, алелі ADL0278^{110}, ADL0278^{120} та ADL0278^{122}, було виявлено тільки в кросах ХСБ та ХСК.

Частота окремих алельних варіантів локусу MCW0248 достовірно відрізнялась у особин, що належать до різних кросів (p = 0,0001) (рис. 4.67).

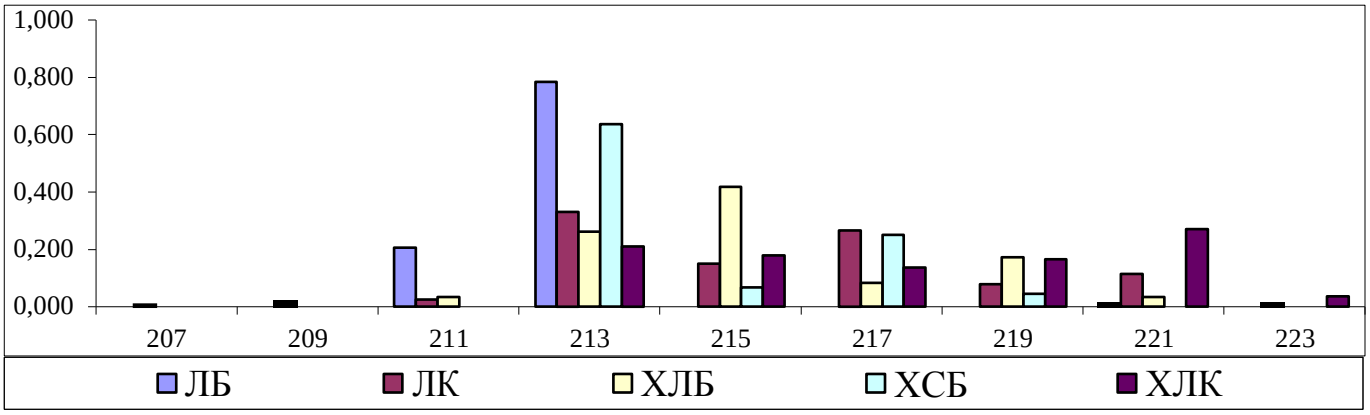


Рис. 4.67 Алельні спектри різних кросів курки за локусом MCW0248.

Серед особин, що належать до кросів ЛБ та ХЛБ з найбільшою частотою виявлявся алель MCW0216^{213}, у птиці кросу ХСБ – MCW0216^{215}, у птиці кросів ХЛБ та ХСК частоти алелів були розподілені приблизно порівну. Слід відмітити, що алелі MCW0216^{207} та MCW0216^{209} було виявлено лише в особин, належних до кросу ЛК, а

MCW0216[223] – ЛК та ХСК. Найбільший розмах алельного поліморфізму за даним локусом зафіксовано у кросу ЛК (MCW0216[207] - MCW0216[223]), а найменший – у ХЛБ (MCW0216[213] - MCW0216[219]).

З 5 досліджених кросів свійської курки тільки в 4х і лише за 4-ма мікросателітними локусами з 5-ти було зареєстровано специфічні алелі (табл. 4.39). Причому, найбільшу кількість алелів – 11 (64,7%) було відмічено у кросу ЛК, 3 (17,7%) у популяції ХСК, 2 (11,8%) у ЛБ і один (5,8%) у ХСБ. Такий самий розподіл зберігався і відносно кількості локусів в яких зареєстровано специфічні алелі: найбільшу кількість (4 (80%) виявлено у птиці кросу ЛК, у ХСК – 2 (40%), а у ЛБ та ХСБ – по 1 (20%). Найбільшу кількість специфічних алелів – 6 зареєстровано в ЛК за локусом LEI094. У популяції ХСК 2 специфічні алелі вивлено за локусом MCW216 і один за LEI094, у ЛБ – 2 і у ХСБ – 1, знову ж таки за LEI094.

Слід відмітити, що лише за локусом LEI094 специфічні алелі було виявлено у всіх чотирьох кросах свійської курки, в яких вони були зафіксовані. За локусом MCW216 приватні алелі було виявлено лише у птиці коричневих кросів (табл. 4.38) .

Таблиця 4.38

Частота специфічних алелів для різних кросів курки

	ЛБ		ЛК		ХСБ		ХСК	
Локус	алель	частота	алель	частота	алель	частота	алель	частота
MCW216	-	-	129	0,012	-	-	145	0,080
MCW216	-	-	133	0,036	-	-	147	0,074
LEI094	143	0,015	165	0,006	241	0,008	253	0,006
LEI094	157	0,015	267	0,012	-	-	-	-
LEI094	-	-	271	0,012	-	-	-	-
LEI094	-	-	273	0,012	-	-	-	-
LEI094	-	-	277	0,018	-	-	-	-
LEI094	-	-	283	0 ,030	-	-	-	-
ADL0278	-	-	104	0,030	-	-	-	-
MCW0248	-	-	207	0,006	-	-	-	-
MCW0248	-	-	209	0,018	-	-	-	-
В цілому	2	0,015	11	0,018±0,003	1	0,008	3	0,053±0,024

Кількість алелів (розрахована за допомогою rarefaction-методу в перерахунку на 50 випадково обраних особин) значно варіює, як для тварин різних порід, так і для

різних локусів (табл. 4.39). Найбільший рівень алельного різноманіття відмічено у курей кросу Ломан коричневий за локусом LEI094 (12,44), а найнижчий – у птиці кросу Ломан білий за локусом MCW248 (2,44)

Таблиця 4.39

Кількість алелів, в т.ч. специфічних, розрахована, за rarefaction-методом (n=50) для 10 мікросателітних локусів курки свійської

Локус	Крос									
	ЛБ		ЛК		ХСБ		ХЛБ		ХСК	
	Na	Na_{unic}	Na	Na_{unic}	Na	Na_{unic}	Na	Na_{unic}	Na	Na_{unic}
ADL268	3,9716	0	4,7646	0	4,5947	0	6	0,0769	5,5187	0
MCW216	3,0731	0,9969	5,7282	1,5775	4,3462	0	4	0,0001	6,9806	1,9836
LEI094	5,9845	1,3303	12,4409	4,0071	7,8899	0,3788	6	0,6988	9,0469	0,477
ADL278	3,9988	0	6,8288	0,8377	7,2184	0,0021	6	0	6,9972	0,3973
MCW248	2,4384	0,0364	7,2325	1,0163	5,6819	0	4	0	5,8952	0,4361
Середнє	3,89	0,47	7,40	1,49	5,95	0,08	5,20	0,16	6,89	0,66

У цілому тварини різних кросів характеризувались різною середньою кількістю алелів на локус – 3,89 (ЛБ), 7,40 (ЛК), 5,95 (ХСБ), 5,20 (ХЛБ) та 6,89 (ХСБ).

Кількість специфічних алелів алелів була найвищою у курей кросу ЛК за локусом LEI094 – 4,01, а найнижчою (0,0001) у птиці кросу ХЛБ за локусом MCW216. У птиці кросів ЛБ за локусами ADL268 та ADL278, ЛК – ADL268, ХСБ – ADL268, MCW216 та MCW248, ХЛБ – ADL278 та MCW248 і ХСК за локусом ADL268 специфічних алелів виявлено не було . Найвищою середньою кількістю специфічнних алелів також характеризувався крос ЛК (1,49), в той час, коли в решти кросів цей показник не перевищував одиниці. На нашу думку, слід окремо відмітити, що найбільш поліморфним в усіх кросах був мікросателітний локус LEI094, а ним же було відмічено і найбільшу кількість специфічнних алелів в птиці всіх досліджених кросів. Найменш поліморфними у різних кросах були різні локуси, у ЛБ – MCW248, у ЛК та ХСК – ADL268, у ХСБ – MCW216, а у ХЛБ – MCW216 та MCW248.

Отримані оцінки критерію χ^2 Пірсона (табл. 4.40) дозволяють стверджувати про високодостовірні (p<0,001) відмінності у їхньому розподілі за частотами алелів за всіма дослідженими локусами

Таблиця 4.40

Ступінь генетичної диференціації між кросами свійської курки за розподілом частот алелів мікросателітних локусів ДНК

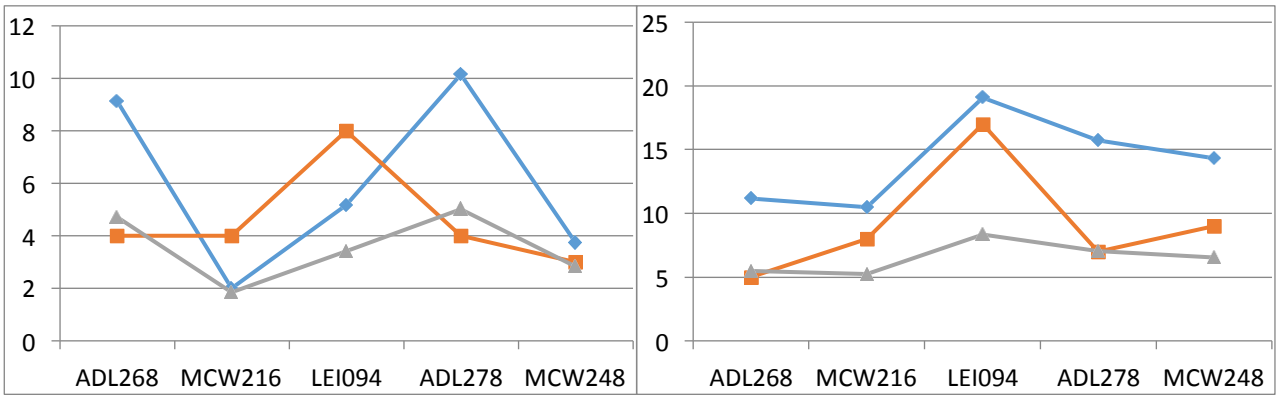
Локус	*df*	χ^2	*p*
ADL268	20	173,89	0,0001
MCW216	40	651,32	0,0001

Продовж. табл. 4.40

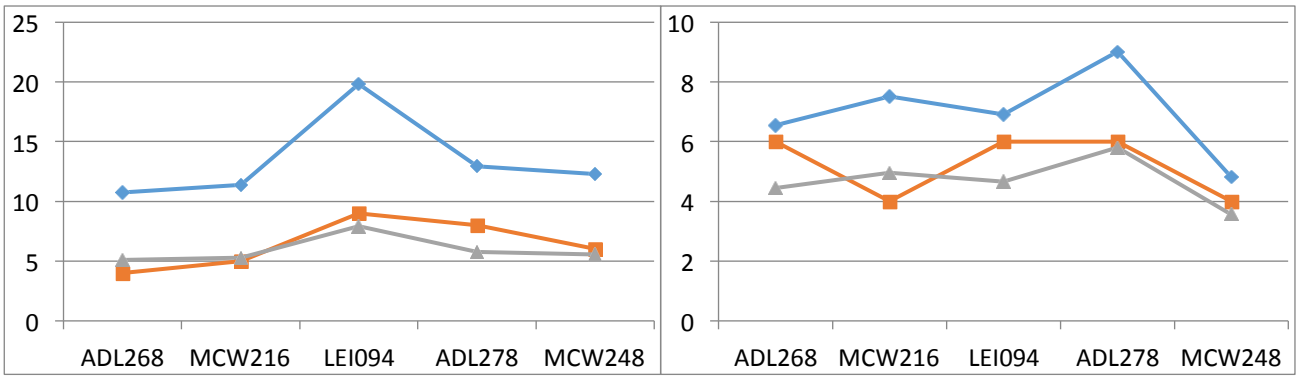
LEI094	84	595,42	0,0001
ADL278	36	617,32	0,0001
MCW248	32	517,8	0,0001

Загалом по виду результати розрахунків обох використаних математичних моделей SMM та IAM достовірно відрізнялись від фактичної кількості виявлених алельних варіантів ($\chi^2_5(p<0{,}05) = 12{,}89$ та $\chi^2_5(p<0{,}0001) = 64{,}36$), хоча модель SMM і була більш адекватною для апроксимації рівня алельного різноманіття за всіма без виключень дослідженими мікросателітними локусами, ніж модель IAM, яка значно завищує фактичні величини, а відхилення SMM моделі не перевищували 5 пунктів (рис. 4.68).

Для тварин кросу ЛБ результати одержані за допомогою моделі SMM повністю співпадали (±0,15) з фактичною кількістю виявлених алелів лише за локусом MCW248, а за локусами ADL0268 та ADL0278 вдхилення не перевищували 1,0, за



А Б



В Г

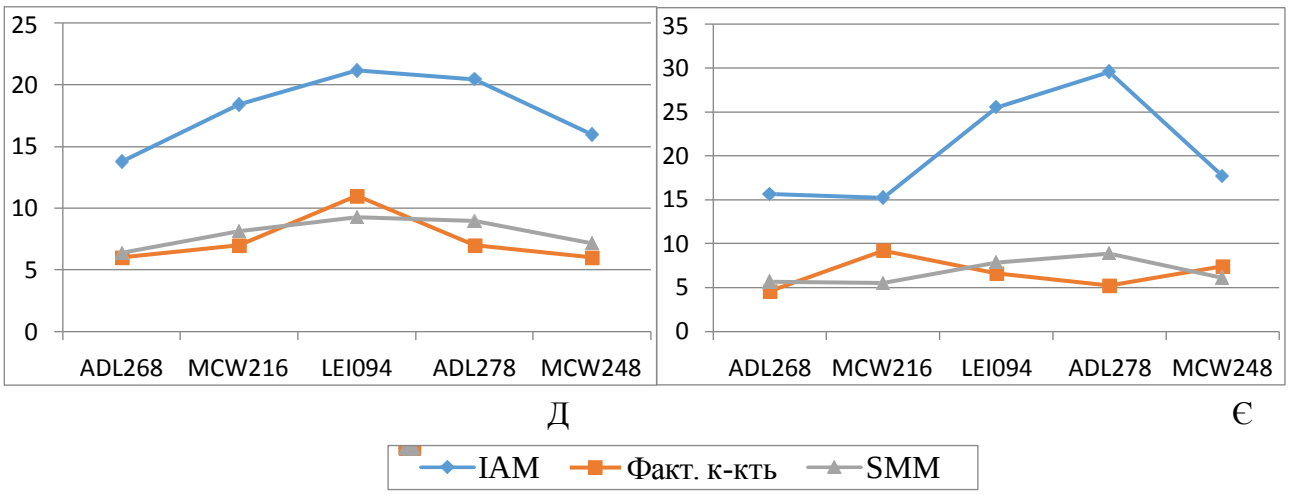


Рис. 4.68 Фактична кількість виявлених алелів за мікросателітними локусами ДНК (кроси ЛБ (А), ЛК (Б), ХСБ (В), ХЛБ (Г), ХСК (Д) та загальна для виду (Є).

рештою локусів відхилення були більш значними. Не зважаючи на високий рівень адекватності моделі IAM за трьома з п`яти досліджених мікросателітних локусів для апроксимації рівня алельного різноманіття, модель SMM була більш адекватною для апроксимації рівня алельного різноманіття ніж модель IAM (χ^2_5 ($p \leq 0{,}001$) = 18,18) (рис. 4.68 (А). Для особин кросу ЛК результати одержані за допомогою моделі SMMза двома локусами ADL0268 та ADL0278 повністю співпадали з фактичною кількістю виявлених алелів і ще за двома (MCW216 та MCW248) становили приблизно 2,5, а за локусом LEI094 відхилення перевищувало 8,0 (8,66). Дана модель в цієї породи була більш адекватною для апроксимації рівня алельного різноманіття за мікросателітними локусами ДНК ніж IAM (χ^2_5 ($p < 0{,}0001$) = 22,70), хоча у даного кросу модель IAM також показала високий рівень адекватності, а за локусами MCW216 та LEI094 навіть вищий ніж модель SMM (рис. 4.68 (Б). Для особин кросу ХСБ результати одержані за допомогою моделі SMM практично повністю відповідали фактично одержаним результатам, за локусом MCW216 відхилення становило 0,28, за локусом MCW248 – 0,5, за локусами ADL0268 та LEI094 по 1,08, і за локусом ADL0278 2,27. Дана модель в цієї породи була більш адекватною для апроксимації рівня алельного різноманіття за мікросателітними локусами ДНК, ніж модель IAM (χ^2_5 ($p < 0{,}0001$) = 37,54), (рис. 4.68 (В). Для особин кросу ХЛБ результати одержані за допомогою моделі SMM практично повністю відповідали фактично одержаним результатам, за локусом ADL0278 відхилення становило 0,2, за локусом MCW248 – 0,44, за локусом MCW216 – 2,0, за рештою локусів відхилення були ще

більш значними. Для даного кросу обидві використані моделі були адекватними для апроксимації рівня алельного різноманіття за мікросателітними локусами ДНК (відмінності обох моделей були недостовірними). Хоча модель SMM і виявила більше відповідності реальній кількості виявлених алелів ніж модель IAM. Крім того, слід відмітити, що за локусами ADL0268 та LEI094 модель IAM виявилась більш адекватною в порівнянні з SMM, а за локусом MCW248 модель IAM відхилялась від реальної кількості менше ніж на 1,0. (рис. 4.68 (Г). Для особин кросу ХСК результати одержані за допомогою моделі SMM практично повністю відповідали фактично одержаним результатам, за локусом ADL0278 відхилення становило 0,37, за локусами MCW216 та MCW248 – 1,12 та 1,16, відповідно, а за локусами LEI094 та ADL0278 – 1,73 та 1,95, відповідно. Дана модель в цього кросу була більш адекватною для апроксимації рівня алельного різноманіття за мікросателітними локусами ДНК, ніж модель IAM (χ^2_5 (p<0,0001) = 80,26) (рис. 4.68 (Д).

Генотиповий поліморфізм свійської курки різних промислових кросів за мікросателітними локусами ДНК. За локусом ADL268 виявлено 20 (4,9%) різних генотипових варіантів (рис. 4.69), 5 (25%, 22,73%, 1,23%) у ХЛБ, по 8 у птиці кросів ЛБ (40%, 8%, 1,96%) та ХСБ(40%, 6,56%, 1,96%), 12 (60%, 14,46%, 2,94%) у ЛК, та 17 (85%, 20,99%, 4,17%) у ХСК. Деякі з них широко представлені серед досліджуваних тварин – генотип ADL268$^{108/110}$ (відмічено у 108 особин (26,47%). Він же є найпоширенішим в кросах ЛК (19 особин (22,89%, 4,66%), ХСБ (26 особин (21,31%, 6,37%) та ЛБ (50 особин (50%, 12,26%). У кросах ХСК та ХЛБ найбільше поширення (по 14 особин) мають генотипи ADL268$^{108/108}$ (17,28%, 4,17%) та ADL268$^{108/112}$ (63,64%, 3,43%), відповідно.

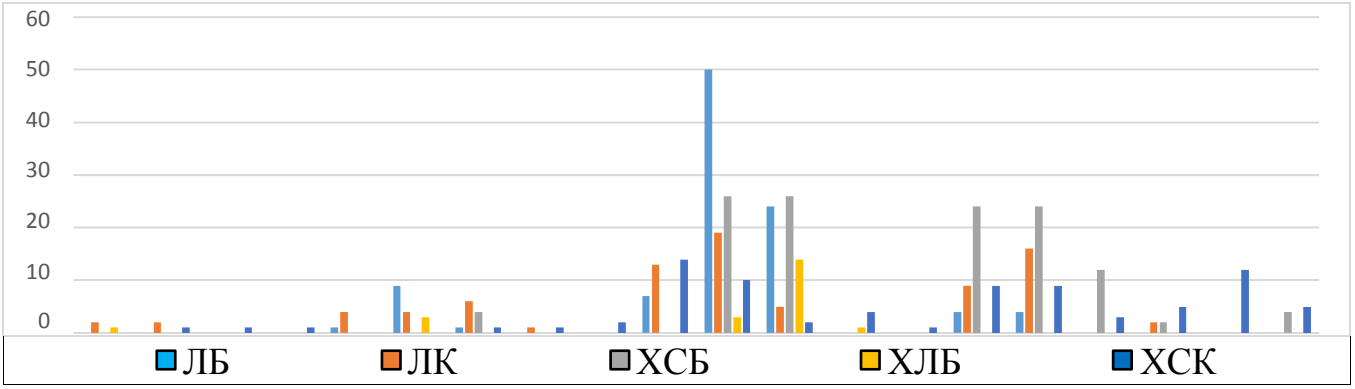


Рис.4.69 Генотипові спектри різних кросів свійської курки за локусом ADL268.

За локусом MCW0216 виявлено 20 (4,9%) різних генотипових варіантів, у птиці кросу ЛК – 12 (60%, 14,46%, 2,94%), ХСК – 9 (45%, 11,11%, 2,21%), ХСБ – 7 (35%,

5,74%, 1,72%), ХЛБ – 5 (25%, 22,73%, 1,23%) та 4 (20%, 4%, 0,98%) у ЛБ (рис. 4.70). Найпоширенішим серед досліджуваних тварин є генотип MCW0216$^{137/137}$ (відмічено у 133 особин (32,6%). Цей же генотип є наймасовішим в кросах ЛБ (84 особини (84%, 20,59%) та ХСБ (38 особин (31,15%, 9,31%). У птиці кросу ЛК наймасовішим є алель MCW0216$^{135/137}$ (21 особина (25,3%, 5,15%), у ХЛБ – MCW0216$^{137/141}$ та MCW0216$^{139/141}$ (по 7 особин (31,82%, 1,72%, кожен), а у ХСК найчастіше зустрічається генотип – MCW0216$^{137/139}$ (у 13 особин (16,05%, 3,19%).

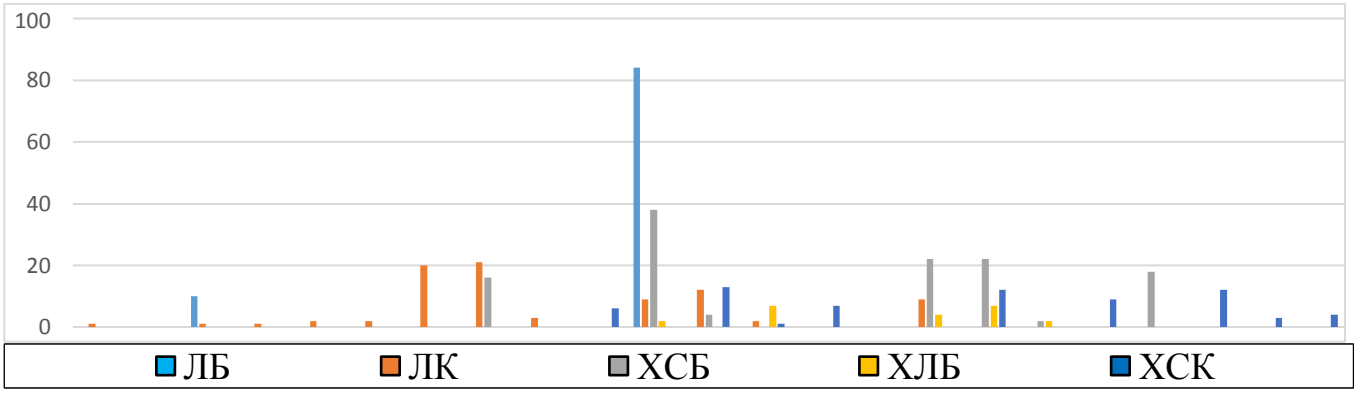


Рис.4.70 Генотипові спектри курки за локусом MCW0216.

За локусом LEI094 виявлено 55 (13,48%) різних генотипових варіантів, у особин, що належать до кросу ХСК – 32 (58,18%, 39,51%, 7,84%), ЛК – 27 (49,09%, 32,53%, 6,62%), ХСБ – 19 (29,09%, 15,57%, 4,66%), ЛБ – 11 (20%, 11%, 2,7%), та ХЛБ – 8 (14,55%, 36,36%, 1,96%) (рис. 4.71). Найпоширенішим серед досліджуваних тварин є генотип LEI094$^{259/259}$ (відмічено у 83 особин (20,34%). Цей самий генотип є наймасовішим і в кросі ЛБ (58 особин (58%, 14,22%) У особин кросу ЛК найчастіше зустрічається генотип – LEI094$^{259/263}$ (у 18 особин (21,69%, 4,41%), у ХСБ – LEI094$^{259/261}$ (також 18 особин (14,75%, 4,41%), у ХЛБ – LEI094$^{261/261}$ (у 6 особин (27,27%, 1,47%), а у ХСК птиці – генотип LEI094$^{245/247}$ (12 особин (14,82% 2,94%).

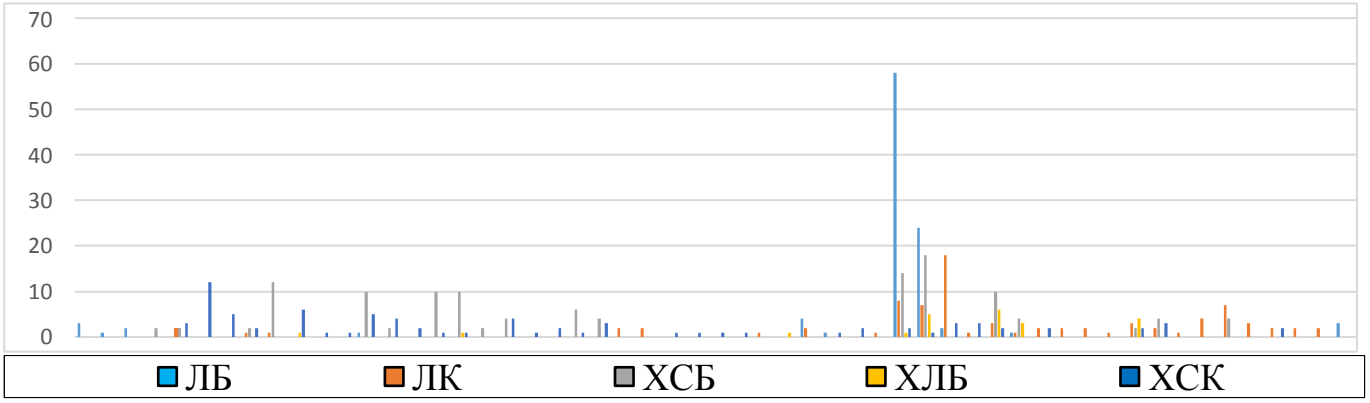


Рис.4.71 Генотипові спектри курки за локусом LEI094.

За локусом ADL0278 виявлено 36 (8,82%) різних генотипових варіантів, у особин, що належать до кросу ЛК – 22 (61,11%, 26,51%, 5,39%), ХСК – 21 (58,33%, 25,93%, 5,15%), ХСБ – 13 (36,11%, 10,66%, 3,19%), СЛБ – 10 (27,78%, 45,46%, 2,45%), та ЛБ – 8 (22,22%, 8%, 1,96%) (рис. 4.72). Найпоширенішим серед досліджуваних тварин є генотип ADL0278$^{108/114}$ (відмічено у 57 особин (13,97%). Цей самий генотип є наймасовішим і в кросах ЛБ (40 особин (40%, 9,8%) та ЛК (14 особин (16,87%, 3,43%). У особин кросу ХСБ найчастіше зустрічається генотип – ADL0278$^{120/120}$ (у 38 особин (31,15%, 9,31%), у ХЛБ – ADL0278$^{106/114}$ (у 6 особин (27,27%, 1,47%), а у ХСК птиці – генотипи ADL0278$^{110/116}$ та ADL0278$^{120/122}$ (по 9 особин (11,11%, 2,21%), кожен).

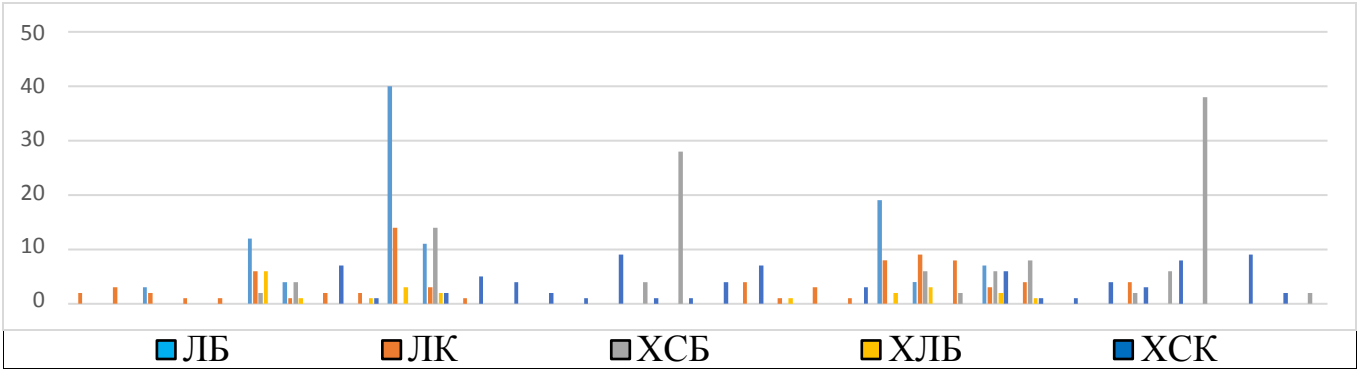


Рис.4.72 Генотипові спектри різних кросів за локусом ADL0278.

За локусом MCW0248 виявлено 26 (6,37%) різних генотипових варіантів, у птиці кросу ЛК – 21 (80,77%, 25,3%, 5,15%), ХСК – 14 (53,85%, 17,28%, 5,15%), ХСБ – 8 (30,77%, 36,36%, 1,96%), ЛБ та ХЛБ – 4 (15,39%, 4%, 0,98% та 15,39%, 18,18%, 0,98%, відповідно) (рис. 4.73). Найпоширенішим серед досліджуваних тварин є генотип

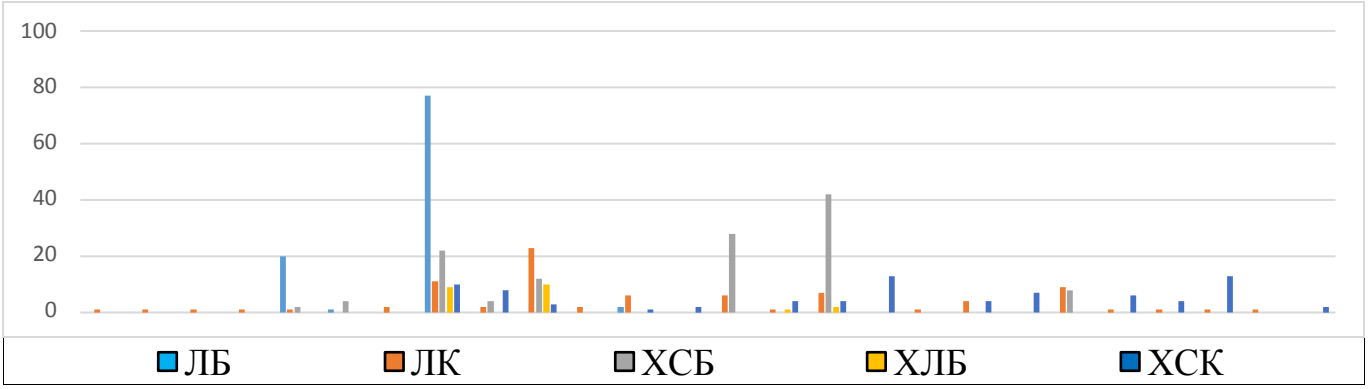


Рис.4.73 Генотипові спектри різних кросів за локусом MCW0248.

MCW0248$^{213/213}$ (відмічено у 129 особин (31,62%). Цей же генотип є наймасовішим в кросі ЛБ (77 особини (77%, 18,87%). У птиці кросів ЛК та ХЛБ наймасовішим є алель MCW0248$^{213/217}$ (23 особини (27,71%, 5,64%) та 10 особин (45,46%, 2,45%),

відповідно, у ХСБ – MCW0248$^{215/219}$ (42 особини (34,43%, 10,3%), а у ХСК найчастіше зустрічаються генотипи MCW0248$^{215/221}$ та MCW0248$^{221/221}$ (у 13 особин (16,05%, 3,19%), кожен (табл. 4.41).

Таблиця 4.41

Кількість виявлених генотипів (Ng) у різних промислових кросах свійської курки

Локус	По кросу					По виду, загалом	По виду, в середньому
	ЛБ	ЛК	ХСБ	ХЛБ	ХСК		
ADL268	8	12	8	5	17	20	11,67
MCW0216	4	12	7	5	9	20	9,50
LEI094	11	27	19	8	32	55	25,33
ADL0278	8	22	13	10	21	36	18,33
MCW0248	4	21	8	4	14	26	12,83
середнє	7	18,8	11	6,4	18,6	31,4	15,533

Свійська курка була єдиним з досліджених видів в якого частоти виявлених генотипів характеризувались високим рівнем диференціації, за найвищої достовірності ($p<0,001$) по всіх досліджених мікросателітах (табл. 4.42)

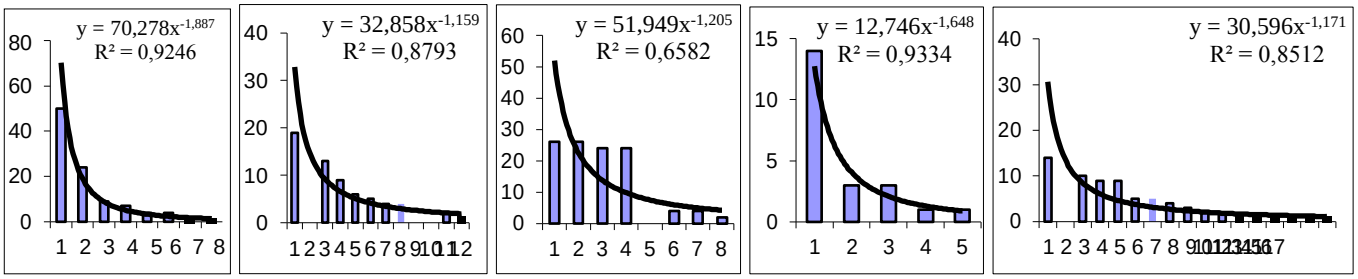
Таблиця 4.42

Диференціація кросів курки за розподілом частот генотипів мікросателітних локусів ДНК

Локус	*df*	χ^2	*p*
ADL268	76	314	0,0001
MCW0216	88	732	0,0001
LEI094	216	690,06	0,0001
ADL0278	140	656,79	0,0001
MCW0248	100	597,52	0,0001

З метою оцінки генотипового різноманіття було здійснено аналіз розподілу частот генотипів (рис. 4.74).

за локусом ADL0268



ЛБ ЛК ХСБ ХЛБ ХСК

за локусом MCW0216

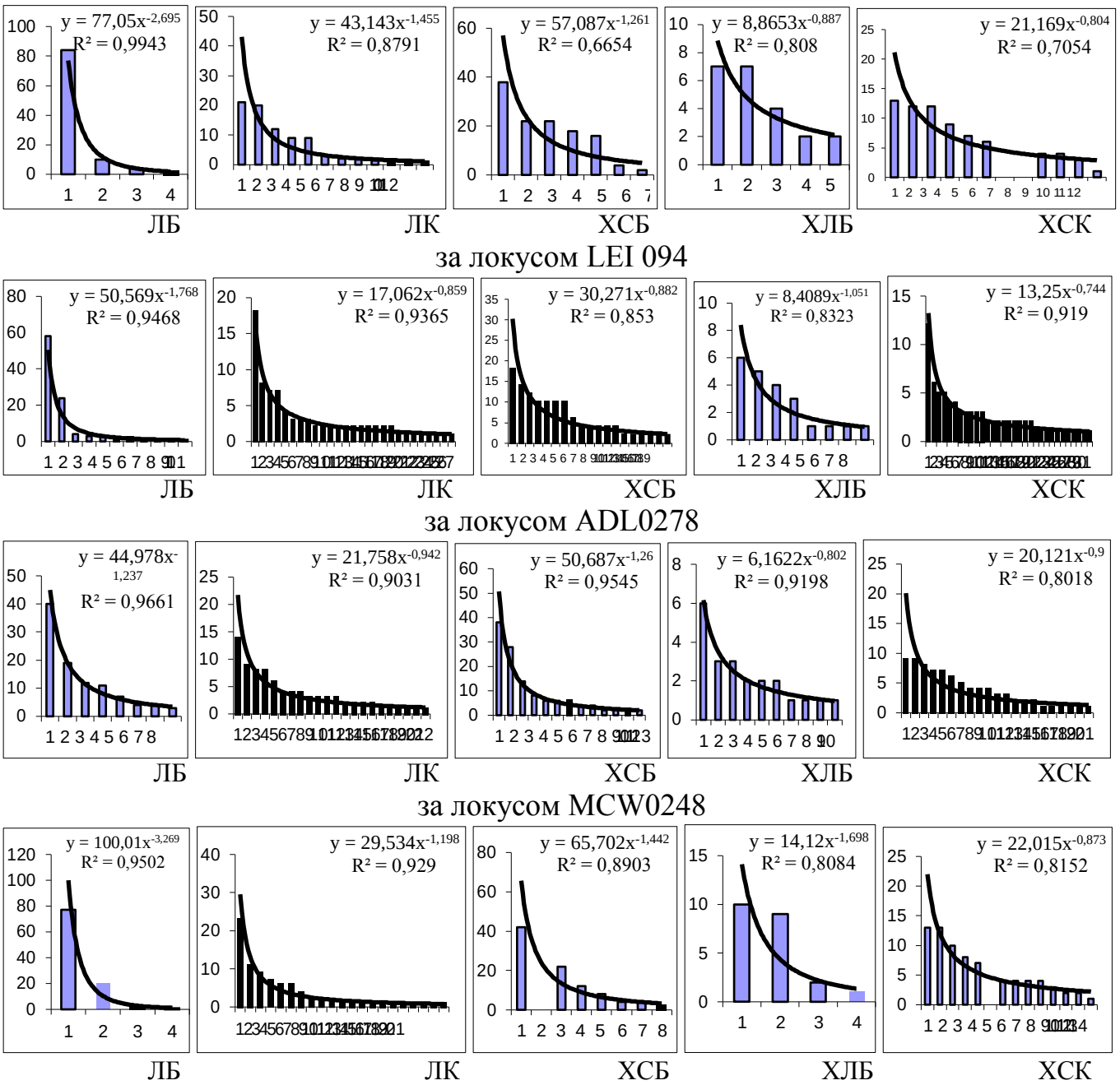


Рис. 4.74 Характер розподілу частот генотипів у дослідженого поголів'я курей за 5-ма локусами мікросателітної ДНК (y – апроксимуюча модель (обрана ступінева функція) і ступінь її адекватності; R^2 – коефіцієнт детермінації).

Аналіз наведених гістограм дає можливість стверджувати що коричневі кроси за всіма дослідженими локусами виявляють вищий рівень поліморфізму за характером розподілу частот генотипів у дослідженого поголів'я свійської курки. А також, відмічено, що має місце певна схожість (подібність) тенденцій щодо значень коефіцієнту детермінації у кросів певного виробника – ЛБ та ЛК, а також ХСБ та ХСК.

Для оцінювання генотипового різноманіття, також, було здійснено аналіз характеру розподілу частот генотипів у дослідженого поголів'я промислових кросів свійської курки за 5-ма локусами мікросателітної ДНК із застосуванням параметричного методу *rarefaction-curves* (рис. 4 75).

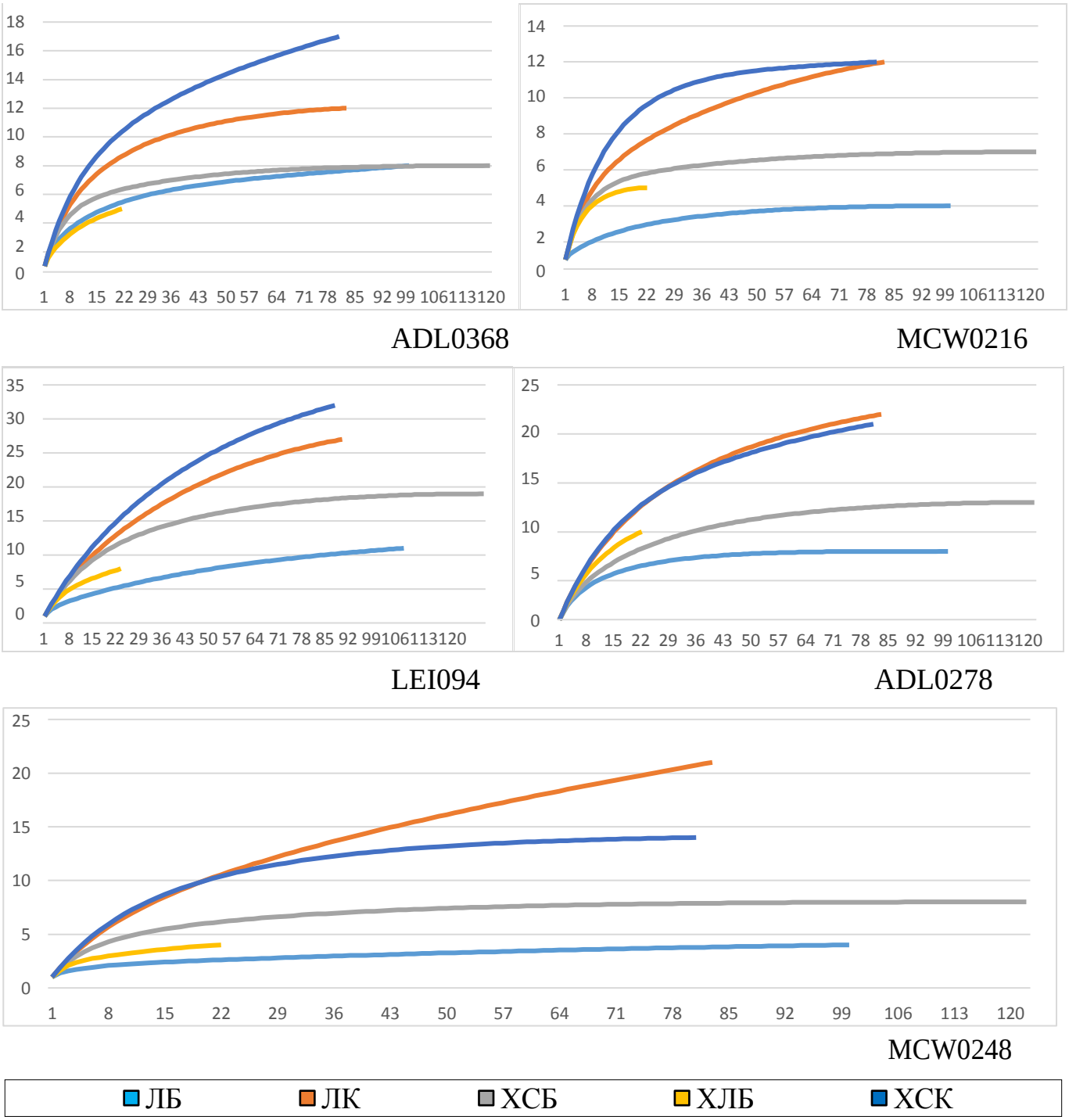


Рис. 4.75 Характер розподілу частот генотипів у курки за 5-ма локусами мікросателітної ДНК.

За всіма локусами тварини коричневих кросів демонструють вищі значення генотипового поліморфізму та більшу подібність між собою і відокремленість від кросів білих. Серед білих кросів слід виділити популяцію ЛБ, яка характеризувалась найнижчими показниками генотипової мінливості за характером розподілу частот генотипів у всіх досліджених мікросателітних локусах ДНК.

За локусом ADL268 5 різноманітні генотипові варіанти (25,00%, 0,12%) зустрічались лише по одному разу. Найбільшу кількість таких генотипів (6 (35,29%, 30%, 1,47%, %) було виявлено в кросі ХСК, в кросах ЛБ та ХЛБ було виявлено по 2 таких генотипи (25%, 10%, 5%, 0,49%) та (40%, 10%, 9,09%, 0,49%), відповідно, у кросі ЛК лише один генотип (8,33%, 5%, 1,21%, 0,25%) і у кросі ХСБ таких генотипів виявлено не було (табл. 4.43). Також за даним локусом було виявлено один генотип (5%, 0,25%), що зустрічались по два рази: у ЛК – 3 (25%, 15%, 3,62%, 0,73%), у ХСК – 2 (11,76%, 10%, 2,47%, 0,49%) і 1 (8,33%, 5%, 1,21%, 0,25%) у ХСБ (табл. 4.44). Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 6 разів (30%, 1,47%). Серед птиці кросу ХСК – 8 разів (47,06%, 40%, 9,88%, 2,06%), ЛК – 4 разів (33,33%, 20%, 4,82%, 1,96%), ЛБ та ХЛБ – по 2 рази (25%, 10%, 2%, 0,49% та 40%, 10%, 9,09%, 0,49%), відповідно. Серед особин кросу ХСБ – один раз (12,50%, 5,00%, 0,82%, 0,25%).

Таблиця 4.43

Кількість рідкісних генотипів (Ng_1) у різних різних промислових кросах свійської курки

Локус	По кросу					По виду, загалом	По виду, в середньому
	ЛБ	ЛК	ХСБ	ХЛБ	ХСК		
ADL268	2	1	0	2	6	5	2,67
MCW0216	0	3	0	0	1	0	0,67
LEI094	4	8	0	4	12	13	6,83
ADL0278	0	6	0	4	6	4	3,33
MCW0248	1	11	0	1	1	6	3,33
середнє	1,4	5,8	0	2,2	5,2	5,6	2,920

За локусом MCW0216 загалом по даному виду не було виявлено генотипових варіантів, які б зустрічались лише по одному разу, але серед птиці коричневих кросів ЛК було зафіксовано 3 такі випадки (25%, 15%, 3,62%, 0,74%) та ХСК – один випадок (11,11%, 5%, 1,24%, 0,25%). Також, за даним локусом було виявлено 1 генотип (5%, 0,25%), що зустрічався два рази: у ЛК – 3 (25%, 15%, 3,62%, 0,74%), у ХЛБ – 2 (40%, 10%, 9,01%, 0,49%), і у ЛБ та ХСБ – по одному випадку (25%, 5%, 1%, 0,25%) та (14,29%, 5%, 0,82%, 0,25%), відповідно. Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 1 раз

(5%, 0,25%). Серед птиці кросу ЛК – 6 разів (50,00%, 30,00%, 7,22%, 1,47%), ХЛБ – 2 рази (40,00%, 10,00%, 9,09%, 0,49%), ЛБ та ХСБ – по одному разу (25%, 5%, 1%, 0,25% та 14,29%, 5%, 0,382%, 0,25%), відповідно.

За локусом LEI094 13 різноманітних генотипових варіантів (23,64%, 3,19%) зустрічались лише по одному разу, серед птиці кросу ХСК – 12 разів (37,%, 21,82%, 14,82%, 2,94%), ЛК – 8 разів (29,63%, 14,55%, 9,34%. 1,96%), ЛБ та ХЛБ по 4 рази (36,36%, 7,27%, 4%, 0,98% та 50%, 7,27%, 18,18%, 0,98%, відповідно), у особин кросу ХСБ таких генотипів виявлено не було. Також, за даним локусом було виявлено 13 генотипів (23,64%, 3,19%), що зустрічались по два рази: у ЛК – 11 (40,74%, 20%, 13,25%, 2,7%), у ХСК – 9 (28,13%, 16,36%, 11,11%, 2,21%), у ХСБ – 6 (31,58%, 10,91%, 4,92%, 1,47%), у ЛБ – 2 (18,18% 3,64%, 2%, 0,49%), і у СЛБ – жодного. Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 26 разів (47,27%, 6,37%): у ХСК – 21 раз (65,63%, 38,18%, 25,93%, 5,15%), у ЛК – 19 разів (70,37%, 34,55%, 22,89%, 4,66%), у ЛБ та ХСБ – по 6 разів (54,55%, 10,91%, 6%, 1,47% та 31,58%, 10,91%, 4,92%, 1,47%), і у СЛБ – 4 (50%, 7,27%, 18,18%, 0,98%).

Таблиця 4.44

Кількість рідкісних генотипів (Ng_2) у різних промислових кросах свійської курки

Локус	По кросу					По виду, загалом	По виду, в середньому
	ЛБ	ЛК	ХСБ	ХЛБ	ХСК		
ADL268	0	3	1	0	2	1	1,17
MCW0216	1	3	1	2	0	1	1,33
LEI094	2	11	6	0	9	13	6,83
ADL0278	0	4	4	3	3	5	3,17
MCW0248	1	3	1	1	2	4	2,00
середнє	0,8	4,8	2,6	1,2	3,2	4,8	2,52

За локусом ADL0278 4 різноманітних генотипових варіанти (11,11%, 0,98%) зустрічались лише по одному разу, серед птиці кросів ЛК та ХСК по 6 разів (27,27%, 16,67%, 7,23%, 1,47% та 28,57%, 16,67%, 7,41%, 1,47%, відповідно) та ХЛБ – 4 рази (40%, 11,11%, 4,55%. 0,98%) в кросах ЛБ та ХСБ таких генотипів виявлено не було. Також, за даним локусом було виявлено 5 генотипів (13,89%, 1,23%), що зустрічались по два рази: у ЛК та ХСБ по 4 (18,18%, 11,11%, 4,82%, 0,98% та 30,77%, 11,11%, 3,28%, 0,98%, відповідно), і у СЛБ та ХСК – по 3 (30%, 8,33%, 13,64%, 0,74% та 14,29%, 8,33%, 3,7%, 0,74%, відповідно), а у ЛБ – жодного. Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 9 разів (25%, 2,21%). Серед птиці кросу ЛК – 10 разів (45,46%, 27,78%,

12,05%, 2,45%), ХСК – 9 разів (42,86%, 11,11%, 11,11%, 2,21%), ХЛБ – 7 разів (70%, 19,44%, 31,82%, 1,72%) та ЛК – 4 рази (30,77%, 11,11%, 3,28%, 0,98%). Серед особин кросу ЛБ рідкісних генотипів виявлено не було.

За локусом MCW0248 6 різноманітних генотипових варіантів (23,08%, 1,47%) зустрічались лише по одному разу, серед представників кросу ЛК (11 випадків (52,38%, 42,31%, 13,25%, 2,7%) та серед кросів ЛБ й ХЛБ та ХСК (по одному випадку (25%, 3,85%, 1%, 0,25% й 25%, 3,85%, 4,55%, 0,25% та 7,14%, 3,85%, 1,24%, 0,25%, відповідно). Також, за даним локусом було виявлено 4 генотипи (15,39%, 0,98%), що зустрічались по два рази: у ЛК – 3 (14,29%, 11,54%, 3,62%, 0,74%), у ХСК – 2 (14,29%, 7,69%, 2,47%, 0,49%), і у ЛБ й ХСБ та ХЛБ– по одному випадку (25%, 3,85%, 1%, 0,25% й 12,5%, 3,85%, 0,82%, 0,25% та 25%, 3,85%, 4,55%, 0,25%, відповідно). Загалом, рідкісні генотипи зустрічались 10 разів (38,46%, 2,45%). Серед птиці кросу ЛК – 14 разів (66,67%, 53,85%, 16,87%, 3,43%), ХСК – 3 рази (21,43%, 11,54%, 3,70%, 0,73%), ЛБ та ХЛБ – по 2 рази (50%, 7,69%, 2%, 0,49% та 50%, 7,69%, 9,09%, 0,49%), відповідно. Серед особин кросу ХСБ – один раз (12,50%, 3,85%, 0,82%, 0,25%).

За локусом ADL268 породоспецифічні генотипи за локусом ADL268 були виявлені лише в кросу ХСК – 5 генотипів (29,41%, 25%, 6,17%, 1,23%), а серед особин решти кросів (ЛБ, ЛК, ХСБ та ХЛБ) породоспецифічних генотипів за даним локусом виявлено не було. За локусом MCW0216 було виявлено 14 породоспецифічних генотипів (70,00%, 3,43%), серед представників кросу ХСК– 7 (77,78%, 35%, 8,64%, 1,72%), ЛК – 5 таких генотипів (41,67%, 25%, 6,02%, 1,23%), серед особин кросів ЛБ та ХЛБ було відмічено по одному такому генотипу (25%, 5%, 1%, 0,25% та 20%, 5%, 4,55%, 0,25%, відповідно) і серед особин кросу ХСБ – жодного (табл. 4.45). Породоспецифічні генотипи за локусом LEI094 було виявлено 31 раз. Серед особин кросів ЛК та ХСК було відмічено по 12 таких генотипів (44,45%, 21,82%, 14,46%, 2,94% та 37,50%, 21,82%, 14,82%, 2,94%, відповідно), серед представників кросу ЛБ – 4 (36,36%, 7,27%, 4%, 0,98%), ХСБ – 2 (10,53%,

Таблиця 4.45

Кількість специфічних генотипів (Ng_{unik}) у різних промислових кросах свійської курки

Локус	По кросу					По виду, загалом	По виду, в середньому
	ЛБ	ЛК	ХСБ	ХЛБ	ХСК		
ADL268	0	0	0	5	7	12	2,4
MCW0216	1	5	1	0	7	14	2,8

Продовж. табл. 4.45

LEI094	4	12	2	1	12	31	6,2
ADL0278	0	5	2	9	7	23	4,6
MCW0248	0	8	0	0	4	12	2,4
середнє	1	6	1	3	7,4	18,4	3,68

3,64%, 1,64%, 0,49%) і серед особин кросу ХЛБ – 1 (12,5%, 1,82%, 4,55%, 0,25%). За локусом ADL0278 породоспецифічні генотипи зустрічались 16 разів (44,45%, 3,92%): у ХСК – 9 разів (42,86%, 25%, 11,11%, 22,06%), у ЛК – 5 (22,73%, 13,89%, 6,02%, 1,23%), у ХСБ– 2 (15,39%, 5,56%, 1,64%, 0,49%), і у ЛБ та СЛБ – жодного. За локусом MCW0248 породоспецифічні генотипи було виявлено 12 разів (46,15%, 2,94%). серед особин коричневих кросів ЛК та ХСК було відмічено 8 (38,10%, 30,77%, 9,64%, 1,96%) та 4 (28,57%, 15,39%, 4,94%, 0,98%) таких генотипів, відповідно, а серед особин білих кросів ЛБ, ХСБ ХЛБ породоспецифічних генотипів за даним локусом виявлено не було.

На рис. 4.76 наведено одержані за використання непараметричного методу А. Чао, результати розрахунків за досліджуваними мікросателітними локусами ДНК. Так, найвищим рівнем генотипового різноманіття характеризується локус MCW0248 – для нього кількість зареєстрованих генотипів може сягати 50 та більше, для локусу ADL0278 для нього ця цифра може становити 45, тоді, як для решти локусів потенційна кількість генотипів, розрахована за допомогою непараметричного методу А.Чао не перевищує 35. Тим часом, як найнижчим рівнем генотипової мінливості характеризувались локуси MCW0216 (4,0) та MCW0248 (4,5).

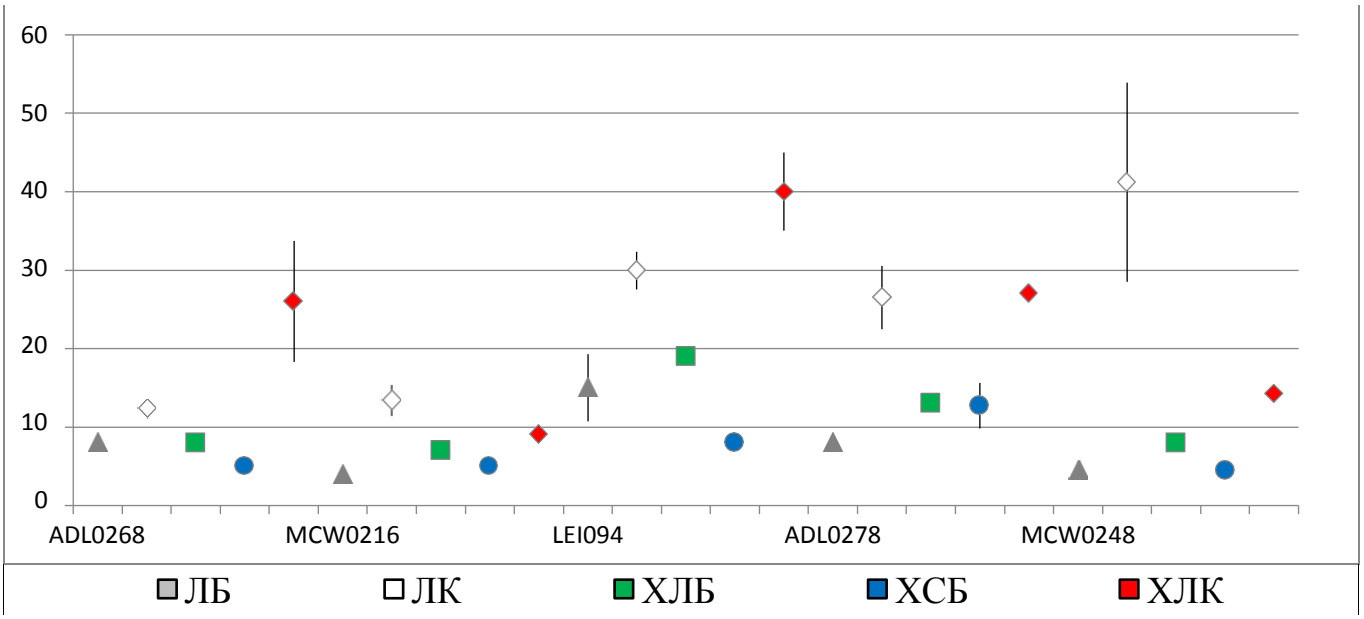


Рис. 4.76 Оцінки потенційної кількості генотипів (±1*SD*), одержані за

допомогою непараметричного методу А.Чао за мікросателітними локусами свійської курки кросів ЛБ (1), ЛК (2), ХСБ (3), ХЛБ (4) та ХСК (5).

В цілому, відмічається різний характер розподілу кількості генотипів за методом А. Чао. Так за локусом ADL0268 найбільшу потенційну кількість генотипів було визначено у курей кросу ХСК (26,0±7,7) тоді, як у решти кросів цей показник не перевищував 13,0. Найменше його значення (5,0) за цим локусом було зафіксовано у птиці кросу ХЛБ. За локусом MCW0216 потенційна кількість генотипів в усіх досліджених кросів не перевищувала 15,5 і було найвищим у особин кросу ЛК (13,5±1,9). Найменше значення (4,0) за цим локусом було зафіксовано у птиці кросу ЛБ. За локусом LEI094 найбільшу потенційну кількість генотипів було зафіксовано у особин кросу ХСК (40,0±5,0), у особин кросу ЛК цей показник знаходився на рівні 29,9±4,0.у решти кросів не перевищував 20,0, а найнижчі значення (4,0) було визначено у представників кросу ХЛБ. За локусом ADL0278 найбільшу потенційну кількість генотипів було визначено у курей коричневих кросів ЛК (26,5±4,0) та ХСК (27,0±5,2) тоді, як у решти кросів цей показник не перевищував 15,5. Найменше його значення (8,0) за цим локусом було зафіксовано у птиці кросу ЛБ. За локусом MCW0216 найбільшу потенційну кількість генотипів було визначено у курей кросу ЛК (41,2±12,7) тоді, як у решти кросів цей показник не перевищував 15,0 Найменше його значення (4,5) за цим локусом було зафіксовано у птиці кросів ЛБта ХЛБ.

Встановлено, що для особини які належать до білих кросів характерною є відносно низька кількість потенційних генотипів – 4,0-20,0 (рис. 4.65). А для коричневих кросів значно більша – 12,0-54,0, тобто, коричневі кроси завжди достовірно переважали білі за кількістю потенційних генотипів

4.5 Висновки по розділу

1. В усіх досліджених видів оцінки алельної мінливості розраховані за допомогою непараметричного rarefaction-методу практично співпадали з фактично виявленими, за виключенням розрахунків кількості унікальних алелів у собак.

2. Характер поліморфізму досліджених мікросателітних локусів у всіх досліджених порід та промислових кросів різних видів свійських тварин, як за кількістю виявлених алелів, так і характером їхнього розподілу, відповідав покроковій мутаційній модель.

3. Встановлено високу подібність між дослідженими породами всередині видів, за розмахом спектрів генотипового поліморфізму та, достовірні відмінності за характером розподілу виявлених генотпів, кількістю виявлених (Ng), рідкісних (Ng_1, Ng_2) та породоспецифічних генотипів (Ng_{unic}).

4. За непараметричним методом А. Чао, використання якого дозволяє більш коректно здійснити порівняння популяцій різного розміру, відмічається різний характер розподілу кількості генотипів. В цілому, розрахунки зберігають відповідність попередньо одержаним результатам безпосереднього аналізу. У ВРХ одержані за допомогою даного методу значення відповідали фактичним за 10 МСЛ з 10, у коней – за 10 з 11 (крім ASB17) у собак – за 4 з 5 (крім FHC2054), у курки білих кросів всі оцінки були адекватними за 5 локусами з 5, а у коричневих розраховані результати значно перевищували фактично одержані.

5. Для досліджених порід ВРХ виявлено практично однакову кількість алелів (Na=6-14), різниця не перевищувала 3 алеля/локус за всіма дослідженими локусами та діапазонами алельних спектрів (Lim_{Na}=6-8). Найбільшу диференціацію порід визначено за характером алельних спектрів та кількістю породоспецифічних алелів (Na_{unic}=5-11) . Встановлено подібність молочних порід (УЧеР, УЧР) порівняно з сірою українською худобою. Для цієї породи встановлено найбільша кількість породоспецифічних алелів (Na_{unic}=11), а також локусів за якими виявлено породоспецифічні алелі (6).

6. Досліджені породи ВРХ диферецiйовані за всіма виявленими алелями (p<0,001). В досліджених популяціях виявлено значне насичення окремими алелями, а саме: одним (1 випадок), двома (три випадки) та трьома (два випадки) алельними варіантами переважної більшості особин у представників даного виду по 5 локусам з 10, зокрема: за 1 алельним варіантом у породи УЧР ($ETH10^{220}$ (0,349); за двома алелями – по 1 локусу у кожної з порід – УЧеР ($ETH3^{118}$ (0,356) та $ETH3^{128}$ (0,233), УЧР ($BM1824^{182}$ (0,244) та $BM1824^{184}$ (0,256) та СУ ($SPS115^{248}$ (0,333) та $SPS115^{252}$ (0,311); за трьома у породи СУ ($BM2113^{134}$ (0,322), $BM2113^{136}$ (0,189), $BM2113^{138}$ (0,322) та $ETH10^{222}$ (0,333), $ETH10^{224}$ (0,222), $ETH10^{230}$ (0,222).

7. У ВРХ набільшим рівнем генотипового поліморфізму (Ng=22,3-24,0; Ng_1=13,1-13,8; Ng_2=5,0-5,3; Ng_{unic}=8,1-9,0) характеризувались вітчизняні молочні породи (УЧеР та УЧР). УЧеР та УЧР породи за всіма дослідженими локусами виявляють вищий рівень поліморфізму за розподілом генотипів, що, здебільшого,

досягається лише за рахунок значної елімінації в спектрах СУ породи, за умови практично однакового розмаху цих спектрів в усіх досліджених порід. Тварини УЧеР характеризуються найвищим рівнем генотипової мінливості ($p<0,0001$). У сірої української породи виявлено найнижчі значення всіх характеристик генотипового різноманіття (кількість виявлених ($Ng=17,4$), рідкісних ($Ng_1=7$, $Ng_2=4,8$) та породоспецифічних генотипів ($Ng_{unic}=5,5$).

8. В усіх групах тварин, за всіма дослідженими локусами зафіксовано певну насиченість окремими генотипами, у тварин УЧеР виявлено 18 таких генотипів за 4 МСЛ, в УЧР – 14 за 3 МСЛ, а у СУ – 15 за 5 МСЛ. За 3 з 10 МСЛ (TGLA126, TGLA122 та ETH03) у порід УЧеР та УЧР ці генотипи були однаковими, а за одним з них (ETH 225) вони були спільними для всіх трьох порід. За локусом BM1824 одні й ті самі генотипи були найпоширенішими у тварин УЧеР та СУ. У тварин УЧеР – 4 з 18 найпоширеніших генотипів за 4 МСЛ були гомозиготними, в УЧР – 3 з 14 за 3 МСЛ, а у СУ – 6 з 15 за 5 МСЛ, причому один з таких генотипів, а саме $ETH10^{134/134}$ був специфічним для породи СУ.

9. Достовірні відмінності виявлено між всіма дослідженими породами свійських коней ($p<0,001$). Найбільшою кількістю алелів ($Na=14,3$), розмахом алельного поліморфізму (крім ASB23) ($Lim_{Na}=11-16$), кількістю породоспецифічних алелів ($Na_{unic}=41$, за 9 локусами) та кількістю локусів в яких зареєстровано породоспецифічні алелі (всі (11) виявлено у коней УВП, а найменшою у ЧВ ($Na=8$, $Lim_{Na}=5-13$, $Na_{unic}=2$, ASB23). У ЧВ та ГУЦ виявлено високий ступінь консолідованості преважної більшості локусів за одним (10 випадків) та двома (три випадки) алельними варіантами (за 8 локусами з 11 та 6, відповідно) ($p\leq0,001$).

10. Найбільшим рівнем поліморфізму за характером та розмахом спектрів генотипового поліморфізму, а також показниками генотипової мінливості характеризувались тварини новоствореної, «відкритої» породи – УВП (розмах спектрів (Lim_{Ng}), кількість виявлених ($Ng=47,91$), рідкісних ($Ng_1=21,27$, $Ng_2=9$) та породоспецифічних генотипів ($Ng_{unic}=27,91$). Гуцульській породі коней притаманний широкий розмах спектрів генотипової мінливості, за 6 локусами з 11 та зсув спектрів в бік більшого розміру алелів. Найвужчі, найбільш консолідовані генотипові спектри за всіма мікросателітними локусами та вища ніж в решти порід насиченість певними (1-3 на локус) генотипами за переважною більшістю локусів у особин породи ЧВ. Дослідженим породам коней властивий однаковий розмах спектрів генотипового

поліморфізму. Всі досліджені локуси характеризувались кількістю генотипів від 15,36 (ЧВ) до 47,91 (УВП). Загальна їхня кількість коливалась від 8 (за локусом HTG09 у ЧВ) до 57 (за локусом и HMS03) в УВП. Слід відмітити високий рівень подібності досліджених спектрів генотипового поліморфізму за всіма дослідженими мікросателітними локусами, як за розмахом, так і за розподілом генотипів (по 8 локусах вони практично співпадали, а по решті зберігали високу подибність).

11. Найменшу кількість рідкісних генотипів, було виявлено у тварин породи – ЧВ (Ng_1=73, Ng_2=33), у особин породи ГУЦ рідкісні генотипи зусрічались майже в двічи частіше (Ng_1=234, Ng_2=99), а в УВП, ще в двічи частіше – Ng_1=234 і Ng_2=99. Породоспецифічні генотипи було виявлено в усіх породах коней за всіма локусами, крім HTG06 у ЧВ породи. Найбільшу кількість породоспецифічних генотипів за всіма дослідженими локусами виявлено в УВП (Ng_{unic}=307), значно меншу (Ng_{unic}=70) у особин ГУЦ і найменшу (Ng_{unic}=16) у ЧВ коней. У ЧВ коней найменшу кількість породоспецифічних генотипів (1) зафіксовано за сімома локусами (HTG04, HMS06, ASB23, HTG07, HMS03, VHL20, HMS07), а за HTG06 таких генотипів виявлено не було.

12. За показниками генотипового різноманіття (метод *rarefaction-curves) з*а більшістю локусів (9 з 11, крім HMS07 та HTG07) УВП переважає решту порід. Найнижчий рівень генотипового різноманіття демонструють тварини породи ЧВ, а за HMS07 та HTG07– ГУЦ. В усіх групах коней, за всіма досліджуваними локусами було зафіксовано певну насиченість окремими генотипами (1-3 на локус). У тварин ГУЦ – 5 з 18 найпоширеніших генотипів за 5 МСЛ були гомозиготними (а саме), у ЧВ – за 7 локусами з 16, а в УВП – 4 з 18 за 4 ($p \leq 0{,}0001$).

13. У свійських собак достовірні відмінності виявлено лише за локусами FHC2054 ($p<0{,}05$) та PEZ06 ($p<0{,}001$). Найвищим рівнем алельного поліморфізму характеризувались собаки породи НВ (найширший та найповніший спектр (Lim_{Na}=5-13), найбільша кількість виявлених алелів (Na=9,2). Найменш поліморфною (як за кількістю виявлених алелів (Na=8,2) так і за розмахом алельних спектрів (Lim_{Na}=6-11) є порода НД ($p<0{,}05$). Високий ступінь консолідованості за одним та двома алельними варіантами зафіксовано у НВ – за $PEZ06^{186}$ (0,359), НД – за $PEZ01^{120}$ (0,300), а у РТ – за $PEZ01^{100}$ (0,275), $PEZ01^{108}$ (0,300), $PEZ08^{226}$ (0,325) та $FHC2010^{236}$ (0,575). З 5 досліджуваних мікросателітних локусів, породоспецифічні алелі було

зареєстровано лише в породах НВ (FHC2054^{152} (0,051) та РТ (PEZ06^{192}, PEZ06^{196} (з частотою 0,025, кожен).

14. В результаті аналізу генотипового поліморфізму свійських собак (*Canis familliaris*) встановлено, що найвищим рівнем поліморфізму за показниками генотипової мінливості (Ng=18,4, Ng_1=8,6, Ng_2=4,8, Ng_{unic}=5,8) характеризуються тварини породи НВ, а НД є менш поліморфними у порівнянні з РТ. За 2 з 5 досліджених МСЛ (FHC2010 та FHC2054) спектри генотипового поліморфізму в усіх досліджених порід були однаковими за своїм розмахом (Lim_{Ng}), за рештою локусів найменшим розмахом характеризується порода НД, а найбільшим – НВ. Представникі породи РТ характеризуються максимальним розмахом спектрів генотипового поліморфізму, за локусами PEZ01 (96-140 п.н.) та FHC2010 (220-252 п.н.), і середнім розмахом за локусом PEZ06 (174-202 п.н.). Найчастіше, для 4-х мікросателітних локусів з 5 досліджених (крім PEZ06) найбільшою кількістю генотипових варіантів (Ng=18,4) характеризуються особини, що належать до породи НВ. За локусом PEZ06 найбільшу кількість генотипових варіантив (Ng=14) виявлено у тварин породи РТ. За рештою локусів кількість виявлених генотипів між породами НД та РТ відрізнялась не несуттєво (1-4 генотипи/локус). Відмінності між досліженими породами за кількістю виявлених генотипових варіантів були достовірними лише для мікросателітних локусів PEZ06 ($p<0,001$) та FHC2054 ($p<0,05$). Загальна кількість генотипових варіантів у особин даного виду коливалась від 15 (за локусом FHC2010) до 27 (за локусом FHC2054). При цьому, найвищий рівень генотипового поліморфізму було зафіксовано за локусом PEZ08 у особин, що належать до породи НВ (Ng=24). Найменш поліморфним виявився локус FHC2010 у тварин породи РТ (Ng=7).

15. В усіх групах тварин, за всіма мікросателітними локусами ДНК зафіксовано певну консолідованість за окремими генотипами. За 3 з 5 мікросателітів (PEZ01, PEZ08 та FHC2010) у представників порід НВ та НД ці генотипи були однаковими, за цими ж локусами було виявлено однакові найпоширеніші генотипи й в порід НВ та РТ, а в порід РТ та НД однакові найпоширеніші генотипи було виявлено за локусами PEZ06 та FHC2054. Причому, генотипи PEZ06$^{186/202}$, PEZ06$^{174/178}$, FHC2054$^{166/168}$, FHC2054$^{148/162}$ та FHC2054$^{160/162}$ є породоспецифічними для НВ.

16. Для промислових кросів свійської курки встановлено індивідуальний характер алельних спектрів за всіма дослідженими МСЛ ($p<0,001$). Найвищими

показниками алельної мінливості характеризувались коричневі кроси (ЛК та ХСК) (Na (Lim_{Na})=(9,2 (5-17) та 7,4 (6-11), відповідно; (Na_{unic}=11 та 3, відповідно) Кроси фірми Ломан (ЛБ та ЛК) характеризуються зсувом алельних спектрів в бік зменшення довжин фрагментів. ЛБ вирізняється серед птиці інших кросів надзвичайною консолідованістю за окремими алелями по всіх досліджених МСЛ (від $ADL278^{114}$ – 0,343 та $ADL268^{108}$ – 0,485 до $LEI094^{259}$ – 0,720, $MCW0248^{213}$ – 0,785 та $MCW0216^{137}$ – 0,920). Породоспецифічні алелі з найбільшою частотою виявлялись, у тварин коричневих кросів ЛК –11та ХСК – 3, а у білих ЛБ – 2, ХСБ – 1 та ХЛБ-0.

17. Особини, які належать до різних промислових кросів свійської курки *Gallus domesticus* достовірно відрізнялись за розподілом генотипів по всіх досліджених локусах мікросателітів (p<0,001). При цьому, набільші рівні генотипового різноманіття (найбільша кількість виявлених генотипів (Ng), рідкісних (Ng_1, Ng_2) та породоспецифічних генотипів (Ng_{unic}) за всіма дослідженими локусами (за виключенням Ng_1^{MCW216} та Ng_2^{MCW216} у кросу ХСК) встановлено у коричневих кросів. Серед білих кросів найбільшу кількість виявлених генотипів зафіксовано у особин кросу ХСБ. Відмічено певну подібність коефіцієнтів детермінації у кросів певного виробника – ЛБ та ЛК, а також ХСБ та ХСК. Досліджені кроси демонструють високий рівень поліморфізму за кількістю та розподілом генотипів, свідченням чого є значення апроксимуючої моделі (обраної ступеневої функції) і ступінь її адекватності та коефіцієнту детермінації. За локусами ADL268 та LEI094 найполіморфнішими були особини кросу ХСК, а за рештою – ЛК, серед білих кросів в усіх випадках найбільший рівень генотипового різноманіття зафіксовано у кросу ХСБ, а за локусом ADL268 найбільшу кількість генотипів виявлено, у кросу ЛБ.

18. Всі мікросателітні локуси характеризувались середньою загальною кількістю виявлених різних генотипових варіантів. Загальна їхня кількість у особин даного виду коливалась від 20 (за локусами MCW216 та ADL0268) до 55 (за локусом LEI094). При цьому, найвищий рівень генотипового поліморфізму було зафіксовано за локусом LEI094 у особин, що належать до кросу ХСК (32 варіанти). Найменш поліморфним виявились локуси MCW216 у тварин кросу ЛБ та MCW216 – у ЛБ та ХЛБ (4 варіанти). Крос ЛБ виявив високий рівень консолідованості за певними генотипами по кожному з досліджених мікросателітних локусів. Так генотип $ADL0278^{108/114}$ зустрічався у 40% випадків, $ADL0268^{108/110}$ – 50%, $LEI094^{259/259}$ – 58%, $MCW248^{213/213}$ – 77% і $MCW216^{137/137}$ – 84%. Причому останні 3 – гомозиготні.

Матеріали досліджень наведені у розділі викладено у наукових публікаціях [664-692].

РОЗДІЛ 5 ПОПУЛЯЦІЙНО-ГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ ГЕНОФОНДІВ ДОСЛІДЖЕНИХ ВИДІВ

5.1 Популяційно-генетичні характеристики генетичної мінливості великої рогатої худоби

Вибірка тварин української червоно-рябої молочної (УЧеР) породи великої рогатої худоби хоча і знаходиться у стані близькому до генетичної рівноваги, на що вказують значення індексу фіксації (F=0,069) та виявляє тенденції до стабілізації, підтвердженням чого є нижчий рівень фактичної гетерозиготності (*Ho*=0,785, від 0,667 (TGLA126) до 0,867 (BM2113) ніж очікуваної (*He*=0,844, від 0,776 (ETH3) та 0,777 (TGLA 126) до 0,884 (BM2113) в середньому по вибірці зберігає високий рівень різноманіття, про що свідчать значення індексів Шеннона (I=2,021, від 1,676 (ETH3) до 2,292 (TGLA227) та поліморфізму (PIC=0,826, від 0,75 (TGLA126 та ETH3) до 0,87 (INRA 023, TGLA 227 та BM2113). Комбінована вірогідність виключення випадкового збігу алелів (*CPE*) становила 0,999 або 99,9 %, що є свідченням високого рівня достовірності результатів (табл. 5.1).

Таблиця 5.1

Популяційно-генетичні характеристики досліджених локусів української червоно-рябої молочної (УЧеР) породи великої рогатої худоби

Локус	*Na*	*Ae*	*I*	*Ho*	*He*	*F*	*PIC*	*PE*
TGLA126	8,000	4,490	1,702	0,667	0,777	0,142	0,75	0,379
TGLA122	11,000	6,947	2,114	0,756	0,856	0,117	0,84	0,519
INRA23	11,000	8,149	2,228	0,733	0,877	0,164	0,87	0,482
ETH3	7,000	4,465	1,676	0,844	0,776	-0,088	0,75	0,684
ETH225	8,000	7,232	2,019	0,778	0,862	0,097	0,85	0,558
BM1824	10,000	7,514	2,146	0,800	0,867	0,077	0,85	0,599
TGLA227	13,000	8,438	2,292	0,778	0,881	0,118	0,87	0,558
BM2113	11,000	8,617	2,275	0,867	0,884	0,020	0,87	0,728
ETH10	7,000	5,938	1,849	0,822	0,832	0,011	0,81	0,641
SPS115	9,000	5,777	1,906	0,800	0,827	0,033	0,80	0,599
Середнє	9,5	6,757	2,021	0,785	0,844	0,069	0,826	0,575
							CPE	0,99985

Популяція тварини УЧР породи перебуває в стані стабільної генетичної рівноваги відповідно до значень індексу фіксації (F=-0,003) та практично однакові рівні фактичної (*Ho*=0,821, від 0,628 (TGLA126) до 0,930 (TGLA227) та очікуваної гетерозиготності (*He*=0,819, від 0,689 (TGLA126) до 0,897 (TGLA227). При цьому, є високополіморфною і зберігає високий рівень різноманіття, відповідно до значень

індексів Шеннона (I=1,924, від 1,377 (TGLA126) до 2,44 (TGLA227) та поліморфізму (*PIC*=0,807, від 0,68 (TGLA 126) до 0,88 (INRA 23 та TGLA227). Комбінована вірогідність виключення випадкового збігу алелів (*CPE*) становила 0,999 або 99,9 %. (табл. 5.2).

Таблиця 5.2

Популяційно-генетичні характеристики досліджених локусів української чорно-рябої молочної (УЧР) породи

Локус	*Na*	*Ae*	*I*	*Ho*	*He*	*F*	*PIC*	*PE*
TGLA126	6,000	3,216	1,377	0,628	0,689	0,089	0,68	0,348
TGLA122	11,000	6,247	2,041	0,744	0,840	0,114	0,84	0,519
INRA23	12,000	8,640	2,275	0,884	0,884	0,001	0,88	0,773
ETH3	7,000	4,594	1,701	0,860	0,782	-0,100	0,77	0,684
ETH225	8,000	5,194	1,838	0,907	0,807	-0,123	0,80	0,818
BM1824	11,000	6,153	2,039	0,814	0,837	0,028	0,83	0,641
TGLA227	14,000	9,732	2,444	0,930	0,897	-0,037	0,88	0,864
BM2113	9,000	6,174	1,947	0,767	0,838	0,084	0,82	0,558
ETH10	7,000	5,031	1,781	0,814	0,801	-0,016	0,78	0,599
SPS115	7,000	5,245	1,793	0,860	0,809	-0,063	0,79	0,728
Середнє	9,200	6,023	1,924	0,821	0,819	-0,003	0,807	0,653
							CPE	,99999

СУ порода ВРХ, на відміну від двох попередніх порід характеризувалась віддаленістю від стану генетичної рівноваги, свідченням чого є значення індексу фіксації (F=0,176) та виявляла суттєву тенденцію до стабілізації, підтвердженням чого є значно нижчий рівень фактичної гетерозиготності (Ho=0,673, від 0,244 (BM2113) до 0,911 (SPS115) ніж очікуваної (He=0,814, від 0,749 (BM2113) до 0,891 (TGLA122). СУ порода є високополіморфною відповідно до значень індексів Шеннона (I=1,871, від 1,583 (BM2113) до 2,355 (TGLA122) та поліморфізму (PIC=0,789, від 0,71 (BM2113) до 0,88 (TGLA 122). (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

Популяційно-генетичні характеристики досліджених локусів породи сіра українська (СУ)

Локуcs	Na	Ae	I	Ho	He	F	PIC	PE
TGLA126	6,000	4,726	1,646	0,444	0,788	0,436	0,76	0,143
TGLA122	14,000	9,142	2,355	0,622	0,891	0,301	0,88	0,318
INRA23	9,000	6,289	1,969	0,756	0,841	0,102	0,82	0,519
ETH3	8,000	4,856	1,768	0,689	0,794	0,132	0,77	0,411

Продовж. табл. 5.3

ETH225	11,000	6,358	2,027	0,844	0,843	-0,002	0,82	0,684
BM1824	9,000	5,938	1,919	0,733	0,832	0,118	0,81	0,482
TGLA227	11,000	7,068	2,092	0,889	0,859	-0,035	0,84	0,773
BM2113	8,000	3,986	1,583	0,244	0,749	0,674	0,71	0,043
ETH10	8,000	4,505	1,701	0,600	0,778	0,229	0,75	0,291
SPS115	8,000	4,201	1,650	0,911	0,762	-0,196	0,73	0,818
Середнє	9,200	5,707	1,871	0,673	0,814	0,176	0,789	0,449
CPE								0,99924

Загалом вибірка тварин виду *Bos taurus* знаходиться в стані близькому до генетичної рівноваги, згідно значеня індексу фіксації (F=0,081, від -0,003 (УЧР) та 0,069 (УЧеР) до 0,176 (СУ) і проявляє тенденції до подальшої стабілізації, що підтверджується нижчим рівнем фактичної гетерозиготності (*Ho*=0,760, від 0,673 (СУ) до 0,821 (УЧР) ніж очікуваної (*He*=0,825, від 0,814 (СУ) до 0,844 (УЧеР) в середньому по виду і по всіх, крім УЧР, породах. Зберігаючи, при цьому, високий рівень різноманіття, про що свідчать значення індексів Шеннона (I=1,938, від 1,871 (СУ) до 1,924 (УЧР) та 2,021 (УЧеР) та поліморфізму (*PIC*=0,807, від 0,789 (СУ) до 0,826 (УЧеР) (табл. 5.4).

Таблиця 5.4

Популяційно-генетичні характеристики виду *Bos taurus*

Локуcs	Na	Ae	I	Ho	He	F	PIC	PE	CPE
УЧеР	9,5	6,757	2,021	0,784	0,844	0,069	0,826	0,575	0,99985
УЧР	9,2	6,023	1,924	0,821	0,819	-0,003	0,807	0,653	0,99999
СУ	9,2	5,707	1,871	0,673	0,814	0,176	0,789	0,449	0,99924
Середнє	9,3	6,162	1,939	0,760	0,825	0,081	0,807	0,559	0,99969

Всі досліджені породи мали подібні генетичні профілі індивідуальної гетерозиготності (Hi) (рис 5.1). Серед представників всіх трьох порід, з різною частотою, виявлено лише особини з рівнем індивідуальної гетерозиготності 0,50-0,55, 0,65, 0,80, 0,90 та 1,00. Генетичні профілі порід УЧеР та УЧР були більш подібними в порівнянні з СУ породою. У тварин цих порід виявлено особин з усіма визначеними у даного виду рівнями індивідуальної гетерозиготності, тоді, як серед тварин СУ породи особин з Hi=1,00 були відсутні а у УЧеР та УЧР – було виявлено 4 та 9 таких тварин, відповідно. Загалом, серед особин даного виду Hi=0,50 зустрічалась у 12% особин. Найбільшу частоту показника Hi (1,00), було зареєстровано у УЧР породи,. За частотою тварин з рівнем Hi=0,55 переважала СУ порода (0,10), тоді, як у УЧеР Hi=0,08, а у УЧР Hi=0,05 при загальновидовому значенні 0,23. З 28% тварин з Hi=0,65

12% належало до породи СУ, 10% - УЧеР і 6% - УЧР. З такої ж кількості особин з Hi=0,80 – 12% належало до УЧР худоби, і по 8% до решти порід. За кількістю особин з Hi=0,90 за середньої частоти у 0,29, найбільша кількість тварин (14%) відносилась до породи УЧеР, 10% - УЧР і 5% - до СУ. Особин з Hi=1,00 було виявлено лише в породах УЧеР та УЧР з частотою 0,04 та 0,09, відповідно, за середньої частоти 0,01.

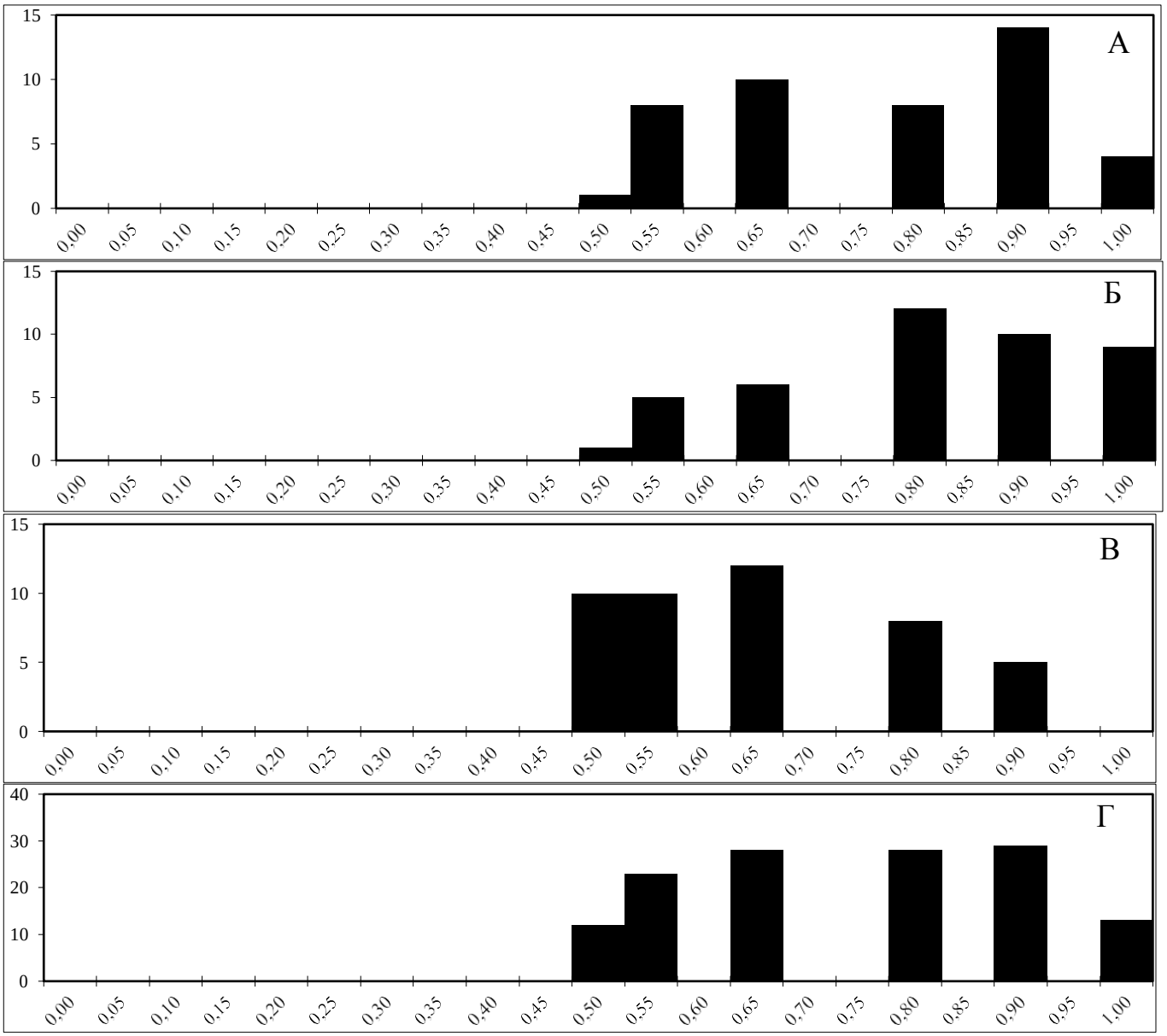


Рис. 5.1 Розподіл (профіль) частот індивідуальної гетерозиготності (Hi) для представників виду *Bos taurus (*А – для УЧеР породи; Б – для УЧР; В – для СУ; Г – загальний, для виду).

В результаті проведених розрахунків рівноваги за Гарді-Вайнбергом (табл. 5.5) встановлено, що достовірний дефіцит гетерозигот має місце за локусом TGLA126 у тварин УЧеР породи за локусами INRA23 ($p<0,01$), BM1824 та TGLA227 ($p<0,05$), УЧР – TGLA122 ($p<0,05$) та СУ породи – TGLA126, TGLA122, BM2113 ($p<0,001$), ETH10 ($p<0,01$), INRA23, ETH3 та BM1824 ($p<0,05$).

Таблиця 5.5

Наявність дефіциту гетерозигот в популяціях різних порід великої рогатої худоби.

Локус	Порода		
	УЧеР	УЧР	СУ
TGLA126	ns	ns	***
TGLA122	ns	*	***
INRA23	**	ns	*
ETH3	ns	ns	*
ETH225	ns	ns	ns
BM1824	*	ns	*
TGLA227	*	ns	ns
BM2113	ns	ns	***
ETH10	ns	ns	**
SPS115	ns	ns	ns

Примітка: ns – розподіл генотипів достовірно не відрізнявся від стану генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом, * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$; ns – розподіл генотипів достовірно не відхиляється від стану генетичної рівноваги Гарді-Вайнберга

Дані, одержані за використання критерію χ^2 Пірсона, при аналізі малочисельних виборок та поліалельних локусів можуть бути зсунуті. В звязку з тим, що ми маємо справу з поліалельними системами, до яких відносяться і мікросателіти ДНК, і невеликим об’ємом виборок, на нашу думку, більш прийнятним є розрахунок рівноваги за Гарді-Вайнбергом за допомогою процедури марківських ланцюгів Монте-Карло (MCMC) [648].

Достовірний надлишок гетерозигот виявлено лише у СУ худоби за локусом SPS115 ($p<0,05$). В цілому ж, результати розрахунків рівноваги за Гарді-Вайнбергом за допомогою процедури марківських ланцюгів Монте-Карло (MCMC) (табл. 3.1.14.) вказують на те, що УЧР порода великої рогатої худоби знаходиться в стані генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом за вісьмома мікросателітними локусами з десяти, а за локусами ETH225 та BM2113 відхиляється від цього стану з достовірністю $p<0.05$. УЧеР порода – за сімома локусами з десяти, крім BM1824 та TGLA227 ($p<0,05$) та INRA23 ($p<0,001$).

Таблиця 5.6

Стан генетичної рівноваги серед особин великої роготої худоби різних порід за мікросателітними локусами ДНК.

Локус	Порода		
	УЧеР	УЧР	СУ
TGLA126	**	ns	***

Продовж. табл. 5.7

TGLA122	***	ns	***
INRA23	ns	ns	**
ETH3	ns	ns	**
ETH225	*	*	ns
BM1824	***	ns	***
TGLA227	ns	ns	**
BM2113	ns	*	***
ETH10	ns	ns	**
SPS115	ns	ns	***

Примітка: ns – розподіл генотипів достовірно не відрізнявся від стану генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом, * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$; ns – розподіл генотипів достовірно не відхиляється від стану генетичної рівноваги Гарді-Вайнберга

У СУ породи стан близький до генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом достовірно встановлений лише для локусів ETH225, TGLA227 та SPS115. Локуси INRA23, ETH3 та BM1824 відхилялись від цього стану з достовірністю ($p<0,05$), локус ETH10 ($p<0,001$) і локуси TGLA126, TGLA122 та BM2113 – з достовірністю $p<0,001$.

Для розрахунку F-статистик Райта нами було використано метод модифікований Вейром и Кокерхемом (1984) з оцінкою рівня їхньої достовірності [650]. В результаті проведених розрахунків було виявлено, що середні значення індексів С. Райта (*Fis* та *Fit*) мають позитивне значення та достовірно відхиляються від нуля, що свідчить про значний рівень генетичної консолідованості популяцій, особливо це стосується всіх локусів, крім ETH3 значення індексів для якого наближались до нуля (табл. 5.7).

Таблиця 5.7

Індекси фіксації С. Райта за результатами мікросателітного аналізу великої рогатої худоби різних порід

Локус	Fis	Fit	Fst
TGLA126	0,027	0,241	0,262
TGLA122	0,018	0,192	0,206
INRA23	0,029	0,101	0,127
ETH3	0,005	-0,005	-0,001
ETH225	0,018	0,006	0,024
BM1824	0,015	0,086	0,101
TGLA227	0,017	0,027	0,044
BM2113	0,070	0,253	0,305
ETH10	0,072	0,085	0,151

Продовж. табл. 5.7

SPS115	0,052	-0,061	-0,005
Середнє	0,033±0,008	0,092±0,033	0,122±0,034
95% CI	[0,019; 0,048]	[0,032; 0,155]	[0,060; 0,187]

Примітка: 95% CI – 95% довірчий інтервал

Водночас, тварини порід характеризуються незначним але достовірним рівнем генетичної диференціації (для 10 локусів у середньому *Fst* =0,122). При чому, найбільший внесок в генетичну відмінність зробили локуси BM2113, TGLA126, TGLA122 ETH10, INRA23 та BM1824, а внесок локусів ETH3 та SPS115 був мінімальним.

Середнє значення потоку генів, який є однією з високоінформативних характеристик генетичного різноманіття, становило 8,07. Як можна побачити на наведеній діаграмі (рис 5.2), найбільше значення потоку генів (23,4) було зафіксовано за локусом ETH3, а найнижче (4,1) за локусами BM2113 та ETH10.

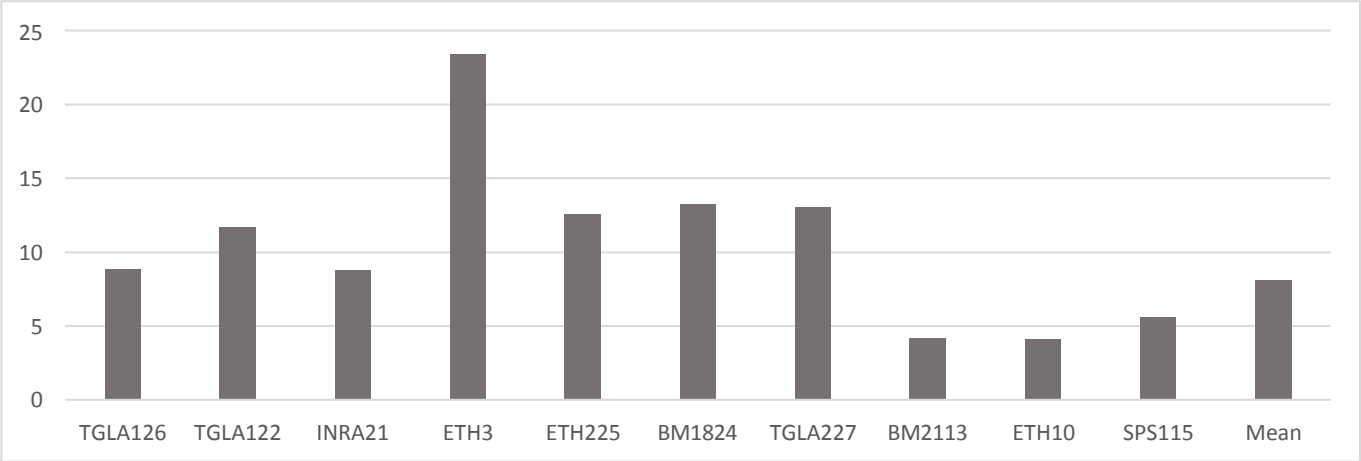


Рис. 5.2 Інтенсивність потоку генів в породах великої рогатої худоби.

Результати аналізу молекулярної мінливості (за допомогою програмного забезпечення AMOVA) свідчать про те, що на 6% генотипова (генетична) мінливість досліджуваного поголів’я великої рогатої худоби зумовлена їхнім походженням, тобто породною належністю, і на 94 % - індивідуальною мінливістю тварин (рис. 5.3).

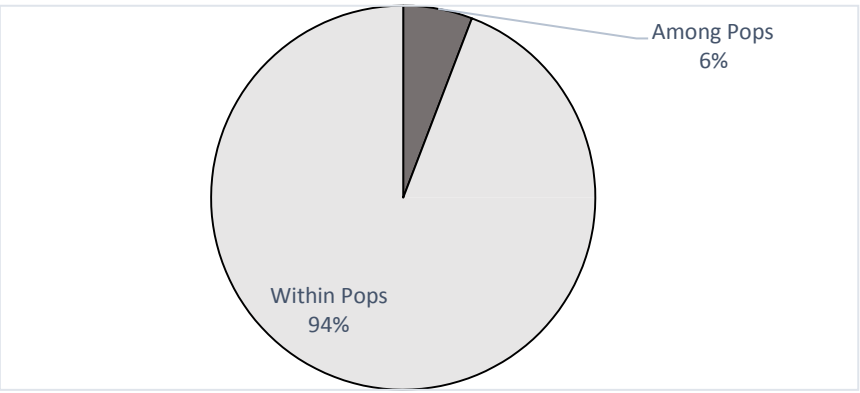


Рис. 5.3 Генотипова мінливість великої рогатої худоби.

Водночас, незважаючи на відносно низьке значення (0,058) генетична диференціація досліджуваних порід має високий рівень значущості (p≤0,001) (табл. 5.8).

Таблиця 5.8

Результати аналізу генетичної мінливості (AMOVA) різних порід великої рогатої худоби за мікросателітними локусами

Джерело мінливості	*df*	*SS*	*MS*	*E(MS)*	*Φst*	*p*
Між групами	2	68,297	34,148	0,564		
В середині груп	130	1186,801	9,129	9,129	0,058	0,001
Загальна	132	1255,098	43,278	9,694		

Результати assignment-тесту (на підставі емпіричного розподілу мультилокусних генотипів) свідчать про те, що в цілому точність прогнозу щодо віднесення певної тварини до однієї з порід становить близько 84% (табл. 5.9). Причому, найвищою є точність прогнозу щодо СУ породи (89%), а УЧеР та УЧоР значно нижчі (82 та 81%, відповідно). При оцінці точності прогнозу в парах порід, найбільшу достовірність отримали при роботі з парами СУ-УЧеР (97%) та СУ-УЧР (89%). А в парі УЧеР-УЧР – лише 82%.

Таблиця 5.9

Результати assignment-тесту між різними породами худоби, голів

Фактична група	Теоретична група			Точність прогнозу
	УЧеР	УЧР	СУ	
УЧеРМ	**37**	3	5	82
УЧоРМ	8	**35**	0	81
СУ	1	4	**40**	89
Загалом	46	42	**45**	**84**

Більш детальний аналіз результатів оцінки генетичної дистанції (табл. 5.10) та генетичної ідентичності (табл. 5.11) за Неєм дає змогу стверджувати що з досліджених нами порід великої рогатої худоби найбільш схожими між собою є особини порід УЧеР та УЧР (генетична відстань 0,170, генетична ідентичність 0,844). Найбільшу генетичну дистанцію за Неєм виявлено між породами УЧР та СУ (0,304), за найменшого рівня генетичної ідентичності (0,738). Тоді, як між УЧеР і СУ ці показники становили 0,266 та 0,766, відповідно.

Таблиця 5.10

Матриця генетичних дистанцій за Неєм між різними породами великої рогатої худоби

УЧеР	УЧР	СУ	
0,000			УЧеР
0,170	0,000		УЧР
0,266	0,304	0,000	СУ

Найбільш спорідненими є особини порід УЧеР та УЧР (генетична відстань 0,170, генетична ідентичність 0,844). Найбільшу генетичну дистанцію за Неєм виявлено між породами УЧР та СУ (0,304), за найменшого рівня генетичної ідентичності (0,738). Тоді, як між УЧеР і СУ ці показники становили 0,266 та 0,766, відповідно.

Таблиця 5.11

Матриця генетичної ідентичності за Неєм між різними породами великої рогатої худоби

УЧеР	УЧР	СУ	
1,000			УЧеР
0,844	1,000		УЧР
0,766	0,738	1,000	СУ

СУ порода виявилась значно генетично обособленою від решти тварин (рис. 5.4). При цьому особини порід УЧеР та УЧР формують відокремлений кластер.

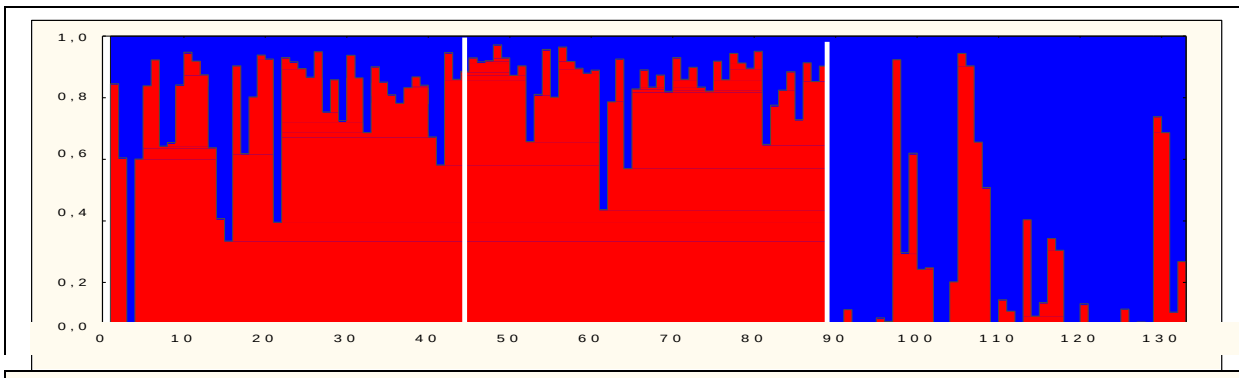
```
                                  8, 479
          5, 776            +-------------------------------УЧеР
  +---------------------1          8, 479
--1                       +-------------------------------УЧР
  !       14, 256
  +-------------------------------------------------------СУ
```

Рис. 5.4 UPGMA-дендрограма подібності, побудована на основі матриці генетичних дистанцій М. Нея, розрахованих між тваринами різних порід за поліморфізмом 10 мікросателітних локусів.

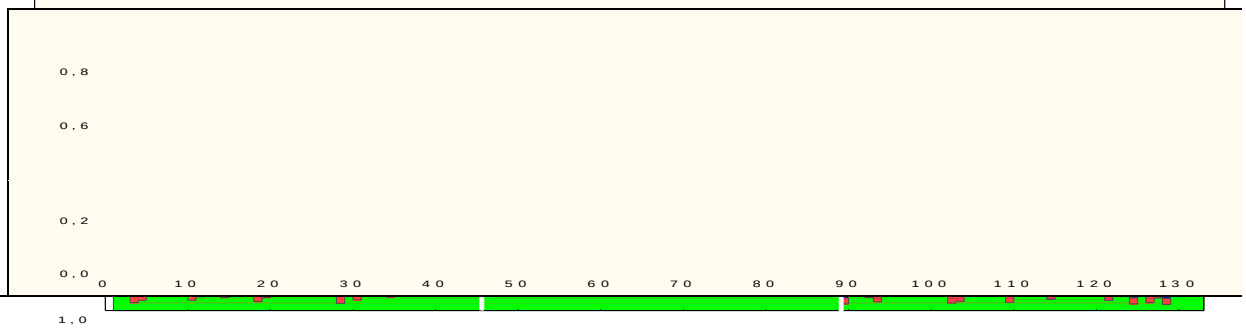
Аналіз результатів оцінки генетичної дистанції та генетичної ідентичності за Неєм дає змогу стверджувати, що найбільш схожими між собою є особини молочних порід (генетична відстань 0,170, генетична ідентичність 0,844). Найбільшу генетичну дистанцію за Неєм виявлено між СУ та молочними породами, за найменшого рівня генетичної ідентичності (0,738).

Для аналізу «тонкої» генетичної структури досліджених популяцій нами, також, було використано метод, що базується на байєсівському алгоритмі розрахунку на основі розподілу частот мультилокусних генотипів за мікросателітами для кожної тварини оцінки «пропорції суміші» (*admixture proportions, Q*), що фактично є вірогідністю віднесення її до однієї з К «батьківських» груп. Під час аналізу нами було використано значення К, що коливалися в межах від 1 до 7. На рис. 5.5 наведено розподіл отриманих оцінок Q для 133 проаналізованих тварин, а на рис. 5.6, відповідно, динаміку логарифму правдоподібності *In P(K)* та *ΔK* залежно від обраного значення *K*.

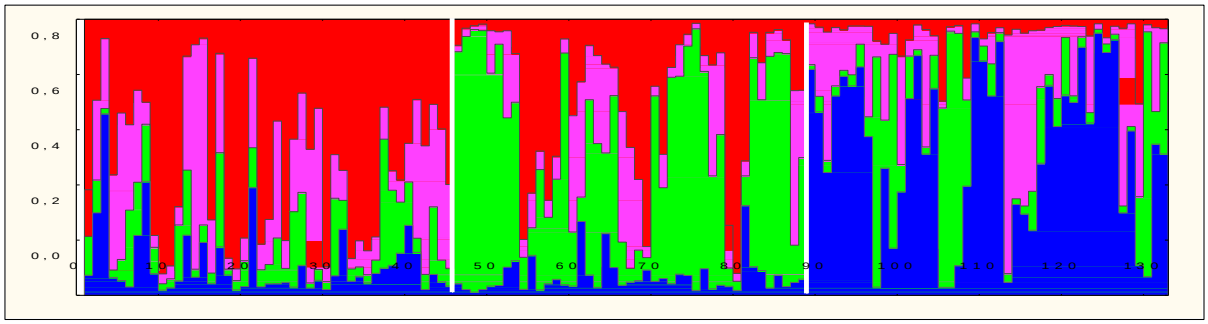
K=2



K=3



K=4



K=5

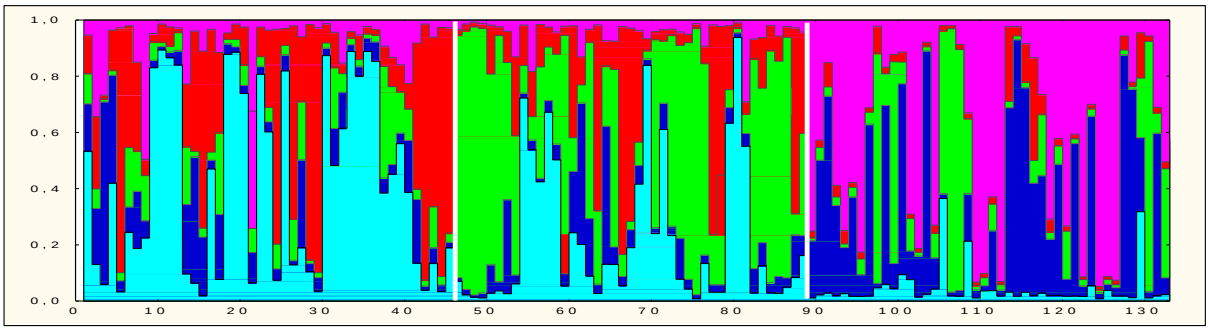


Рис. 5.5 Оцінки «пропорції суміші» (admixture proportions, Q) для великої рогатої худоби, різних порід, розраховані за допомогою програми STRUCTURE, для К від 2 до 5.

Встановлено, що при К=2 всі тварини поділяються на 2 групи – тварини СУ породи досить чітко відокремлюються від тварин УЧеР та УЧР порід. А от УЧеР та УЧР породи практично формуть спільний кластер. Хоча в декількох випадках має місце помилкове віднесення особин до іншої породної групи.

При К=3 всі тварини поділяються на групи, що відповідають їхній породній належності – спостерігається чітке відокремлення тварин СУ породи, а корови молочних порід розподіляються на 2 групи, які відповідають породам УЧеР та УЧР. Помилки, що зустрічаються при віднесенні тварин, стосуються, насамперед, тварин молочних порід.

При збільшенні значення К до чотирьох груп спостерігається генетичне «розшарування» тварин молочних порід. А при збільшенні значення К до 5 – відбувається генетичне «розшарування» тварин і серед породи СУ. Очевидно, це пов’язано з наявністю внутрішньопородних генеалогічних ліній, що характеризуються певним генотиповим складом локусів мікросателітів. Оптимальну кількість «батьківських» груп можна визначити на підставі характеру змін оцінок логарифму правдоподібності *In P(K)*, що отримано для різних значень К.

Як встановлено [653], оптимальним буде таке значення К при якому графік логарифму правдоподібності *In P(K)* виходить на плато. Одержані нами результати аналізу «тонкої» генетичної структури свідчать про те, що згідно значення логарифму правдоподібності ми маємо дві генетичні групи (рис 5.6 (А). Перша – це тварини молочних порід, друга – тварини породи сіра українська Але відповідно до оцінки «пропорції суміші» (admixture proportions, Q) для великої рогатої худоби, різних порід, розраховані за допомогою програми STRUCTURE (рис. 5.6 (А) та максимального прояву оцінок одержаних для *ΔK* (рис 5.6 (Б) найбільш реальним є

наявність трьох генетичних груп (рис 5.6). Перша – це тварини червоно-рябої молочної, друга – тварини чорно-рябої молочної і, нарешті, третя – тварини породи сіра українська.

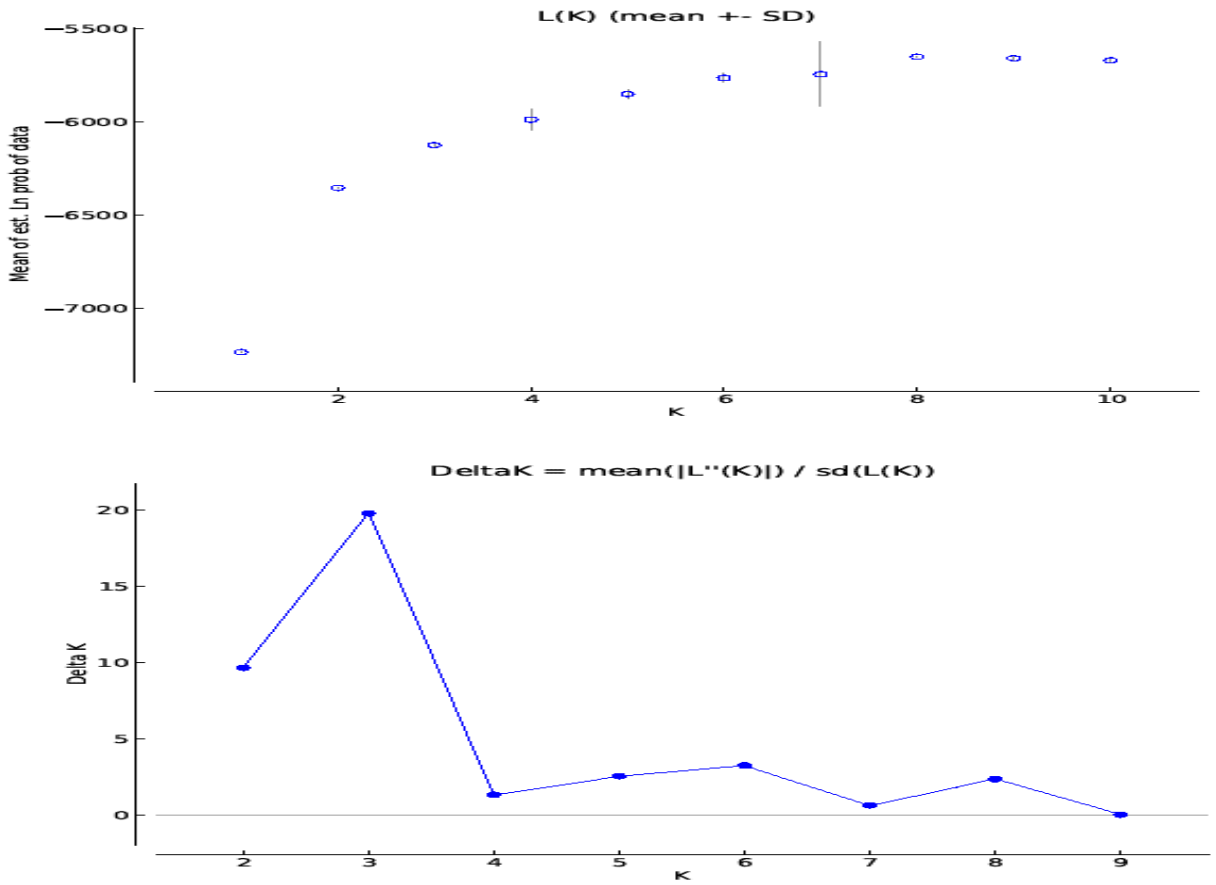


Рис. 5.6 Графіки змін одержаних оцінок логарифму правдоподібності In P(K) (А) та ΔK (Б), залежно від кількості використаних генетичних груп (К=1-7) для досліджуваної худоби різних порід за результатами розрахунків з використанням програми STRUCTURE.

5.2 Популяційно-генетична структура досліджених порід коней

Гуцульська порода коней хоча і знаходиться у стані близькому до генетичної рівноваги, на що вказують значення індексу фіксації (F=0,035) та виявляє тенденції до подальшої стабілізації, підтвердженням чого є нижчий рівень фактичної гетерозиготності (Но=0,775, від 0,577 (HMS07) до 0,910 (AHT04) ніж очікуваної (Не=0,802, від 0,720 (CA425) до 0,856 (ASB2313) в середньому по вибірці є високополіморфною, про що свідчать значення індексів Шеннона (I=1,869, від 1,529 (CA425) до 2,114 (ASB23) та поліморфізму (PIC=0,779, від 0,69 (CA425) до 0,84 (ASB23). Комбінована вірогідність виключення випадкового збігу алелів (*CPE*) становила 0,99985 або 99,99 %. (табл. 5.12).

Таблиця 5.12

Популяційно-генетичні характеристики досліджених локусів гуцульських коней (ГУЦ)

Локус	Na	Ae	I	Ho	He	F	PIC	PE
HTG04	10,000	4,779	1,862	0,808	0,791	-0,021	0,77	0,613
HMS06	9,000	4,928	1,768	0,808	0,797	-0,013	0,77	0,613
HTG06	11,000	4,779	1,850	0,692	0,791	0,125	0,77	0,416
ATH04	11,000	6,631	2,092	0,910	0,849	-0,072	0,83	0,816
ASB23	11,000	6,922	2,114	0,859	0,856	-0,004	0,84	0,713
ASB17	13,000	6,448	2,095	0,885	0,845	-0,047	0,83	0,764
CA425	7,000	3,570	1,529	0,756	0,720	-0,051	0,69	0,521
HTG07	8,000	4,167	1,627	0,679	0,760	0,106	0,73	0,397
HMS03	10,000	5,160	1,875	0,718	0,806	0,109	0,78	0,457
VHL20	11,000	6,036	2,054	0,833	0,834	0,001	0,82	0,062
HMS07	9,000	4,366	1,694	0,577	0,771	0,252	0,74	0,264
Середнє	10,00	5,253	1,869	0,775	0,802	0,035	0,779	0,512
							CPE	0,999882

Вибірка Англійської чистокровної верхової породи коней знаходиться в стані близькому до стану генетичної рівноваги на що вказують значення індексу фіксації (F=0,081) та виявляє тенденції до подальшої стабілізації, підтвердженням чого є нижчий рівень фактичної гетерозиготності (Ho=0,653, від 0,314 (CA425) до 0,824 (ASB23) ніж очікуваної (He=0,707, від 0,478 (CA425) до 0,850 (ATH04) в середньому по вибірці, про що свідчать значення індексів Шеннона (I=1,539, від 0,982 (CA425) до 2,045 (ASB23) та поліморфізму (PIC=0,67, від 0,44 (CA425) до 0,83 (AHT04).

Таблиця 5.13

Популяційно-генетичні характеристики досліджених локусів чистокровної верхової породи (ЧВ) коней

Локус	Na	Ae	I	Ho	He	F	PIC	PE
HTG04	5,000	3,002	1,260	0,588	0,667	0,118	0,610	0,277
HMS06	7,000	2,591	1,276	0,647	0,614	-0,054	0,580	0,351
HTG06	7,000	2,230	1,012	0,608	0,552	-0,102	0,470	0,300
ATH04	9,000	6,652	2,001	0,765	0,850	0,100	0,830	0,535
ASB23	13,000	5,979	2,045	0,824	0,833	0,011	0,810	0,643
ASB17	8,000	5,002	1,788	0,706	0,800	0,118	0,770	0,437
CA425	7,000	1,917	0,982	0,314	0,478	0,344	0,440	0,069
HTG07	7,000	3,548	1,493	0,647	0,718	0,099	0,680	0,351
HMS03	10,000	3,365	1,666	0,588	0,703	0,163	0,680	0,277
VHL20	7,000	4,048	1,594	0,725	0,753	0,037	0,720	0,469
HMS07	8,000	5,255	1,816	0,765	0,810	0,056	0,780	0,535

Продовж. табл. 5.13

Середнє	8,000	3,963	1,539	0,653	0,707	0,081	0,670	0,386
							CPE	0,996689

УВП, як і решта порід коней, знаходиться в стані близькому до стану генетичної рівноваги, свідченням чого є значення індексу фіксації (*F*=0,062) та виявляє тенденції до подальшої стабілізації, підтвердженням чого є нижчий рівень фактичної гетерозиготності (Ho=0,812, від 0,691 (CA425) до 0,914 (VHL20) ніж очікуваної (He=0,865, від 0,810 (CA425) до 0,900 (ASB17) в середньому по вибірці. Дана порода є високополіморфною, про що свідчать значення індексів Шеннона (I=2,250, від 1,999 (HTG07) до 2,505 (ASB17) та поліморфізму (PIC=0,842, від 0,78 (HMS06) до 0,89 (ASB17).

Таблиця 5.14

Популяційно-генетичні характеристики досліджених локусів української верхової породи (УВП) коней

Локус	Na	Ae	I	Ho	He	F	PIC	PE
HTG04	13,000	8,348	2,282	0,783	0,880	0,111	0,87	0,568
HMS06	12,000	6,828	2,117	0,796	0,854	0,067	0,78	0,430
HTG06	15,000	7,885	2,319	0,855	0,873	0,021	0,86	0,705
ATH04	15,000	8,232	2,331	0,789	0,879	0,101	0,86	0,569
ASB23	14,000	8,333	2,347	0,816	0,880	0,073	0,87	0,629
ASB17	16,000	10,041	2,505	0,901	0,900	-0,001	0,89	0,798
CA425	16,000	5,256	2,071	0,691	0,810	0,147	0,79	0,414
HTG07	11,000	5,728	1,999	0,724	0,825	0,123	0,81	0,466
HMS03	16,000	8,408	2,341	0,796	0,881	0,096	0,87	0,592
VHL20	15,000	7,361	2,243	0,914	0,864	-0,058	0,85	0,825
HMS07	14,000	7,472	2,198	0,862	0,866	0,005	0,81	0,718
Середнє	14,273	7,627	2,250	0,812	0,865	0,062	0,842	0,610
							CPE	0,999985

Вибірка тварин виду *Equs caballus,* як і кожної з порід, зокрема, знаходиться в стані близькому до стану генетичної рівноваги, свідченням чого є значення індексу фіксації (F=0,059) та виявляє тенденції до подальшої стабілізації, підтвердженням чого є нижчий рівень фактичної гетерозиготності (Ho=0,747, від 0,653 (ЧВ) до 0,812 (УВП) ніж очікуваної (He=0,791, від 0,707 (БЧ) до 0,802 (ГУЦ) та 0,865 (УВП) в середньому по вибірці. Даний вид є високополіморфним, про що свідчать значення індексів Шеннона (I=1,886, від 1,539 (ЧВ) до 1,869 (ГУЦ) та 2,250 (УВП) та поліморфізму (PIC=0,764, від 0,67 (ЧВ) до 0,842 (УВП).

За кількістю приватних алелів найбільше значення (3,818) зафіксовано в УВП коней, а у ГУЦ та ЧВ – 0,273 та 0,182, відповідно.

Таблиця 5.15

Популяційно-генетичні характеристики досліджени порід коней за STR локусами ДНК

Локус	Na	Ae	I	Ho	He	F	PIC	PE	CPE
ГУЦ	10,00	5,25	1,869	0,775	0,802	0,035	0,779	0,512	0,999882
ЧВ	8,00	3,96	1,539	0,653	0,707	0,081	0,67	0,386	0,996689
УВП	14,27	7,63	2,250	0,812	0,865	0,062	0,842	0,610	0,999985
Середнє	10,758	5,61	1,886	0,747	0,791	0,059	0,764	0,502	0,998852
	CPE								0,99999

Аналіз рівня індивідуальної гетерозиготності показав, що всі досліджені породи мають власний генетичний профіль. Так, серед представників чистокровної верхової та української верхової порід, виявлено тварин з рівнем індивідуальної гетерозиготності від Hi=0,25, а у гуцульських коней – лише від Hi=0,45 і вище. Слід відзначити, що генетичні профілі всіх досліджених порід були схожими і відрізнялись лише за частотами. Так у тварин порід ЧВ та УВП виявлено особин з усіма визначеними у даного виду рівнями індивідуальної гетерозиготності, а серед тварин гуцульської породи особин з Hi=0,25 та 0,35 виявлено не було. Серед тварин даного виду особини з рівнем індивідуальної гетерозиготності 0,25 зустрічались з середньою частотою 2%, В обох породах (ЧВ та УВП) кількість тварин з таким рівнем Hi становила 1%. За частотою тварин з рівнем у 0,35 за загальновидовому рівні у 5% в УВП Hi становила 1% а у ЧВ досягала 4%. За частотою тварин з рівнем індивідуальної гетерозиготності у 0,45 переважали ЧВ та УВП (4%), тоді, як в ГУЦ це значення становило 1%, за загальновидового значення 9%. З 24% тварин з рівнем Hi 0,50 11% належало до УВП, 8% - ЧВ і 5% - ГУЦ. З 39% особин з рівнем 0,60 – 18% належало до УВП худоби, 12% - ЧВ і 9 до ГУЦ. За кількістю особин з рівнем Hi 0,70 за загальної частоти у 52%, найбільша кількість тварин (23%) відносилась до ГУЦ, 19% - до УВП і 10% - до ЧВ породи. За кількістю тварин з рівнем Hi 0,80 за загальновидового показника у 51%, найбільшу кількість особин (26%) було виявлено в УВП, 19% - у ГУЦ і лише 6% у ЧВ породи. Для найбільшої кількості коней (64%) характерним виявилась значення індивідуальної гетерозиготності на рівні 0,90. При цьому найбільше особин (40%) було встановлено в УВП, 19% - в ГУЦ і найменшу кількість (5%) зафіксовано у ЧВ породі. Рівень індивідуальної гетерозиготності 1,00 було

зафіксовано лише в 35% поголів'я, найбільша кількість таких тварин (32%) була виявлена в українській верховій породі, а в ГУЦ та ЧВ їх було зафіксовано лише 2 та 1 відсоток, відповідно.

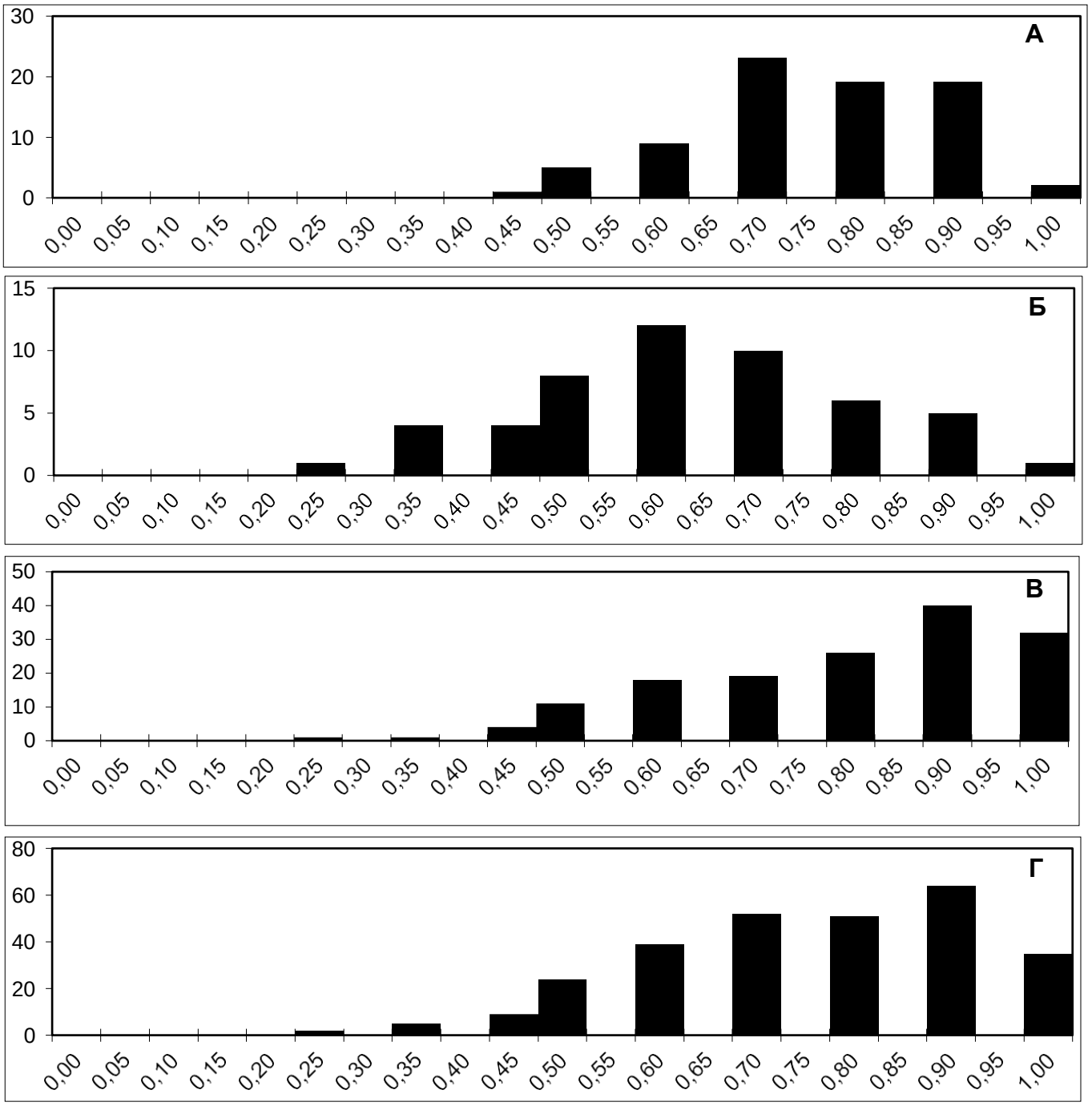


Рис. 5.7 Розподіл частот індивідуальної гетерозиготності (Hi) для представників виду *Equs caballus* (А – для ГУЦ; Б – для ЧВ; В – для УВП; Г – загальний, для виду).

Зважаючи на те, що дані, одержані за використання критерію χ^2 Пірсона, при аналізі малочисельних виборок та поліалельних локусів можуть бути зсунені. В звязку з тим, що ми маємо справу з поліалельними системами, до яких відносяться і

мікросателіти ДНК, і невеликим об’ємом виборок, на нашу думку, більш прийнятним є розрахунок рівноваги за Гарді-Вайнбергом за допомогою процедури марківських ланцюгів Монте-Карло (MCMC).

У ГУЦ за 8 локусами (73%) розподіл генотипів достовірно не відрізнявся від стану генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом, достовірну різницю було виявлено лише за локусами HMS03 (p<0,05), HMS07 (p<0,001) та HTG07 та (p<0,001). У популяції ЧВ породи лише локуси HTG06 та VHL20, а в УВП – VHL20 та HMS07 знаходились у стані генетичної рівноваги, решта ж, з різним ступенем достовірності, відхилялась від цього стану (табл 5.16)

Таблиця 5.16

Локус	Порода		
	ГУЦ	ЧВ	УВП
HTG04	ns	**	***
HMS06	ns	*	**
HTG06	ns	ns	*
ATH04	ns	***	***
ASB23	ns	*	*
ASB17	ns	***	*
CA425	ns	**	**
HTG07	***	**	***
HMS03	*	*	***
VHL20	ns	ns	ns
HMS07	**	***	ns

Примітка: ns – розподіл генотипів достовірно не відрізнявся від стану генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом, * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001

Достовірний надлишок гетерозигот виявлено лише в коней української верхової породи за локусом VHL20 (p<0,05).

За результатами розрахунку рівноваги за Гарді-Вайнбергом за допомогою процедури марківських ланцюгів Монте-Карло (MCMC) гуцульські коні з усіх протестованих порід знаходяться у стані найближчому до стану генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбргом у цієї породи 7 з 11 мікросателітних локусів достовірно не відхилялись від стану рівноваги і лише за 4 зафіксовано достовірний надлишок або нестачу гетерозигот. За локусами AHT04 та HTG07 з достовірністю p<0,01, а за локусами HTG06 та HMS07 – p<0,001. У особин британської чистокровної породи лише п`ять локусів знаходились у стані рівноваги, а 6 мали достовірні відхилення від нього. Локуси HTG04, HMS06, ASB23 та ASB17 з достовірністю p<0,05, а локуси ATH04, CA425 та HMS03 – p<0,001. У тварин української верхової породи було

виявлено лише 2 врівноважених локуси, а саме VHL20 та HMS07 тоді, як 9 показували достовірне відхилення від стану генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом. Локус ASB17 з достовірністю p<0,05, локуси ASB23 та HMS03 – p<0,01, а локуси HTG04, HMS06, HTG06, ATH04, CA425 та HTG07 – p<0,001.

Таблиця 5.17

Локус	Порода		
	ГУЦ	ЧВ	УВП
HTG04	ns	*	***
HMS06	ns	*	***
HTG06	***	ns	***
ATH04	**	***	***
ASB23	ns	*	**
ASB17	ns	*	*
CA425	ns	***	***
HTG07	**	ns	***
HMS03	ns	***	**
VHL20	ns	ns	ns
HMS07	***	ns	ns

Примітка: ns – розподіл генотипів достовірно не відрізнявся від стану генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом, * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$

Слід відмітити, що локус VHL20 був єдиним з досліджених мікросателітних локусів, який знаходився у стані генетичної рівноваги в усіх трьох пород коней, а локус HMS07 – у двох, а саме, британської чистокровної та української верхової. За локусом ATH04 в усіх трьох порід достовірно зафіксовано відхиленн від стану генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом.

Внутрішньопородна генетична диференціація коней за мікросателітами ДНК. Середні значення індексів С. Райта (*Fis* та *Fit*) мають позитивне значення та достовірно відхиляються від нуля, що свідчить про значний рівень генетичної консолідованості популяцій, це стосується насамперед локусів HTG07, CA425, HMS03, а за *Fit* ще й HTG04, HTG06 та HMS07. Слід зазначити що за показником *Fis* локуси HMS06 та VHL20A показали значення, що наближались до нуля.

Таблиця 5.18

Індекси фіксації С. Райта за результатами мікросателітного аналізу коней різних порід

Локус	*Fis*	*Fit*	*Fst*
HTG04	0,082	0,158	0,084
HMS06	0,033	0,083	0,052

Продовж. табл. 5.18

HTG06	0,039	0,151	0,116
ATH04	0,059	0,071	0,013
ASB23	0,046	0,063	0,017
ASB17	0,012	0,054	0,043
CA425	0,121	0,167	0,052
HTG07	0,120	0,126	0,007
HMS03	0,116	0,174	0,066
VHL20	-0,021	0,039	0,059
HMS07	0,083	0,106	0,025
В середньому	0,062±0,014	0,108±0,015	0,049±0,010
95% CI	[0,035; 0,087]	[0,080; 0,136]	[0,031; 0,069]

Примітка: 95% CI – 95% довірчий інтервал

Водночас тварини порід характеризуються незначним але достовірним рівнем генетичної диференціації (для 11 локусів у середньому *Fst* =0,043 (p>0,001). Слід відмітити, що оцінки даного критерію були достовірними (p>0,001) за всіма локусами крім HTG07, для якого було розраховано індекс генетичної диференціації (*Fst*) зі значенням близьким до нуля (0,009) яке було недостовірним. При чому, найбільший внесок в генетичну різницю зроби локус HTG06, а мінімальним був внесок локусу HTG07.

Середнє значення потоку генів, який є однією з високоінформативних характеристик генетичного різноманіття, становило 5. Як можна побачити на наведеній діаграмі (рис 5.8), найвищою інтенсивністю потоку генів (27,786) характеризувався локус HTG07, а найнижчою (2,162) – локус HTG06.

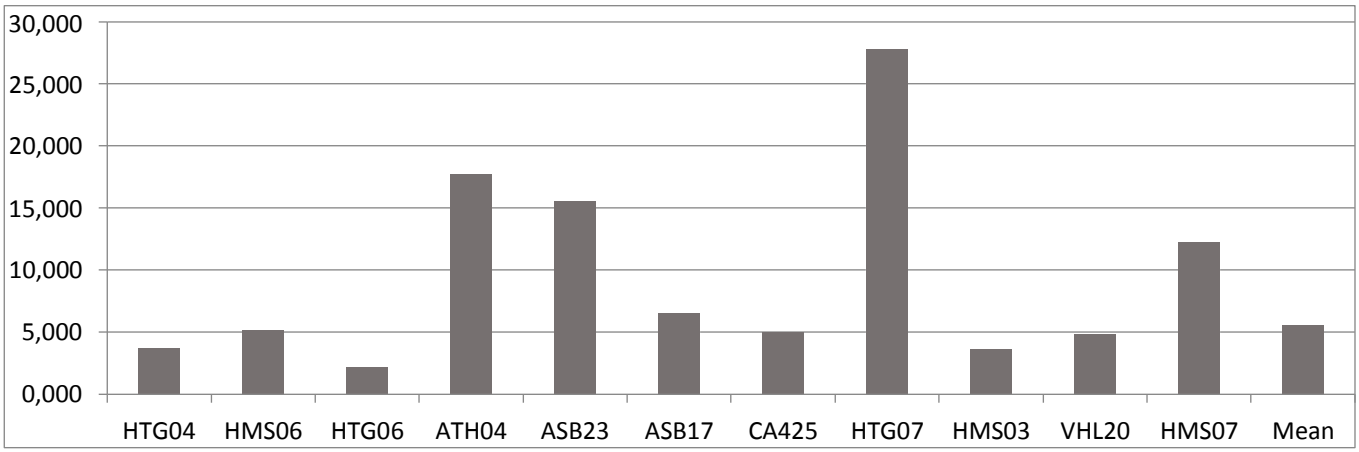


Рис. 5.8 Інтенсивність потоку генів в породах коней.

Результати аналізу молекулярної мінливості (за допомогою програмного забезпечення AMOVA) свідчать про те, що на 9% генотипова мінливість

досліджуваного поголів'я коней зумовлена породною належністю, і на 91 % - індивідуальною мінливістю тварин (рис 5.9).

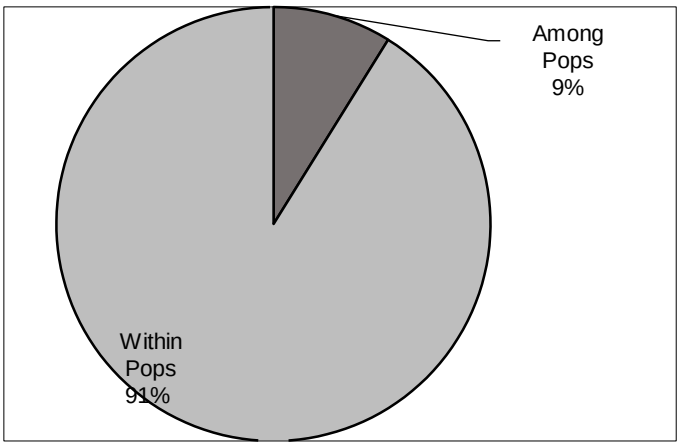


Рис. 5.9 Генотипова мінливість коней. Її зумовленість.

Водночас, незважаючи на відносно низьке значення (0,089) генетична диференціація між досліджуваними породами демонструє високий рівень значущості (p≤0,001) (табл. 5.19).

Таблиця 5.19

Результати аналізу генетичної мінливості (AMOVA) між різними породами коней за мікросателітними локусами

Джерело мінливості	*df*	*SS*	*MS*	*E(MS)*	*Φst*	*p*
Між групами	2	176,033	88,017	0,934		
В середині груп	278	2672,910	9,615	9,615	0,089	0,001
Загальна	280	2848,943	97,632	10,549		

Результати Assignment-тесту (на підставі емпіричного розподілу мультилокусних генотипів) свідчать про те, що в цілому точність прогнозу щодо віднесення певної тварини до однієї з порід становить близько 89,8% (табл. 5.20). Причому, найвищою є точність прогнозу щодо ГУЦ (93,6%) та ЧВ (92,2%), а для УВП значно нижче (83,6%).

Таблиця 5.20

Результати Assignment-тесту між різними породами коней (голів)

Фактична група	Теоретична група			Точність прогнозу
	ГУЦ	ЧВ	УВП	
ГУЦ	**73**	3	2	93,6
ЧВ	3	**47**	1	92,2
УВП	15	10	**127**	83,6
	91	60	**130**	88

Досліджені нами породи коней характеризуються (табл. 5.21) найменшою дистанцією між УВП і рештою порід. Розрахована матриця генетичної ідентичності

Таблиця 5.21

Матриця генетичних дистанцій за Неєм між різними породами коней

ГУЦ	ЧВ	УВП	
0,000	-	-	ГУЦ
0,294	0	-	ЧВ
0,220	0,238	0,000	УВП

(табл. 5.22) повністю відображає одержані дані.

Аналіз результатів оцінки генетичної відстані за Неєм, показав, що, як і

Таблиця 5.22

Матриця генетичної ідентичності за Неєм між різними породами коней

ГУЦ	ЧВ	УВП	
0,000	-	-	ГУЦ
0,745	0,000	-	ЧВ
0,803	0,889	0,000	УВП

очікувалось, тварини БЧ породи виявились значно генетично обособленими від решти тварин (рис. 5.10). При цьому особини порід ГК та УВП окремий кластер.

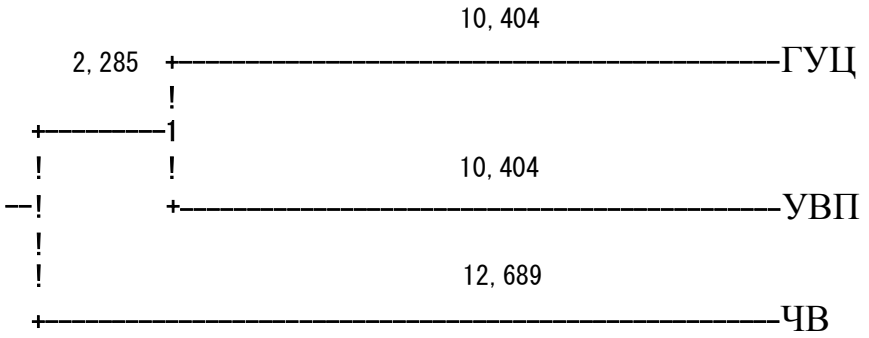


Рис. 5.10 UPGMA-дендрограма подібності, побудована на основі матриці генетичних дистанцій М. Нея, розрахованих між тваринами різних порід за поліморфізмом 10 мікросателітних локусів.

Отже аналіз результатів оцінки генетичної дистанції та генетичної ідентичності за Неєм дає змогу стверджувати, що тварини порід ГУЦ та ЧВ відносяться до різних кластерів, а УВП виявляє найменшу дистанцію (10,220 та 0,238) і, відповідно найбільшу ідентичність (0,803 та 0,889) до решти досліджуваних порід

В результаті аналізу тонкої генетичної структури встановлено, що при К=2 всі тварини поділяються на групи, що відповідають їхній породній належності – Тварини

ГУЦ та ЧВ досить чітко відокремлюються одні від одних, а особини породи УВП поєднують в своїй структурі риси характерні для решти досліджених порід коней. На рис. 5.11 наведено розподіл отриманих оцінок Q для 281 проаналізованої тварини, а на рис. 5.12, відповідно, динаміку логарифму правдоподібності In P(K) та ΔK залежно від обраного значення K.

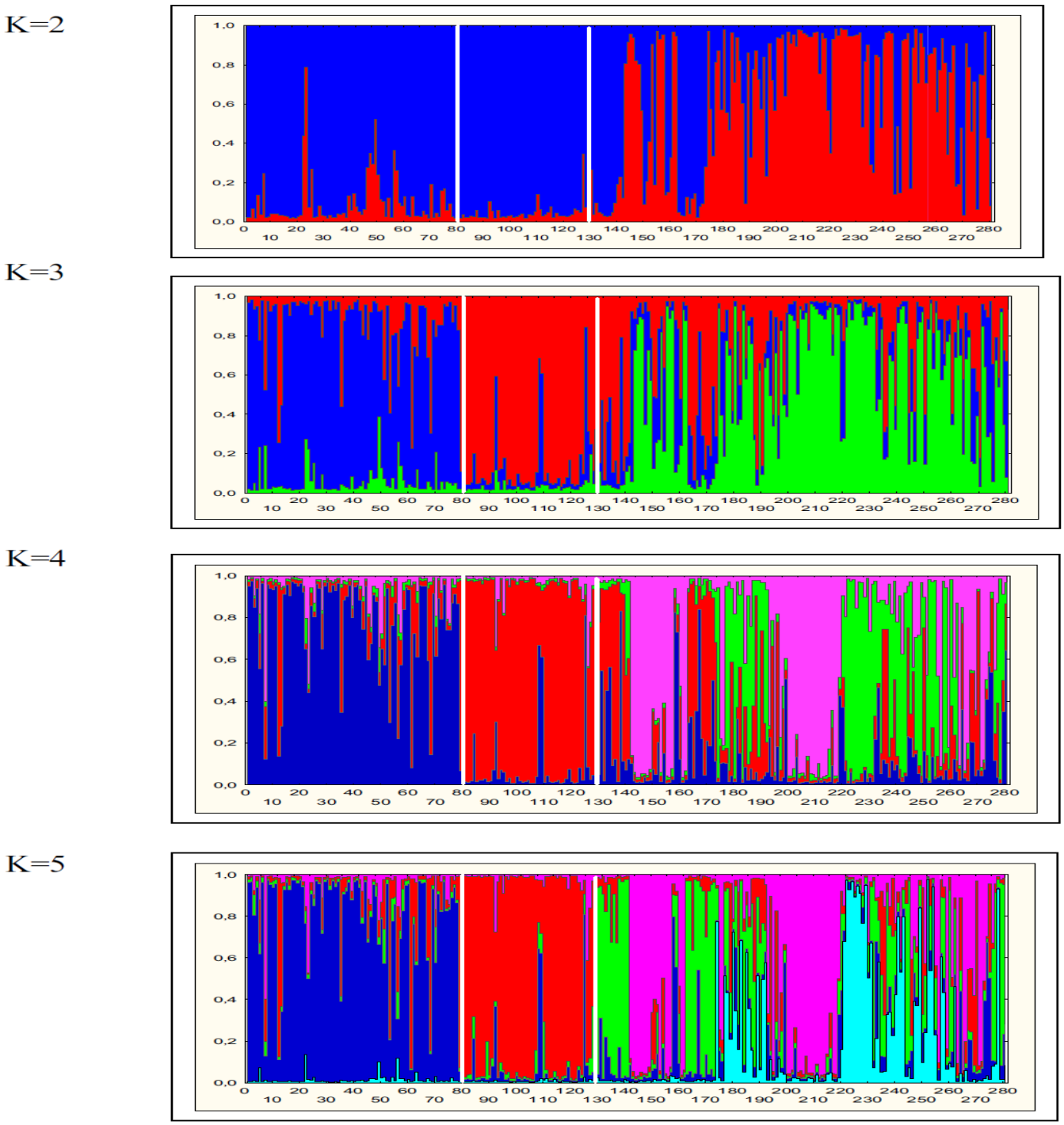


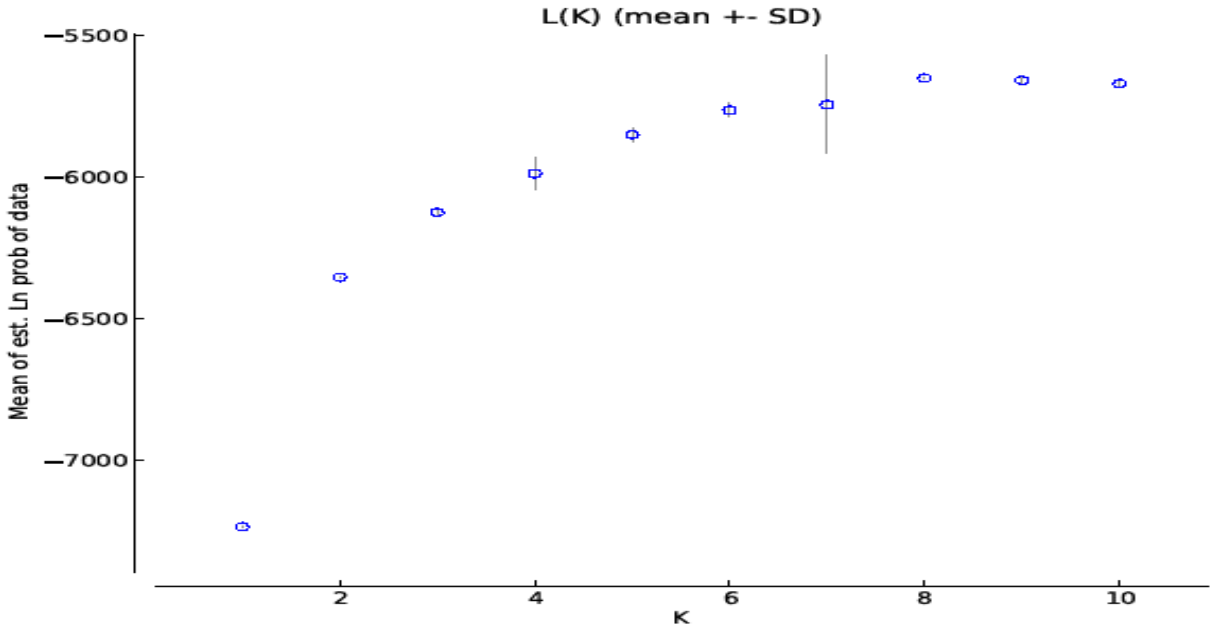
Рис. 5.11 Оцінки «пропорції суміші» (admixture proportions, Q) для коней,

різних порід, розраховані за допомогою програми STRUCTURE, для К від 2 до 5.

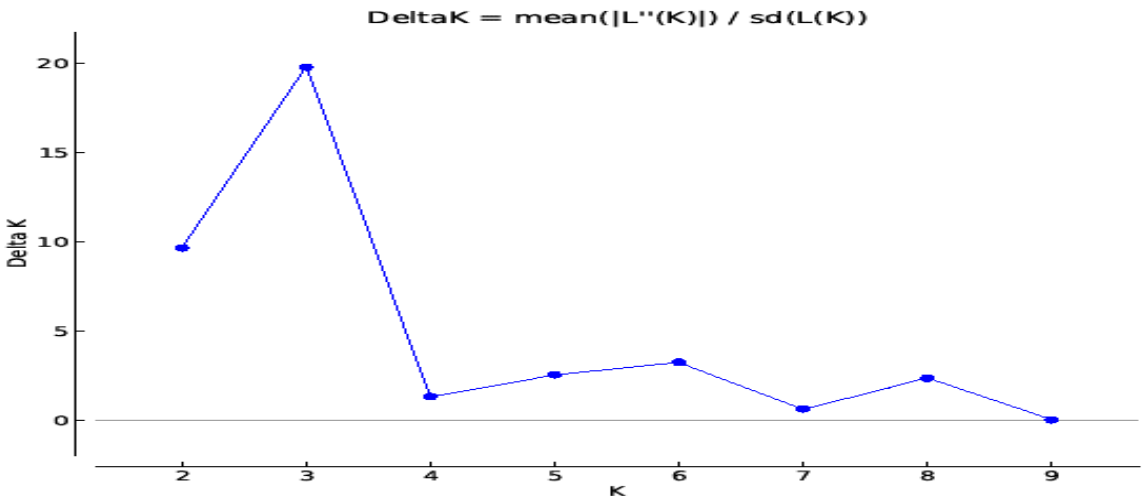
При К=3 спостерігається генетичне «розшарування» тварин УВП, а решта порід коней розподіляються на 2 групи, які відповідають породам ГУЦ та ЧВ.

При збільшенні значення К до чотирьох груп спостерігається генетичне «розшарування» ГУЦ. А при збільшенні значення К до 5 – відбувається генетичне «розшарування» тварин і серед породи ЧВ. Це пов'язано з наявністю внутрішньопородних генеалогічних ліній, в середині порід і опосередковано може характеризуати селекційні характерні особливості в селекційній роботі з кожною з порід. Оптимальну кількість «батьківських» груп можна визначити на підставі характеру змін оцінок логарифму правдоподібності In P(K), що отримано для різних значень К.

Одержані нами результати аналізу «тонкої» генетичної структури свідчать про те, що найбільш реальним є наявність трьох генетичних груп (рис 5.12 (А). Перша – це тварини УВП, друга – тварини породи ГУЦ і нарешті третя – тварини ЧВ породи. Крім того, саме при К=3 оцінки, одержані для ΔК мають максимальний прояв (рис 5.12 (Б).



А



Б

Рис. 5.12 Графіки змін одержаних оцінок логарифму правдоподібності In P(K) (А) та ΔK (Б), залежно від кількості використаних генетичних груп (К=1-7) для досліджуваних коней різних порід за результатами розрахунків з використанням програми STRUCTURE.

5.3 Популяційно-генетична структура порід собак

Виборка тварин породи німецька вівчарка (НВ) знаходиться у стані близькому до генетичної рівноваги, на що вказують значення індексу фіксації (F=0,086) та виявляє тенденції до стабілізації, підтвердженням чого є нижчий рівень фактичної гетерозиготності (*Ho*=0,754, від 0,615 (FHC2010) до 0,846 (PEZ01 та PEZ06) ніж очікуваної (*He*=0,830, від 0,759 (PEZ06) до 0,900 (PEZ08) в середньому по вибірці зберігає високий рівень різноманіття, про що свідчать значення індексів Шеннона (I=1,958, від 1,507 (PEZ06) до 2,422 (PEZ08) та поліморфізму (PIC=0,808, від 0,72 (PEZ06) до 0,89 (PEZ08). Комбінована вірогідність виключення випадкового збігу алелів (*CPE*) становила 0,9839 або 98,39 %.(табл. 5.23).

Таблиця 5.23

Популяційно-генетичні характеристики досліджених локусів собак породи німецька вівчарка (НВ)

Локус	Na	Ae	I	Ho	He	F	PIC	PE
PEZ1	12,000	7,313	2,178	0,846	0,863	0,020	0,85	0,687
PEZ8	13,000	10,040	2,422	0,641	0,900	0,288	0,89	0,343
FHC2010	9,000	5,053	1,851	0,615	0,802	0,233	0,78	0,310
PEZ6	5,000	4,144	1,507	0,846	0,759	-0,115	0,72	0,687
FHC2054	7,000	5,707	1,831	0,821	0,825	0,005	0,80	0,638
Середнє	9,2	6,451	1,958	0,754	0,830	0,086	0,808	0,533
CPE								0,9839

Тварини породи німецький дог (НД) знаходяться у стані близькому до генетичної рівноваги, на що вказують значення індексу фіксації (F=0,012) та виявляє тенденції до стабілізації, підтвердженням чого є нижчий рівень фактичної гетерозиготності (*Ho*=0,820, від 0,650 (FHC2010) до 0,950 (PEZ01 та PEZ06) ніж очікуваної (*He*=0,833, від 0,776 (PEZ01) до 0,873 (PEZ08) в середньому по вибірці. Значення індексів Шеннона (I=1,920, від 1,583 (PEZ01) до 2,268 (PEZ08) та поліморфізму (PIC=0,812, від 0,74 (PEZ01) до 0,86 (PEZ08) (табл. 5.24).

Таблиця 5.24

Популяційно-генетичні характеристики досліджених локусів собак породи німецький дог (НД)

Локус	Na	Ae	I	Ho	He	F	PIC	PE
PEZ01	6	4,469	1,583	0,950	0,776	-0,224	0,74	0,898
PEZ08	13	7,843	2,268	0,700	0,873	0,198	0,86	0,428
FHC2010	7	5,333	1,781	0,650	0,813	0,200	0,79	0,355
PEZ06	8	6,557	1,976	0,950	0,848	-0,121	0,83	0,898
FHC2054	8	7,018	1,990	0,850	0,858	0,009	0,84	0,695
Середнє	8,400	6,244	1,920	0,82	0,833	0,012	0,812	0,655
							CPE	0,9988

Вибірка тварин породи російський тойтер'єр (РТ) знаходиться у стані близькому до генетичної рівноваги, але є менш врівноваженою в порівнянні з рештою порід собак., на що вказують значення індексу фіксації (F=0,121) та виявляє тенденції до стабілізації, підтвердженням чого є нижчий рівень фактичної гетерозиготності (*Ho*=0,69, від 0,500 (PEZ08) до 0,800 (PEZ01 та PEZ06) ніж очікуваної (*He*=0,788, від 0,616 (FHC2010) до 0,879 (PEZ06) в середньому по вибірці та є високополіморфною), про що свідчать значення індексів Шеннона (I=1,804, від 1,262 (FHC2010) до 2,215 (PEZ06) та поліморфізму (PIC=0,778, від 0,61 (FHC2010) до 0,86 (PEZ06). Комбінована вірогідність виключення випадкового збігу алелів (*CPE*) становила 0,9546 або 95,46% (табл. 5.25).

Таблиця 5.25

Популяційно-генетичні характеристики досліджених локусів собак породи російський тойтер'єр (РТ)

Локус	Na	Ae	I	Ho	He	F	PIC	PE
PEZ01	9	5,000	1,840	0,800	0,800	0,000	0,80	0,599
PEZ08	7	5,031	1,761	0,500	0,801	0,376	0,79	0,188
FHC2010	6	2,606	1,262	0,600	0,616	0,026	0,61	0,291
PEZ06	11	8,247	2,215	0,800	0,879	0,090	0,86	0,599
FHC2054	8	6,452	1,942	0,750	0,845	0,112	0,83	0,510

Продовж. табл. 5.25

Середнє	8,200	5,467	1,804	0,69	0,788	0,121	0,778	0,437
							CPE	0,9546

Вибірка тварин виду *Canis canis* знаходиться у стані близькому до генетичної рівноваги, на що вказують значення індексу фіксації (F=0,073) та виявляє тенденції до стабілізації, підтвердженням чого є нижчий рівень фактичної гетерозиготності (*Ho*=0,755, від 0,690 (РТ) до 0,820 (НД) ніж очікуваної (*He*=0,817, від 0,788 (РТ) до 0,830 (НВ) та 0,833 (НД) в середньому по вибірці зберігає високий рівень різноманіття, про що свідчать значення індексів Шеннона (I=1,894, від 1,804 (РТ) до 1,920 (НД) та 1,958 (НВ) та поліморфізму (PIC=0,795, від 0,766 (РТ) до 0,808 та 0,812 (НВ та НД, відповідно). Комбінована вірогідність виключення випадкового збігу алелів (*CPE*) становила 0,9546 або 95,46% (табл. 5.26).

Таблиця 5.26

Популяційно-генетичні характеристики досліджених МСЛ у собак

Порода	Na	Ae	I	Ho	He	F	PIC	PE	CPE
НВ	9,2	6,451	1,958	0,754	0,830	0,086	0,808	0,533	0,9839
НД	8,4	6,244	1,920	0,82	0,833	0,012	0,812	0,655	0,9988
РТ	8,2	5,467	1,804	0,69	0,788	0,121	0,778	0,437	0,9546
Середнє	8,6	6,054	1,894	0,755	0,817	0,073	0,795	0,542	0,9791
CPE									0,9999

З найбільшою частотою, в усіх досліджених порода собак, виявляли особин з індивідуальною гетерозиготностю Hi=0,80. Слід відмітити, що практичну ідентичність загальновидовому профілю показала лише досліджена популяція собак породи НВ. Особин з Hi=0,20 й 0,40 присутні лише в породи НВ та РТ (2 й 1 та 1 й 4, відповідно). Особин з індивідуальною гетерозиготністю (Hi=1,00) загалом було виявлено 18, з них 10 особин породи НВ, 6 особин породи НД та 2 особини породи РТ.

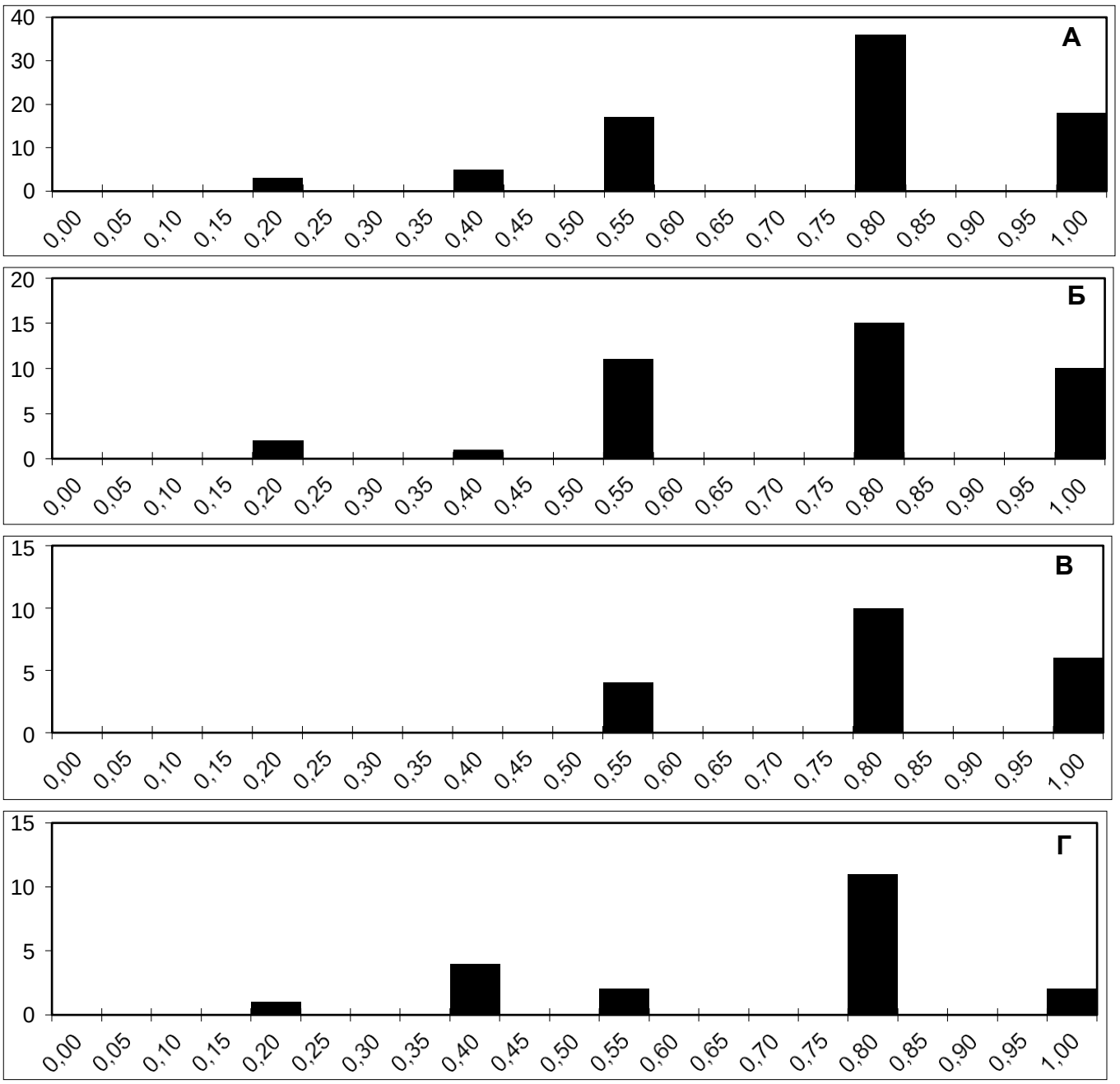


Рис. 5.13 Розподіл (профіль) частот індивідуальної гетерозиготності (Hi) для представників виду *Canis canis* (А – загальний, для виду; Б – для породи НВ; В – для НД; Г – для РТ).

В результаті проведених розрахунків рівноваги за Гарді-Вайнбергом за допомогою процедури марківських ланцюгів Монте-Карло (МСМС) встановлено, що собаки порід НВ та НД знаходяться в стані генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом за трьома мікросателітними локусами з п`яти, а та РТ – за чотирма *(табл. 5.27*).

Таблиця 5.27

Наявність дефіциту гетерозигот в популяціях різних порід собак.

Локус	Порода		
	НВ	НД	РТ
PEZ01	ns	ns	ns
PEZ08	***	**	**
FHC2010	**	ns	ns
PEZ06	ns	ns	ns
FHC2054	ns	ns	ns

Примітка: ns – розподіл генотипів достовірно не відрізнявся від стану генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом, * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$

У німецьких вівчарок зафіксовано відхилення від стану генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом в бік дефіциту гетерозигот, з різними порогами достовірності: за локусами PEZ08 – ($p<0,001$) та FHC2010 ($p<0,01$). У німецьких догів у стані генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом знаходились локуси FHC2010, PEZ06та FHC2054, тоді, як локусом PEZ08 зареєстровано надлишок гетерозигот ($p<0,05$), а за FHC2010 – дефіцит ($p<0,01$). Досліджена популяція Російських тойтер`єрів знаходилась у стані генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом за всіма досліджуваними мікросателітними локусами крім PEZ08, за яким було виявлено достовірний PEZ06 дефіцит гетерозигот ($p<0,01$). Таким чином, ми спостерігаємо збалансованість за Гарді-Вайнбергом всїх популяцій за мікросателітними локусами PEZ06 та FHC2054. За локусом FHC2054 збалансовані були тільки популяції НД та РТ, а НВ характеризувалась достовірним дефіцитом гетерозигот. А за локусом PEZ01 популяції НВ та РТ знаходились у стані генетичної рівноваги. За мікросателітним локусом PEZ08 всі досліджені популяції демонстрували достовірний дефіцит гетерозигот, а популяція НД характеризувалась достовірним надлишком гетерозигот. Одним з найінформативніших інструментів математико-статистичного аналізу первинних даних генетичного скринінгу є так звані індекси фіксації С. Райта (табл. 5.28). У досліджуваних нами порід середні значення індексів С. Райта *Fis* та *Fit* мають позитивне значення та достовірно відхиляються від нуля, хоча довірчий інтервал для *Fis* і зачипає негативний спектр, до -0,015, а за локусами PEZ1 та PEZ06 значення цього індекста також були негативними і становили -0,024 та -0,041, відповідно.

Таблиця 5.28

Індекси фіксації С. Райта за результатами мікросателітного аналізу собак різних порід

Локус	*Fis*	*Fit*	*Fst*
PEZ1	-0,024	0,016	0,038
PEZ8	0,303	0,324	0,030
FHC2010	0,200	0,262	0,078
PEZ6	-0,041	0,037	0,076
FHC2054	0,053	0,065	0,013
Mean	0,100±0,068	0,142±0,064	0,047±0,013
95% CI	[-0,015; 0,220]	[0,034; 0,255]	[0,025; 0,069]

Примітка: 95% CI – 95% довірчий інтервал

Водночас, тварини різних порід характеризуються незначним але достовірним рівнем генетичної диференціації (для 5 локусів у середньому *Fst* =0,047). При чому, найбільший внесок в генетичну різницю зробили локуси FHC2010 та PEZ6, а внесок локусе FHC2054 був мінімальним.

Середнє значення потоку генів у представників даного виду становило 4,679. Як можна побачити на наведеній діаграмі (рис 5.14), найбільше значення потоку генів (12,261) було зафіксовано за локусом FHC2054, а найнижче (2.677) за локусом FHC2010. Слід відмітити, що а локусами PEZ01, PEZ08 та PEZ06 інтенсивність потоку генів була практично однавковою і коливалась від 1,382 (PEZ06) до 4,979 (PEZ01) та 5,132 (PEZ08).

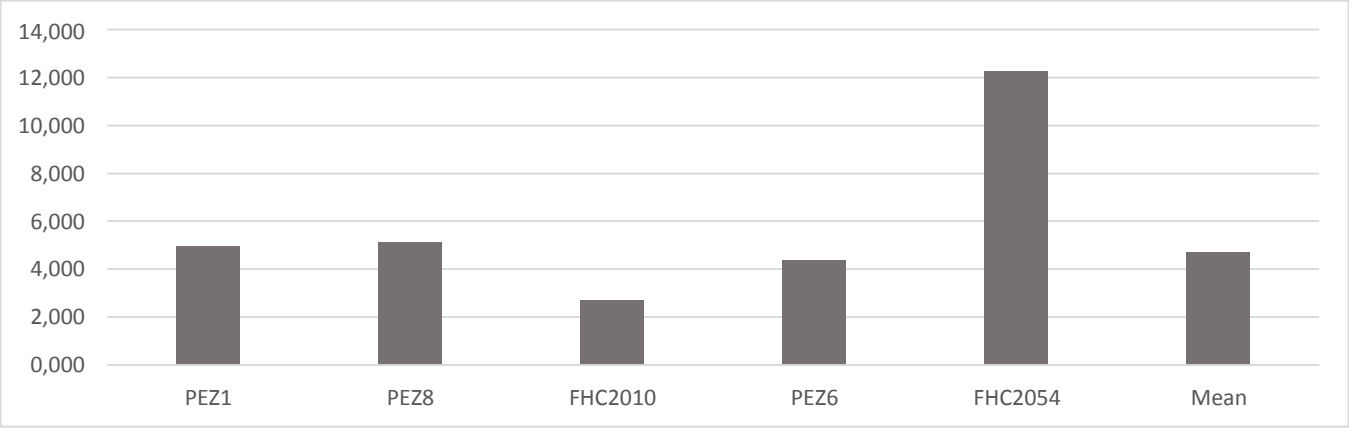


Рис. 5.14 Інтенсивність потоку генів у породах собак.

Результати аналізу молекулярної мінливості (за допомогою програмного забезпечення AMOVA) свідчать про те, що на 8% генетична мінливість досліджуваного поголів’я собак зумовлена їхнім походженням, тобто породною належністю, і на 92 % - індивідуальною мінливістю тварин (рис 5.15).

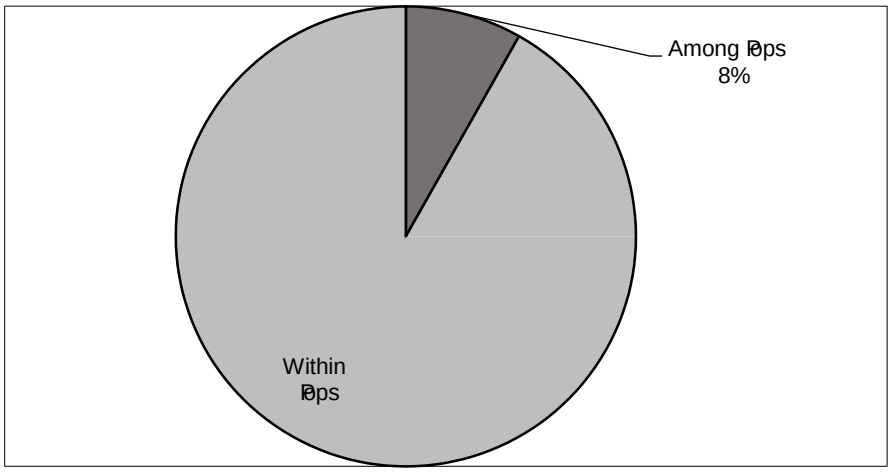


Рис. 5.15 Генотипова мінливість собак. Її зумовленість.

Незважаючи на відносно низьке значення (0,082) генетична диференціація між досліджуваними кросами демонструє (має) високий рівень значущості ($p \leq 0{,}001$) (табл. 5.29).

Таблиця 5.29

Результати аналізу генетичної мінливості (AMOVA) між різними породами за мікросателітними локусами

Джерело мінливості	*df*	*SS*	*MS*	*E(MS)*	*Φst*	*p*
Між групами	2	29,591	14,795	0,411		
В середині груп	76	349,941	4,604	4,604	0,082	0,001
Загальна	78	379,532	19,400	5,015		

Результати Assignment-тесту (на підставі емпіричного розподілу мультилокусних генотипів) свідчать про те, що в цілому точність прогнозу щодо віднесення певної тварини до однієї з порід становить близько 58% (табл. 5.30). Причому, найвищою є точність прогнозу щодо НД (80%), та РТ (70%), а НВ є значно нижчою (41%).

Таблиця 5.30

Результати assignment-тесту між різними породами собак, голів

Фактична група	Теоретична група			Точність прогнозу
	НВ	НД	РТ	
НВ	**16**	10	13	41,0
НД	3	**16**	1	80,0
РТ	5	1	**14**	70,0
Загалом	24	27	28	58,2

Більш детальний аналіз результатів оцінки генетичної відстані (табл. 5.31) показав, що з досліджених нами порід собак НВ характеризуються найменшою дистанцією до решти порід, і виявляє дещо меншу дистанцію до тварин породи РТ, а найбільша генетична дистанція була виявлена між тваринами порід НД та РТ.

Таблиця 5.31

Матриця генетичних дистанцій за Неєм між різними породами собак

НВ	НД	РТ	
0,000			НВ
0,380	0,000		НД
0,292	0,663	0,000	РТ

Аналіз результатів оцінки генетичної ідентичності (табл. 5.32) свідчить про найбільшу ідентичність порід НВ та РТ і найменшу НД та РТ.

Таблиця 5.32

Матриця генетичної ідентичності за Неєм між різними породами собак

НВ	НД	РТ	
1,000			НВ
0,684	1,000		НД
0,747	0,516	1,000	РТ

Отже аналіз результатів оцінки генетичної дистанції та генетичної ідентичності за Неєм дає змогу стверджувати, що найбільш схожими між собою є особини порід НВ та РТ (генетична відстань 0,292, генетична ідентичність 0,747). Найбільшу генетичну дистанцію за Неєм виявлено між породами НВ й РТ та НД (0,663), за найменшого рівня генетичної ідентичності (0,516). Тоді, як між НВ і НД ці показники становили 0,380 та 0,684, відповідно.

Собаки породи НД виявились значно генетично обособленими від решти тварин (рис. 5.16). А породи НВ та РТ формують окремий кластер.

```
                                        12,600
                10,827          +-----------------------------НВ
  +-----------------------1                12,600
--!                         +-----------------------------РТ
  !           23,426
  +-----------------------------------------------------НД
```

Рис. 5.16 UPGMA-дендрограма подібності, побудована на основі матриці генетичних дистанцій М. Нея, розрахованих між тваринами різних порід за поліморфізмом 5 мікросателітних локусів.

В результаті аналізу «тонкої» генетичної структури досліджених популяцій встановлено, що при К=2 всі тварини поділяються на дві групи – собаки порід НД та РТ досить чітко відокремлюються одна від одної. А от тварини породи НВ практично формуть кластер подібний як до НД так і РТ породи. На рис. 5.17 наведено розподіл отриманих оцінок Q для 79 проаналізованих тварин, а на рис. 5.18, відповідно, динаміку логарифму правдоподібності In P(K) та ΔK залежно від обраного значення К.

К=2

К=3

К=4

К=5

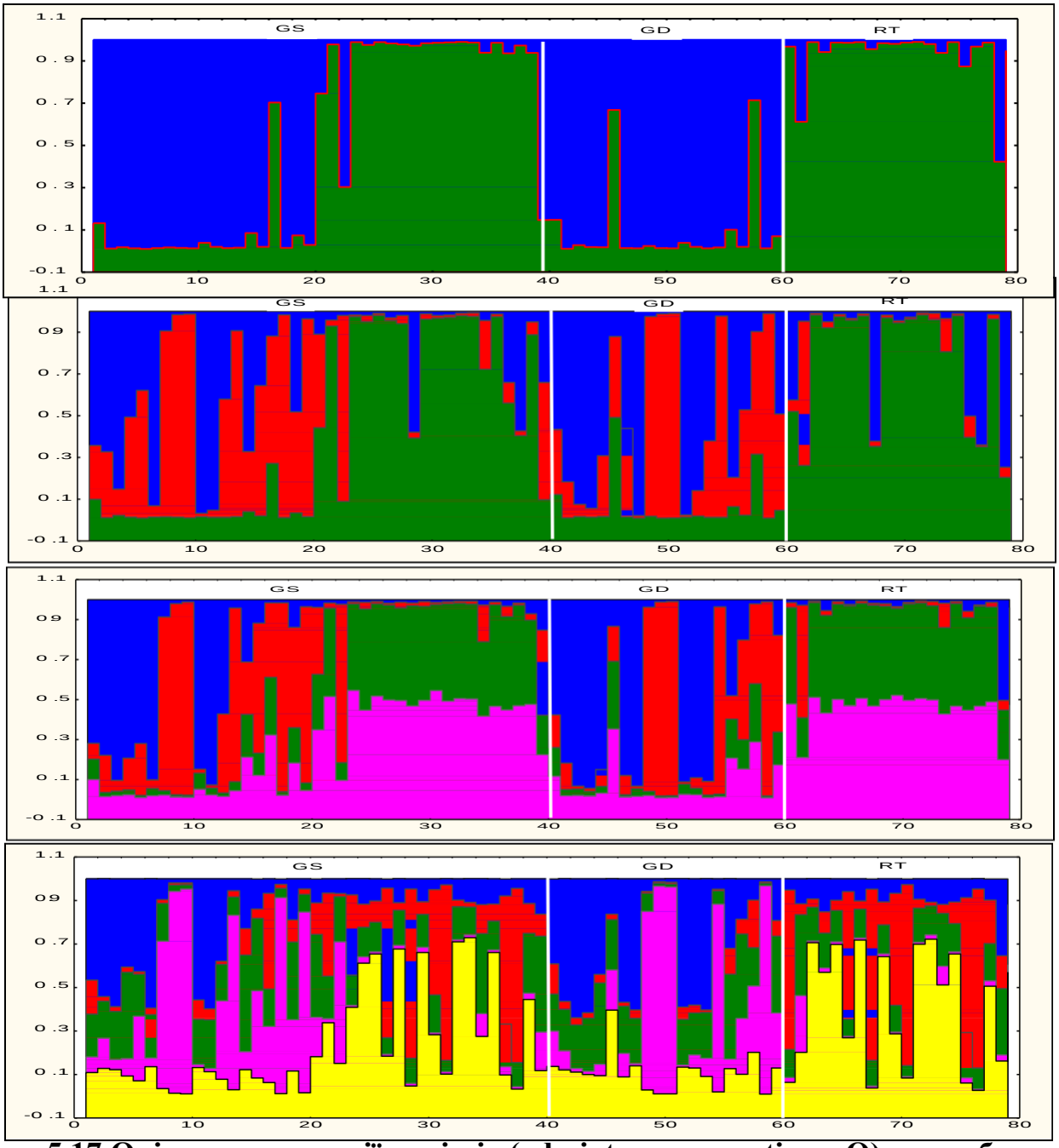
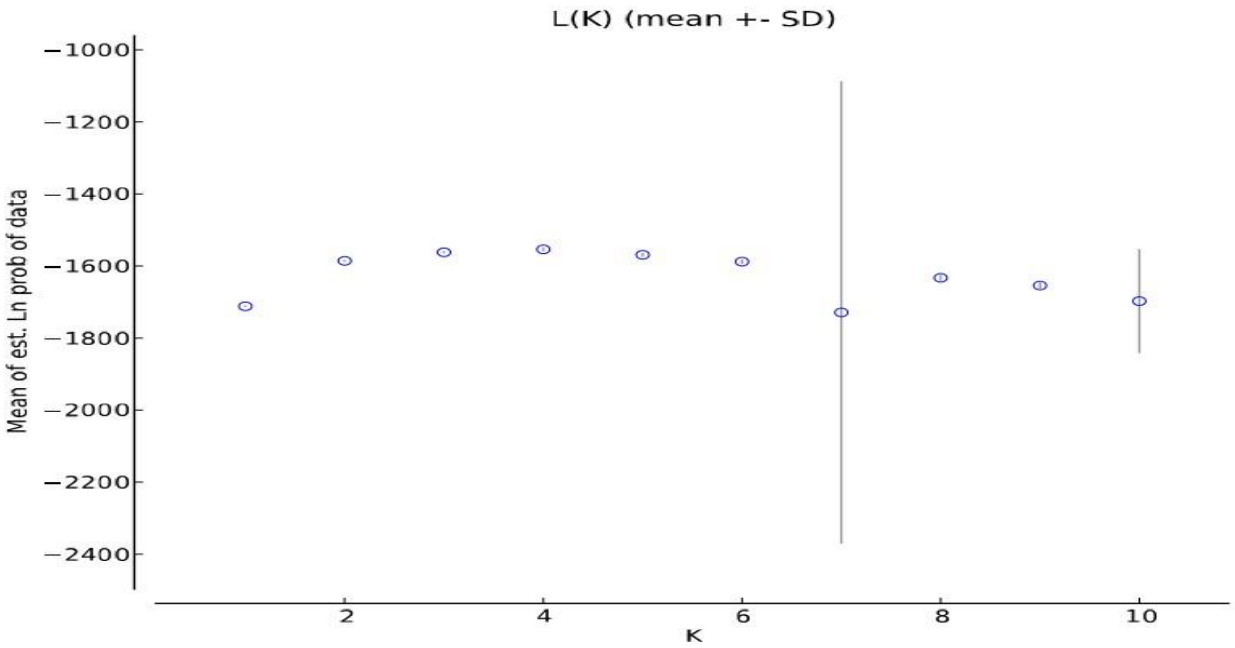


Рис. 5.17 Оцінки «пропорції суміші» (admixture proportions, Q) для собак різних порід, розраховані за допомогою програми STRUCTURE, для К від 2 до 5.

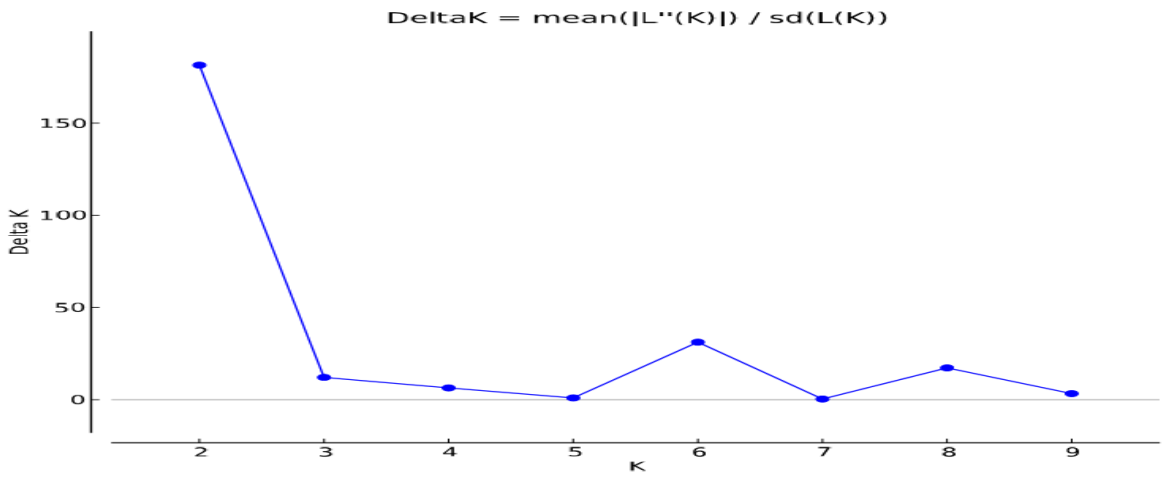
При К=3 спостерігається чітке відокремлення тварин НД та РТ порід, а собаки породи НВ діляться на 2 групи, Помилки, що зустрічаються при віднесенні тварин, стосуються, насамперед, тварин породи НВ. Хоча в декількох випадках має місце помилкове віднесення особин до іншої породної групи.

При збільшенні значення К до чотирьох груп спостерігається також генетичне «розшарування» тварин породи РТ. А при збільшенні значення К до 5 – відбувається генетичне «розшарування» тварин і серед породи НД. Очевидно, це пов'язано з наявністю внутрішньопородних генеалогічних ліній, що характеризуються певним генотиповим складом локусів мікросателітів._Оптимальну кількість «батьківських» груп можна визначити на підставі характеру змін оцінок логарифму правдоподібності In P(K), що отримано для різних значень К.

Одержані нами результати аналізу «тонкої» генетичної структури свідчать про те, що найбільш реальною є наявність двох генетичних груп (рис 5.18 (А). Перша – це тварини породи НД, друга – тварини породи РТ, і нарешті тварини породи НВ поділяються на два кластери, один з яких подібен до першої групи, а другий – до другої. Крім того, саме при К=2 оцінки, одержані для ΔК мають максимальний прояв (рис 5.18 (Б).



А



Б

Рис. 5.18 Графіки змін одержаних оцінок логарифму правдоподібності ln P(K) (А) та ΔK (Б), залежно від кількості використаних генетичних груп (К=1-7) для досліджуваної собак різних порід за результатами розрахунків з використанням програми STRUCTURE.

5.4 Популяційно-генетична структура окремих кросів свійської курки

Вибірка особин кросу Ломан білий (ЛБ) знаходиться в стані близькому до стану генетичної рівноваги, свідченням чого є значення індексу фіксації (*F*=0,135) та виявляє тенденції до подальшої стабілізації, підтвердженням чого є нижчий рівень фактичної гетерозиготності (Но=0,424, від 0,030 (MCW248) до 0,880 (ADL268) ніж очікуваної (Не=0,452, від 0,151 (MCW216) до 0,710 (ADL278) в середньому по вибірці. Даний крос характеризується середнім рівнем поліморфізму, про що свідчать значення індексів Шеннона (I=0,865, від 0,351 (MCW216) до 1,243 (ADL278) та поліморфізму (PIC=0,414, від 0,150 (MCW216) до 0,620 (ADL278). Комбінована вірогідність виключення випадкового збігу алелів (*CPE*) становила 0,8774 або 87,74%, (табл. 5.33).

Таблиця 5.33

Популяційно-генетичні характеристики досліджених локусів свійської курки кросу Ломан білий (ЛБ)

Локус	Na	Ae	I	Ho	He	F	PIC	PE
ADL268	4,000	2,796	1,159	0,880	0,642	-0,370	0,58	0,755
MCW216	4,000	1,177	0,351	0,160	0,151	-0,062	0,15	0,020
LEI094	8,000	1,828	1,011	0,340	0,453	0,249	0,43	0,081
ADL278	4,000	3,075	1,243	0,710	0,675	-0,052	0,62	0,444
MCW248	3,000	1,519	0,561	0,030	0,342	0,912	0,29	0,001
Середнє	4,6	2,079	0,865	0,424	0,452	0,135	0,414	0,260
							CPE	0,8774

Вибірка особин кросу Ломан коричневий (ЛК) знаходиться в стані близькому до стану генетичної рівноваги, свідченням чого є значення індексу фіксації (*F*=0,132) та виявляє тенденції до подальшої стабілізації, підтвердженням чого є нижчий рівень фактичної гетерозиготності (Но=0,665, від 0,494 (MCW216) до 0,735 (LEI094) ніж очікуваної (Не=0,764, від 0,695 (MCW216) до 0,838 (LEI094) в середньому по вибірці. Даний крос характеризується середнім рівнем поліморфізму, про що свідчать значення індексів Шеннона (I=1,673, від 1,363 (ADL268) та 1,364 (MCW216) до 2,188 (LEI094) та поліморфізму (PIC=0,726, від 0,64 (MCW216) до 0,82 (LEI094). Комбінована вірогідність виключення випадкового збігу алелів (*CPE*) становила 0,9214 або 92,14%, (табл. 5.34).

Таблиця 5.34

Популяційно-генетичні характеристики досліджених локусів свійської курки кросу Ломан коричневий (ЛК)

Локус	Na	Ae	I	Ho	He	F	PIC	PE
ADL268	5,000	3,484	1,363	0,663	0,713	0,071	0,660	0,373
MCW216	8,000	3,277	1,364	0,494	0,695	0,289	0,640	0,182
LEI094	17,000	6,162	2,188	0,735	0,838	0,123	0,820	0,484
ADL278	7,000	4,963	1,756	0,723	0,799	0,095	0,770	0,465
MCW248	9,000	4,484	1,697	0,711	0,777	0,085	0,740	0,445
Середнє	9,200	4,474	1,673	0,665	0,764	0,132	0,7260	0,390
							CPE	0,9214

Вибірка особин кросу Хайсекс білий (ХСБ) знаходиться в стані близькому до стану генетичної рівноваги, свідченням чого є значення індексу фіксації (*F*=0,191) та виявляє тенденції до подальшої стабілізації, підтвердженням чого є нижчий рівень фактичної гетерозиготності (Но=0,590, від 0,361 (MCW216) до 0,754 (ADL268) ніж очікуваної (Не=0,731, від 0,680 (ADL268) до 0,828 (LEI094) в середньому по вибірці. Даний крос характеризується середнім рівнем поліморфізму, про що свідчать значення індексів Шеннона (I=1,508, від 1,287 (MCW216) до 1,898 (LEI094) та поліморфізму (PIC=0,690, від 0,63 (ADL268) до 0,81 (LEI094). Комбінована вірогідність виключення випадкового збігу алелів (*CPE*) становила 0,855 85,53%, (табл. 5.35).

Таблиця 5.35

Популяційно-генетичні характеристики досліджених локусів свійської курки кросу Хайсекс білий (ХСБ)

Локус	Na	Ae	I	Ho	He	F	PIC	PE
ADL268	4,000	3,128	1,291	0,754	0,680	-0,108	0,63	0,517
MCW216	5,000	3,303	1,287	0,361	0,697	0,483	0,64	0,092

Продовж. табл. 5.36

LEI094	9,000	5,810	1,898	0,656	0,828	0,208	0,81	0,363
ADL278	8,000	3,725	1,616	0,607	0,732	0,171	0,70	0,299
MCW248	6,000	3,545	1,448	0,574	0,718	0,201	0,67	0,261
Середнє	6,600	3,902	1,508	0,590	0,731	0,191	0,69	0,306
CPE								0,8553

Вибірка особин кросу ХайЛайн білий (ХЛБ) знаходиться в стані близькому до стану генетичної рівноваги, свідченням чого є значення індексу фіксації (*F*=-0,123) та виявляє тенденції до подальшої дестабілізаціх, підтвердженням чого є вищий рівень фактичної гетерозиготності (Но=0,727, від 0,500 (LEI094) до 1,000 (ADL0268) ніж очікуваної (Не=0,650, від 0,526 (MCW0248) до 0,742 (ADL0278) в середньому по вибірці. Даний крос характеризується середнім рівнем поліморфізму, про що свідчать значення індексів Шеннона (I=1,239, від 0,958 (MCW0248) до 1,505 (ADL0278) та поліморфізму (PIC=0,594, від 0,58 (ADL0268) до 0,70 (ADL0278). Комбінована вірогідність виключення випадкового збігу алелів (*CPE*) становила 0,8867 88,67%, (табл. 5.36).

Таблиця 5.36

Популяційно-генетичні характеристики досліджених локусів свійської курки кросу Хайлайн білий (ХЛБ)

Локус	Na	Ae	I	Ho	He	F	PIC	PE
ADL0268	6,000	2,766	1,249	1,000	0,638	-0,566	0,58	1,000
MCW0216	4,000	3,174	1,219	0,727	0,685	-0,062	0,62	0,472
LEI094	6,000	2,924	1,264	0,500	0,658	0,240	0,60	0,188
ADL0278	6,000	3,872	1,505	0,818	0,742	-0,103	0,70	0,633
MCW0248	4,000	2,109	0,958	0,591	0,526	-0,124	0,47	0,280
Середнє	5,200	2,969	1,239	0,727	0,650	-0,123	0,594	0,515
CPE								0,8867

Вибірка особин кросу Хайсекс коричневий (ХСК) знаходиться в стані близькому до стану генетичної рівноваги, свідченням чого є значення індексу фіксації (*F*=0,132) та виявляє тенденції до подальшої стабілізації, підтвердженням чого є нижчий рівень фактичної гетерозиготності (Но=0,716, від 0,568 (MCW0248) до 0,951 (MCW0216) ніж очікуваної (Не=0,822, від 0,769 (ADL0268) до 0,857 (LEI094) в середньому по вибірці. Даний крос характеризується середнім рівнем поліморфізму, про що свідчать значення індексів Шеннона (I=1,814, і коливалось в межах від 1,539 (ADL0268) до 2,066 (LEI094) та поліморфізму (PIC=0,796, від 0,73 (ADL0268) до 0,84 (LEI094). Комбінована

вірогідність виключення випадкового збігу алелів (*CPE*) становила 0,985 (98,57%) (табл. 5.37).

Таблиця 5.37

Популяційно-генетичні характеристики досліджених локусів свійської курки кросу Хайсекс коричневий (ХСК)

Локус	Na	Ae	I	Ho	He	F	PIC	PE
ADL0268	6,000	4,325	1,539	0,593	0,769	0,229	0,73	0,282
MCW0216	7,000	5,959	1,858	0,951	0,832	-0,142	0,81	0,899
LEI094	11,000	7,013	2,066	0,753	0,857	0,122	0,84	0,515
ADL0278	7,000	6,722	1,925	0,716	0,851	0,159	0,83	0,454
MCW0248	6,000	5,064	1,681	0,568	0,803	0,292	0,77	0,254
Середнє	7,400	5,817	1,814	0,716	0,822	0,132	0,796	0,481
							CPE	,9857

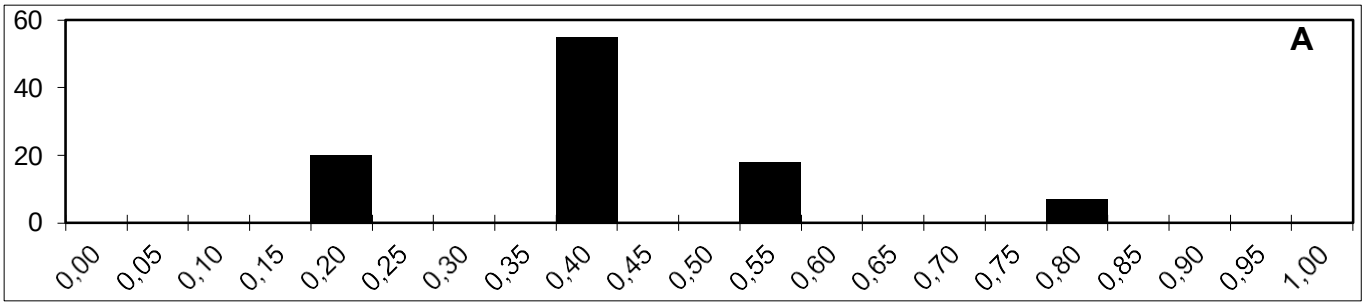
Вибірка особин виду *Gallus domesticus* знаходиться в стані близькому до стану генетичної рівноваги, свідченням чого є значення індексу фіксації (*F*=0,093) та виявляє тенденції до подальшої стабілізації, як виду в цілому, так і всіх кросів, крім ХЛБ в якого виявлено зворотні тенденції. Підтвердженням чого є нижчий рівень фактичної гетерозиготності (Ho=0,624, від 0,424 (ЛБ) до 0,727 (ХЛБ) ніж очікуваної (He=0,684, від 0,452 (ЛБ) до 0,822 (ХСК) в середньому по вибірці. Даний крос характеризується середнім рівнем поліморфізму, про що свідчать значення індексів Шеннона (I=1,42, від 0,865 (ЛБ) до 1,814 (ХСК) та поліморфізму (PIC=0,644, від 0,414 (ЛБ) до 0,796 (ХСК). Комбінована вірогідність виключення випадкового збігу алелів (*CPE*) становила 0,905, (90,5%), (табл. 5.38).

Таблиця 5.38

Популяційно-генетичні характеристики досліджених локусів промислових кросів свійської курки

Локус	Na	Ae	I	Ho	He	F	PIC	PE	CPE
ЛБ	4,600	2,079	0,865	0,424	0,452	0,135	0,414	0,260	0,8774
ЛК	9,200	4,474	1,673	0,665	0,764	0,132	0,726	0,390	0,9214
ХСБ	6,600	3,902	1,508	0,590	0,731	0,191	0,690	0,306	0,8553
ХЛБ	5,200	2,969	1,239	0,727	0,650	-0,123	0,594	0,515	0,8867
ХСК	7,400	5,817	1,814	0,716	0,822	0,132	0,796	0,481	0,9857
Середнє	6,6	3,848	1,42	0,624	0,684	0,093	0,644	0,39	0,905
								CPE	0,921145

Аналіз рівня індивідуальної гетерозиготності показав, що всі досліджені кроси курки свійської характеризуються певною особливістю генетичний профілів. Так серед представників всіх п`яти досліджених кросів, з різною частотою, виявлено лише особини з рівнем індивідуальної гетерозиготності від 0,20 і вище. Профілі кросів ЛК, ХСБ, ХЛБ та ХСК були подібні один до одного і співпадали із загальним профілем виду *Gallus domesticus*, в той час, як профіль кросу ЛБ – характеризувався певною індивідуальністю. Слід відзначити, що найбільшу подібність профілів індивідуальної гетерозиготності продемонстрували лише коричневі кроси (ЛК та ХСК), профілі ж білих кросів (ЛБ, ХЛБ та ХСБ) були абсолютно різними. Так, найбільшою частотою особин з найнижчим рівнем індивідуальної гетерозиготності (0,20) характеризувався крос ЛБ (20), за середньо видового значення 30, слід окремо відмітити, що у особин кросу ХЛБ особин з таким значенням індивідуальної гетерозиготності виявлено не було. При середній частоті особин з рівнем індивідуальної гетерозиготності 0,40 у 114 пунктів найбільшою частотою таких особин характеризувався крос ЛБ (55), а найменшим – ХЛБ (2). Частота особин з рівнем індивідуальної гетерозиготності у 0,55 в середньому становила 132, з найвищим рівнем 50 (ХСБ) і найнижчим – 7 (ХЛБ). Тварини з рівнем даного показника у 0,80 в середньому зустрічались з частотою 96 пунктів, за найвищої частоти у 29 пунктів (ХСК), і найнижчої – 7 (ЛБ). Особини з показником індивідуальної гетерозиготності на рівні 1,0 в середньому виявлялись з частотою у 36 пунктів, за найвищого рівня (15) у особин кросу ХСК, і найнижчого – 3 (ХЛБ), причому, у курей кросу ЛБ особин з таким рівнем індивідуальної гетерозиготності виявлено не було.



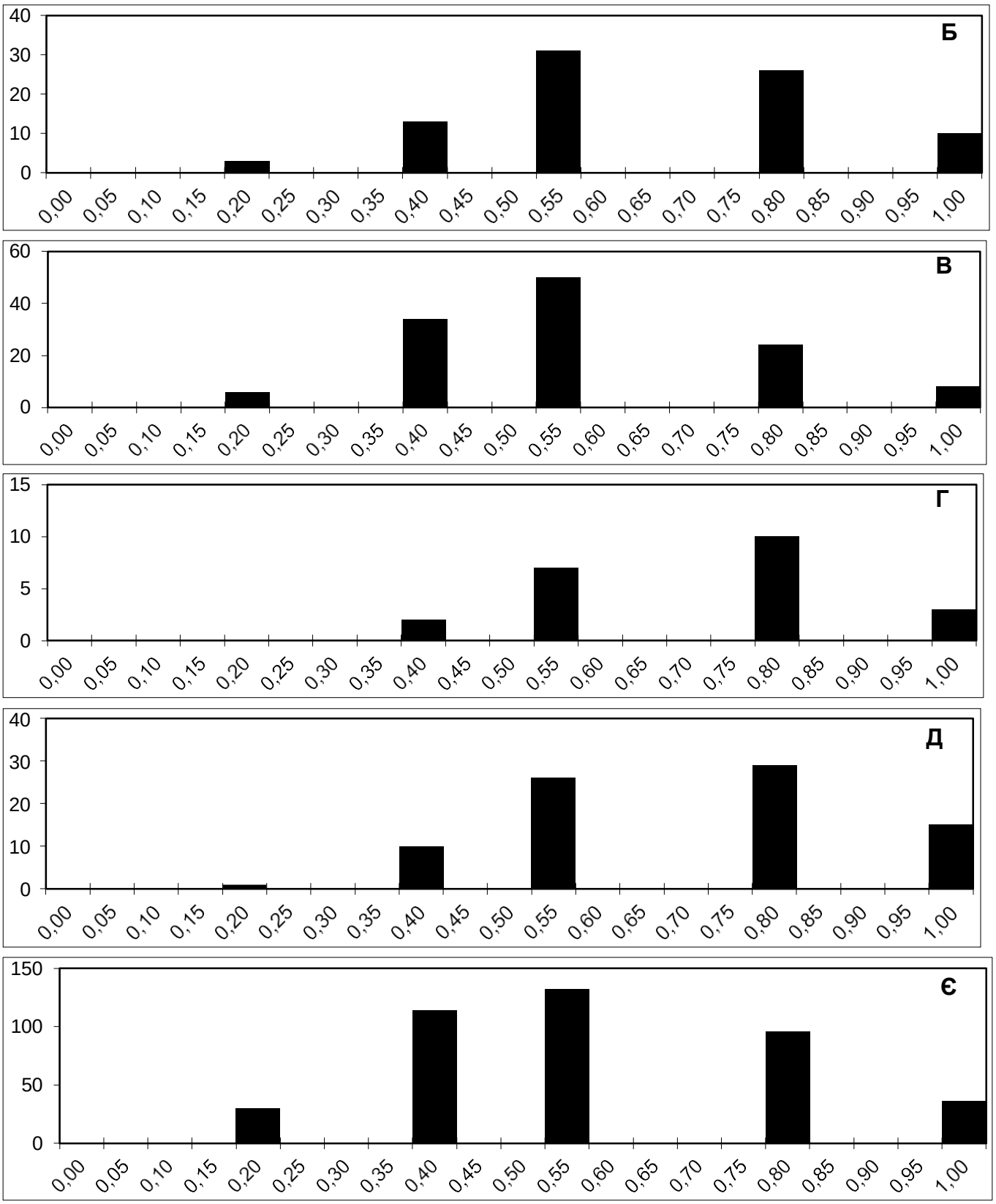


Рис. 5.19 Розподіл частот індивідуальної гетерозиготності (Hi) для представників виду *Gallus domesticus* (А – для кросу ЛБ; Б – для кросу ЛК; В – для кросу ХСБ; Г – для кросу ХЛБ; Д – для кросу ХСК; Є – загальний, для виду)**.**

За результатами розрахунку рівноваги за Гарді-Вайнбергом за допомогою процедури марківських ланцюгів Монте-Карло (МСМС) ми можемо говорити про те,

що у стані генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом знаходяться лише такі локуси: в кросі ЛБ – MCW216 та ADL278, ЛК та ХСБ – ADL268, ХЛБ – MCW216, ADL278 та MCW248 й СЛК - MCW216. За рештою досліджених мікросателітних локусів у всіх досліджених кросах свійської курки виявлено достовірне відхилення від стану генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом (табл. 5.39) що є закономірним.

Середні значення індексів С. Райта (*Fis* та *Fit*) мають позитивне значення та несуттєво відхиляються від нуля, що свідчить про низький рівень інбредного навантаження у представників даного виду свійської птиці, особливо це стосується всіх локусів, крім ADL0268 значення індексів для якого мали від'ємні (негативні) значення.

Таблиця 5.39

Індекси фіксації С. Райта за результатами мікросателітного аналізу курей різних кросів

Локус	Fis	Fit	Fst
ADL0268	-0,073	-0,019	0,050
MCW0216	0,199	0,371	0,215
LEI094	0,182	0,294	0,137
ADL0278	0,095	0,220	0,139
MCW0248	0,279	0,405	0,174
Mean	0,131±0,059	0,257±0,069	0,143±0,025
95% CI	[0,026; 0,227]	[0,118; 0,368]	[0,095; 0,190]

Примітка: 95% CI – 95% довірчий інтервал

Водночас особини різних кросів характеризувались незначним але достовірним рівнем генетичної диференціації (для 5 локусів у середньому Fst =0,143). При чому, найбільший внесок в генетичну відмінність зробив локус MCW0216, а внесок локусу ADL0268 був мінімальним.

Середнє значення потоку генів, яке є однією з високоінформативних характеристик генетичного різноманіття, становить 1,855. Як можна побачити на наведеній діаграмі (рис. 5.20), найбільше значення потоку генів (4,164) було зафіксовано за локусом ADL268, а найнижче (1,198) за локусом MCW216.

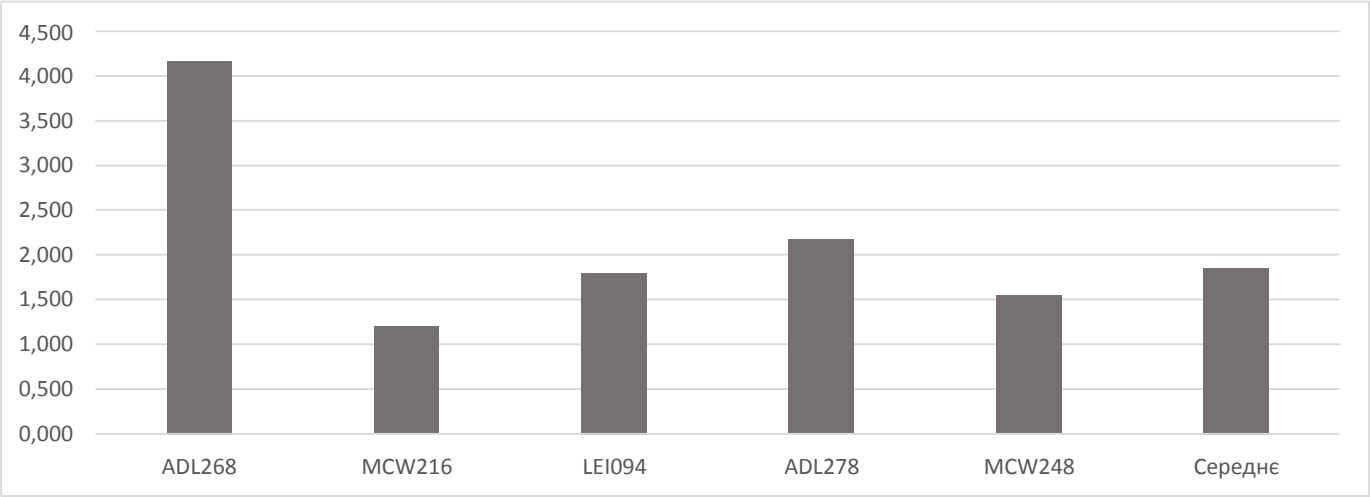


Рис. 5.20 Інтенсивність потоку генів в кросах свійської курки/

Результати аналізу молекулярної мінливості (за допомогою програмного забезпечення AMOVA) свідчать про те, що на 23% генотипова (генетична) мінливість досліджуваного поголів'я свійських курей зумовлена їхнім походженням, тобто належністю до певного кросу, і на 77 % - індивідуальною мінливістю тварин (рис 5.21).

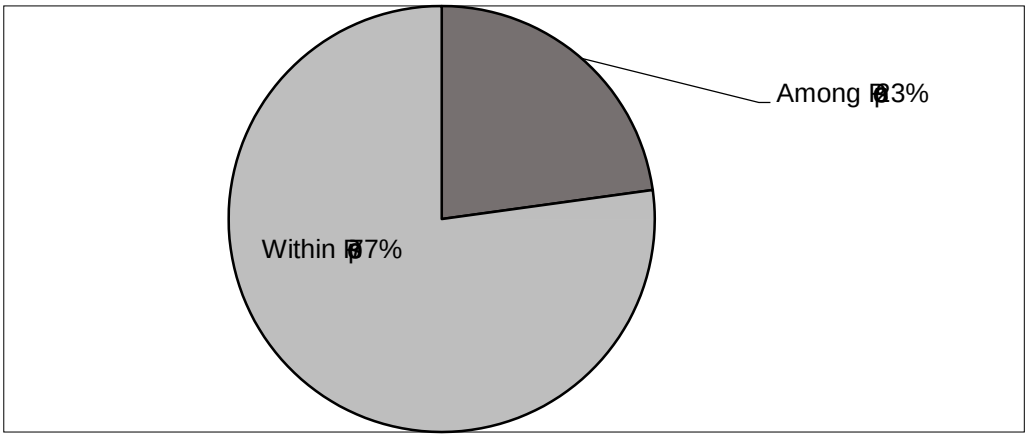


Рис. 5.21 Генотипова мінливість свійської курки. Її зумовленість.

Водночас, незважаючи на відносно низьке значення (0,228) генетична диференціація між досліджуваними породами демонструє (має) високий рівень значущості (p≤0,001) (табл. 5.40).

Таблиця 5.40

Результати аналізу генетичної мінливості (AMOVA)між різними кросами за мікросателітними локусами

Джерело мінливості	*df*	*SS*	*MS*	*E(MS)*	*Фst*	*p*
Між групами	4	375,953	93,988	1,152		
В середині груп	403	1569,648	3,895	3,895	0,228	0,001
Загальна	407	1945,600	97,883	5,047		

Результати Assignment-тесту (на підставі емпіричного розподілу мультилокусних генотипів) свідчать про те, що в цілому точність прогнозу щодо віднесення певної тварини до однієї з порід становить близько 78,4% (табл. 5.41). Причому, найвищою є точність прогнозу щодо кросу ЛБ (99%), а найнижчою – щодо кросу ХСБ (60,7%).

Таблиця 5.41.

Результати assignment-тесту між різними кросами курки свійської, голів

Фактична група	Теоретична група					Точність прогнозу
	ЛБ	ЛК	ХСБ	ХЛБ	ХСК	
ЛБ	**99**	0	0	1	0	99,0
ЛК	7	**61**	6	8	1	73,5
ХСБ	4	16	**74**	18	10	60,7
ХЛБ	1	0	0	**20**	1	90,9
ХСК	0	3	10	2	**66**	81,5
Загалом	111	80	90	49	78	78,4

Більш детальний аналіз результатів оцінки генетичної відстані (табл. 5.42) показав, що досліджені нами кроси курки свійської характеризуються

Таблиця 5.42

Матриця генетичних дистанцій за Неєм між різними кросами курки

ЛБ	ЛК	ХСБ	ХЛБ	ХСК	
0,000					ЛБ
0,306	0,000				ЛК
0,553	0,361	0,000			ХСБ
0,380	0,269	0,429	0,000		ХЛБ
0,734	0,343	0,218	0,445	0,000	ХСК

найменшою дистанцією між кросами ЛБ та ЛК, а також ХЛБ та ХЛК. Крос ХЛБ виявив найменшу генетичну дистанцію до кросів Ломан (ЛК, зокрема). Розрахована матриця генетичної ідентичності (рис.) повністю підтвердила одержані дані.

Таблиця 5.43

Матриця генетичної ідентичності за Неєм між різними кросами курей

ЛБ	ЛК	ХСБ	ХЛБ	ХСК	
1,000					ЛБ
0,737	1,000				ЛК
0,575	0,697	1,000			ХСБ
0,684	0,764	0,651	1,000		ХЛБ
0,480	0,710	0,804	0,641	1,000	ХСК

Отже аналіз результатів оцінки генетичної дистанції та генетичної ідентичності за Неєм дає змогу стверджувати, що найбільш схожими між собою є особини кросів ЛБ та ЛК (генетична відстань 0,306, генетична ідентичність 0,737), а також ХСБ та ХСК (генетична відстань 0,218, генетична ідентичність 0,804).

Найбільшу генетичну дистанцію за Неєм виявлено між кросами ЛБ та ХСК, за найменшого рівня генетичної ідентичності (0,480).

Особини кросів ХСБ та ХСК виявились генетично обособленими від решти кросів і сформували окремий кластер (рис. 5.22). Несподіваним виявилось приєднання кросу ХЛБ до кластеру кросів ЛБ та ЛК. Особливо цікавим виглядає факт більшої подібності ХЛБ ло коричневого кросу ЛК.

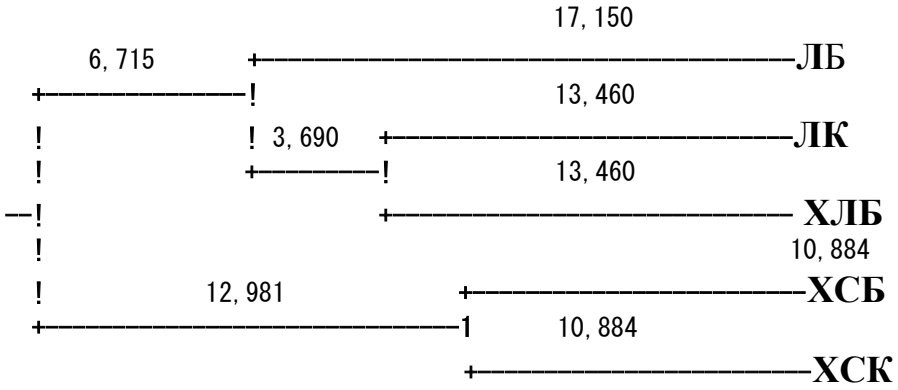
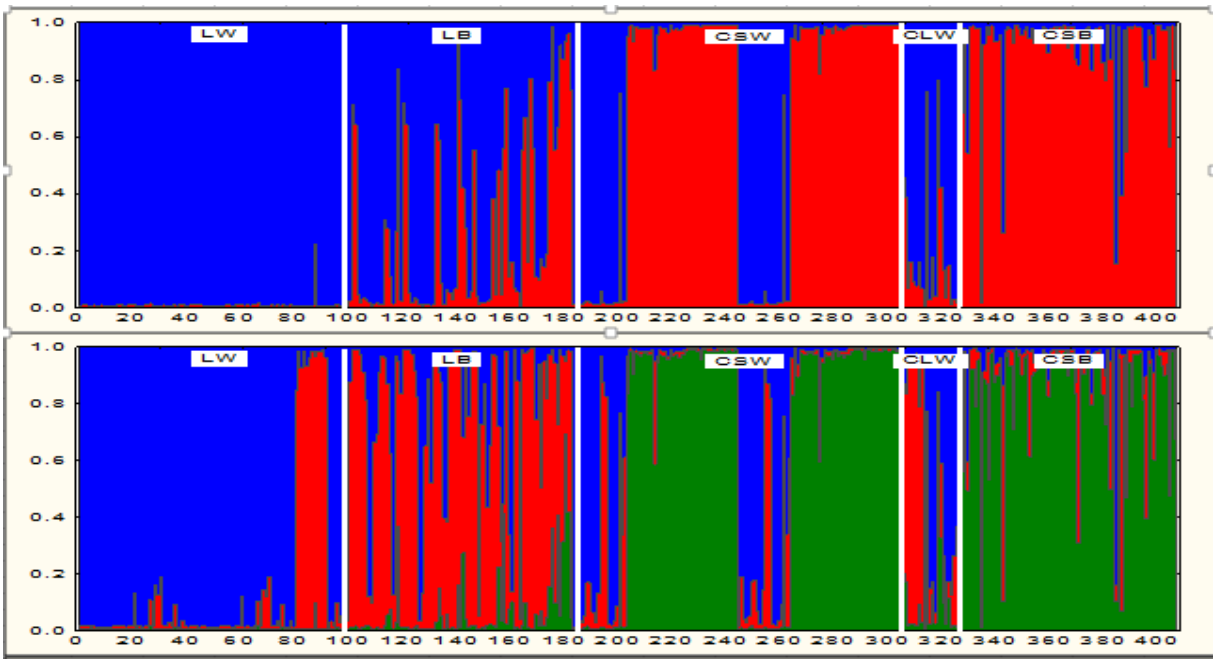


Рис. 5.22 UPGMA-дендрограма подібності, побудована на основі матриці генетичних дистанцій М. Нея, розрахованих між особинами різних кросів за поліморфізмом 5 мікросателітних локусів.

В результаті аналізу «тонкої» генетичної структури досліджених виборок встановлено, що при К=2 всі тварини поділяються на дві групи, що відповідають їхній

К=2

К=3



К=4

К=5

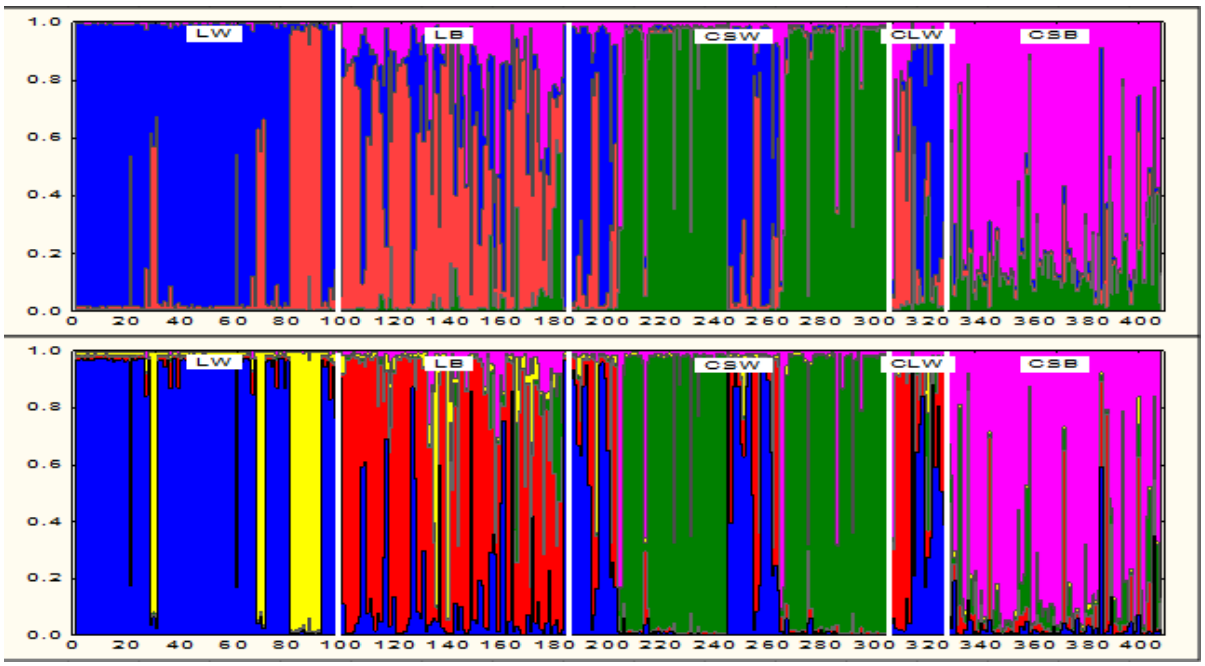


Рис. 5.23 Оцінки «пропорції суміші» (admixture proportions, Q) для свійської курки, різних кросів, розраховані за допомогою програми STRUCTURE, для К від 2 до 5.

кросовій належності – курка кросів ХСБ та ХСК досить чітко відокремлюється від птиці кросів ЛБ, ЛК и ХЛБ. На рис. 5.23 наведено розподіл отриманих оцінок Q для 133 проаналізованих тварин, а на рис. 5.24, відповідно, динаміку логарифму правдоподібності In P(K) та ΔK залежно від обраного значення К.

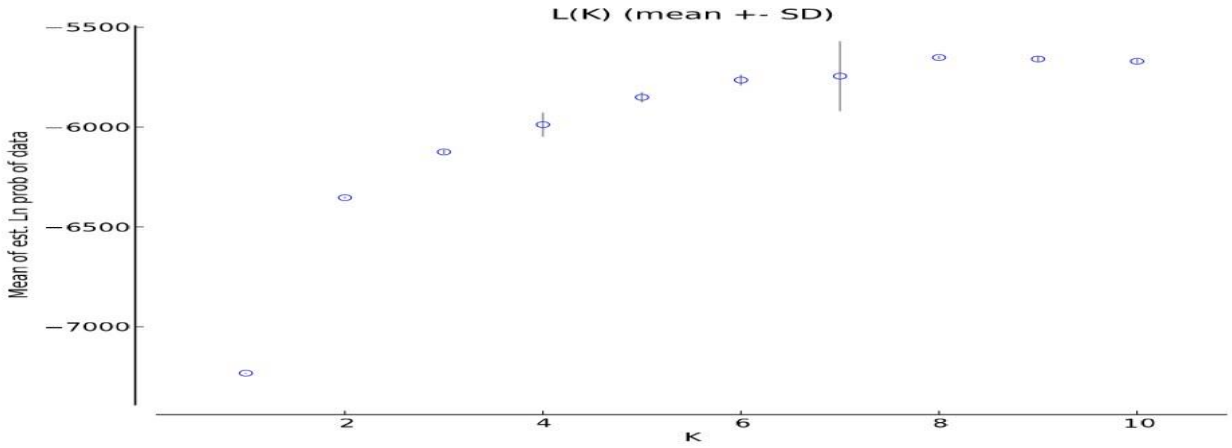
При К=3 спостерігається чітке відокремлення особин кросів ХСК й ХСБ та кросів ЛБ, ЛК й ХЛБ. Помилки, що зустрічаються при віднесенні тварин, стосуються, насамперед, тварин породи ХСБ. Спостерігається генетичне «розшарування» кросів ХСБ та ХСК. Хоча в декількох випадках має місце помилкове віднесення особин до інших кросів.

При збільшенні значення К до чотирьох груп спостерігається також генетичне «розшарування» решти кросів крім кросу ЛБ. А при збільшенні значення К до 5 – відбувається генетичне «розшарування» і серед кросу ЛБ. Очевидно, це пов’язано з наявністю специфічних підходів при створенні тих чи інших кросів що характеризуються певним генотиповим складом локусів мікросателітів._Оптимальну кількість «батьківських» груп можна визначити на підставі характеру змін оцінок логарифму правдоподібності In P(K), що отримано для різних значень К.

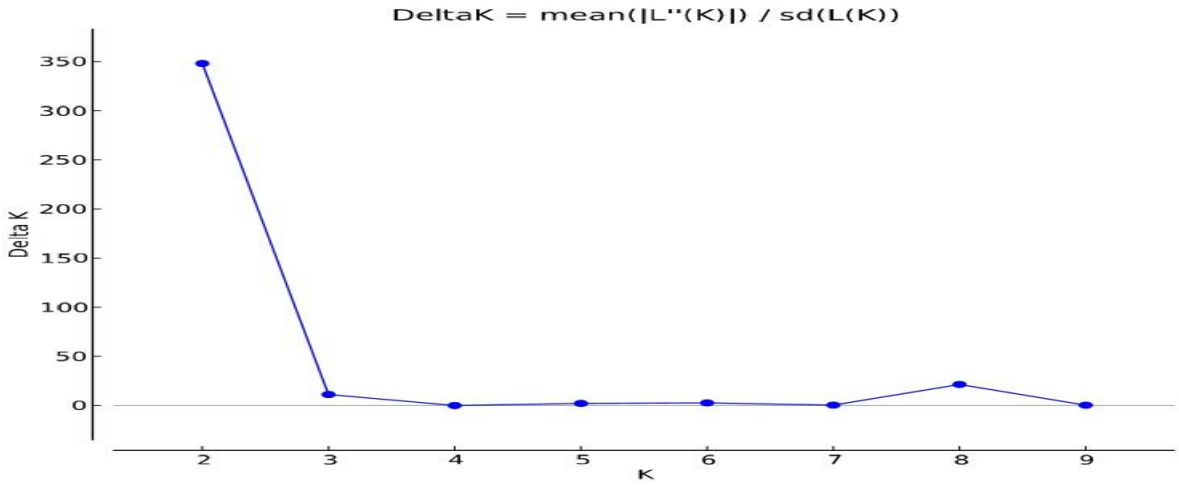
Результати аналізу «тонкої» генетичної структури свідчать про те, що найбільш реальною є наявність двох генетичних груп (рис 5.24 (А). Перша – це тварини кросу ХЛК, друга – тварини кросів ЛБ, ЛК та ХЛБ, і нарешті тварини кросу ХСБ

поділяються на два кластери, один з яких подібен до першої групи, а другий – до другої. Крім того, саме при К=2 оцінки, одержані для ΔК мають максимальний прояв (рис 5.24 (Б).

Оптимальну кількість «батьківських» груп можна визначити на підставі характеру змін оцінок логарифму правдоподібності In P(K), що отримано для різних значень К.



А



Б

Рис. 5.24 Графіки змін одержаних оцінок логарифму правдоподібності In P(K) (А) та ΔK (Б), залежно від кількості використаних генетичних груп (К=1-7) для досліджуваної птиці різних кросів за результатами розрахунків з використанням програми STRUCTURE.

5.5 Висновки по розділу

1. Найбільшим популяційно-генетичним поліморфізмом по виду *Boss taurus* характеризувались породи УЧеР та УЧР, а популяція СУ була найменш поліморфною, про що свідчать середні значення таких показників, як: значення індексу

Шеннона-Уівера (I=1,938), фактичної гетерозиготності (*Ho*=0,760), очікуваної гетерозиготності (He=0,825), індивідуальної гетерозиготності (Hi=0,759), індексу поліморфізму досліджених локусів (*PIC*=0,807). За вірогідності виключення випадкового збігу алелів (*PE*=0,5599) та комбінованої вірогідності виключення випадкового збігу алелів (*CPE*) в середньому по виду *Bos taurus* 0,9997 або 99,97 %, що є свідченням високого рівня достовірності одержаних даних.

2. Розрахунки рівноваги за Гарді-Вайнбергом за допомогою процедури марківських ланцюгів Монте-Карло (*MCMC*) свідчать про значний рівень однорідності молочних порід на відміну від СУ (УЧР порода великої рогатої худоби знаходиться в стані генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом за вісьмома мікросателітними локусами з десяти, УЧеР порода – за сімома локусами з десяти а СУ – лише за 3), що може бути наслідком малої чисельності та замкнутості існуючої популяціїї СУ худоби. Значення індексів С. Райта (*Fis=0,033* та *Fit=0,092*) свідчать про значний рівень генетичної консолідованості популяцій. Водночас, тварини досліджених порід характеризуються незначним але достовірним рівнем генетичної диференціації (*Fst* =0,122), що підтверджується результатами аналізу молекулярної мінливості (*AMOVA*) (відносно низьке значення (0,058) генетичної диференціації порід є високо достовірним ($p \leq 0{,}001$) та індивідуальної гетерозиготності (Hi=). Середнє значення потоку генів для даного таксона 0,0807. Точність прогнозу щодо віднесення певної тварини до однієї з порід *(assignment*-тест) становить близько 84%. Причому, найвищою є точність прогнозу щодо СУ породи (89%), а УЧеР та УЧР значно нижчі (82 та 81%, відповідно).

3. Результати аналізу «тонкої» генетичної структури свідчать про те, що найбільш реальним є наявність трьох генетичних груп. Перша – це тварини УЧеР породи, друга – тварини породи УЧР і нарешті третя – тварини породи СУ. А аналіз результатів оцінки генетичної відстані за Неєм, показав, що, як і очікувалось, тварини СУ породи виявились значно генетично обособленими від решти тварин. При цьому особини порід УЧеР та УЧР формують відокремлений кластер.

4. Для представників виду *Equs caballus* набільші значення всіх розрахованих популяційно-генетичних характеристик зафіксовано в УВП, а найнижчі – у ЧВ коней, а саме: середнє значення індексу Шеннона-Уівера (I=1,886), індекс поліморфізму досліджених маркерів (PIC=0,764), Рівень фактичної гетерозиготності (Ho=0,747), очікуваної гетерозиготності (He=0,791). Нижчий рівень фактичної гетерозиготності

ніж очікуваної в середньому по виду і по всіх породах є свідченням того, що популяція виявляє тенденцію до консолідації. За вірогідності виключення випадкового збігу алелів (PE=0,502) та комбінованої вірогідності виключення випадкового збігу алелів (CPE=0,9999 або 99,99 %, що є свідченням найвищого рівня достовірності одержаних даних.

5. Аналіз рівня індивідуальної гетерозиготності показав, що генетичні профілі всіх досліджених порід були подібними між собою і відрізнялись лише за рівнем частот, та серед ГУЦ не було виявлено особин з Hi<0,45. За результатами розрахунку рівноваги за Гарді-Вайнбергом (MCMC) ми можемо говорити про те, що гуцульські коні з усіх протестованих порід знаходяться у стані найближчому до стану генетичної рівноваги у цієї породи 7 з 11 мікросателітних локусів достовірно не відхилялись від стану рівноваги і лише за 4 (HTG06, AHT04, HTG07, та HMS07) зафіксовано достовірний надлишок або нестачу гетерозигот. У особин англійської чистокровної верхової породи лише чотири локусів знаходились у стані рівноваги (HTG06, HTG07, VHL20 та HMS07), а 7 мали достовірні відхилення від нього. У тварин української верхової породи було виявлено лише 2 врівноважених локуси, а саме VHL20 та HMS07 тоді, як 9 показували достовірне відхилення.

6. Значення індексів С. Райта (*Fis=0,062* та *Fit=0,108*) свідчать про значний рівень генетичної консолідованості популяцій коней. Водночас, тварини досліджених порід характеризуються незначним але достовірним рівнем генетичної диференціації (*Fst* =0,049) (p<0,001, крім HTG07), що підтверджується результатами аналізу молекулярної мінливості (*AMOVA*) (відносно низьке значення (0,089) генетичної диференціації порід є високо достовірним ($p \leq 0{,}001$) та індивідуальної гетерозиготності. Середнє значення потоку генів для цього виду становить 5,599. Точність прогнозу щодо віднесення певної тварини до однієї з порід *(assignment*-тест) становить близько 89,8%. Причому, найвищою є точність прогнозу щодо ГУЦ (93,6%) та ЧВ (92,2%), а для УВП значно нижче (83,6%).

7. Одержані нами результати аналізу «тонкої» генетичної структури свідчать про те, що найбільш реальним є наявність трьох генетичних груп Перша – це тварини ГУЦ, друга – коні породи ЧВ і нарешті третя – особини породи УВП, яка містить в тому числі генотипи характерні для решти порід. Аналіз результатів оцінки генетичної дистанції та генетичної ідентичності за Неєм дає змогу стверджувати, що тварини порід ГУЦ та ЧВ відносяться до різних кластерів, а УВП наближена

(дистанція 0,220 та 0,238 і, ідентичність 0,803 та 0,889) до обох інших досліджуваних порід.

8. Для виду *Canis familliaris* найбільшим популяційно-генетичним поліморфізмом характеризувались тварини породи НВ, а популяція НД була найменш поліморфною, про свідчать значення таких показників, як: середнє значення індексу Шеннона (I=1,894), індексу поліморфізму досліджених локусів (PIC=0,795), рівень фактичної гетерозиготності (Ho=0,755) та очікуваної гетерозиготності (He=0,817). Нижчий рівень фактичної гетерозиготності ніж очікуваної в середньому по виду і по всіх породах є свідченням того, що популяція виявляє тенденцію до консолідації. За вірогідності виключення випадкового збігу алелей (PE=0,542) та комбінованої вірогідності виключення випадкового збігу алелів (CPE=0,9999 або 99,99 % що є свідченням високого рівня достовірності одержаних даних).

9. Згідно результатів розрахунку рівноваги за Гарді-Вайнбергом (*MCMC*) собаки породи НВ знаходяться в стані генетичної рівноваги за трьома мікросателітними локусами з п`яти (крім PEZ08 та FHC2010,), а НД та РТ – за чотирма з п`яти (крім PEZ08). Значення індексів С. Райта (*Fis=0,100* та *Fit=0,142)* свідчать про суттєвий рівень генетичної консолідованості популяцій. Водночас, тварини різних порід характеризуються незначним але достовірним рівнем генетичної диференціації (*Fst*=0,047), що підтверджується результатами аналізу молекулярної мінливості (*AMOVA*) (відносно низьке значення (0,082) генетичної диференціації між досліджуваними породами демонструє високий рівень значущості ($p \leq 0{,}001$) та індивідуальної гетерозиготності (Hi=). Середнє значення потоку геніву представників даного виду становило 4,679. Точність прогнозу щодо віднесення певної тварини до однієї з порід *(assignment*-тест) становить близько 58%. Причому, найвищою є точність прогнозу щодо НД (80%), та РТ (70%), а НВ є значно нижчою (41%).

10. Відповідно до результатів аналізу «тонкої» генетичної структури у собак наявні дві генетичні групи. Перша – це тварини породи НД, друга – тварини породи РТ, і нарешті тварини породи НВ поділяються на два кластери, один з яких подібен до першої групи, а другий – до другої. А аналіз результатів оцінки генетичної відстані за Неєм, показав, що, як і очікувалось, собаки породи НД виявились значно генетично обособленими від решти тварин. А породи НВ та РТ формують окремий кластер.

11. Для представників виду *Gallus domesticus* середні значення індексу Шеннона (I=1,42), та індексу поліморфізму (PIC=0,644) вказує на досить низький рівень

різноманітності досліджених промислових кросів. Нижчий середній рівень фактичної гетерозиготності (Но=0,624) ніж очікуваної (Не=0,684) по виду та по всіх, крім ХЛБ, кросах є свідченням того, що досліджені популяції виявляє тенденцію до консолідації. Популяція кросу ХЛБ, на відміну від решти досліджених кросів демонструє тенденцію до збільшення генетичного поліморфізму. За вірогідності виключення випадкового збігу алелів (PE=0,390) і комбінованої вірогідності виключення випадкового збігу алелів (CPE= 0,8774 або 87,74%).

12. За результатами розрахунку рівноваги за Гарді-Вайнбергом (MCMC) встановлено, що у стані генетичної рівноваги знаходяться лише такі локуси: в кросі ЛБ – MCW216 та ADL278, ЛК та ХСБ – ADL268, ХЛБ – MCW216, ADL278 та MCW248 й ХСК - MCW216. Значення індексів С. Райта (*Fis=0,131* та *Fit=0,257)* свідчать про значний рівень генетичної консолідованості популяцій. Водночас, тварини різних кросів характеризуються достовірним рівнем генетичної диференціації (*Fst* =0,143), що підтверджується результатами аналізу молекулярної мінливості (*AMOVA*) (невелике значення (0,228) генетичної диференціації між досліджуваними породами демонструє високий рівень значущості ($p \leq 0{,}001$) та індивідуальної гетерозиготності. Слід окремо відмітити, що тільки у свійської курки профілі індивідуальної гетерозиготності (Hi) кросів ЛК, ХСБ, ХЛБ та ХСК виявили певний рівень подібності один до одного, в той час, як профіль кросу ЛБ – характеризувався певною індивідуальністю. Найбільшу подібність профілів індивідуальної гетерозиготності продемонстрували лише дві пари кросів – ЛК й ХСБ та ХЛБ й ХСК), крос ЛБ характеризувався найбільшою частотою особин з найнижчим рівнем індивідуальної гетерозиготності (0,20) і відсутністю особини з показником індивідуальної гетерозиготності на рівні 1,0.

13. Середнє значення потоку генів для даного таксона говорить про те, що в середньому досліджувані кроси обмінюються 1,9 особинами, в розрахунку на одну генерацію. Точність прогнозу щодо віднесення певної тварини до однієї з порід *(assignment*-тест) становить близько 78,4%. Причому, найвищою є точність прогнозу щодо кросу ЛБ (99%).

Матеріали досліджень розділу викладено у наукових публікаціях [664-669, 671-674, 679-693].

РОЗДІЛ 6 АНАЛІЗ МІКРОЕВОЛЮЦІЙНИХ ПРОЦЕСІВ У ПОПУЛЯЦІЯХ ПРЕДСТАВНИКІВ ВИДІВ *BOS TAURUS, EQUS CABALLUS, CANIS CANIS, GALLUS DOMESTICUS*

6.1 Аналіз генетико-автоматичних процесів в популяціях різних порід великої рогатої худоби

Популяції сільськогосподарських тварин є об'єктом різноманітних еволюційних факторів впливу протягом всієї історії свого існування. Кумулятивний ефект «дрейфу генів», пов'язаний з «ефектом засновника» (*founder effect*), дуже маленькі розміри популяцій, з чим пов'язаний ефект «пляшкового горлечка» (*bottleneck effect*), разом з дією природного та штучного доборів призводять до формування генетично унікальних та відокремлених одна від одної порід. Численними дослідженнями встановлено, що між різними породами великої рогатої худоби існують суттєві відмінності на генетичному рівні, які можна зареєструвати в т.ч. і за використання мікросателітів ДНК [37, 309, 353, 694].

Зважаючи на стрімке зниження біологічного різноманіття, підвищення рівня інбридингу та зниження ефективної чисельності популяцій, важливого значення набуває оцінювання алельного й генотипового різноманіття, а також мікроеволюційних процесів в популяціях свійських тварин, особливо в тих, що мають невелику чисельність. [356].

У 2001 році Дж. Гарза та Є Вілльямсоном було показано [654], що досить адекватним маркером прояву генетико-автоматичних процесів є співвідношення кількості визначених алелів (за певним мікросателітним локусом) до розмаху між довжиною крайніх за розмірами алелів за цим локусом, що було названо авторами *M-ratio* (тест знаків: $p<0,001$) [37].

Даний показник характеризує інтенсивність зменшення рівня генетичного різноманіття внаслідок дії генетико-автоматичних процесів, насамперед, коливань чисельності, інбридингу та ефекту «пляшкового горлечка». Відповідно, низькі його значення свідчать про більшу вразливість субпопуляції до дії вищевказаних процесів, а також можуть бути свідченнями дії штучного добору [37].

Серед досліджених нами тварин великої рогатої худоби найнижчі значення *M-ratio* (0,268 та 0,378) було зафіксовано за локусами BM1824 та TGLA122, відповідно (табл.5.1.). За рештою локусів значення даного показника коливались в межах від 0,481 (INRA23) до 0,533 (TGLA126). Розподіл значень даної характеристики по

породах був більш-менш рівномірним. Так, за локусом TGLA126 найнижче значення (0,462) було характерним для тварин УЧР, а для тварин порід УЧеР та СУ – 0,533 та 0,546, відповідно, за локусом TGLA122 найнижче значення (0,244) зафіксовано у УЧеР, а найвище (0,478) – у УЧР, за INRA23 – мінімальне значення (0,429) виявлено у СУ, а максимальне (0,524) – у УЧеР, за ETH3 – найменше значення (0,412) виявлено у УЧеР, а у УЧР та СУ – 0,538 та 0,533, відповідно, за ETH225 – найменше (0,524) у СУ, а в решти – 0,533, за BM1824 – найменше (0,268) у УЧР, а в УЧеР та СУ – 0,526 та 0,529, відповідно. За локусом TGLA227 найнижчими значеннями (0,400 та 0,419) характеризувались тварини порід УЧР, та УЧеР, відповідно, а найвищим (0,524) – СУ. Локус BM2113 характеризувався найнижчим значенням *M-ratio* (0,381) у СУ породи, і найвищим (0,524) у УЧеР, ETH10 – найнижче (0,471) – для СУ, для решти – 0,538. Для SPS115 найменше значення цього показника становило 0,412 для УЧеР худоби, а для УЧР та СУ – 0,474 та 0,471, відповідно.

Нами не було встановлено суттєвих відмінностей за показником *M-ratio* серед досліджених порід, що свідчить про приблизно однаковий рівень мікроеволюційних процесів в даних популяціях.

Таким чином, можна очікувати, що у випадку різкого зниження чисельності, в першу чергу в генофонді популяції будуть зникати рідкісні алелі, але не завжди із найменшою чи найбільшою довжиною [37, 654]. Відповідно, алельне різноманіття буде зменшуватись швидше, ніж розмах розмірів алелів, що призводить до зниження оцінок *M-ratio.*

Таблиця 6.1

Показник *M-ratio* для мікросателітних локусів різних порід великої рогатої худоби

Локус	УЧеР		УЧР		СУ		В цілому	
	Na	*M-ratio*	Na	*M-ratio*	Na	*M-ratio*	Na	*M-ratio*
TGLA126	8	0,533	6	0,462	6	0,546	8	0,533
TGLA122	11	0,244	11	0,478	14	0,326	17	0,378
INRA23	11	0,524	12	0,480	9	0,429	13	0,481
ETH3	7	0,412	7	0,538	8	0,533	9	0,529
ETH225	8	0,533	8	0,533	11	0,524	11	0,524
BM1824	10	0,526	11	0,268	9	0,529	11	0,268
TGLA227	13	0,419	14	0,400	11	0,524	16	0,457
BM2113	11	0,524	9	0,474	8	0,381	11	0,524
ETH10	7	0,538	7	0,538	8	0,471	9	0,471
SPS115	9	0,474	7	0,412	8	0,471	10	0,526

З іншого боку, проявом дії генетико-автоматичних процесів є зниження рівня гетерозиготності, й, відповідно, вищий рівень інбредності серед тварин. В цьому випадку фактична гетерозиготність буде значно нижчою за рівноважну (*Heq*), оскільки дрейф генів переважатиме дію мутаційного процесу [655].

У тварин досліджених порід оцінки фактичної та рівноважної гетерозиготності різняться між собою. (табл. 6.2). Найбільшу різницю відмічено у тварин породи УЧеР для семи локусів було виявлено переважання рівноважної гетерозиготності над фактичною, а для двох локусів – навпаки. У тварин породи УЧР це співвідношення було чотири до п’яти, а у породи СУ – вісім до двох.

Одержані результати дають нам змогу стверджувати, що наявна тенденція прояву ефекту «пляшкового горлечка» для худоби породи СУ, оскільки нульову гіпотезу в їхньому випадку можна відкинути з рівнем значущості 0,014 (тест знаків).

Таблиця 6.2

Стан гетерозиготності для мікросателітних локусів великої рогатої худоби різних порід

Локус	УЧеР		УЧР		СУ	
	Ho	*Heq*	*Ho*	*Heq*	*Ho*	*Heq*
TGLA126	0,667	0,803	0,628	0,728	0,444	0,730
TGLA122	0,756	0,861	0,744	0,861	0,622	0,895
INRA23	0,733	0,861	0,884	0,876	0,756	0,824
ETH3	0,844	0,772	0,860	0,773	0,689	0,803
ETH225	0,778	0,802	0,907	0,803	0,844	0,860
BM1824	0,800	0,844	0,814	0,862	0,733	0,826
TGLA227	0,778	0,886	0,930	0,896	0,889	0,861
BM2113	0,867	0,862	0,767	0,828	0,244	0,802
ETH10	0,822	0,769	0,814	0,772	0,600	0,802
SPS115	0,800	0,824	0,860	0,771	0,911	0,801
Тест знаків	0,066		0,605		0,014	

Відповідно до результатів тесту Вілкоксона (*Wilcoxon test*) у УЧеР та СУ порід достовірно ($p<0,05$, та $p<0,01$) має місце дефіцит гетерозигот, У СУ худоби достовірною ($p<0,05$) є, також, вірогідність того, що однакова кількість локусів знаходиться в стані нестачі та надлишку гетерозигот. При цьому, відмічаються випадки зчепленого успадкування різних локусів у тварин всіх досліджених порід великої рогатої худоби (табл.6.3). Однак, в цілому, оцінка міри невипадкового об’єднання гамет (*HWD*) у тварин породи СУ (0,328) досторівно ($p<0,001$) переважає

відповідну у худоби решти порід, а значення даного показника у тварин УЧР породи є близьким до нуля (-0,021), що є свідченням того, що об'єднання гамет в даній популяції є практично випадковим.

Велике значення N_{LD} для СУ (39 випадків з 45) говорить про високий ступінь інбредованості даної популяції (табл. 6.3).

Таблиця 6.3

Результати аналізу *LD* досліджених порід за поліморфізмом мікросателітних локусів

Порода	N_{LD}	*HWD*	*df*	χ^2	*p*
УЧеР	12	0,117	10	8,56	0,575
УЧР	7	-0,021	10	7,30	0,696
СУ	39	0,328	10	41,96	0,000

Згідно правила «50:500», якщо ефективна чисельність популяції перевищує 500 особин – популяція знаходиться у сприятливому стані, якщо знаходиться у межах 50-500 особин – у загрозливому і, нарешті, якщо знижується нижче 50 особин – знаходиться на межі зникнення [695].

Відповідно до результаті проведених розрахунків (табл. 6.4) ми можемо говорити про те, що УЧеР порода знаходиться в сприятливому стані (ефективна чисельність 554,6 з довірчим інтервалом 132,8 – нескінченість особин), УЧР – у загрозливому (ефективна чисельність 397,1 з довірчим інтервалом 93,2 – нескінченість особин), а СУ – на межі зникнення (ефективний розмір цієї популяції становить 25,1, з довірчим 95% інтервалом 15,7-44,2 особин.

Таблиця 6.4

Ефективна чисельність різних порід великої рогатої худоби, за поліморфізмом мікросателітів ДНК

Порода	Оцінка *Ne*	95% довірчий інтервал
УЧеР	554,6	132,8-нескінченість
УЧР	397,1	93,2-нескінченість
СУ	25,1	15,7-44,2

6.2 Аналіз мікроеволюційних процесів у популяціях досліджених порід коней

Серед досліджених тварин значення *M-ratio* коливались в межах від 0,457 (ASB17) до 0,522 (HMS06 та HTG07). Розподіл значень даної характеристики по породах був практично рівномірним. Так, за локусом HTG04 найнижчі значення (0,476 та 482) було виявлено в тварин ГУЦ та УВП, відповідно, а для тварин ЧВ –

0,556. За локусом HMS06 найнижче значення (0,476) зафіксовано у ЧВ, а в УВП та ГУЦ – 0,522 та 0,529, відповідно. За HTG06 – мінімальне значення (0,333) було характерним для ЧВ, середнє (0,407) – для ГУЦ, і максимальне (0,484) для УВП. За ATH04– найменше значення (0,429) виявлено у ЧВ, а у ГУЦ та УВП – 0,478 та 0,484, відповідно. За ASB23 – найменше (0,407) у ГУЦ, середнє (0,448) у ЧВ, і найбільше (0,519) – в УВП. За локусом ASB17 найнижчим значенням (0,348) характеризувалась ЧВ порода коней, середнім (0,457) – УВП, і найвищим (0,520) – ГУЦ. Локус CA425 характеризувався найнижчими значеннями *M-ratio* (0,467 та 0,485) у ЧВ та УВП, відповідно, і найвищим (0,539) у ГУЦ.За локусом HTG07 всі породи мали високі значення *M-ratio* – 0,524 (УВП), 0,533 (ГУЦ) та 0,539 (ЧВ). За локусом HMS03 найнижче (0,435) – для ГУЦ, найвищі (0,476 та 0,485) для ЧВ та УВП, відповідно. Для локусу VHL20 характерними були найнижчі значення (0,467 та 0,478) для ЧВ та ГУЦ, відповідно, і найвище (0,517) – для УВП, і, нарешті, для HMS07 всі породи характеризувались високим рівнем значень 0,519 (УВП), 0,529 (ГУЦ) та 0,533 (ЧВ).

Нами не було зафіксовано істотних відмінностей за показником *M-ratio* серед досліджених порід, що свідчить про приблизно однаковий рівень мікроеволюційних процесів в даних популяціях.

Таблиця 6.5

Показник *M-ratio* для мікросателітних локусів різних порід коней

Локус	ГУЦ		ЧВ		УВП		В цілому	
	Na	*M-ratio*	Na	*M-ratio*	Na	*M-ratio*	Na	*-ratio*
HTG04	10	0,476	5	0,556	13	0,482	14	0,519
HMS06	9	0,529	7	0,467	12	0,522	12	0,522
HTG06	11	0,407	7	0,333	15	0,484	16	0,516
ATH04	11	0,478	9	0,429	15	0,484	15	0,484
ASB23	11	0,407	13	0,448	14	0,519	16	0,516
ASB17	13	0,520	8	0,348	16	0,457	16	0,457
CA425	7	0,539	7	0,467	16	0,485	16	0,485
HTG07	8	0,533	7	0,539	11	0,524	12	0,522
HMS03	10	0,435	10	0,476	16	0,485	16	0,485
VHL20	11	0,478	7	0,467	15	0,517	15	0,517
HMS07	9	0,529	8	0,533	14	0,519	14	0,519

В усіх досліджених породах коней були відсутні ознаки проявів дії мікроеволюційних процесів (табл. 6.6). Локуси за якими має місце суттєве переважання фактичної гетерозиготності над рівноважною було виявлено у ГУЦ за

локусом HMS07, у ЧВ за локусами CA425 та HMS03, а у УВП – CA425. Лише у тварин, що належать до УВП було виявлено незначне переважання рівноважної гетерозиготності над фактичною для двох локусів – ASB17 та VHL20, що є проявом дії мікроеволюційних процесів, оскільки дрейф генів переважає дію мутаційного процесу [37, 655].

Одержані результати дають нам змогу стверджувати, що наявна тенденція прояву ефекту «пляшкового горлечка» для всіх досліджених порід коней, оскільки нульову гіпотезу можна було відкинути з рівнем значущості для ГУЦ – p<0,05, для УВП – p<0,01 та для ЧВ – p<0,001 (тест знаків).

Таблиця 6.6.

Стан гетерозиготності для мікросателітних локусів коней різних порід

Локус	ГУЦ		ЧВ		УВП	
	Ho	*Heq*	*Ho*	*Heq*	*Ho*	*Heq*
HTG04	0,808	0,832	0,588	0,671	0,783	0,871
HMS06	0,808	0,818	0,647	0,767	0,796	0,860
HTG06	0,692	0,852	0,608	0,767	0,855	0,890
ATH04	0,910	0,851	0,765	0,823	0,789	0,890
ASB23	0,859	0,851	0,824	0,884	0,816	0,882
ASB17	0,885	0,877	0,706	0,800	0,901	0,896
CA425	0,756	0,762	0,314	0,768	0,691	0,896
HTG07	0,679	0,791	0,647	0,769	0,724	0,845
HMS03	0,718	0,836	0,588	0,843	0,796	0,896
VHL20	0,833	0,851	0,725	0,769	0,914	0,889
HMS07	0,577	0,816	0,765	0,797	0,862	0,880
Тест знаків	0,03863		0,00006		0,00801	

Відповідно до результатів тесту Вілкоксона (*Wilcoxon test*) достовірно має місце дефіцит гетерозигот. Існує, також, вірогідність того, що однакове число локусів знаходиться в стані нестачі та надлишку за гетерозиготністю, для ГУЦ – p<0,05, УВП – p<0,01, а для ЧВ – p<0,001)

Випадки зчепленого успадкування різних локусів відмічаються у всіх досліджених порід коней (табл. 6.7). Вцілому, оцінка міри невипадкового об’єднання гамет (*HWD*) у тварин всіх досліджуваних порід достовірно між породами не відрізняється і близька до 0.

Таблиця 6.7

Результати аналізу LD досліджених порід за поліморфізмом мікросателітів

Порода	N_{LD}	*HWD*	*df*	χ^2	*p*
ГУЦ	29	0,0101	11	7,77	0,7341

Продовж. табл. 6.7

ЧВ	24	0,0106	11	7,67	0,7425
УВП	106	0,0557	11	13,67	0,2516

Високе значення N_{LD} для УВП (106 випадків з 152) вказує на високий ступінь інбредованості популяції. А низькі значення даного показника для решти порід свідчать про низьке інбредне навантаження.

Згідно результатів проведених розрахунків, всі досліджені породи знаходяться у загрозливому стані, а гуцульська порода наближається до межі зникнення (ефективний розмір цієї популяції становить 55,1, з довірчим 95% інтервалом 44,9-69,0 особин). (табл. 6.8)

Таблиця 6.8

Ефективна чисельність різних порід коней, за поліморфізмом мікросателітів

Порода	Оцінка *Ne*	95% довірчий інтервал
ГК	55,1	44,9-69,0
БЧ	96,2	57,3-228,6
УВП	103,9	78,7-143,3

6.3 Оцінюання мікроеволюційних процесів у собак

Серед досліджених особин виду *Canis familliaris* найнижче середнє значення *M-ratio* (0,379) зафіксовано за локусом PEZ06. За рештою локусів воно коливалось в межах від 0,429 (FHC2054) до 0,529 (FHC2010). Розподіл значень даної характеристики по породах був майже рівномірним. За локусом PEZ01 найнижче значення (0,286) було характерним для тварин породи НД, а для тварин порід РТ та НВ – 0,333 та 0,444, відовідно. За PEZ08 для тварин породи РТ значення даного показника становило 0,280 а для решти досліджених порід – 0,482. Локус FHC2010 характеризувався найнижчим значенням *M-ratio* (0,353) у особин породи РТ та 0,529 та 0,539 у педставників порід НВ та НД, відповідно. Для локусу PEZ06 характерним було найнижче значення з усіх розрахованих для даного виду тварин, так для тварин породи НВ – 0,172, НД – 0,276, а для РТ – 0,379. І, нарешті, за локусом FHC2054 у представників породи НВ зафіксовано значення *M-ratio* 0,333, а особин, що належать до порід НД та РТ – 0,381.

Отже, нами не було зафіксовано істотних відмінностей за показником *M-ratio* серед досліджених порід собак (табл. 6.9), що свідчить про приблизно однаковий рівень мікроеволюційних процесів в даних популяціях.

Таблиця 6.9

Показник *M-ratio* для мікросателітних локусів різних порід собак

Локус	НВ		НД		РТ		В цілому	
	Na	*M-ratio*	Na	*M-ratio*	Na	*M-ratio*	Na	*M-ratio*
PEZ01	12	0,444	6	0,286	9	0,333	12	0,444
PEZ08	13	0,482	13	0,482	7	0,280	13	0,482
FHC2010	9	0,529	7	0,539	6	0,353	9	0,529
PEZ06	5	0,172	8	0,276	11	0,379	11	0,379
FHC2054	7	0,333	8	0,381	8	0,381	9	0,429

При цьому єдиний випадок зчепленого успадкування різних локусів відмічено у тварин породи НВ (табл.5.10.). Хоча, в цілому, оцінка міри невипадкового об’єднання гамет (*HWD*) у тварин породи РТ (0,2405) переважає відповідну у собак породи НВ (0,1054) та НД (0,0081) виявлені відмінності є недостовірними (p>0,05). Слід, також , окремо відмітити, що значення даного показника у тварин породи НД є близьким до нуля (0,0081), що є свідченням того що об’єднання гамет в даній популяції є випадковим.

Таблиця 6.10

Результати аналізу LD досліджених порід за поліморфізмом мікросателітних локусів

Порода	N_{LD}	*HWD*	*df*	χ^2	*p*
НВ	1	0,1054	5	5,74	0,3320
НД	0	0,0081	5	5,44	0,3641
РТ	0	0,2405	5	3,97	0,5534

Позитивне значення N_{LD} для НВ (1 випадок з 39) вказує на наявність незначного інбредного навантаження в даній популяції тварин і, відповідно, відсутність такого навантаження в популяціх порід НД та РТ.

Відповідно до результаті проведених розрахунків, породи НВ та РТ знаходяться у загрозливому стані (ефективна чисельність 88,2 та 124,0 з довірчим інтервалом 21,1-нескінченість особин та 24,9-нескінченість особин, відповідно), а порода НД знаходиться на межі зникнення (ефективна чисельність 28,9 з довірчим інтервалом 8,5-нескінченість особин. (табл. 6.11)

Таблиця 6.11

Ефективна чисельність різних порід собак, за поліморфізмом мікросателітів ДНК

Порода	Оцінка *Ne*	95% довірчий інтервал
НВ	88,2	21,1-нескінченість

Продовж. табл. 6.11

НД	28,9	8,5-нескінченість
РТ	124,0	24,9-нескінченість

6.4 Аналіз мікроеволюційних процесів у різних кросів курки свійської

Серед досліджених кросів свійської курки найнижче середнє значення *M-ratio* (0,156) зафіксовано за локусом LEI094. За рештою локусів значення даного показника коливались в межах від 0,478 (MCW216) до 0,546 (ADL268). Що ж стосується розподілу значень даної характеристики по породах, воно було більш-менш рівномірним, але, слід відмітити що за чотирма з п`яти досліджених мікросателітних локусів, а саме MCW216, LEI094, ADL278, MCW248, в особин, що належать до кросів ЛБ та ЛК спостерігаються найнижчі рівні оцінок *M-ratio.* За локусом ADL268 найнижче значення (0,546) було характерним для особин кросів ХЛБ та ХСК, середнє (0,556) – для ЛК і найбільше (0,571) – для ЛБ та ХСБ, за середньовидового значення 0,546. За локусом MCW216 найнижче значення (0,308) зафіксовано у ЛБ, а у решти кросів воно коливалось від 0,471 у особин кросу ЛК до 0,571 у представників кросу ХЛБ, за середнього значення 0,478. За локусом LEI094 найнижче значення (0,058) було зафіксовано у особин кросу ЛБ, а найбільше (0,316) – у особин кросу ХЛБ, за середнього значення 0,156. За локусом ADL278 найнижче значення (0,364) зафіксовано у ЛБ, а у решти кросів воно коливалось від 0,462 у особин кросу ХЛБ та 0,467 у ХСБ а ХСК до 0,471 у представників кросу ХСБ, за середнього значення 0,526. За локусом MCW248 найнижче значення (0,273) було зафіксовано у особин кросу ЛБ, а у решти кросів воно коливалось від 0,529 у особин кросу ЛК та 0,546 у ХСБ а ХСК до 0,571 у представників кросу ХЛБ, за середнього значення 0,529.

Отже, нами було зафіксовано низку відмінностей за показником *M-ratio* серед досліджених кросів. Розрахунок даного показника для всієї дослідженої групи свійської курки показав, що найвище значення даної оцінки зафіксовано за локусом ADL268 (0,546), а найнижчі (0,156) – за локусом LEI094. За локусом ADL278 загальне для виду значення показника *M-ratio* значно перевищувало значення для кожного кросу поодинці. А за локусом ADL268 дорівнювали найнижчим значенням цієї характеристики для окремих кросів (ХЛБ та ХСК). Кроси ЛБ та ЛК характеризувались найнижчими значеннями *M-ratio* (ЛБ – за 4 локусами з 5, а ЛК – за 3, що говорить про нижчий рівень генетико-автоматичних процесів в даних кросах.

Таким чином, можна очікувати, що у випадку різкого зниження чисельності, алельне різноманіття буде зменшуватись швидше, ніж розмах розмірів алелів, що призводить до зниження оцінок M-ratio, що ми й спостерігаємо в кросах ЛБ та ЛК.

Таблиця 6.12

Показник *M-ratio* для мікросателітних локусів різних кросів свійської курки.

Локус	ЛБ		ЛК		ХСБ		ХЛБ		ХСК		В цілому	
	Na	*M-ratio*	Na	*M-ratio*	Na	*M-ratio*	Na	*M-ratio*	Na	*M-ratio*	Na	*M-ratio*
ADL268	4	0,571	5	0,556	4	0,571	6	0,546	6	0,546	6	0,546
MCW216	4	0,308	8	0,471	5	0,556	4	0,571	7	0,539	11	0,478
LEI094	8	0,058	17	0,143	9	0,220	6	0,316	11	0,297	22	0,156
ADL278	4	0,364	7	0,467	8	0,471	6	0,462	7	0,467	10	0,526
MCW248	3	0,273	9	0,529	6	0,546	4	0,571	6	0,546	9	0,529

Випадки зчепленого успадкування різних локусів відмічаються у представників всіх досліджених кросів свійської курки (табл. 6.13). В кросах ЛБ та ЛК випадки невипадкового об’єднання гамет (*HWD*) трапляються в кілька разів рідше ніж в інших досліджених нами кросах. В цілому, оцінка міри невипадкового об’єднання гамет є досторівно ($p<0,001$) тільки у особин кросів ЛБ, ХСБ та ХСК і за нею найбільшу ступінь невипадковості продемонстрував крос ХСБ (0,260), дещо менший – крос ХСК (0,188), а у особин кросу ЛБ характер об’єднання гамет був майже випадковим (0,0623). За виключенням ХЛБ для якого значення цього показника було недостовірним.

Таблиця 6.13

Результати аналізу LD дослідженихпорід за поліморфізмом мікросателітних локусів

Порода	N_{LD}	*HWD*	*df*	χ^2	*p*
ЛБ	17*	**0,0623**	5	72,91	**0,0000**
ЛК	11*	**0,0783**	5	6,34	0,2747
ХСБ	47*	**0,2600**	5	31,06	**0,0000**
ХЛБ	0*	**-0,1822**	4	1,31	0,8590
ХСК	0*	**0,1880**	5	22,93	**0,0003**

Велике значення N_{LD} для ХСБ (47 випадків з 122) вказує на високий ступінь інбредного навантаження в даній популяції.

В сприятливому стані з досліджених кросів свійської курки знаходиться лише крос ХСК (ефективна чисельність – нескінченість з довірчим інтервалом 2060,3 – нескінченість особин), в загрозливому знаходяться кроси ЛК (ефективна чисельність – 58,2 з довірчим інтервалом 33,2 – 127,1 особин) та ХЛБ (ефективна чисельність –

80,8 з довірчим інтервалом 7,6 – нескінченість особин), а кроси ЛБ та ХСБ – на межі зникнення (ефективний розмір цих популяцій становить 2,0 та 2,9 з довірчим 95% інтервалом 1,2-3,1 та 20,-4,1 особин, відповідно). (табл 6.14)

Таблиця 6.14

Ефективна чисельність різних кросів свійської курки, за поліморфізмом мікросателітів ДНК

Крос	Оцінка *Ne*	95% довірчий інтервал
ЛБ	2,0	1,2-3,1
ЛК	58,2	33,2-127,1
ХСБ	2,9	2,0-4,1
ХЛБ	80,8	7,6-нескінченість
ХСК	нескінченість	2060,3-нескінчкність

6.5 Висновки по розділу

1. Серед досліджених порід ВРХ не було зафіксовано істотних відмінностей за показником *M-ratio,* що свідчить про приблизно однаковий рівень мікроеволюційних процесів в досліджених популяціях. Результати оцінки та порівняння значень фактичної та рівноважної гетерозиготності свідчать про наявність тенденції прояву ефекту «пляшкового горлечка» для худоби породи СУ, оскільки нульову гіпотезу в її випадку можна відкинути з рівнем значущості p=0,014 (тест знаків).

2. Результати проведених розрахунків ефективної чисельності досліджених порід вказує на те, що СУ порода знаходиться на межі зникнення (ефективний розмір цієї популяції становить 25,1, з довірчим 95% інтервалом 15,7-44,2 особин).

3. Відповідно до результатів тесту Вілкоксона (*Wilcoxon test*) у УЧеР та СУ порід достовірно (p<0,05, та p<0,01) має місце дефіцит гетерозигот, У СУ худоби достовірною (p<0,05) є, також, вірогідність того, что однакове число локусів знаходиться в стані нестачі та надлишку за гетерозиготністю. При цьому, відмічаються випадки зчепленого успадкування різних локусів у тварин всіх досліджених порід великої рогатої худоби. Однак, в цілому, оцінка міри невипадкового об’єднання гамет (*HWD*) у тварин породи СУ (0,328) досторівно (p<0,001) переважає відповідну у худоби решти порід, а значення даного показника у особин УЧР породи є близьким до нуля (-0,021), що є свідченням того що об’єднання гамет в даній популяції є практично випадковим. Велике значення N_{LD} для СУ (39 випадків з 45) говорить про високий ступінь інбредованості даної популяції.

4. Суттєвих відмінностей за показником *M-ratio* не було зафіксовано і серед досліджених порід коней, що, як і у ВРХ, свідчить про приблизно однаковий рівень мікроеволюційних процесів в даних популяціях. Результати оцінки та порівняння значень фактичної та рівноважної гетерозиготності дають змогу стверджувати, про наявність тенденцій прояву ефекту «пляшкового горлечка» для всіх досліджених порід коней, оскільки нульову гіпотезу можна відкинути для ГУЦ – $p<0,05$, для УВП $p<0,01$ та для ЧВ –$p<0,001$ (тест знаків).

5. Відповідно до результатів тесту Вілкоксона (*Wilcoxon test*) достовірно має місце дефіцит гетерозигот. Існує, також, вірогідність того, що однакове число локусів знаходиться в стані нестачі та надлишку за гетерозиготністю, для ГУЦ – $p<0,05$, УВП – $p<0,01$, а для ЧВ – $p<0,001$. При цьому, відмічаються випадки зчепленого успадкування різних локусів у тварин всіх досліджених порід свійських коней.

6. Високе значення N_{LD} для УВП (106 випадків з 152) вказує на високий ступінь інбредного навантаження в даній породі. Низькі значення даного показника для решти порід свідчать про відсутність інбредного навантаження в досліджених популяціях. Всі досліджені породи знаходяться у загрозливому стані, а гуцульська порода наближається до межі зникнення (ефективний розмір цієї популяції становить 55,1, з довірчим 95% інтервалом 44,9-69,0 особин).

7. Не було зафіксовано суттєвих відмінностей за показником *M-ratio* серед досліджених порід свійських собак, що свідчить про приблизно однаковий рівень мікроеволюційних процесів в даних популяціях. При цьому, випадки зчепленого успадкування різних локусів відмічаються лише у тварин породи НВ. Хоча, в цілому, оцінка міри невипадкового об’єднання гамет (*HWD*) у тварин породи РТ (0,2405) переважає відповідну у собак породи НВ (0,1054) та НД (0,0081) виявлені відмінності є недостовірними ($p>0,05$). Слід окремо відмітити, що значення даного показника у тварин породи НД є близьким до нуля (0,0081), що є свідченням практично випадкового об’єднання гамет в даній популяції.

8. Позитивне значення N_{LD} для НВ (1 випадок з 39) говорить про наявність інбредного навантаження в даній популяції тварин і, відповідно, відсутність такого навантаження в досліджених популяціях НД та РТ. Породи НВ та РТ знаходяться у загрозливому стані, а НД знаходиться на межі зникнення.

9. Свійська курка є єдиним з досліджених таксонів де зафіксовано низку відмінностей за показником *M-ratio* серед досліджених кросів. Розрахунок показника

M-ratio для всієї дослідженої групи свійської курки виявив найвище значення даної оцінки за локусом ADL268 (0,546), а найнижчі (0,156) – за локусом LEI094. За локусом ADL278 загальне для виду значення показника *M-ratio* значно перевищувало відповідні значення для кожного кросу поодинці, а за локусом ADL268 дорівнювали найнижчим значенням цієї характеристики для окремих кросів (ХЛБ та ХСК). Кроси ЛБ та ЛК характеризувались найнижчими значеннями *M-ratio* (ЛБ – за 4 локусами з 5, а ЛК – за 3, що свідчить про низький рівень мікроеволюційних процесів в даних кросах. При цьому, відмічались випадки зчепленого успадкування різних локусів у представників всіх досліджених кросів свійської курки. В кросах ЛБ та ЛК випадки невипадкового об’єднання гамет (*HWD*) трапляються в кілька разів рідше ніж в інших досліджених нами кросах. В цілому, оцінка міри невипадкового об’єднання гамет є достовірно ($p<0,001$) тільки у особин кросів ЛБ, ХСБ та ХСК і за нею найбільшу ступінь невипадковості продемонстрував крос ХСБ (0,260), дещо менший – крос ХСК (0,188), а у особин кросу ЛБ характер об’єднання гамет був майже випадковим (0,0623). За виключенням ХЛБ для якого значення цього показника було недостовірним.

10. Високе значення N_{LD} для ХСБ (47 випадків з 122) вказує на про наявність інбредного навантаження в даній популяції. Відповідно до результаті проведених розрахунків в сприятливому стані з досліджених кросів свійської курки знаходиться лише крос ХСК, в загрозливому знаходяться кроси ЛК та ХЛБ, а кроси ЛБ та ХСБ – на межі зникнення.

Матеріали досліджень розділу викладено у наукових публікаціях [680, 685].

РОЗДІЛ 7 АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ВНУТРІШНЬОВИДОВИХ ТА МІЖВИДОВИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ГЕНЕТИЧНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ НА РІЗНИХ РІВНЯХ ОРГАНІЗАЦІЇ ГЕНОМУ

7.1 Особливості внутрішньотаксономічного поліморфізму різних видів свійських тварин

По виду *Bos taurus* має місце подібність генетичних процесів в досліджених породах, про що свідчать однакові діапазони та межі розмаху спектрів алельного (Lim_{Na}=6-8) і генотипового (Lim_{Ng}=11-32) поліморфізму та практично однакові кількість виявлених алельних варіантів (Na=9,2-9,5) (різниця не перевищувала 3 алелі/локус), профілі індивідуальної гетерозиготності (Hi=0,759). Про однаковий рівень генетико-автоматичних процесів в даних популяціях свідчить відсутність суттєвих відмінностей за показником M-ratio між дослідженими породами.

Найбільшим поліморфізмом характеризувались молочні породи УЧеР та УЧР, про що свідчать середні значення таких показників, як кількість виявлених генотипів (Ng=24,0 та 22,3 рідкісних генотипів (Ng_1=13,8 та 13,1 Ng_2=5,0 та 5,3), кількість породоспецифічних генотипів (Ng_{unik}=9 та 8,1), кількість ефективних алелів (Ae=6,757 та 6,023), фактична (Ho=0,784 та 0,821), очікувана (He=0,844 та 0,819) й індивідуальна (Hi=0,784 та 0,821) гетерозиготності, індекс Шеннона (I=2,021 та 1,924), а також індекс поліморфізму досліджених локусів (PIC=0,826-0,807). СУ порода була найменш поліморфною (Ng=17,4, Ng_1=7, Ng_2=4,8, Ng_{unik}=5,5 Ae=5,707 Ho=0,673, He=0,814, Hi=0,673 I=1,871, PIC=0,789). Що є наслідком великої кількості випадінь в алельних і генотипових спектрах, але при цьому у СУ породи виявлено найбільшу кількість локусів за якими зафіксовано найбільшу кількість алелів (4), найбільшу кількість породоспецифічних алелів (6) та власне породоспецифічних алелів (Na_{unic}=11(0,022).

Водночас, для всіх порід характерною є консолідованість за окремими алельними (високий рівень консолідованості за одним (1 випадок), двома (три випадки) та трьома (два випадки) алельними варіантами переважної більшості особин у представників даного виду по 5 локусам з 10, зокрема: за 1 алельним варіантом у породи УЧР ($ETH10^{220}$ (0,349); за двома алелями – по 1 локусу у кожної з порід – УЧеР ($ETH3^{118}$ (0,356) та $ETH3^{128}$ (0,233), УЧР ($BM1824^{182}$ (0,244) та $BM1824^{184}$ (0,256) та СУ ($SPS115^{248}$ (0,333) та $SPS115^{252}$ (0,311); за трьома у породи СУ

(BM2113^{134} (0,322), BM2113^{136} (0,189), BM2113^{138} (0,322) та ETH10^{222} (0,333), ETH10^{224} (0,222), ETH10^{230} (0,222). В усіх групах тварин, за всіма мікросателітними локусами зафіксовано певну консолідованість за окремими генотипами, у тварин УЧеР виявлено 18 таких генотипів за 4, в УЧР – 14 за 3, а у СУ – 15 за 5 локусами мікросателітів. У тварин УЧеР – 4 з 18 найпоширеніших генотипів за 4 локусами були гомозиготними, в УЧР – 3 з 14 за 3, а в СУ – 6 з 15 за 5 мікросателітами (причому, ETH10$^{134/134}$ був специфічним для породи СУ), наслідком чого був значний рівень консолідованості порід УЧеР та УЧР. Що підтверджується значеннями індексів С. Райта (Fis=0,033 й Fit=0,092) та результатами розрахунків рівноваги за Гарді-Вайнбергом із використанням процедури марківських ланцюгів Монте-Карло (МСМС). УЧР порода великої рогатої худоби знаходилась в стані генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом за вісьмома мікросателітними локусами з десяти, УЧеР порода – за сімома локусами з десяти а СУ – лише за 3).

У ВРХ лише СУ порода характеризується проявом ефекту «пляшкового горлечка», оскільки нульову гіпотезу в її випадку можна відкинути з рівнем значущості *p*=0,014 (тест знаків). Має місце високий ступінь інбредованості даної популяції (невипадковість об’єднання гамет (HWD=0,328, $N_{LD=}$39 випадків з 45), а сама порода перебуває на межі зникнення, адже ефективна чисельність (Ne) її становить 25,1 голів, з довірчим 95% інтервалом 15,7-44,2 особин

Значення потоку генів для даного таксона говорить про те, що в середньому досліджувані породи обмінюються 8,07% особин, в розрахунку на одну генерацію. Точність прогнозу щодо віднесення певної тварини до однієї з порід *(assignment*-тест) становить 84%. Причому, найвищою є точність прогнозу щодо СУ породи (89%), а для УЧеР та УЧР вона є значно нижчою, але має високий рівень значущості, і становить 82 та 81%, відповідно.

Згідно результати аналізу «тонкої» генетичної структури, найбільш реальним є наявність трьох генетичних груп, хоча слід відмітити, що породи УЧеР та УЧР демонструють високий ступінь подібності і спочатку формують один спільний кластер, який за більш детального аналізу поділяється на 2 самостійні генетичні групи, відповідно до породної належності тварин. Аналіз результатів оцінки генетичної відстані за Неєм, показав, що особини порід УЧеР та УЧР формують відокремлений кластер, а тварини СУ породи є значно генетично обособленими від решти порід.

Водночас, тварини досліджених порід характеризуються незначним але достовірним рівнем генетичної диференціації (*Fst*=0,122), що підтверджується результатами аналізу молекулярної мінливості (*AMOVA*) (відносно низьке значення генетичної диференціації між досліджуваними породами (*Φst*=0,058) демонструє високий рівень значущості ($p \leq 0{,}001$). А одержані дані – високим рівнем достовірності, свідченням чого є достовірність різниці між частотами виявлених алельних ($p<0{,}001$) та генотипих ($p<0{,}001$) варіантів. За вірогідності виключення випадкового збігу алелів (*PE*=0,559) та комбінованої вірогідності виключення випадкового збігу алелів (*CPE*) в середньому по виду *Bos taurus* 0,9997 або 99,97%.

Одержані результати, на нашу думку, є свідченням того, що аборигенні прадавні породи, навідь за тривалого розведення в умовах малочисельних замкнутих популяцій, зберігають високий рівень генетичного поліморфізму.

Загалом по виду *Equs caballus* має місце подібність генетичних процесів в досліджених породах, про що свідчать однакові діапазони та межі розмаху спектрів алельного (Lim_{Na}=11-16) і генотипового (Lim_{Ng}=8-57) (за 7 локусами вони були однаковими, а за рештою зберігали однакові тенденції що до розподілу частот виявлених генотипів (за 8 мікросателітними локусами вони практично співпадали, а за рештою зберігали високий рівень подібності) поліморфізму та практично однакові, профілі індивідуальної гетерозиготності (Hi=0,773). Серед ГУЦ не було виявлено особин з рівнем індивідуальної гетерозиготності 0,25 та 0,35 на відміну від коней решти порід. Про приблизно однаковий рівень генетико-автоматичних процесів в даних популяціях. свідчить відсутність значущих відмінностей за показником *M-ratio*.

Найбільшим поліморфізмом характеризувалась новітня, «відкрита» порода – УВП, про що свідчать найширші та найповніші спектри алельного та генотипового поліморфізму, середні значення таких показників, як кількість виявлених алелів (Na=14,3) та генотипів (Ng=47,91 рідкісних алелів ($Na_1$24,0) та генотипів (Ng_1=21,27, Ng_2=9), породоспецифічних алелів (Na_{unik}=41) та генотипів (Ng_{unik}=307) ефективних алелів (Ae=7,627), фактична (Ho=0,812), очікувана (He=0,865) й індивідуальна (Hi=0,784) гетерозиготності, індекс Шеннона, (I=2,250) індекс поліморфізму досліджених локусів (PIC=0,842), ЧВ була найменш поліморфною (Na=8, Ng=15,36, Ng_1=6,64 Na_1=7, Ng_2=3, Na_{unik}=2, Ng_{unik}=16 Ae=3,963 Ho=0,653, He=0,707, Hi=0,673 I=1,539, PIC=0,67), а також, в неї зафіксовано найвужчі генотипові спектри за всіма

мікросателітами ДНК та вищий, ніж в решти досліджених порід, рівень консолідованості за певними (1-3) генотипами у більшості досліджених локусів. ГУЦ коні характеризувались зсувом спектрів геноипового поліморфізму в бік більшого розміру алелів, середнім рівнем поліморфізму (Na=10, Ng=26, Ng_1=11,64 Na_1=7, Ng_2=5,09, Na_{unik}=3, Ng_{unik}=70 Ae=5,253 Ho=0,775, He=0,802, Hi=0,673 I=1,869, PIC=0,779) та широким розмахом спектрів генотипової мінливості, за 6 локусами з 11.

Для всіх порід свійських коней характерною є консолідованість за окремими алельними (У ЧВ та ГУЦ виявлено високий ступінь консолідації преважної більшості мікросателітів за одним (10 випадків) та двома (три випадки) алелями по 8 та 6 локусам з 11, відповідно) та генотиповими варіантами (в усіх групах тварин, за всіма локусами зафіксовано певну консолідованість за окремими генотипами (1-3 на локус). У тварин ГУЦ – 5 з 18 найпоширеніших генотипів за 5 локусами були гомозиготними, у ЧВ – 7 з 16 за 7 мікросателітами, а в УВП – 4 з 18 за 4 локусами. Наслідком чого є значний рівень консолідованості порід, що підтверджується нижчим рівнем фактичної гетерозиготності ніж очікуваної в середньому по виду і по всіх породах та значеннями індексів С. Райта (*Fis=0,062* та *Fit=0,108*). У всіх досліджених порід коней мав місце прояв ефекту «пляшкового горлечка». Випадки зчепленого успадкування різних локусів відмічались у тварин всіх досліджених порід свійських коней. Відповідно до результатів проведених розрахунків, всі досліджені породи знаходяться у загрозливому стані, а гуцульська порода наближається до межі зникнення (ефективний розмір цієї популяції (*Ne)* становить 55,1, з довірчим 95% інтервалом 44,9-69,0 особин).

Розрахунки рівноваги за Гарді-Вайнбергом (МСМС) свідчать про те, що гуцульські коні знаходяться у стані найближчому до стану генетичної рівноваги. У цієї породи 7 з 11 мікросателітних локусів достовірно не відхилялись від стану рівноваги і лише за 4 (HTG06, AHT04, HTG07, та HMS07) зафіксовано достовірний надлишок або нестачу гетерозигот. У особин ЧВ породи лише 4 локуси знаходились у стані рівноваги (HTG06, HTG07, VHL20 та HMS07), а 7 мали достовірні відхилення від нього. У тварин української верхової породи було виявлено лише 2 врівноважених локуси, а саме VHL20 та HMS07 тоді, як 9 показували достовірне відхилення. Відповідно до результатів тесту Вілкоксона (WILCOXON TEST) у УВП та ЧВ порід достовірно ($p<0,05$ та $p<0,001$) має місце дефіцит гетерозигот, Існує,

також, вірогідність того, що однакове число локусів знаходиться в стані нестачі та надлишку за гетерозиготністю, для УВП – 0,003 (p<0,01), а для ЧВ – 0,0005 (p<0,001). Середнє значення потоку генів для цього виду становило 5,599. Точність прогнозу щодо віднесення певної тварини до однієї з порід *(assignment*-тест) становить близько 89,8%. Причому, найвищою є точність прогнозу щодо ГУЦ (93,6%) та ЧВ (92,2%), а для УВП вона була значно нижчою (83,6%).

Одержані нами результати аналізу «тонкої» генетичної структури свідчать про те, що найбільш реальним є наявність трьох генетичних груп. Перша – це тварини ГУЦ, друга – тварини породи ЧВ і нарешті третя – тварини породи УВП, яка поєднує в собі генотипи характерні для решти порід. Аналіз результатів оцінки генетичної дистанції та генетичної ідентичності за Неєм дає змогу стверджувати, що тварини порід ГУЦ та ЧВ відносяться до різних кластерів, а УВП виявляє найменшу дистанцію (0,220 та 0,238) і, відповідно найбільшу ідентичність (0,803 та 0,889) до решти досліджуваних порід.

Тварини досліджених порід характеризуються незначним але достовірним рівнем генетичної диференціації (*Fst* =0,049). Слід відмітити, що оцінки даного критерію були достовірними (p>0,001) за всіма локусами крім HTG07, що підтверджується результатами аналізу молекулярної мінливості (*AMOVA*) (відносно низьке значення (*Фst*=0,089) генетичної диференціації між досліджуваними породами демонструє високий рівень значущості ($p \leq 0{,}001$). А одержані дані – високим рівнем достовірності, свідченням чого є висока достовірність різниці між частотами виявлених алельних ($p<0{,}001$) та генотипих ($p<0{,}001$) варіантів. За вірогідності виключення випадкового збігу алелів (PE=0,502) та комбінованої вірогідності виключення випадкового збігу алелів (CPE) 0,9999 або 99,99 %.

Загалом по виду *Canis familliaris* має місце подібність генетичних процесів в досліджених породах, про що свідчать однакові діапазони та межі розмаху спектрів алельного (Lim_{Na}=5-13) і генотипового (Lim_{Ng}=7-24) поліморфізму та практично однакові кількість виявлених алельних варіантів (Na=8,2-9,2) (різниця не перевищувала 3 алелів/локус), про приблизно однаковий рівень генетико-автоматичних процесів в даних популяціях. свідчить відсутність суттєвих відмінностей за показником *M-ratio*.

Найбільшим поліморфізмом характеризувались тварини породи НВ, про що свідчать найширший та найповніший спектр (Lim_{Na}=5-13), найбільша кількість

виявлених алелів (Na=9,2) та генотипів (Ng=18,4), рідкісних (Ng_1=8,6 Ng_2=4,8) та породоспецифічних (Ng_{unik}=5,8) генотипів, ефективних алелів (Ae=6,451) та значення індексу Шеннона (I=1,958). Високий рівень генетичного поліморфізмиу зафіксовано, також, у собак породи НД. Для цієї породи характерними виявились найбільші значення фактичної (*Ho*=0,754), очікуваної (He=0,833) та індивідуальної (Hi=0,820) гетерозиготностей та індексу поліморфізму (*PIC*=0,812), середній розмах алельних спектрів (Lim_{Na}=6-11), середня кількість виявлених (Na=8,4) та ефективних алелів (Ae=6,244), а також індексу Шеннона (I=1,920), найменша кількість виявлених (Ng=10,4) та рідкісних (Ng_1=5, Ng_2=3) генотипів, F=0,012, а також відсутність породоспецифічних алелів та генотипів. РТ характеризувалась досить широким, але з найвищою кількістю випадінь, спектрами алельної та генотиполвої мінливості, найвищою консолідованістю окремих локусів за певними алелями) найбільшою кількістю породоспецифічних алелів (Na_{unic}=2(0,025) та найменшою середньою кількістю виявлених (Na=8,2) та ефективних (Ae=5,46) алельних варіантів та найнижчими значеннями фактичної (*Ho*=0,690), очікуваної (He=0,788), й індивідуальної (Hi=0,690) гетерозиготностей, індексів Шеннона (I=1,804) та поліморфізму(*PIC*=0,766)

Для всіх досліджених порід характерною є консолідованість за окремими алельними (високий рівень консолідованості за одним чи двома алельними варіантами зафіксовано у НВ – за $PEZ06^{186}$ (0,359), НД – за $PEZ01^{120}$ (0,300), а у РТ – за $PEZ01^{100}$ (0,275), $PEZ01^{108}$ (0,300), $PEZ08^{226}$ (0,325) та $FHC2010^{236}$ (0,575) та генотиповими (за 3 з 5 МСЛ (PEZ01, PEZ08 та FHC2010) у представників порід НВ та НД ці генотипи були однаковими, за цими ж МСЛ було виявлено однакові найпоширеніші алелі й в порід НВ та РТ, а в порід РТ та НД однакові найпоширеніші генотипи було виявлено за локусами PEZ06 та FHC2054. Причому, генотипи $PEZ06^{186/202}$, $PEZ06^{174/178}$, $FHC2054^{166/168}$, $FHC2054^{148/162}$ та $FHC2054^{160/162}$ є породоспецифічнитми для НВ) варіантами, наслідком чого є суттєвий рівень консолідованості порід. Що підтверджується нижчим рівнем фактичної гетерозиготності ніж очікуваної в середньому по виду і по всіх породах, результатами розрахунків рівноваги за Гарді-Вайнбергом (МСМС). Собаки породи НВ знаходяться в стані генетичної рівноваги за трьома мікросателітними локусами з п`яти, а НД та РТ – за одним локусом з п`яти) та значеннями індексів С. Райта (Fis=0,100 та Fit=0,142).

Єдиний випадок зчепленого успадкування локусів спостерігався лише у тварин породи НВ. Хоча, в цілому, оцінка міри невипадкового об'єднання гамет (*HWD*) у тварин породи РТ (0,2405) переважає відповідну у собак породи НВ (*HWD*=0,1054) виявлені відмінності є недостовірними (p>0,05). Об'єднання гамет у тварин породи НД є випадковим (*HWD*=0,0081). Наявність інбредного навантаження зафіксовано тільки у НВ ($N_{LD=}$*0,0081*). Відповідно до результатів розрахунків ефетивної чисельності популяцій (Ne) породи НВ та РТ знаходяться у загрозливому стані (*Ne*= 88,2 та 124,0 з довірчим інтервалом 21,1-нескінченість особин та 24,9-нескінченість особин, відповідно), а порода НД – на межі зникнення (*Ne*=28,9 з довірчим інтервалом 8,5-нескінченість особин. (табл. 3.4.18)

Значення потоку генів у представників даного виду в середньому становило 4,679. Точність прогнозу щодо віднесення певної тварини до однієї з порід *(assignment*-тест) становить близько 58%. Причому, найвищою є точність прогнозу щодо НД (80%), та РТ (70%), а НВ є значно нижчою (41%).

Результати аналізу «тонкої» генетичної структури свідчать про те, що найбільш реальною є наявність двох генетичних груп. Перша – це тварини породи НД, друга – тварини породи РТ, і нарешті тварини породи НВ поділяються на два кластери, один з яких подібен до першої групи, а другий – до другої. А аналіз результатів оцінки генетичної відстані за Неєм, показав, що собаки породи НД виявились значно генетично обособленими від решти тварин. А породи НВ та РТ формують окремий кластер.

Водночас, тварини різних порід характеризуються незначним але достовірним рівнем генетичної диференціації (*Fst* =0,047). що підтверджується результатами аналізу молекулярної мінливості (*AMOVA*) (відносно низьке значення (0,082) генетичної диференціації між досліджуваними породами демонструє високий рівень значущості (p≤0,001). А одержані дані – високим рівнем достовірності відмінностей між частотами виявлених алельних (FHC2054 (p<0,05) та PEZ06 (p<0,001) та генотипових (FHC2054 (p<0,05) та PEZ06 (p<0,001) варіантів. За вірогідності виключення випадкового збігу алелей (PE) (0,542) та комбінованої вірогідності виключення випадкового збігу алелів (CPE) в середньому по виду Canis *familliaris* 0,9999 або 99,99 %.

По виду *Gallus domesticus* має місце подібність генетичних процесів в досліджених промислових кросах, про що свідчать спільні діапазони та межі розмаху

спектрів алельного (Lim_{Na}=3-17) і генотипового (Lim_{Ng}=4-32) поліморфізму, близька кількість виявлених алельних варіантів (Na=4,6-9,2), та профілі індивідуальної гетерозиготності (Hi=0,597). Найбільшим поліморфізмом характеризувались коричневі кроси (ЛК та ХСК), про свідчать середні значення таких показників, як кількість виявлених алельних (Na (Lim_{Na}) (9,2 (5-17) та 7,4 (6-11), відповідно) і генотипових (Ng=18,8 та 18,6, відповідно) варіантів, рідкісних генотипів (Ng_1=5,8 та 5,2 й Ng_2=4,8 та 3,2, відповідно), кількість специфічних алелів (Na_{unic}= 11 та 3, відповідно) і генотипів (Ng_{unik}=6 та 7,4, відповідно), ефективних алелів (Ae=4,474 та 5,817, відповідно), очікувана (He=0,0,764 та 0,822, відповідно) гетерозиготність, індекс Шеннона, (I=1,673 та 1,814, відповідно) й індекс поліморфізму досліджених локусів (*PIC*=0,729 та 0,796, відповідно). Причому як серед коричневих так і серед білих кросів найполіморфнішою виявилась продукція фірми «HENDRIX POULTRY BREEDERS B.V.» (кроси ХСК та ХСБ). Найвищі значення фактичної (Ho=0,727) та індивідуальної (Hi=0,727) гетерозиготностіей було зафіксовано у кросуХЛБ.

Для всіх досліджених промислових кросів свійської курки, крім ХСК, характерним є високий рівень консолідованості за одним (11 випадків), двома (5 випадки) та трьома (два випадки) алельними варіантами. Зокрема: крос ЛБ за одним ($ADL278^{114}$ – 0,343, $LEI094^{259}$ – 0,720, $MCW0248^{213}$ – 0,785 та $MCW0216^{137}$ – 0,920) та двома ($ADL268^{108}$ – 0,485 та $ADL268^{110}$ – 0,315) алельними варіантами. Крос ЛК за одним ($ADL278^{114}$ – 0,470) та двома ($ADL268^{108}$ – 0,337, $ADL268^{110}$ – 0,367, $MCW0216^{137}$ – 0,325, $MCW0216^{135}$ – 0,398, $LEI094^{259}$ – 0,259, $LEI094^{263}$ – 0,253) алельними варіантами. Крос ХСБ за одним ($ADL268^{110}$ – 0,490, $ADL278^{120}$ – 0,451, $MCW0248^{215}$ – 0,418) та трьома ($MCW0216^{137}$ – 0,393, $MCW0216^{139}$ – 0,386, $MCW0216^{141}$ – 0,238) алельними варіантами. КросХЛБ за одним ($ADL268^{108}$ – 0,500, $ADL278^{114}$ – 0,386, $MCW0248^{213}$ – 0,636) двома ($LEI094^{261}$ – 0,477, $LEI094^{263}$ – 0,295) та трьома ($MCW0216^{137}$ – 0,185, $MCW0216^{139}$ – 0,386, $MCW0216^{141}$ – 0,318) алельними варіантами) або за алелями $ADL268^{108}$ – ЛБ (0,485), ЛК (0,337) та ХЛБ (0,500), та $ADL268^{110}$– ЛБ (0,315), ЛК (0,367) та ХСБ (0,490); $MCW0216^{135}$ – ЛК (0,398), $MCW0216^{137}$ – ЛБ (0,920), ЛК (0,325) ХСБ (0,393) та ХЛБ (0,185), $MCW0216^{139}$ –ХСБ (0,295) та ХЛБ (0,386), $MCW0216^{141}$ –ХСБ (0,238) та ХЛБ (0,318); $LEI094^{259}$ – ЛБ (0,725), ЛК (0,259), $LEI094^{261}$ – ХЛБ (0,477), $LEI094^{263}$ – ЛК (0,253), ХЛБ (0,295); $ADL278^{114}$ – ЛБ (0,470), ЛК (0,343) та ХЛБ (0,386), та $ADL278^{120}$– ХСБ (0,451); $MCW0248^{113}$ – ЛБ (0,485), ХЛБ (0,636), $MCW0216^{215}$ –ХСБ (0,418). Подібна тенденція

спостерігалась і за розподілом генотипів – в усіх групах тварин, за всіма мікросателітними локусами ДНК зафіксовано певну консолідованість за окремими генотипами, у ЛБ виявлено 10, ЛК – 8, ХСБ – 13, ХЛБ – 12 та ХСК – 9 таких генотипів за 5 МСЛ. У ЛБ – 5% (5 з 10 найпоширеніших генотипів), ЛК – 25% (2 з 8) , ХСБ – 53,85% (7 з 13), ХЛБ – 33,33% (4 з 12) та ХСК – (2 з 9 найпоширеніших генотипів) за 5 локусами були гомозиготними. Причому три з них, а саме $ADL278^{120/120}$ з частотою 0,458 та $MCW216^{141/141}$ з 0,1475 у ХСБ та $MCW216^{135/135}$ з частотою 0,24 були специфічними для ЛК. Наслідком чого є значний рівень консолідованості порід, що підтверджується нижчим рівнем фактичної гетерозиготності (Но) ніж очікуваної (Не) в середньому по виду і по всіх, крім ХЛБ, кросах (популяція кросу ХЛБ, на відміну від решти досліджених кросів демонструє тенденцію до збільшення генетичного поліморфізму) та значеннями індексів С. Райта (*Fis=0,131* та *Fit=0,257*). За результатами розрахунку рівноваги за Гарді-Вайнбергом (МСМС), у стані генетичної рівноваги знаходяться лише такі локуси: в кросі ЛБ – MCW216 та ADL278, в ЛК та ХСБ – ADL268, в ХЛБ – MCW216, ADL278 та MCW248 й ХСК - MCW216.

Випадки зчепленого успадковування різних локусів відмічаються в кросах ЛБ та ЛК в кілька разів рідше (0,0623 та 0,0783) ніж ув кросах ХСБ та ХСК (0,260 та 0,188, відповідно). Про високий рівень інбредованості дослідженої популяції ХСБ свідчать найвищі значення HWD=0,26 та N_{LD}=47. Відповідно до результатів проведених розрахунків ми можемо говорити про те, що коричневі кроси демонструють більший рівень генетичного поліморфізму крос ХСК знаходиться в сприятливому стані (єдиний з досліджених кросів свійської курки (Ne=нескінченість, з довірчим інтервалом 2060,3 – нескінченість особин). Крос ЛК знаходиться в загрозливому стані (*Ne*=58,2, з довірчим інтервалом 33,2 – 127,1 особин) але демонструє найвищі значення ефективної чисельності популяції, тоді як кроси ЛБ та ХСБ – на межі зникнення (*Ne* =2,0 та 2,9 з довірчим 95% інтервалом 1,2-3,1 та20,-4,1 особин, відповідно). Слід відмітити, що ХЛБ демонструє ефективну чисельність популяції на рівні коричневих кросів.

Найнижчі значення *M-ratio,* за 4 МСЛ з 5 у кросу ЛБ та за 2 з 5 у ЛК, свідчать про найнижчий рівень генетико-автоматичних процесів в даних кросах. В решти кросів цей показник був практично однаковим, що свідчить про однакові рівні генетико-автоматичних процесів.

Середнє значення потоку генів для даного таксона становить 1,9. Точність прогнозу щодо віднесення певної тварини до одного з кросів *(assignment*-тест) становить близько 78,4%. Причому, найвищою є точність прогнозу щодо кросу ЛБ (99%).

Згідно результатів аналізу «тонкої» генетичної структури, найбільш реальною є наявність двох генетичних груп. Перша – це птахи кросу ХЛК, друга –кросів ЛБ, ЛК та ХЛБ, а крос ХСБ поділяється на два кластери, один з яких подібен до першої групи, а другий – до другої.

Аналіз результатів оцінки генетичної відстані за Неєм, показав, що, як і очікувалось, особини кросів ЛБ і ЛК та ХСБ і ХСК виявились генетично і сформували 2 окремі кластери. Несподіваним виявилось приєднання кросу ХЛБ до кластеру кросів ЛБ та ЛК. Особливо цікавим виглядає факт більшої подібності білого кросу ХЛБ до коричневого кросу ЛК.

ЛБ вирізняється серед птиці інших кросів надзвичайною консолідованістю за окремими алелями (від $ADL278^{114}$ – 0,343 та $ADL268^{108}$ – 0,485 до $LEI094^{259}$ – 0,720, $MCW0248^{213}$ – 0,785 та $MCW0216^{137}$ – 0,920) та генотипами (генотип $ADL0278^{108/114}$ зустрічався у 40% випадків, $ADL0268^{108/110}$ – 50%, $LEI094^{259/259}$ – 58%, $MCW248^{213/213}$ – 77% і $MCW216^{137/137}$ – 84%. Причому останні 3 – гомозиготні) по всіх досліджених МСЛ, що підтверджується значеннями показників генетичного поліморфізму (Ne=2,08, I=0.865, PIC=0,414, Ho=0,424, He=0,452, Hi=0,). Для даного кросу харакиерним був досить високий рівень інбредованості N_{LD}=17, за практично випадкового об’єднання гамет (HWD=0,0623) та найнижчий рівень гентико-автоматичних процесів (M-ratio=0,3148).

Особини різних кросів характеризуються достовірним рівнем генетичної диференціації (*Fst* =0,143), що підтверджується результатами аналізу молекулярної мінливості (*AMOVA*) (генетична диференціація між досліджуваними породами (0,228) демонструє високий рівень значущості (p≤0,001). А одержані дані – високим рівнем достовірності, свідченням чого є достовірність різниці між частотами виявлених алельних (p<0,001) та генотипих (p<0,001) варіантів. За вірогідності виключення випадкового збігу алелей (PE) (0,390) та комбінованої вірогідності виключення випадкового збігу алелів (CPE) в середньому по виду *Gallus domesticus* 0,8774 або 87,74 %.

7.2 Аналіз особливостей генетичного поліморфізму у різних видів свійських тварин

У звязки з неможливістю безпосереднього порівняння алельного поліморфізму у різних таксонів через використання різних мікросателітів, з метою порівняння рівнів генетичного поліморфізму в різних таксонах здійснено порівняльний аналіз статистичних характеристик.

В результаті проведеної роботи встановлено, що: середня кількість виявлених алельних варіантів становила 12,13 від найменшої у собак(10,8), середньої у великої рогатої худоби і свійської курки (11,3-11,6, відповідно) та найбільшої – у свійських коней (14,818) (табл. 7.1).

Таблиця 7.1

Алельний поліморфізм різних видів свійських тварин.

Вид	К-ть виявлених алелів	К-ть породо-специфічних алелів	частота поро-доспецифіч-них алелів	Rarefaction (25)	
				к-кість алелів	у т.ч. унікальних
ВРХ	11,3 (8-16)	23	0,031	8,763±1,938	0,74±0,827
Коні	14,818(12-16)	46	0,0182	10,154±2,691	1,149±1,453
Собаки	10,8 (9-13)	3	0,0337	8,393±2,35	0,344±0,581
Курка	11,6 (6-22)	17	0,0225	5,865±2,077	0,57±0,91
	12,13±1,8225	22,25±17,9142	0,0264±0,0072	8,294±1,7879	0,7008±0,34

Найбільший розмах, найменшу та найбільшу кількість виявлених алельних аріантів зафіксовно у свійської курки (6-22), а у ссавців ці показники були практично однаковими з найбільшим значенням (12-16) у свійських коней і найнижчим (9-13) у свійських собак.

Кількість породоспецифічних алелів в досліджених таксонах в середньому становила 22,25 і коливалась від 3 у собак до 46 у коней. Найменшу кількість специфічних алелів виявлено у собак (3), середню – у курки (17) та ВРХ (23) і найбільшу в коней (46). Такі алелі виявляли в усіх видах з практично однаковою частотою, в середньому 0,026, від 0,018 у коней, з середнім 0,023 значенням у курки, до 0,031 у собак та 0,034 у ВРХ.

В результаті проведеної роботи з порівняння рівнів генотипового поліморфізму в різних таксонах встановлено, що середня кількість виявлених генотипових варіантів становила 38,09 від найменшої у собак (22,4), середньої у свійської курки та великої рогатої худоби (31,4 та 41,2, відповідно) та найбільшої – у свійських коней (57,36)

(табл. 7.2).

Таблиця 7.2

Генотиповий поліморфізм різних видів свійських тварин

Вид	Ng	Ng_1	Ng_2	Ng_{unic}
ВРХ	41,2	15,4	7,8	22,6
Коні	57,36	21	9,81	35,73
Собаки	22,4	5,4	4,2	7,2
Курка	31,4	5,6	4,8	18,4
	8,09±14,9675	11,85±7,6809	6,65±2,6289	0,98±11,7849

Найбільший розмах (15,36-43,82) та найбільшу кількість виявлених генотипових варіантів (43,82) зафіксовно у свійських коней, найменший розмах генотипових варіантів (17,4-24) зафіксовано у ВРХ а найменшу кількість генотипових варіантів (6,4) у свійської курки. У ссавців ці показники коливались від 10,4-18,4 у собак, та 17,4—24 у ВРХ до 15,36-43,82 – у свійських коней. Кількість виявлених генотипових варіантів у свійської курки становила 7-18,6 і дорівнювала аналогічному показнику в свійських собак. Кількість генотипів, які зустрічались в досліджених популяціях один раз (Ng_1) в середньому становила 11,85 і коливалась від 5,4 та 5,6 у собак та курки, відповідно, до 15,4 у ВРХ та 21 у коней. Відсутні такі генотипи були тільки в кросі ХСБ свійської курки. Найменшу кількість рідкісних генотипів Ng_2 виявлено у собак (4,2) та курей (4,8), середню – у ВРХ (7,8) і найбільшу у свійських коней (9,81), за середнього значення 6,65. Специфічні генотипи було виявлено у всіх видів ссавців крім собак породи НД, та у всіх досліджених кросах свійської курки. Найбільшу кількість специфічних генотипів виявлено у коней (35,73) породи УВП (27,91), а найменшу – у собак (7,2) породи РТ (1,4) та курей кросів ЛБ (1,0) та ХЛБ (1,0).

Порівняльний аналіз популяційно-генетичних процесів, що мають місце в досліджених таксонах дає змогу оцінити характер та інтенсивність генетичних процесів в популяціях тварин що відносяться до різних таксонів.

Свійська курка характеризувалась найнижчими значеннями кількості виявлених (6,6) та ефективних (3,85) алелів, індексів Шеннона (I=1,42) та поліморфізму (PIC=0,644), а також фактичної (He=0,684) та очікуваної (Ho=0,624) гетерозиготностей. Для цього таксона зафіксовано найнижчі значення PE (0,39) та CPE (0,9212) (табл. 7.3).

Таблиця 7.3

Популяційно-генетичні характеристики досліджених видів

Локус	Na	Ae	I	Ho	He	F	PIC	PE	CPE
ВРХ	9,30	6,16	1,939	0,760	0,825	0,081	0,807	0,559	0,9997

Продовж. табл. 7.3

Коні	10,76	5,61	1,886	0,747	0,791	0,593	0,764	0,502	0,9999
Собаки	8,60	6,05	1,894	0,755	0,817	0,073	0,795	0,542	0,9999
Курка	6,60	3,85	1,420	0,624	0,684	0,093	0,644	0,39	0,9212
Середнє	8,815 ±1,7285	5,420 ±1,0741	1,785 ±0,2443	0,722 ±0,0652	0,779 ±0,0651	0,226 ±0,2468	0,753 ±0,0745	0,498 ±0,0760	0,9801 ±0,03931

Серед ссавців найбільшу кількість алельних варіантів (10,758) було виявлено у свійських коней, середню (9,3) – у ВРХ, а найменшу (8,6) – у собак. Найбільшу кількість ефективних алелів (6,162) виявлено у ВРХ (Ae=6,162), найвищі значення індексів Шеннона (I=1,939) та поліморфізму (PIC=0,807), а також фактичної (He=0,825) та очікуваної (Ho=0,76) гетерозиготностей.

За найбільшої кількості виявлених алельних варіантів (Na=10,758), для свійських коней характерними є найменші серед досліджених видів ссавців значення кількості ефективних алелів (Ae=5,614), індексів Шеннона (I=1,886) та поліморфізму (PIC=0,764), а також фактичної (He=0,791) та очікуваної (Ho=0,747) гетерозиготностей.

Собаки характеризувались найменшою серед ссавців кількістю фактично виявлених алелів (Na=10,758) та середніми значеннями ефективних алелів (Ae=6,054), індексів Шеннона (I=1,894) та поліморфізму (PIC=0,795), а також фактичної (He=0,817) та очікуваної (Ho=0,755) гетерозиготностей.

Відповідно до значень індексів Райта (Fis та Fit) найбільш консолідованим таксоном є свійська курка (Fis=0,131 та Fit=0,257). З ссавців найбільший рівень консолідованості виявляє свійський собака, середній – свійські коні й найменший – ВРХ, що відповідає специфіці племінної роботи з особинами різних видів. Порівняно невисокі значення цих індексів свідчать про незначний рівень гомогенності у ссавців і значно вищий у курки, що є свідченням практичної відсутності дефіциту гетерозигот у ссавців і наявність певної нестачі у птахів, що проявляється у достовірних оцінках індексу фіксації (табл. 7.4).

Таблиця 7.4

Індекси фіксації С. Райта за результатами мікросателітного аналізу

Вид	Fis	Fit	Fst
ВРХ	0,033	0,092	0,122
коні	0,062	0,108	0,049
собаки	0,100	0,142	0,047
кури	0,131	0,257	0,143

Примітка: 95% CI – 95% довірчий інтервал

Водночас, всі досліджені таксони характеризуються незначним, але достовірним рівнем генетичної диференціації, з найвищим її рівнем у курки (Fst =0,143) та ВРХ (Fst=0,122) і найнижчим у коней (Fst=0,049) та собак (Fst=0,047). Як свідчать діаграми потоку генів, в кожному таксоні наявний один локус за яким значення потоку генів є значно більшим від решти локусів, що свідчить про те, що переважний дрейф генів відбувається у ВРХ за локусом ETH03 (23,4), у свійських коней – HTG07 (27,786), у собак –FHC2054 (12,261) й у курей – ADL268 (4,164) (рис. 7.1).

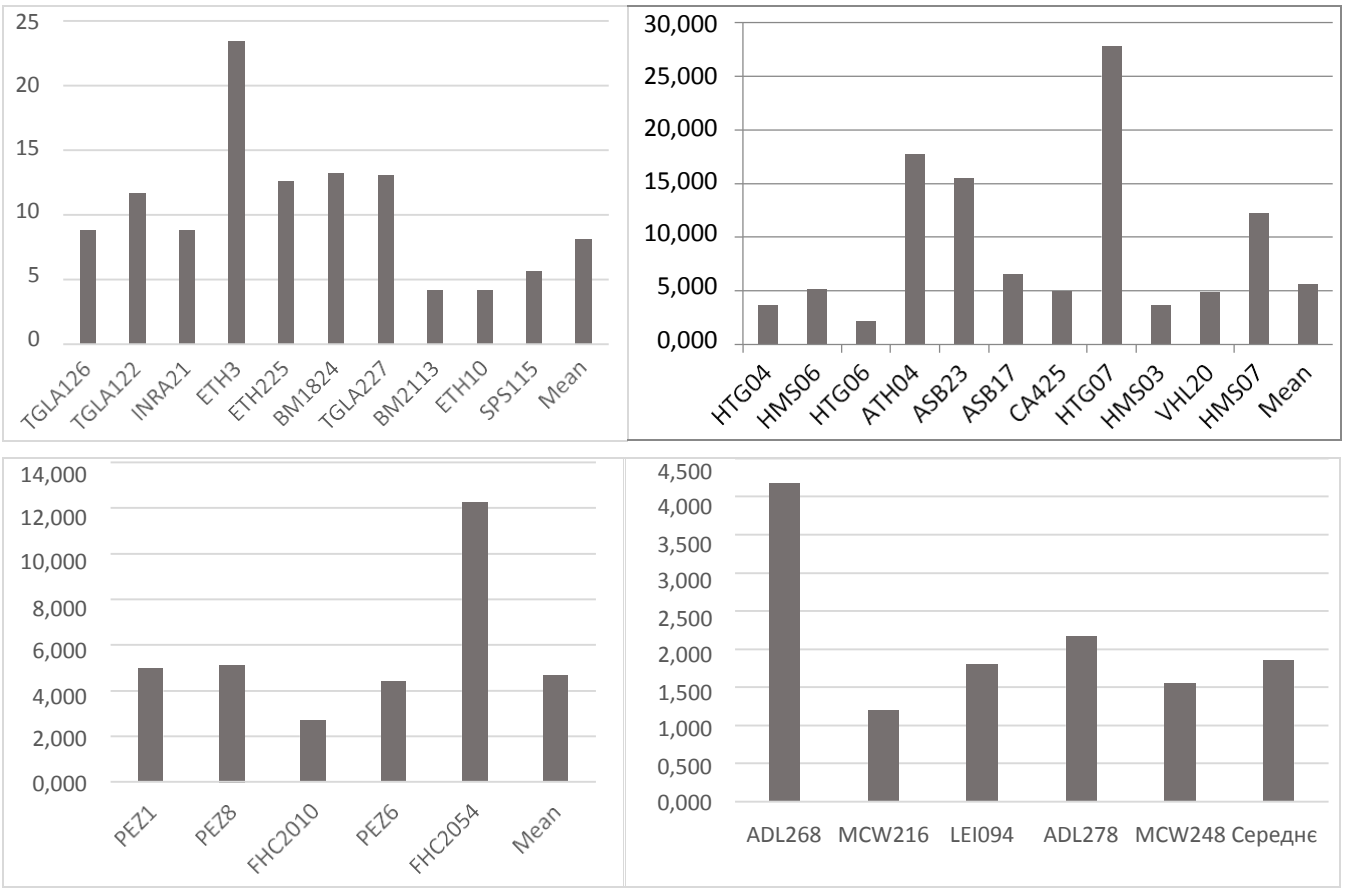
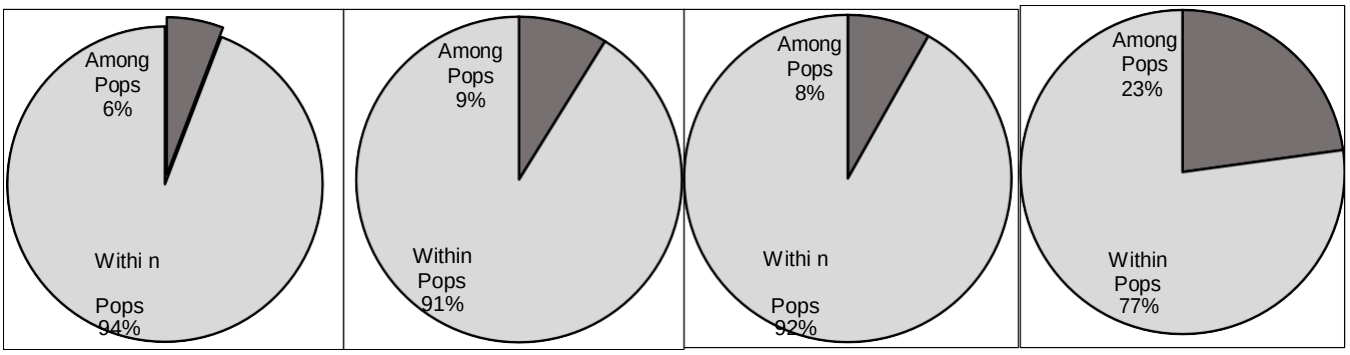


Рис. 7.1 Інтенсивність потоку генів у різних видів свійських тварин.

Згідно результатів аналізу молекулярної мінливості говорять про те, що у ссавців всіх досліджених видів генотипова мінливість на 91-94% обумовлена індивідуальними відмінностями між тваринами, і на 6-9% породною належністю (тобто, походженням), в той час, як у свійської курки це співвідношення було, відповідно 77% до 23%. Причому, незважаючі на низькі значення, генетична диференціація між оціненими групами тварин була достовірною ($p<0,001$) (рис. 7.2).



А Б В Г

Рис. 7.2 Генотипова мінливість різних видів свійських тварин. Її зумовленість. А - велика рогата худоба; Б - коні; В -собаки; Г - курка.

Результати assignment-тесту, проведеного на підставі емпіричного розподілу мультилокусних генотипів (табл. 75) для різних таксонів, свідчить про те що точність прогнозу щодо віднесення якоїсь тварини до певного виду сладає близько 77%. Від 58,2% у собак до 88% у коней.

Таблиця 7.5

Результати Assignment-тесту для різних видів свійських тварин

Породи	ВРХ	коні	собаки	курка
Точність прогнозу, %	84 (81-89)	88 (83,6-93,6)	58,2 (41-80)	78,4 (60,7-99)

7.3 Висновки по розділу

1. Загалом за всіма дослідженими нами видами мала місце подібність генетичних процесів в породах, про що свідчать однакові діапазони та межі розмаху спектрів алельного (ВРХ – Lim_{Na}=6-8, коні – Lim_{Na}=11-16, собаки -Lim_{Na}=5-13, курка – Lim_{Na}=3-17) і генотипового (ВРХ – Lim_{Ng}=11-32 коні – Lim_{Ng}=8- собаки – Lim_{Ng}=7-24 курка – (Lim_{Ng}=4-32) поліморфізму та практично однакові, профілі індивідуальної гетерозиготності (ВРХ – Hi=0,759, коні – Hi=0,773, курка – Hi=0,597), та кількість виявлених алельних варіантів у ВРХ (Na=9,2-9,5) та собак (Na=8,2-9,2) (різниця не перевищувала 3 алелів/локус). Про приблизно однаковий рівень генетико-автоматичних процесів в даних популяціях свідчить відсутність істотних відмінностей за показником M-ratio.

2. Для всіх порід всіх таксонів характерною є консолідованість за окремими алельними (У ВРХ –за одним (1 випадок), двома (три випадки) та трьома (два випадки) алельними варіантами по 5 локусам з 10, коней, крім УВП – у ЧВ та ГУЦ за одним (10 випадків) та двома (три випадки) алельними варіантами по 8 та 6 локусам

з 11, відповідно, у собак – за одним (чотири випадки) та двома (один випадок) алельними варіантами (за 4 локусами з 5). Високий рівень консолідації спостерігався і за характером розподілу генотипів, у ВРХ – в УЧеР 18 генотипів за 4 МСЛ (4 гомозиготи), в УЧР – 14 за 3 МСЛ (3 гомозиготи), а у СУ – 15 за 5 МСЛ: гомозигот) $ETH10^{134/134}$ був специфічним для породи СУ), коней – в ГУЦ –18 генотипів за 5 локусами (5 гомозигот), у ЧВ – 16 за 7 мікросателітами (7 гомозигот), в УВП – 18 за 4 локусами (4гомозигот), собак – в НВ 11 генотипів за 5 мікросателітами (1 гомозигота), в НД – 6 за 4, РТ – 5 за 4 локусами (2 гомозиготи) по кожному локусу, наслідком чого є значний рівень консолідованості порід. Що, також, підтверджується результатами розрахунків рівноваги за Гарді-Вайнбергом (МСМС). У ВРХ: УЧР знаходиться в стані генетичної рівноваги за 8 мікросателітними локусами з 10, УЧеР – за 7 з 10, а СУ – лише за 3, коні: ГУЦ – за 7 з 11, ЧВ – за 4 з 11 і УВП – за 2 МСЛ, собаки: НВ – за3 з5, а НД та РТ – за 1 локусом з п`яти), нижчим рівнем фактичної гетерозиготності ніж очікуваної, в середньому по виду і по всіх породах та значеннями індексів С. Райта (ВРХ: Fis=0,033 й Fit=0,092, коні: Fis=0,062 та Fit=0,108, собаки: Fis=0,100 та Fit=0,142,) С. Райта.

3. Середні значення потоку генів для різних видів коливались від 4,679 та 5,599, відповідно у собак та коней до 8,075 у ВРХ. Точність прогнозу щодо віднесення певної тварини до однієї з порід (assignment-тест) становили від 41% (НВ) до 93,6% (ГУЦ) та 92,2% (ЧВ), а щодо віднесення певної тварини до одного з видів від 58,2% (собаки) до 84% (ВРХ) та 88% (коні).

4. Випадки зчепленого успадкування різних локусів відмічено тільки в СУ породи ВРХ (HWD=0,328, N_{LD}=39, p<0,001) та собак породи НВ (HWD=0,2405, N_{LD}=1, p<0,05). Об’єднання гамет у тварин решти порід досліджених видів було практично випадковим.

5. Відповідно до результатів розрахунків ефективної чисельності популяцій в сприятливому стані перебуває тільки УЧеР порода ВРХ (Ne= 554,6), у загрозливому стані знаходятьсяукраїнські популяції УЧР породи ВРХ (Ne= 5397,1), УВП (Ne= 103,9) та ЧВ (Ne= 96,2) породи коней), собаки порід НВ та РТ (Ne= 88,2 та 124,0, відповідно), на межі зникнення – ГУЦ (Ne= 55,1), а за цією межею СУ порода ВРХ (Ne= 25,1) та собаки породи НД (Ne=28,9).

6. Тварини різних порід в середині таксонів характеризуються незначним але достовірним рівнем генетичної диференціації (ВРХ (Fst =0,122), коні (Fst =0,047), що

підтверджується результатами аналізу молекулярної мінливості (AMOVA) (відносно низьке значення Фst (ВРХ – 0,058, коні – 0,082) генетичної диференціації між досліджуваними породами демонструє високий рівень значущості ($p \leq 0,001$). А одержані дані – високий рівень достовірності, свідченням чого є достовірність різниці між частотами виявлених алельних ($p<0,001$) та генотипових ($p<0,001$) варіантів.

7. Для усіх досліджених видів розподіл частот виявлених алельних варіантів відповідав покроковій мутаційній моделі (SMM) (вона була більш адекватною для апроксимації рівня алельного різноманіття за всіма, без виключень, дослідженими мікросателітними локусами, в порівнянні з моделлю IAM ($p<0,001$). Остання, значно завищувала фактичні величини, як по кожній породі, зокрема, так і по кожному з досліджених видів в цілому)

8. В усіх проведених дослідах, з метою одержання коректного порівняння виборок різного розміру було параметричні та непараметричні методи, які дають змогу порівнювати вибірки різних розмірів, а саме rarefaction-метод, непараметричний метод А. Чао. Відмічається різний характер розподілу кількості алельних та генотипових варіантів, але, в цілому, розрахунки одержані за допомогою даних методів зберігають відповідність попередньо одержаним результатам безпосереднього аналізу у всіх досліджених таксонах. Єдині суттєві відмінності мали місце у коней за кількістю унікальних алелів.

9. В усіх видів ссавців наймолодші та найчисельніші породи свійських тварин, такі як УЧеР й УЧР великої рогатої худоби, УВП коней та собаки породи німецька вівчарка характеризуються найвищим рівнем генетичного поліморфізму (що підтверджується найбільшою середньою кількістю виявлених генотипів (Ng=24,0 й 22,3, 47,91 та 18,4, відповідно) рідкісних генотипів (Ng_1=13,8 й 13,1, Ng_2=5,0 й 5,3, Ng_1=21,27, Ng_2=9 та Ng_1=8,6, Ng_2=4,8, відповідно), породоспецифічних генотипів (Ng_{unik}=9 й 8,1, 307 та 5,8, відповідно) ефективних алелів (Ae=6,757 й 6,023, 7,627 та 6,451, відповідно), індексу Шеннона, (I=2,021 й 1,924, 2,250 та 1,958, відповідно). УЧеР й УЧР породи великої рогатої худоби та УВП коней мають найвищі значення фактичної (Ho=0,784 й 0,821 та 0,812, відповідно), очікуваної (He=0,844 й 0,819 та 0,865, відповідно) й індивідуальної (Hi=0,784 й 0,821, та 0,784, відповідно) гетерозиготності та індексу поліморфізму досліджених локусів (PIC=0,826 й 0,807 та 0,842, відповідно)

10. Найменший рівень поліморфності виявлено у найдавніших порід сірої української худоби, ЧВ породи коней (Na=8, Ng=15,36, Ng_1=6,64 Na_1=7, Ng_2=3,

Na_{unik}=2, Ng_{unik}=16 Ae=3,963 Ho=0,653, He=0,707, Hi=0,673 I=1,539, PIC=0,67) та собак породи НД.

11. У СУ породи виявлено найбільшу кількість локусів за якими зафіксовано найбільшу кількість виявлених алелів (4), породоспецифічних алелів (6), а також, власне породоспецифічних алелів (Na_{unic}=11(0,022). При цьому, дана порода характеризується проявом ефекту «пляшкового горлечка», оскільки нульову гіпотезу в її випадку можна відкинути з рівнем значущості p=0,014 (тест знаків). Має місце високий ступінь інбредності даної популяції (невипадковість об'єднання гамет (HWD=0,328, N_{LD} для СУ (39 випадків з 45), а сама порода перебуває на межі зникнення, адже ефективна чисельність (Ne) її становить 25,1 голів, з довірчим 95% інтервалом 15,7-44,2 особин а також в неї зафіксовано найвужчі генотипові спектри за всіма МСЛ та більш високий ніж в решти досліджених порід ВРХ рівень консолідованості за певними (1-3) генотипами у переважній більшості локусів.

12. Для собак породи НД характерними виявились найбільші значеннями фактичної (Ho=0,754), очікуваної (He=0,833) та індивідуальної (Hi=0,820) гетерозиготностей та індексу поліморфізму (PIC=0,812) найменша кількість виявлених (Ng=10,4) та рідкісних (Ng_1=5, Ng_2=3) генотипів, F=0,012, а також відсутністю породоспецифічних алелів та генотипів.

13. Локальна гуцульська порода коней характеризувалась зсувом спектрів геноипового поліморфізму (в бік більшого розміру алелів), середнім рівнем поліморфізму (Na=10, Ng=26, Ng_1=11,64 Na_1=7, Ng_2=5,09, Na_{unik}=3, Ng_{unik}=70 Ae=5,253 Ho=0,775, He=0,802, Hi=0,673 I=1,869, PIC=0,779) та широким розмахом спектрів генотипової мінливості (Lim_{Ng}=), за 6 МСЛ з 11.

14. РТ характеризувалась досить широким, але з великою кількістю випадінь, спектрами алельної та генотиполвої мінливості, високою консолідованістю за певними алелями, найбільшою кількістю породоспецифічних алелів (Na_{unic}=2(0,025) та найменшою середньою кількістю виявлених (Na=8,2) та ефективних (Ae=5,46) алельних варіантів. А також найнижчими значеннями фактичної (Ho=0,690), очікуваної (He=0,788), й індивідуальної (Hi=0,690) гетерозиготностей, індексів Шеннона (I=1,804) та поліморфізму (PIC=0,766)

15. Найбільшу кількість алелів (Na), породоспецифічних алелів (Na_{unic}), а також локусів за якими виявлено унікальні алелі та локусів за якими виявлено найбільшу кількість алелів взагалі, зафіксовано у наймолодших порід коней – УВП (1990 р.) та

собак – РТ (2006 р.), а також найдавнішої аборигенної європейської породи ВРХ – СУ.

16. Найбільшу консолідованість, як за кількістю виявлених, так і за розмахом алельних спектрів продемонстували найдавніші породи з найбільш суворими стандартами породи (ЧВ($p \leq 0,001$), НД($p < 0,05$), що може бути наслідком порівняно невеликого розміру світової популяції та більш тривалого (НД – за деякими даними, з більш ніж 36 року до н.е.) розведення за суворого дотримання стандартів селекційної роботи і, як наслідок, меншого генетичного поліморфізму.

17. Кроси фірми Ломан характеризуються ширшими алельними спектрами і зсуненням цих спектрів в бік зменшення довжин фрагментів. Причому коричневий крос дещо переважає білий. Курка кросу ЛБ вирізняється серед птиці інших кросів надзвичайною консолідованістю за певними алелями.

Матеріали досліджень розділу викладено у наукових публікаціях [664-693, 696].

РОЗДІЛ 8 ІНФОРМАТИВНІСТЬ РІЗНИХ МІКРОСАТЕЛІТНИХ МАРКЕРІВ ТА ЇХ ЗАСТОСУВАННЯ У МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНННЯХ РІЗНИХ ВИДІВ ТВАРИН

З метою оцінювання інформативності мікросателітів ДНК, як маркерів генетичних процесів, що мають місце в різних видах свійських тварин та особливостей їхньої генетичної структури, здійснено порівняльний аналіз поліморфізму структури мікросателітних послідовностей у представників видів *Bos taurus, Equs caballus, Canis familliaris, Gallus domesticus,* з використанням локусів, які належать до переліку рекомендованих ISAG, як найполіморфніших для відповідного таксона.

У представників виду *Bos taurus* спектр алельних варіантів знаходився в межах від 8 (TGLA126 та ETH10) до 16 (TGLA227) та 17 (TGLA122) алелів. Водночас, спектр ампліконів становив від 20 (TGLA126) до 36 (TGLA122) та 38 (TGLA227). Розмір виявлених алельних варіантів (ампліконів) варіював від найлегших – 76-110 п.н. (TGLA227) до найважчих – 246-264 п.н. (SPS115). Сумарно, за всіма 10 мікросателітними локусами виявлено 279 ампліконів (УЧеР – 95, УЧР та СУ – по 92). Найбільшу кількість ампліконів (38 ампліфікованих фрагментів або 13,62% від загальної кількості ампліконів), як і велику кількість алельних варіантів (16) загалом по виду серед локусів з низькою вагою виявлено за локусом TGLA227, з коровою послідовністю $(TG)_n$ й спектром ампліконів 76-110 п.н., та (36 ампліконів, 12,90% і найбільшу кількість алелів – 17), з великою вагою – за TGLA122 з коровою послідовністю $(AC)_n(AT)_n$ зі спектром ампліконів 114-188 п.н. Слід відзначити, що саме за цими локусами виявлено найбільшу кількість породоспецифічних алельних та генотипових варіантів (у УЧеР – 13 та 11, УЧР – 14 та 11, СУ – 11 та 14, за TGLA227 та TGLA122, відповідно). У ЧеРМ та ЧРМ порід, як і в цілому по виду, найбільшу кількість ампліконів (13, 14 та 38, відповідно) виявляли за локусом TGLA227, а у СУ –найбільшу кількість ампліконів було зафіксовано за локусом TGLA122 – 14 (36 по виду й по 11 у УЧеР та УЧР порід). Велику кількість ампліконів в даного виду було виявлено, також, у представників всіх трьох порід за локусом $(AC)_n$ INRA023 (11, 12, 9 та 32, відповідно), а також по 11 ампліконів в УЧеР породи за локусом $(CA)_n$ (BM2113), УЧР – $(GT)_n$ (BM1824) та СУ – $(TG)_4CG(TG)(CA)_n$ (ETH225).

Одержані дані дають нам привід стверджувати, що найінформативнішими у ВРХ є мікросателітні локуси з коровим мотивом тандемних послідовностей $(TG)_n$ та $(AC)_n(AT)_n$, причому для $(TG)_n$ характерною є низька вага ампліконів, а для $(AC)_n(AT)_n$ – велика.

У представників виду *Equs caballus* спектр алельних варіантів містив від 12 (HMS06 та HTG07) до 16 (HTG06, ASB23, ASB17, CA425 та HMS03) алелів. А спектр ампліконів коливався в межах від 26 (HTG06) до 37 (ASB17) та 38 (ASB23). Розмір виявлених алельних варіантів (ампліконів) варіював від найлегших – 83-105 п.н. (VHL20) та 90-114 (ASB17) до найважчих – 230-242 п.н. (CA425). Сумарно, за всіма 10 мікросателітними локусами виявлено 355 ампліконів (ГУЦ – 110, ЧВ – 88 та УВП – 154). Найбільшу кількість ампліконів (37 ампліфікованих фрагментів або 10,51% від загальної кількості ампліконів), як і велику кількість алельних варіантів (16) загалом по виду серед локусів з низькою вагою виявлено за локусом ASB17, з коровою послідовністю $(AC)_n$ й спектром ампліконів 90-114 п.н., та (38 ампліконів, 10,80% і велику кількість алелів – 16), з середньою вагою – за ASB23 з коровою послідовністю $(TG)_n$ або $(TG)_nTT(TG)$ зі спектром ампліконів 128-154 п.н. У ЧВ породи, як і в цілому по виду, найбільшу кількість ампліконів (13 та 38, відповідно) виявлено за локусом ASB23, у ГУЦ – найбільшу кількість ампліконів (13 та 37, відповідно) зафіксовано за локусом ASB17, а в УВП – ASB17, CA425 $(GT)_n$ та HMS03 $(TG)_2(CA)2TC(CA)n$ та $(TG)_2(CA)_2TC(CA)GA(CA)_5$ (по 16 по породі та 37, 30 й 36 загалом по виду).

Одержані дані дозволяють стверджувати, що найінформативнішими у свійських коней є мікросателітні локуси з коровим мотивом тандемних послідовностей $(TG)_n$ та $(AC)_n$, причому для $(TG)_n$ характерною є велика вага ампліконів, а для $(AC)_n$ – низька.

У представників виду *Gallus domesticus* спектр алельних варіантів містив від 6 (ADL0268) до 22 (LEI0094) алелів. Спектр ампліконів містив від 25 (ADL0268) до 51 (LEI0094). Розмір виявлених алельних варіантів (ампліконів) варіював від найлегших – 104-112 п.н. (ADL0268) та 104-122 п.н. (ADL0278) до найважчих – 143-283 п.н. (LEI0094). Сумарно, за всіма 5 мікросателітними локусами виявлено 164 амплікони (ЛБ – 23, ЛК – 46, ХСБ – 32, ХЛБ – 26 та ХСК – 37). Найбільшу кількість ампліконів (51 ампліфікованих фрагментів або 31,10% від загальної кількості ампліконів), як і найбільшу кількість алельних (22) та генотипових (55) варіантів загалом по виду та в

усіх досліджуваних кросів (ЛБ-8 та11, ЛК-17 та 27, ХСБ-9 та 19, ХЛБ-6, ХСК-11 та 32), виявлено за локусом LEI0094, з коровою послідовністю $(AC)_n$ й спектром ампліконів 143-283 п.н., крім найбільшої кількості виявлених генотипів у кросу ХЛБ, яка в даному випадку, була виявлена за локусом ADL0278 (Ng=10). Слід відзначити що у особин кросу ХЛБ найбільша кількість ампліконів (по 6) була, також, зафіксована за локусами ADL0268 та ADL0278 з коровими мотивами $(GT)_n$ та $(TG)_n$, відповідно. Саме за LEI0094 виявлено найбільшу кількість специфічних для окремих кросів генотипів по виду в цілому та по кросах ЛБ (4), ЛК (12), ХСБ (2) та ХСК(12). Для кросу ХЛБ найбільша кількість виявлених унікальних генотипів була виявлена за локусом ADL0278, але загалом крососпецифічних алельних варіантів у цього кросу виявлено не було, а крососпецифічні генотипи було виявлено тільки за МСЛ, з найбільшою кількістю виявлених алелів.

Одержані дані свідчать про те, що найінформативнішими у свійської курки є мікросателітні локуси з коровим мотивом тандемних послідовностей $(AC)_n$ з середньою та великою вагою ампліконів (141-283) та великим діапазоном, як алельних (22) та генотипових (55) варіантів так і ампліфікованих фрагментів (51). Але у промисловлго кросу ХЛБ фірми Хайлайн найвищою інформативністю характеризувались, також, локуси ADL0268 та ADL0278 з $(GT)_n$ та $(TG)_n$, відповідно, що, вочевидь, є наслідком специфіки селекційної роботи з кросами в даній фірмі.

Представників виду *Canis familliaris* відрізнялись від решти досліджуваних видів тетрануклеотидною структурою корових мотивів всіх досліджуваних МСЛ. Спектр алельних варіантів містив від 9 (FHC2010 та FHC2054) до 13 (PEZ08) алелів. В той же час спектр ампліконів містив від 22 (FHC2010) та 23 (FHC2054) до 33 (PEZ08). Розмір виявлених алельних варіантів (ампліконів) варіював від найлегших – 100-126 п.н. (PEZ01) до найважчих – 224-2240 п.н. (FHC2010) та 222-248 (PEZ08). Сумарно, за всіма 5 мікросателітними локусами виявлено 129 ампліконів (НВ – 46, НД – 42 та РТ – 41). Найбільшу кількість ампліконів (33 по виду загалом і по 13 ампліфікованих фрагментів або (25,582, 28,26 та 30,95% від загальної кількості ампліконів по виду загалом та по кожній з порід, відповідно), як і найбільшу кількість алельних варіантів (13) загалом по виду виявлено за локусом PEZ08, який єдиний з досліджуваних МСЛ характеризується повністю піримідиновою структурою корової послідовності $(CTTT)_n$ й спектром ампліконів 222-246 п.н. В одночас, у особин породи РТ найбільшу кількість ампліконів було виявлено за локусом PEZ06 з

повністю пуриновою структурою корової послідовності $(GAAA)_n$ зі спектром ампліконів 174-202 п.н. Він був єдиним МСЛ у цієї породи за яким було виявлено породоспецифічні алелі ($PEZ06^{192}$ та $PEZ06^{196}$) і саме за ним виявлено найбільшу кількість породоспецифічних генотипів (4).

Таким чином, найінформативнішими у свійських собак є мікросателітні локуси з коровим мотивом тандемних послідовностей або чисто пуриновим $(GAAA)_n$ – PEZ06 або чисто піримідиновим $(CTTT)_n$ – PEZ08, причому для піримідинової послідовності характерним є великий розмір ампліконів (222-248), а для пуринової дещо менший – 174-202 п.н. що, вочевидь, є характерною особливістю мікросателітів з тетрануклеотидною структурою корового мотиву, які у представників даного виду є найінформативнішими з точки зору FAO, ISAG та АКС.

Отже, з досліджених 26 мікросателітних локусів ДНК з динуклеотидною структурою найвищий рівень інформативності було зафіксовано за локусами з основними коровими мотивами (AC) та (TG). У представників *Ungulata* більшою молекулярною масою (Bos taurus та Equus caballus.) (201-225пн. та 144-164пн., відповідно) характеризувались (AC) послідовності що, на нашу думку, є специфічною особливістю даних видів. У представників *Aves (Gallus gallus)* найбільш інформативними були локуси з мотивом (AC) (вагою у 141-283пн.). Лише для кросу Хайлайн білий встановлено високу інформативність і (TG) (GT) структур.

Серед 5 досліджених тетрануклеотидних послідовностей які досліджувались у представників *Canis familliaris* найвиший рівень інформативності демонстрували локуси з послідовностями (GAAA) та (CTTT), причому піримідинові послідовності мали більший розмір ампліконів (222-248 пн.) ніж пуринові (174-202 пн.). Виявлені відмінності вочевидь, є характерними особливостями мікросателітів з теранукленотидною структурою корового мотиву.

8.1 Висновки по розділу

1. Найінформативнішими у ВРХ є мікросателітні локуси з коровим мотивом тандемних послідовностей $(TG)_n$ та $(AC)_n(AT)_n$, причому для $(TG)_n$ характерною є фрагменти ампліконів з меншою молекулярною масою в діапозоні 76-110.п.н., а для $(AC)_n(AT)_n$ з вищою – 232-242 пн .

2. У свійських коней найбільш інформативними є мікросателітні локуси з коровим мотивом тандемних послідовностей $(TG)_n$ та $(AC)_n$, причому для $(TG)_n$ характерною є велика вага ампліконів, а для $(AC)_n$ – низька.

3. Свійська курка характеризується найвищим рівнем інформативності мікросателітних локусів з коровим мотивом тандемних послідовностей $(AC)_n$ з середньою та великою вагою ампліконів (141-283) та великим діапазоном, як алельних (22) та генотипових (55) варіантів так і ампліфікованих фрагментів (51). Але у промисловлго кросу ХЛБ фірми Хайлайн найвищою інформативністю зарактеризувались також локуси ADL0268 та ADL0278 з $(GT)_n$ та $(TG)_n$, відповідно, що, вочевидь, є наслідком специфіки селекційної роботи з кросами в даній фірмі.

4. Для свійьких собак найвищим ступенем інфомативності відзначились мікросателітні локуси з коровим мотивом тандемних послідовностей або чисто пуриновим $(GAAA)_n$ – PEZ06 або чисто піримідиновим $(CTTT)_n$ – PEZ08, причому для піримідинової послідовності характерним є великий розмір ампліконів (222-248), а для пуринової дещо менший –174-202 п.н. що, вочевидь, є характерною особливістю мікросателітів з тетрануклеотидною структурою корового мотиву, які у представників даного виду є найінформативнішими з точки зору FAO, ISAG та АКС.

5. З досліджених 26 мікросателітних локусів ДНК з динуклеотидною структурою найвищий рівень інформативності було зафіксовано за локусами з основними коровими мотивами (AC) та (TG). У представників *Ungulata* більшою молекулярною масою (Bos taurus та Equus caballus.) (201-225пн. та 144-164пн., відповідно) характеризувались (AC) послідовності що, на нашу думку, є специфічною особливістю даних видів. У представників *Aves (Gallus gallus)* найбільш інформативними були локуси з мотивом (AC) (вагою у 141-283пн.). Лише для кросу Хайлайн білий встановлено високу інформативність і (TG) (GT) структур.

6. Серед 5 досліджених тетрануклеотидних послідовностей які досліджувались у представників *Canis familliaris* найвиший рівень інформативності демонстрували локуси з послідовностями (GAAA) та (CTTT), причому піримідинові послідовності мали більший розмір ампліконів (222-248 пн.) ніж пуринові (174-202 пн.). Виявлені відмінності вочевидь, є характерними особливостями мікросателітів з теранклеотидною структурою корового мотиву.

Матеріали досліджень розділу викладено у наукових публікаціях [697].

ВИСНОВКИ

1. Теоретично обґрунтовано та експериментально доведено доцільність застосування запропонованої комплексної системи використання поліморфізму мікросателітних локусів ДНК в системі оцінювання генетичних ресурсів популяцій різних видів свійських тварин.

2. Вдосконалено та оптимізовано методику мультиплексного генотипування різних видів свійських тварин за високополіморфними мікросателітними локусами ДНК, яка дає змогу прискорити та зменшити витрати на здійснення генотипування тварин.

3. Виявлено, що з досліджених 26 мікросателітних локусів ДНК з динуклеотидною структурою найвищий рівень інформативності для всіх досліджених видів було зафіксовано за локусами з коровими мотивами (AC)n та (TG)n. У представників *Ungulata* (*Bos taurus* та *Equus caballus*) найінформативнішими були (AC)n та (TG)n локуси. Найбільшою молекулярною масою (201-225пн. та 144-164 пн., відповідно) характеризувались (AC)n послідовності, що вказує на специфічні особливості даних видів. У представників *Aves (Gallus gallus)* найбільш інформативними були локуси з мотивом (AC)n (вагою у 141-283 пн.). Лише для кросу Хай-Лайн білий встановлено високу інформативність і (TG)n (GT)n структур. Серед 5 досліджених тетрануклеотидних послідовностей які досліджувались у представників *Canis familliaris* найвищий рівень інформативності виявлено за локусами з послідовностями (GAAA)n та (CTTT)n, причому піримідинові послідовності мали більший розмір ампліконів (222-248 пн.) ніж пуринові (174-202 пн.). Виявлені відмінності вочевидь, є характерними особливостями мікросателітів з тетрануклеотидною структурою корового мотиву.

4. Встановлено рівень алельного поліморфізму для великої рогатої худоби (Lim_{Na}) – 6-8 алелів на локус, коней – 11-16, собак – 5-13, курки – 3-17 алелів. Визначено межі генотипового поліморфізму (Lim_{Ng}) для великої рогатої худоби 11-32, коней – 8, собак – 7-24 і курки – 4-32 генотипи.

5. Створено «генетичні профілі досліджених порід. З’ясовано структуру алелофондів порід 4-х видів свійських тварин за мікросателітними локусами ДНК та встановлено породоспецифічні особливості генетичної структури порід за частотами мікросателітних локусів ДНК.

6. Визначено, що кількість встановлених породоспецифічних алелів ($p<0,001$) в

досліджених таксонах коливалась від 3 у собак до 46 у коней. Найбільшу кількість породоспецифічних генотипів виявлено у коней породи українська верхова (27,91), а найменшу – у собак породи російський той-тер'єр (1,4) та курей кросів Ломанн білий (1,0) та Хай-Лайн W-98 (1,0).

7. Зафіксовано звуження рівня поліморфізму, як за кількістю виявлених алелів так і за розмахом алельних спектрів, спостерігалось у чистокровної верхової породи коней ($p<0,001$) та собак породи німецький дог ($p<0,05$), що може бути наслідком порівняно невеликого розміру світових популяцій даних порід та тривалої спрямованої селекції.

8. Встановлено, що українська червоно-ряба молочна й українська чорно-ряба молочна породи великої рогатої худоби та українська верхова порода коней мали найвищі значення фактичної, очікуваної та індивідуальної гетерозиготностей, індексу поліморфізму досліджених локусів. Найменший рівень поліморфності виявлено у найдавніших порід – сірої української породи великої рогатої худоби, чистокровної верхової породи коней та собак породи німецький дог.

9. Виявлено значний рівень консолідованості та збалансованості досліджених порід тварин, що підтверджується результатами розрахунків рівноваги за Гарді-Вайнбергом (MCMC). Відхилення від стану генетичної рівноваги було зафіксовано у тварин різних видів та порід: українська червоно-ряба молочна – за локусами BM1824, TGLA122 ($p<0,001$), TGLA126 ($p<0,001$) та ETH225 ($p<0,05$); українська чорно-ряба молочна – за ETH225 та BM2113 ($p<0,05$); сіра українська – за всіма дослідними локусами крім ETH225; гуцульська порода коней – за AHT04, HTG07 ($p<0,01$), HTG06 та HMS07 ($p<0,001$); чистокровна верхова – за 7 локусами крім HTG06, HTG07, VHL20 та HMS07; українська верхова – за локусами VHL20 та HMS07; німецька вівчарка – за PEZ08 ($p<0,001$) та FHC2010 ($p<0,01$); німецький дог та російський той-тер'єр – за 4 мікросателітними локусами (крім PEZ08). Визначено дефіцит гетерозигот середньому по видам і по породам (для великої рогатої худоби Fis=0,033, Fit=0,092; для коней Fis=0,062, Fit=0,108; для собак Fis=0,100, Fit=0,142).

10. Встановлено, що тварини різних порід всередині таксонів характеризувались достовірним рівнем генетичної диференціації (Fst) (велика рогата худоба – 0,122, коні – 0,049, собаки – 0,047), а відносно низькі значення диференціації (Фst) (AMOVA) (велика рогата худоба – 0,058, коні – 0,089, собаки – 0,082) демонструють високий рівень значущості ($p\leq0,001$), за високого рівня достовірності одержаних даних, свідченням чого є достовірність різниці між частотами виявлених алельних ($p<0,001$) та генотипових

($p<0,001$) варіантів.

11. Випадки зчепленого успадкування різних мікросателітних локусів відмічено у сірої української породи великої рогатої худоби (HWD=0,328; N_{LD}=39; $p<0,001$) та собак породи німецька вівчарка (HWD=0,2405; N_{LD}=1; $p<0,05$).

12. Визначено високу точність прогнозу щодо віднесення певної тварини до однієї з порід (assignment-тест) від 41% (німецька вівчарка) до 93,6% (гуцульські коні) та 92,2% (чистокровні верхові коні) та виду від 58,2% (собаки) до 84% (велика рогата худоба) та 88% (коні).

13. Встановлено, що за ефективною чисельністю популяцій в сприятливому стані перебувають тільки тварини української червоно-рябої молочної породи великої рогатої худоби (554,6), у загрозливому стані знаходились популяція української чорно-рябої молочної породи великої рогатої худоби (5397,1), української верхової (103,9) та чистокровної верхової (96,2) порід коней, собак порід німецька вівчарка та російський той-тер'єр (88,2 та 124,0, відповідно), на межі зникнення – гуцульська порода коней (55,1), а за цією межею сіра українська порода великої рогатої худоби (25,1) та собаки породи німецький дог (28,9).

14. Для популяції тварин української червоно-рябої молочної й української чорно-рябої молочної порід великої рогатої худоби, української верхової породи коней та собак породи німецька вівчарка встановлено підвищений рівень генетичного поліморфізму (середня кількість виявлених генотипів (24,0 й 22,9, 43,8 та 18,4, відповідно), рідкісних генотипів (Ng_1=13,8 й 13,1; 21,3 та 8,6; Ng_2=5,0 й 5,3; 9,0 та 4,8, відповідно), кількість породоспецифічних генотипів (Ng_{unik}=9 й 8,1; 27,9 та 5,8), кількість ефективних алелів (6,757 й 6,023; 7,627 та 6,451), індекс Шеннона, (2,021 й 1,924; 2,250 та 1,958). Українська червоно-ряба молочна й українська чорно-ряба молочна породи великої рогатої худоби та українська верхова порода коней мали найвищі значення фактичної (0,784 й 0,821 та 0,812), очікуваної (0,844 й 0,819 та 0,865) й індивідуальної (0,784 й 0,821 та 0,784) гетерозиготності, індексу поліморфізму досліджених локусів (0,826; 0,807 та 0,842).

15. Для сірої української породи виявлено найбільшу кількість локусів за якими зафіксовано найбільшу кількість виявлених алелів (4), за якими зафіксовано найбільшу кількість породоспецифічних алелів (6), а також, власне породоспецифічних алелів (Na_{unic}=11 (0,022), що вказує на прояв ефекту «пляшкового горлечка», оскільки нульову гіпотезу можна відкинути за рівнем значущості $p=0,014$ (тест знаків). Вірогідно це пов'язано з високим ступенем інбредності даної популяції (невипадковість об'єднання

гамет (HWD=0,328, N_{LD} для СУ (39 випадків з 45), а сама порода перебуває на межі зникнення, адже ефективна чисельність (Ne) її становить 25,1 голів, з довірчим 95% інтервалом 15,7-44,2 особин.

16. З'ясовано, що для гуцульської породи коней був характерним більший розмір алелів, середній рівень поліморфізму (Na=10; Ng=26; Ng_1=11,64; Na_1=7; Ng_2=5,09; Na_{unik}=3; Ng_{unik}=70; Ae=5,253; Ho=0,775; He=0,802; Hi=0,673; I=1,869; PIC=0,779) та широкий розмахом спектрів генотипової мінливості (Lim_{Ng}), за 6 мікросателітними локусами ДНК з 11 досліджених.

17. Визначено, що для собак породи німецький дог характерними були найбільші значення фактичної (Ho=0,754), очікуваної (He=0,833), індивідуальної (Hi=0,820) гетерозиготностей та індексу поліморфізму (PIC=0,812), найменша кількість виявлених (Ng=10,4) та рідкісних (Ng_1=5, Ng_2=3) генотипів.

18. Зафіксовано, що тварини породи російський той-тер'єр характеризувались досить широкими спектрами алельної та генотипової мінливості, високою консолідованістю за певними алелями, найбільшою кількістю породоспецифічних алелів (Na_{unic}=2 (0,025), найменшою середньою кількістю виявлених (Na=8,2) та ефективних (Ae=5,46) алельних варіантів та найнижчими значеннями фактичної (Ho=0,690), очікуваної (He=0,788), індивідуальної (Hi=0,690) гетерозиготностей, індексів Шеннона (I=1,804) та поліморфізму (PIC=0,766).

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. В рамках проведення постійного генетичного моніторингу відповідно до міжнародної програми «Глобального плану дій щодо збереження, підтримання та розвитку генетичних ресурсів тварин» під егідою FAO та «Конвенції про охорону біологічного різноманіття» з метою оцінювання та прогнозування мікроеволюційних процесів у популяціях свійських тварин доцільно проведення аналізу поліморфізму за мікросателітними локусами ДНК на різних рівнях організації геному та застосування запропонованих комплексних математичних методів для моделювання генетичних процесів у популяціях.

2. У практичній роботі лабораторій з генетики та молекулярної діагностики для підвищення ефективності генотипування за мікросателітними локусами рекомендовано використання мультиплексних реакцій, що дозволяє суттєво зменшити час та собівартість досліджень.

3. Для прогнозування і моделювання генетичних процесів в популяціях тварин використовувати покрокову мутаційну модель (SMM).

4. Для підтвердження належності тварин до тієї чи іншої породи, мікропопуляції використовувати assignment-тест на основі створеної бази даних генетичних профілів порід тварин.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Yamasaki F., Borrayo E., Castro-Cortes M. E., Martínez-Peña M. D., Takeya M. Development of a National Center of Genetic Resources Passport Database: Managing Agriculture, Forestry, Livestock, Microbial, and Aquatic Genetic Resources with an Integrated Schema. *Japan Agricultural Research Quarterly*. 2016. Vol. 50 (4). P. 387–393.

2. Blackburn H. D. Genebank development for the conservation of livestock genetic resources in the United States of America. *Livestock Science*. 2009. Vol. 120 (3). P. 196–203.

3. Telenius A. Biodiversity information goes public: GBIF at your service. *Nordic Journal of Botan*. 2011. Vol. 29. P. 378–381.

4. Oppermann M., Weise S., Dittmann C., Knüpffer H. GBIS: the information system of the German Genebank. *Database.* 2015. Vol. 2015. doi: 10.1093/database/bav021.

5. Про засідання Президії Національної академії аграрних наук України з питання «Про наукове забезпечення вдосконалення та збереження генетичних ресурсів сільськогосподарських тварин» / Національна академія аграрних наук України URL: http://www.uaan.gov.ua. (дата звернення 2012.24.10)

6. Мельник Ю. Ф., Буркат В. П., Гузев И. В. Селекционный процесс и состояние генетических ресурсов животноводства в Украине. Киев : Аграр. наука, 2002. 68 с.

7. Гуменний В. Д., Костенко О. І., Тимченко Л. О. Організаційні та генетико-популяційні аспекти збереження автохтонних локальних порід в Україні. *Вісник аграрної науки*. 2015. № 6. С. 37–42.

8. Khanshour A., Juras R., Blackburn R., Cothran E. G. The legend of the Canadian horse: genetic diversity and breed origin. *Journal of Heredity*. 2015.Vol. 106 (1). P. 37–44. doi: 10.1093/jhered/esu074.

9. Winton C. L., Hegarty M. J., McMahon R., Slavov G. T., McEwan N. R., Davies-Morel M. C. G., Morgan Ch. M., Powell W. P., Nash D. M. Genetic diversity and phylogenetic analysis of native mountain ponies of Britain and Ireland reveals a novel rare population. *Ecology and Evolution.* 2013. Vol. 3 (4).P. 934–947. doi: 10.1002/ece3.507.

10. Gupta A., Supriya B. A., Sharma P., Pal Y., Kumar M., Kumar S. Mitochondrial DNA- a tool for phylogenetic and biodiversity search in equines. *Journal of Biodiversity and Endangered Species*. 2015. S1:006. doi: 10.4172/2332-2543.S1-006.

11. Волкова В. В. Изучение алеллофонда пород Gallus Gallus с использованием микросателлитов : дис. ... канд. биол. наук : 03.02.07, 06.02.07. Дубровицы, Московской обл, 2012. 118 с.

12. Ниятшин Ф. И. Популяционно-генетическая характеристика лошадей башкирской породы : дис. ... канд. с.-х. наук : 03.00.15. Уфа, 2018. 140с.

13. Bates H. W.The naturalist on the River Amazons, a record of adventures, habits of animals, sketches of Brazilian and Indian life and aspects of nature under the Equator during eleven years of travel. First edition. London: J. Murray,1863.

14. The Global 2000 Report to the President: Entering the Twenty-First Century. Vol. 1. Technical report / Gerald O. Barney, Study Director. Washington Government Printing Office, 1980. 48 pp.

15. NRC (National Research Council). Ecological Knowledge and Environmental Problem-Solving: Concepts and Case Studies. Washington, DC. National Academi Press. 1986. 388 pp.

16. Кушнірук Ю. С., Яковишина М. С. Конспект лекцій з курсу "Екологія біорізноманіття" для студентів за напрямком підготовки 6.040106. "Екологія, охорона навколишнього середовища та збалансоване природокористування" спеціалізації «Водогосподарська екологія та природокористування» денної та заочної форм навчання. Рівне : НУВГП, 2010. 36 с.

17. Коваленко І. М. Еколого-біологічні властивості трав’яно-чагарничкового покриву лісових екосистем Північного сходу України : дис. … д-ра. біол. наук : 03.00.16. Суми, 2016. 500 с.

18. Древаль О М., Янчик О. Г. Основи екології : навч.-метод. посіб. Харків : НТУ «ХПІ», 2017. 146 с.

19. Palmer R., Nursey-Bray M. "Rio Declaration on Environment and Development". *Encyclopedia of Environment and Society*. Robbins, Paul (ed.). 4. Thousand Oaks: Sage Publications, 2007. P. 1512–1514.

20. Навіщо нам біорізноманіття та як його зберегти. UNDP :вебсайт. URL: https://www.ua.undp.org/content/ukraine/uk/home/ourperspective//ourperspectivearticles /2017/12/28/why-do-we-need-biodiversity-.html *(дата звернення: 02.09.2019)*.

21. Концепція Загальнодержавної програми збереження біорізноманіття на 2005-2025 роки : схвалено розпорядженням Кабінету Міністрів України від 22 вересня 2004 р. N 675-р. Режим доступу: http://zakon3.rada.gov.ua/laws/show/675-2004.

22. Конвенція про біологічне різноманіття. П'ятий національний звіт України / Міністерство екології та природних ресурсів України. Київ, 2015. Режим доступу: https://www.cbd.int/doc/world/ua/ua-nr-05-uk.pdf.

23. Шостий національний звіт про виконання Україною Конвенції ООН про охорону біологічного різноманіття. Київ, 2018. Режим доступу: https://mepr.gov.ua/files/images/news_2019/31102019/CBD_all_UKR-fin.pdf.

24. Заповідна справа та збереження біорізноманіття: навч. посібник / В. Д.Солодкий та ін. Харків : НТУ «ХПІ» ; Чернівці : Зелена Буковина, 2010. 320 с.

25. Основи стійкого розвитку: навч. посібник / за заг. ред. Л. Г. Мельника. Суми: Університетська книга, 2005. 654 с.

26. Живая природа и биоразнообразие: информационно библиографический материал / сост. Н. В. Кусова ; Орловская обл. публ. б-ка им. И. А. Бунина. Орел, 2010. 20 с.

27. Тишков А. А. Теория и практика сохранения биоразнообразия (к методологии охраны живой природы в России). *Использование и охрана природных ресурсов в России*. 2006. № 1 (85). С. 78–96.

28. Оценка экосистем на пороге тысячелетия, 2005 г., Экосистемы и благосостояние человека: биоразнообразие. Институт мировых ресурсов, Вашингтон, округ Колумбия = Millennium Ecosystem Assessment, 2005. Ecosystems and Human Well-being: Desertification Synthesis. World Resources Institute. Washington, DC.

29. Putnová L., Štohl R., Vrtková I. Genetic monitoring of horse sin the Czech Republic: Alarge-scale study with a focus on the Czech autochthonous breeds. *J. Anim. Breed. Genet*. 2018. Vol. 135. P. 73–83. doi: 10.1111/jbg.12313.

30. Mackowski M., Mucha S., Cholewinski G., Cieslak J. Genetic diversity in Hucul and Polish primitive horse breeds. *Archives Animal Breeding*. 2015. Vol. 58. P. 23–31. doi: 10.5194/aab-58-23-2015.

31. Vostrá Vydrová H., Vostrý L., Hofmanová B., Veselá Z., Schmidová J., MajzlíkI. Population studies of Czech Hucul horses. *Poljo Privreda* 2015. Vol. 21 (1). P. 41–43.

32. Moravčíková N., KasardaR., Kukučková V., Vostrý L., KadlečíkO. Genetic diversity of old kladruber and nonius horse populations through microsatellite variation analysis. 24thInt. Symp. “Animal Science Days”, Ptuj, Slovenia, Sept. 21st−23rd, 2016. *Acta argiculturae Slovenica*. Ljubljana, 2016. Vol. 5. P. 45-49.

33. Vázquez-Armijo J. F., Parra-Bracamonte G. M., Velazquez M. A., Sifuentes-Rincón A. M., Tinoco-Jaramillo J. S., Ambriz-Morales P., Arellano-Vera W., Moreno Medina V.R. Diversity and effective population size of four horse breeds from microsatellite DNA markers in South-Central Mexico. *Archives Animal Breeding.* 2017. Vol. 60 (2). P. 137-143.

34. Глобальный план действий в области генетических ресурсов животных и Интерлакинская декларация о генетических ресурсах животных. Комиссия по генетическим ресурсам в сфере продовольствия и сельского хозяйства / Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций (ФАО). Рим, 2008.

35. Дубін О. В. Генетична диференціація геномів за маркерами ISSR-PCR та RAPD-PCR : дис. ... канд. с.-г. наук : 03.00.15 с. Чубинське, Київ. обл., 2009. 157 с.

36. Сулимова Г.Е. Мониторинг генетической структуры популяций крупного рогатого скота / Российский фонд фундаментальных исследований. URL : https://www.rfbr.ru/rffi/ru/project_search/o_232261

37. Крамаренко О. С. Особливості генетичної структури таврійського внутрішньопородного типу південної м'ясної породи великої рогатої худоби за ДНК-маркерами : дис. ... канд. с.–г. наук : 03.00.15. с. Чубинське, Київ. обл, 2015. 127 с.

38. Putnová L., Štohl R., Vrtková I. Using nuclear microsatellite data to trace the gene flow and population structure in Czech horses. *Czech Journal of Animal Science.* 2019. Vol. 64 (2). P. 67–77. doi: 10.17221/2/2018-CJAS.

39. Vostry L., Vostra-Vydrova H., Hofmanova B., Moravcikova N., Vesela Z., Majzlik I. Genetic diversity in five Czech native horse breeds assessed using microsatellite markers. *Acta fytotechn zootechn*. 2018. Vol. 21 (4). P. 190–193.

40. Delgado J. F., de Andres N., Valera M., Gutierrez J. P., Cervantes I. Assessment of population structure depending on breeding objectives in Spanish Arabian horse by genealogical and molecular information. *Livestock Science*. 2014. Vol. 168. P. 9-16. doi: 10.1016/j.livsci.2014.07.012.

41. Метод оценки генетического разнообразия и степени генотипического сходства лошадей заводских и местных пород /сост. : Л. А. Храброва и др. / Рос. акад. с.-х. наук, Всерос. науч.-исслед. ин-т коневодства. Дивово [Ряз. обл.] : [ВНИИК], 2011. 24 с.

42. Kasarda R., Kadlečík O. An economic impact of inbreeding in the purebred population of Pinzgau cattle in Slovakia on milk production traits. *Czech Journal of Animal Science*. 2007. Vol. 52. P. 7-11.

43. Winton C. L., Plante Y., Hind P., McMahon R., Hegarty M. J., McEwan N. R., Davies-Morel M. C. G., Morgan Ch. M., Powell W., Nash D. M. Comparative genetic diversity in a sample of pony breeds from the U.K. and North America: a case study in the conservation of global genetic resources. *Ecology and Evolution*. 2015. Vol. 5 (16). P. 3507–3522. doi:10.1002/ece3.1562.

44. Подоба Б. Є., Копилов К. В., Ковтун С. І., Копилова К. В., Подоба Ю. В., Добрянська М. Л. Молекулярно-генетичні та біотехнологічні дослідження в галузі тваринництва. Київ : Аграр. наука, 2013. 248 с.

45. Венжик С. Сохранение генетических фондов. *Актуальные вопросы прикладной генетики в животноводстве*. Москва : Колос, 1982. С. 59-70.

46. Дубинин Н. П., Ромашов Д. Д. Генетическое строение вида и его эволюция. I. Генетико-автоматические процессы и проблема экогенотипов. *Биол. журнал*. 1932. Т. 1, вып. 5/6. С. 52–95.

47. ФАО. Учебный пакет. Поддержка развития доклада страны при подготовке первого доклада по состоянию мировых генетических ресурсов животных. 2001. 218 с.

48. Столповская О. В., Столповский Ю. А., Годованец Л. В., Чуй Р. Ф. Сравнительное исследование белкового полиморфизма серой украинской породы. *Цитология и генетика*. 1992. Т. 26, № 5. С. 11-18.

49. Уханов С. В., Столповский Ю. А., Банникова Л. В., Зубарева Л. А., Иванова З. И., Вердиев З. К. Генетические ресурсы крупного рогатого скота: редкие и исчезающие отечественные породы. Москва : Наука, 1993. 170 с.

50. Andersson L., Georges M. Domestic – animal genomics: deciphering the genetics of complex traits. *Genetics*. 2004. Vol. 5. P. 202-212.

51. Копилов К. В. Генетична компонента агроекосистем на прикладі різних порід великої рогатої худоби : дис. ... канд. с.-г. наук : 03.00.15. Київ, 2005. 132 с.

52. Глазко В. И. Агроэкологический аспект биосферы: проблемы генетического разнообразия. Киев : Нора-принт, 1998. С. 209.

53. Завертяев Б. П., Паронян И. А. Генетические ресурсы пород сельскохозяйственных животных. Москва : ВИНИТИ, 1984. Т. 3. С.70-101.

54. Давлетова Л. В. Экономические и доместикационные особенности в эволюции органов пищеварения у жвачных. *Сельскохозяйственная биология*. 1983. № 14. С. 101-105.

55. Генетическое разнообразие – наше сокровенное богатство, и мы должны дорожить каждой его частицей. Боритесь с голодом. Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН (FAO); Биологическое разнообразие для продовольственной безопасности и питания: 30 лет Комиссии. Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН (FAO) (15 апреля 2013).

56. World Watch List for Domestic Animal Diversity / Ed. by B. D. Scherf. 3nd edn. Rome. Italy. Information Division. FAO. UNEP. 2000.

57. Weigend S., Romanov M. N. The World Watch List for Domestic Animal Diversity in the context of conservation and utilization of poultry biodiversity. *World's Poultry Science Journal*. 2002. Vol. 58 (4). P.411-430. doi:10.1079/WPS20020031.

58. Romanov M. N. Farm animal genetic resources. The global databank for farm animal genetic resources. Breeds currently in the global databank. Ukraine. Chicken. Domestic duck. Domestic goose. Turkey. *World Watch List for Domestic Animal Diversity*. Ed. by B. D. Scherf. 2nd edn. Rome. Italy. Information Division. FAO. UNEP. 1995. P. 550-551

59. Romanov M. N. Farm animal genetic resources. Global regions – breeds at risk. Europe. Ukraine (Chicken. Domestic duck. Domestic goose. Turkey). *World Watch List for Domestic Animal Diversity*. Ed. by B. D. Scherf. 3rd edn. Rome. Italy. Information Division. FAO. UNEP. 2000. P.429-440.

60. Weigend S., Romanov M. N. Current strategies for the assessment and evaluation of genetic diversity in chicken resources. *World's Poultry Science Journal.* 2001. Vol. 57 (3). P.275-288. doi:10.1079/WPS20010020

61. Soller M., Weigend S., Romanov M. N., Dekkers J. C. M., Lamont S. J. Strategies to assess structural variation in the chicken genome and its associations with biodiversity and biological performance. *Poultry Science*. 2006. Vol. 85 (12). P. 2061-2078. doi:10.1093/ps/85.12.2061.

62. Romanov M. N., Weigend S. "Genetic diversity in chicken populations based on microsatellite markers" / From Jay Lush to Genomics: Visions for Animal Breeding and Genetics : conference, Ames, May 16–18, 1999. Proceedings: 174, Ames, IA, USA : Iowa State University. Abstract 34.

63. Romanov M. N., Weigend S. Analysis of genetic relationships between various populations of domestic and jungle fowl using microsatellite markers. *Poultry Science: Journ.* Champaign, IL, USA; Oxford, UK: Poultry Science Association Inc; Oxford University Press, 2001. Vol. 80 (8). P. 1057-1063. doi: 10.1093/ps/80.8.1057

64. Рябчун В. К., Богуславський Р. Л., Герасимов М. В., Задорожна О. А., Дрепін І. М., Павленко О. В., Шиянова Т. П. Зберігання генофонду рослин у Національному центрі генетичних ресурсів рослин України. *Вісник аграрної науки*. 2003. № 8. С. 25-31.

65. Мазур О. А. Сохранение генофонда сельскохозяйственных животных в системе продовольственной безопасности Украины. *Вісник Черкаського університету*. 2013. Вип. 9 (262). С. 131-135.

66. Броварський В. Д. Концепція створення племінних баз збереження чистопородного матеріалу порід бджіл, районованих в Україні. *Проблеми збереження генофонду тварин* : матеріали творчої дискусії (14 лют. 2007 р.) / ІРГТ, Т-во генетиків і селекціонерів ім. М. І. Вавилова. Київ : Аграр. наука, 2007. С. 32-34.

67. Катеринич О. О. Методологічні проблеми збереження генетичних ресурсів сільськогосподарської птиці. *Проблеми збереження генофонду тварин* : матеріали творч. дискусії (14 лют. 2007 р.) / ІРГТ, Т-во генетиків і селекціонерів ім. М. І. Вавилова. Київ : Аграр. наука, 2007. С. 40-43.

68. Войтенко С. Л., Петренко М. О., Вишневський Л. В. Правове регулювання селекційно-племінної роботи галузі тваринництва України : збірник нормативно-правових актів. Полтава : ФОП Гаража М.Ф, 2016. 196 с.

69. Войтенко С. Л., Копилов К. В., Копилова К. В. Генетика. Полтава : Редакційно-видавничий відділ ПДАА, 2014. 227 с.

70. Войтенко С. Л., Васильєва О. О., Вишневський Л. В., Шаферівський Б. С. Генетика з основами розведення та відтворення сільськогосподарських тварин : навч.-метод. посіб. Полтава: ПП Астрая, 2018. 213 с.

71. Четвериков С. С. О некоторых моментах эволюционного процесса с точки зрения современной генетики. *Журнал экспериментальной биологии*. 1926. Т. 2 (1). С. 3–54.

72. Fisher R. F. The genetic theory of natural selection. *Oxford Clar. Press* 1930. 2 nd ed. N. Y. Dover. 1958. 368 p.

73. Wright S. Evolution in Mendelian populations. *Genetiks*. 1931. № 16. P. 97-159.

74. Колмогоров А. Уклонение от формул Харди при частичной изоляции. *ДПАН*. 1935. Т. 3 (8), № 3 (63). С. 129-132.

75. Holdane J. B. S. The effect of variations of fitness. *Amer. Nat*. 1937. Vol. 71. P. 337-339.

76. Серебровский А. С. Селекция животных и растений. Москва : Колос, 1969. С. 31-119.

77. Зубец М. В., Кругляк А. П, Буркат В. П. Концепции сохранения генофонда пород крупного рогатого скота. *Новое в породообразовательном процессе.* Киев, 1993. С. 39-40.

78. Буркат В. П., Подоба Б. Є., Гузєв І. В. Генофонд тварин. *Енциклопедія сучасної України*. 2006. Т. 5. С. 467-470.

79. Фогель Ф., Мотульский А. Генетика человека. Т. 1 Москва : Мир, 1989. 306 с.

80. Тимофеев-Ресовский Н. В., Свирежев Ю. М. О генетическом полиморфизме в популяциях. *Генетика*. 1967. № 10. С. 152-166.

81. Генетический паспорт – основа индивидуальной и предиктивной медицины / под ред. В. С. Баранова. СПб. : Изд-во Н-Л, 2009. 528 с.

82. Арефьев В. А., Лисовенко Л. А. Англо-русский толковый словарь генетических терминов. Москва : Изд-во ВНИРО, 1995. 407 с.

83. Paulauskas A., Jankevičius K., Liužinas R., Raškauskas V., Zajančkauskas P. Ekologijos terminų aiškinamasis žodynas : lietuvių, anglų, vokiečių, rusų kalbomis. Vilnius : Gruntovalymo technologijos, 2008. 503 p.

84. Уркумбаева С. К., Петрякова Ю. А., Желнова Т. В. Генетический полиморфизм. Наука, образование, общество: тенденции и перспективы развития : материалы II Междунар. науч.-практ. конф. (Чебоксары, 7 февр. 2016 г.). Чебоксары : ЦНС «Интерактив плюс», 2016. С. 18-20.

85. Полиморфизм генов (генетический полиморфизм) / База знаний по биологии человека URL :http://humbio.ru/humbio/canc-horm/00054606.htm

86. Перечень маркеров генного полиморфизма, отвечающих за особенности мутагенной активности техногенных химических факторов: Методические рекомендации. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2013. – 24 с.

87. Wang Z., Moult J. SNP’s, protein structure and disease. *Hum. Mutat*. 2001. Vol. 17. P. 263-270

88. Гинтер Е. К. Медико-генетическое описание населения Адыгеи. Майкоп, 1997. 223 с.

89. Лимборская С. А., Хуснутдинова Э. К., Балановская Е. В. Этногеномика и геногеография народов Восточной Европы. Москва : Наука, 2002. 281 с.

90. Хуснутдинова Э. К. Молекулярная этногенетика народов волго-уральского региона. Уфа, 1999. 237 с.

91. Barber J. C. K. Chromosomal copy number variation. E. C. A. *News letter*. 2008. Vol. 22. P. 6-14.

92. Rich J., Ogryzko V. V., Pirozhkova I. V. Satellite DNA and related diseases. *Biopolymers and Cell*. 2014. Vol. 30 (4). P. 249-259.

93. Баранов В. С., Баранова Е. В., Иващенко Т. Э., Асеев М. В. Геном человека и гены «предрасположенности»: введение в предиктивную медицину. СПб. : Интермедика, 2000. 263 с.

94. Горбунова В. Н., Баранов В. С. Введение в молекулярную диагностику и генотерапию наследственных заболеваний. СПб. : Специальная литература, 1997. 284 с.

95. Пузырев В. П. Геномная медицина настоящее и будущее. *Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике*. Новосибирск : Альфа Виста, 2003. Вып. 3. С. 3-26.

96. Пузырев В. П., Степанов В. А. Патологическая анатомия генома человека. Новосибирск : Наука, 1997. 223 с.

97. Connor S. T. Genetic breakthrough hat reveals the differences between humans. *Independent*. 2006. https://www.independent.co.uk/news/science/genetic-breakthrough-that-reveals-the-differences-between-humans-425432.html.

98. Kealhofer L. Changing perceptions frisk; the development to fagro-ecosystems in Southeast Asia. *Am. Anthropol*. 2002. Vol. 104. P.178-194.

99. Кузьмина Л. П. Биохимические и генетические показатели индивидуальной чувствительности к профессиональным вредностям. *Профессиональный риск для здоровья работников (руководство)* / под ред. Н. Ф. Измерова, Э. Н. Денисова. Москва : Тровант, 2003. С. 329-334.

100. Pavanello S., Clonfero E. G. Ital Med Lav Ergon. 2004. Vol. 26 (4). P. 311-321.

101. Серебровский А. С. Генетический анализ. Москва : Наука, 1970. 342 с.

102. Хлесткина Е. К. Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и селекции. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2013. Т. 17 (4/2). С. 1044-1054.

103. Кухтіна К. В. Використання спадкового поліморфізму в системі генетичного моніторингу племінних ресурсів коней : дис. ... канд. с.-г. наук : 03.00.15. Чубинське, Київської обл, 2012. 20 с.

104. Mohan M., Nair S., Bhagwat A., Krishna T. G., Yano M., Bhatia C. R., Sasaki T. Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. *Mol. Breed*. 1997. Vol. 3. P. 87-103.

105.Починок В. М., Радченко О. М. Сучасний стан досліджень запасних білків пшениці. *Физиология и биохимия культурных растений*. 2011. Т. 43, № 3. С. 255-266.

106Антонюк М. З. Інтрогресія як індуктор мінливості геному пшениці. Triticum aestivum L. : дис. ... д-ра. біол. наук : 03.00.15. Київ, 2019. 439 с.

107. Світові рослинні ресурси: стан та перспективи розвитку : матеріали III Міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. 15- річ. створення Українського інституту експертизи сортів рослин (7 черв. 2017 р., м. Київ) / М·во аграр. політики та прод-ва України, Укр. ін· т експертизи сортів рослин. Вініця : Нілан·ЛТД, 2017. 230 с.

108. Мельничук М. Д., Кляченко О. Л. Біотехнологія в агросфері : навч. посіб. для студентів вищ. навч. закл.. Київ, 2014. 247 с.

109. Наконечна О. А., Бачинський Р. О. Біохімія ферментів. Аспекти медичної ензимології : навч.-метод. посібник для підготовки до практ. занять з біологічної хімії (для студентів медичних та стоматологічного факультетів). Харків, 2020. 48 с.

110. Алтухов Ю. П. Генетические процессы в популяциях. Москва : Наука, 1989. 328 с.

111. Hubby J. L., Lewontin R. C. A Molecular Approach to the Study of Genic Heterozygosity in Natural Populations. I. The Number of Alleles at Different Loci in Drosophila pseudoobscura. *Genetics*. 1966. Vol. 54. P. 546-595.

112. Harris H. Enzyme polymorphisms in man. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci*. 1966. Vol. 164 (995). P. 298-310.

113. Ganal M. W., Polley A., Graner E. M., Plieske J., Wieseke R., Luerssen H., Durstewitz G. Large SNP arrays for genotyping in crop plants. *J Biosci*. 2012. Vol. 37. P. 821-288.

114. Miedaner T., Korzun V. Marker-assisted selection for disease resistance in wheat and barley breeding. *Phytopathology*. 2012. Vol. 102. P. 560-566.

115. Paux E., Sourdille P., Mackay I., Feuillet C. Sequence-based marker development in wheat: advances and applications to breeding. *Biotechnol Adv*. 2001. Vol. 30. P. 1071-1088.

116. Hall D., Tegström C., Ingvarsson P. K. Using association mapping to dissect the genetic basis of complex traits in plants. *Brief Funct Genomics*. 2010. Vol. 9. P. 157-165.

117. Zimmer E. A., Wen J. Using nuclear gene data for plant phylogenetics: progress and prospects. *Mol Phylogenet Evol*. 2012. Vol. 65. P. 774-785.

118 Алтухов Ю. П., Салменкова Е. А. Полиморфизм ДНК в популяционной генетике. *Генетика*. 2002. Т. 38, № 9. С. 1173–1195.

119. Банникова А. А. Молекулярные маркеры и современная филогенетика млекопитающих. *Журнал общей биологии.* 2004. Т. 65, № 4. С. 278-305.

120. Матвеева Т. В., Павлова О. А., Богомаз Д. И. и др. Молекулярные маркеры для видоидентификации и филогенетики растений. *Экол. генетика.* 2011. № 9. С. 32–43.

121. Сулимова Г. Е. ДНК-маркеры в генетических исследованиях: типы маркеров, их свойства и области применения. *Успехи современной биологии*. 2004. № 124. С. 260–271.

122. Смарагдов М. Г. Тотальная геномная селекция с помощью SNP как возможный ускоритель традиционной селекции. *Генетика*. 2009. Т. 45, № 6. С. 725-728.

123. Хлесткина Е. К. Молекулярные методы анализа структурно-функциональной организации генов и геномов высших растений. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2011. №15, № 4. С. 757-768.

124. Kumar P., Gupta V. K., Misra A. K., Modi D. R., Pandey B. K. Potential of Molecular Markers in Plant Biotechnology. *Plant Omics Journal*. 2009. Vol. 2. P. 141-162.

125. Woodhead M., Russell J., Squirrell J., Hollingsworth P. M., Mackenzie K., Gibb M., Powell W. Comparative analysis of population genetic structure in Athyrium distentifolium (Pteridophyta) using AFLPs and SSRs from anonymous and transcribed gene regions. *Molecular Ecology*. 2005. Vol. 14. P. 1681-1695.

126. Panet A., Khorana H. G. Studies on Polynucleotides. *J. Biol. Chem*. 1974. Vol. 249(16). P. 5213-21.

127. Mullis K. B. Dancing Naked in the Mind Field. New York : Pantheon Books,1998. 222 p.

128. Mullis K., Faloona F., Scharf S., Saiki R., Horn G., Erlich H. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. Cold Spring Harb Symp Quant Biol. 1986. Vol. 51, (1). P. 263-273. doi: 10.1101/sqb.1986.051.01.032.

129. Kary B. Mullis. Facts / The Nobel prize : вебсайт. URL: https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1993/mullis/facts (дата звернення: 12.08.2019).

130 Eschbach S., Hofmann C., Maerz M., Maier U. G., Sitte, P. Molecular Cloning. A Laboratory Manual. 2. Auflage. Hrsg. von Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbour. *Biologie in unserer Zeit*. 1989. Vol. 20. P. 285-285. doi: 10.1002/biuz.19900200607

131. Sambrook J., Russel D. W. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Third Edition (3 volume set). Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, New York, 2001. 2222 p.

132. Van Guilder H. D., Vrana K. E., Freeman W. M. Twenty-five years of quantitative PCR for gene expression analysis. *Biotechniques.* 2008. Vol. 44 (5). P. 619–626. doi: 10.2144/000112776.

133. Калачнюк М. С., Калачнюк Л. Г., Мельничук Д. О., Мельничук С. Д., Калачнюк Г. Умови проведення полімеразної ланцюгової реакції у лабораторній практиці. *Біологія тварин*. 2012. № 14 (1-2). С. 660-667.

134. Lehman I. R., Bessman M. J., Simms E. S., Kornberg A. Enzymaticsyn thesis of deoxyribonucleic acid. I. Preparation of substrates and partial purification of an enzyme from Escherichia coli. *J. Biol. Chem.*1958. Vol. 233(1). P.163-170.

135. Chien A., Edgar D. B., Trela J. M. Deoxyribonucleic acid polymerase from the extreme thermophile Thermus aquaticus. *J Bacteriol*.1976. Vol. 127 (3). P. 1550–1557.

136. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. Москва : Мир, 2002. 585 с.

137. Молекулярная клиническая диагностика. Методы / за ред. С. Херрингтона, Дж. Макги. Москва : Мир, 1999. 205 с.

138. Buckingham L. Flaws M. Molecular diagnostics: fundamentals, methods and clinical applications. F.A. Davis Company, Philadelphia, 2007. 479 p.

139. Lodish H. Molecular cell biology. Seventh edition. New York: W. H. Freeman, 2012. 973 p.

140. Alberts B. Molecular Biology of the Cell. Sixth edition. Garland Science. 2014. 1464 p.

141. Roberts R. J., Belfort M., Bestor T., Bhagwat A. S., Bickle T. A., Bitinaite J., Blumenthal R. M., Degtyarev S. Kh., Dryden D. T., Dybvig K., Firman K., Gromova E. S., Gumport R. I., Halford S. E., Hattman S., Heitman J., Hornby D. P., Janulaitis A., Jeltsch A., Josephsen J., Kiss A., Klaenhammer T. R., Kobayashi I., Kong H., Krüger D. H., Lacks S., Marinus M. G., Miyahara M., Morgan R. D., Murray N. E., Nagaraja V., Piekarowicz A., Pingoud A., Raleigh E., Rao D.N., Reich N., Repin V. E., Selker E. U., Shaw P. C., Stein D. C., Stoddard B. L., Szybalski W., Trautner T. A., VanEtten J. L., Vitor J. M., Wilson G. G., Xu S. Y. A nomenclature for restriction enzymes, DNA methyltransferases, homing end onucleases and their genes. *Nucleic Acids Research*. 2003. Vol. 31 (7). P. 1805-1812.

142. Walker J. M., Rapley R. Molecular Biomethods Handbook. Second Edition. Humana Press, 2008. 1124 p.

143. Wang Q., Zhang X., Zhang H.,Zhang J., Chen G., Zhao D., Ma H., Liao W. Identification of 12 animal species meat by TRFLP on the 12S rRNA gene. *Meat Sci*. 2010. Vol. 85 (2). P. 265-269.

144. Rasmussen H. B. Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis of PCR-Amplified Fragments(PCR-RFLP) and Gel Electrophoresis – Valuable Tool for Genotyping and Genetic Fingerprinting. in *S Magdeldin (ed.),* Gel electrophoresis – principles and basics. *In Tech, Rijeka, Kroatien.* 2012. P. 315-334.

145. Saiki R., Scharf S., Faloona F., Mullis K., Horn G., Erlich H., Arnheim N. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science.* 1985. Vol. 230(4732). P. 1350-1354. doi:10.1126/science.2999980

146. Neale D. B., Williams C. G. Restriction fragment length polymorphism mapping in conifers and applications to forest genetics and tree improvement. *Canadian Journal of Forest Research*. 1991. Vol. 21. P. 545-554. doi: 10.1139/x91-076.

147. Nagamura Y., Antonio B. A., Sasaki T. Rice molecular genetic map using RFLPs and its applications. *Plant Mol. Biol*. 1997. Vol. 35. P. 79–87. doi: 10.1023/A:1005712010033.

148. Miller J. C., Tanksley S. D. RFLP analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus. *Lycopersicon*. *Theoret. Appl. Genetics.* 1990. Vol. 80. P. 437-448. doi: 10.1007/BF00226743.

149. Tanksley S., Young N., Paterson A., Bonierbale M. W. RFLP Mapping in Plant Breeding: New Tools for an Old Science. *Nat Biotechnol*. 1989. Vol. 7. P. 257-264. doi: 10.1038/nbt0389-257.

150. Kondo K., Nakamura K., Ishigaki T Sakata K., Obitsu S., Noguchi A., Fukuda N., Nagasawa E., Teshima R., Nishimaki-Mogami T. Molecular phylogenetic analysis of new *Entoloma rhodopolium*-related species in Japan and its identification method using PCR-RFLP. *Sci Rep*. 2017. Vol. 7. P. 149-142. doi: 10.1038/s41598-017-14466-x.

151. Sivaraman B., Jeyasekaran G., Shakila R.J., Alamelu V., Wilwet L., Aanand S., Sukumar D. PCR-RFLP for authentication of different species of processed snappers using mitochondrial D-loop region by single enzyme. *Food Control*. 2018. Vol. 90. P. 58-65. doi: 10.1016/j.foodcont.2018.02.028.

152. Anjali K. M., Mandal A., Gunalan B., Ruban L., Anandajothi E., Thineshsanthar D., Manojkumar T. G., Kandan S. Identification of six grouper species under the genus Epinephelus (Bloch, 1793) from Indian waters using PCR-RFLP of cytochrome c oxidase I (COI) gene fragment. *Food Control*. 2019. Vol. 101. P. 39-44. doi: 10.1016/j.foodcont.2019.02.024.

153. Moustafa G. G., Abd-Elhakim Y. M., El Sharkawy N. I. Genetic Profiling of Equid Hybrids Using PCR-RFLP and Partial Sequence Analysis of Cytochrome b Gene: Forensic Implication. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2017. Vol. 54. P. 37-41. doi:10.1016/j.jevs.2017.02.014.

154. Hall H. G. Parental analysis of introgressive hybridization between African and European honeybees using nuclear DNA RFLPs. Genetics. 1990. Vol. 125 (3). P. 611-621.

155. Martinsen G. D., Whitham T. G., Turek R. J., Keim P. Hybrid populations selectively filter gene introgression between species. *Evolution.* 2001. Vol. 55 (7). P. 1325-1335. doi:10.1111/j.0014-3820.2001.tb00655.x

156. Abe J., Hasegawa A., Fukushi, H., Mikami T., Ohara M., Shimamoto Y. Introgression between wild and cultivated soybeans of Japan revealed by RFLP analysis for chloroplast DNAs. *Econ Bot.* 1999. Vol. 53. P. 285-291. doi: 10.1007/BF02866640.

157. Nakamura Y., Leppert M., O'Connel P., Wolff R., Holm T., Culver M., Martin C., Fujimoto E., Hoff M., Kumlin E., White R. Variable number of tandem repeat (VNTR) markers for human gene mapping. *Science*. 1987. Vol. 235. P. 1616-1622.

158. Nakamura Y., Carlson M., Krapcho K., Kanamori M., White R. New approach for isolation of VNTR markers. *Am. J. Hum. Genet*. 1988. Vol. 48. P. 854-859.

159. Mittal N., Dubey A. K. Microsatellite markers – a new practice of DNA based markers in molecular genetics. *Phcog. Rev*. 2009. Vol. 3 (6). P. 235-246.

160. Zhou Z., Bebeli P. J., Somers D. J., Gustafson J. P. Direct amplification of minisatellite-region DNA with VNTR core sequences in the genus Oryza. *Theor Appl Genet.* 1997. Vol. 95. P. 942-949. https://doi.org/10.1007/s001220050645.

161. Mukamel R. E., Handsaker R. E., Sherman M. A., Barton A. R., Zheng Y., McCarroll S. A., Loh Po-Ru. Protein-coding repeat polymorphisms strongly shape diverse human phenotypes. *bio Rxiv*. doi:10.1101/2021.01.19.427332.

163. Lu Tsung-Yu. Profiling variable-number tandem repeat variation across populations using repeat-pangenome graphs. The Human Genome Structural Variation Consortium, Mark Chaisson. bio Rxiv. doi: 10.1101/2020.08.13.249839.

163. Yokoi T., Nata M., Odaira, T., Sagisaka K. Hypervariable polymorphic VNTR loci for parentage testing and individual identification. *Jap J Human Genet.* 1990. Vol. 35. P. 179-188. https://doi.org/10.1007/BF01876463.

164. Prodöhl P. A., Taggart J. B., Ferguson A. A panel of minisatellite (VNTR) DNA locus specific probes for potential application to problems in salmonid aquaculture. *Aquaculture*. 1995. Vol. 137 (1–4). P. 87-97. doi:10.1016/0044-8486(95)01092-0.

165. Кулібаба Р. О.Теоретичне обґрунтування та практична реалізація маркер-асоційованої селекції українських локальних порід курей : дис ... д-ра с.-г. наук : 03.00.15. Чубинське, Київської обл. 2019. 299 с.

166. Limborska S., Khrunin A.,Verbenko D. Minisatellite DNA Markers in Population Studies. *Studies in Population Genetics.* 2012. Vol. 4. P. 55-84.

167. Richard G.-F., Kerrest A., Dujon B. Comparative Genomics and Molecular Dynamics of DNA Repeats in Eukaryotes. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2008. Vol. 72 (4). P. 686-727. doi:10.1128/MMBR.00011-08.

168. Jeffreys A. J., Neil D. L., Neumann R. Repeat instability at human minisatellites arising from meiotic recombination. *EMBO J*. 1998. Vol. 17. P. 4147-4157.

169. Bishop A. J. R., Louis E. J., Borts R. H. Minisatellite Variants Generated in Yeast Meiosis Involve DNA Removal During Gene Conversion. *Genetics*. 2000.Vol. 156 (1). P. 7-20.

170. Buard J., Shone A. C., Jeffreys A. J. Meiotic Recombination and Flanking Marker Exchange at the Highly Unstable Human Minisatellite CEB1 (D2S90). *The American Journal of Human Genetics*. 2000. Vol. 67 (2). P. 33-44.

171. Гаева А. В., Булгакова Е. Г., Сухоносов И. Ю., Анисимова Л. В., Новичкова Л. А., Кутырев В. В. Идентификация и внутривидовое типирование штаммов чумного микроба с определением их потенциальной вирулентности методом ПЦР. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2011. № 2 (108) С. 36-41. doi: 10.21055/0370-1069-2011-2(108)-36-41.

172. Allix-Béguec C., Harmsen D., Weniger T., Supply Ph., Niemann S. Evaluation and Strategy for Use of MIRU-VNTR *plus*, a Multifunctional Database for Online Analysis of Genotyping Data and Phylogenetic Identification of *Mycobacterium tuberculosis* Complex Isolates. *J. Clin. Microbiol*. 2008. Vol. 46 (8). P. 2692-2699. doi: 10.1128/JCM.00540-08.

173. Capy P., Brookfield J. Estimation of relatedness in natural populations using highly polymorphic genetic markers. Genetics Selection Evolution. *Bio Med Central*. 1991. Vol. 23 (5-6). P. 391-406.

174. Bermisheva M. A., Petrova N. V., Zinchenko R., Timkovskaia E. E. Population study of the Udmurt population: analysis of ten polymorphic DNA loci of the nuclear genome. *Genetika*. 2007. Vol. 43 (5). P. 688-705

175. Whatmore A. M., Shankster S. J., Perrett L. L., Murphy T. J., Brew S. D., Thirlwall R. E., Cutler S.J., MacMillan A. P. Identification and Characterization of Variable-Number Tandem-Repeat Markers for Typing of *Brucella* spp. *Journal of clinical microbiology*. 2006. Vol. 44 (6). P. 1982–1993.

176. Klevytska A. M., Price L. B., Schupp J. M., Worsham P. L., Wong J., Keim P. Identification and Characterization of Variable-Number Tandem Repeats in the *Yersinia pestis* Genome. *Journal of clinical microbiology*. 2001. Vol. 39 (9) P. 3179-3185.

177. Kimura R., Mandrell R. E., Galland J. C., Hyatt D., Riley L.W. Restriction-Site-Specific PCR as a Rapid Test To Detect Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 Strains in Environmental Samples. *Applied and Environmental Microbiology.* 2000. Vol. 66 (6). P. 2513-2519. doi: 10.1128/AEM.66.6.2513-2519.2000.

178. Basaran P., Basaran N., Cakir I. Molecular Differentiation of *Lactococcus lactis* Subspecies *lactis* and *cremoris* Strains by Ribotyping and Site Specific-PCR. *Curr Microbiol*. 2001. Vol. 42. P. 45-48. doi: 10.1007/s002840010176.

179. Miagostovich M. P., dos Santos F. B., Gutiérrez C. M., Riley L. W., Harris E. Rapid Subtyping of Dengue Virus Serotypes 1 and 4 by Restriction Site-Specific PCR. *Journal of Clinical Microbiology.* 2000. Vol. 38 (3). P. 1286-1289. doi: 10.1128/JCM.38.3.1286-1289.2000.

180. Carlson S. A., Bolton L. F., Briggs C. E., Hurd H. S., Sharma V. K., Fedorka-Cray P. J., Jones B. D. Detection of multi resistant Salmonella typhimurium DT104 using multiplex and fluorogenic PCR. *Molecular and Cellular Probes.* 1999. Vol. 13 (3). P. 213-222. doi: 10.1006/mcpr.1999.0240.

181. Lee W.-M., Grindle K., Pappas T., Marshall D.J., Moser M.J., Beaty E. L., Shult P. A., Prudent J. R., Gern J. E. High-Throughput, Sensitive, and Accurate Multiplex PCR-Microsphere Flow Cytometry System for Large-Scale Comprehensive Detection of Respiratory Viruses. *Journal of Clinical Microbiology*. 2007. Vol. 45 (8). P. 2626-2634. doi: 10.1128/JCM.02501-06.

182. Schmitz F.-J., Mackenzie C. R., Hofmann B., Verhoef J., Finken-Eigen M., Heinz H.-P., Köhrer K. Specific information concerning taxonomy, pathogenicity and methicillin resistance of staphylococci obtained by a multiplex PCR. *J. Med. Microbiol.* 1997. Vol. 46 (9). P. 773-778.

183. Way J. S., Josephson K. L., Pillai S. D., Abbaszadegan M., Gerba C. P., Pepper I. L. Specific detection of Salmonella spp. by multiplex polymerase chain reaction. *Applied and Environmental Microbiology*. 1993. Vol. 59 (5). P. 1473-1479;

184. Miagostovich M. P., dos Santos F. B., Gutiérrez C. M., Riley L. W., Harris E. Rapid Subtyping of Dengue Virus Serotypes 1 and 4 by Restriction Site-Specific PCR. *Journal of Clinical Microbiology*. 2000. Vol. 38 (3). P. 1286-1289. doi: 10.1128/JCM.38.3.1286-1289.2000.

185. Xu Z., Li L., Zhao X., Chu J., Li B., Shi L., Su J., Shirtliff M. E. Development and application of a novel multiplex polymerase chain reaction (PCR) assay for rapid detection of various types of staphylococci strains. *Afr. J. Microbiol. Res*. 2011. Vol. 5 (14). P. 1869-1873.

186. Markoulatos P., Siafakas N., Moncany M. Multiplex polymerase chain reaction: a practical approach. *J Clin Lab Anal*. 2002. Vol. 16(1). P. 47-51. doi: 10.1002/jcla.2058.

187. Schulman A. H., Flavell A. J., Ellis T. H. The application of LTR retrotransposons as molecular markers in plants. *Methods in Molecular Biology*. 2004. Vol. 260. P.145-173.

188. Kalendar R., Antonius K., Smykal P., Schulman A. H. iPBS: a universal method for DNA Wngerprinting and retrotransposon isolation. *Theor Appl Genet*. 2010. Vol. 121. P.1419-1430.

189. Castro I., D'Onofrio C., Martin J. P., Ortiz J. M., De Lorenzis G., Ferreira V. O. Pinto-Carnide. Effectiveness of AFLPs and Retrotransposon-Based Markers for the Identification of Portuguese Grapevine Cultivars and Clones. *Mol Biotechnol*. 2012. Vol. 52. P. 26-39.

190. Nakatsuka T., Yamada E., Saito M., Hikage T., Ushiku Y., Nishihara M. Construction of the first genetic linkage map of Japanese gentian (Gentianaceae). *BMC Genomics*. 2012. Vol. 13. P. 672.

191. Kalendar R., Grob T., Regina M., Suoniemi A., Schulman A. IRAP and REMAP: two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques. *Theor Appl Genet*. 1999. Vol. 98. P. 704-711.

192. Peaston A. E., Evsikov A. V., Graber J. H., de Vries W. N., Holbrook A. E., Solter D., Knowles B. B. Retrotransposons Regulate Host Genes in Mouse Oocytes and Preimplantation Embryos. *Developmental Cell.* 2004. Vol. 7 (4). P. 597-606. doi: 10.1016/j.devcel.2004.09.004.

193. Georgiou I., Noutsopoulos D., Dimitriadou E., Markopoulos G., Apergi A., Lazaros L., Vaxevanoglou T., Pantos K., Syrrou M., Tzavaras T. Retrotransposon RNA expression and evidence for retrotransposition events in human oocytes. *Human Molecular Genetics.* 2009. Vol. 18 (7). P.1221-1228.doi: 10.1093/hmg/ddp022.

194. Lancíková V., Žiarovská J. Inter-retrotransposon amplified polymorphism markers revealed long terminal repeat retrotransposon insertion polymorphism in flax cultivated on the experimental fields around Chernobyl. *J Environ Sci Health.* 2020. Vol. 55(8). P. 957-963. doi: 10.1080/10934529.2020.1760016.

195. Le Q. V., Won H. K., Lee T. S., Lee C. Y., Lee H. S., Ro H. S. Retrotransposon microsatellite amplified polymorphism strain fingerprinting markers applicable to various mushroom species. *Mycobiology*. 2008. Vol. 36(3). P. 161-166. doi: 10.4489/MYCO.2008.36.3.161.

196. Campos Rivero G., Cázares-Sánchez E., Tamayo-Ordóñez M. C., Tamayo-Ordóñez Y. J., Padilla-RamÃrez J. S., Quiroz-Moreno A., Sánchez-Teyer L. Application of sequence specific amplified polymorphism (SSAP) and simple sequence repeat (SSR) markers for variability and molecular assisted selection (MAS) studies of the Mexican guava. *African Journal of Agricultural Research.* 2017. Vol. 12. P. 2372-2387.

197. Huggett J., Dheda K., Bustin, S., Zumla A. Real-time RT-PCR normalisation; strategies and considerations. *Genes Immun.* 2005. Vol. 6. P. 279-284. doi: 10.1038/sj.gene.6364190.

198. Yang W., Kang X., Yang Q., Lin Y., Fang M. Review on the development of genotyping methods for assessing farm animal diversity. *J Animal Sci Biotechnol.* 2013. Vol. 4. 2. doi: 10.1186/2049-1891-4-2.

199. Talhinhas P., Neves Martins J., Leitao J. AFLP, ISSR and RAPD markers reveal high levels of genetic diversity among *Lupinusspp. Plant Breeding.* 2008. Vol. 122 (6). P. 507-510.

200. Hadrys H., Balick M., Schierwater B. Applications of random amplified polymorphic DNA (RAPD) in molecular ecology. *Molecular Ecology*. 1992. Vol. 1. P. 55-63.

201. Berg D. E., Akopyants N. S., Kersulyte D. Fingerprinting microbial genomes using the RAPD or AP-PCR method. Methods in Molecular and Cellular Biology. 1994. Vol. 5 (1). P. 13-24.

202. Ujihara T., Taniguchi F., Tanaka J., Hayashi N. Development of Expressed Sequence Tag (EST)-based Cleaved Amplified Polymorphic Sequence (CAPS) markers of tea plant and their application to cultivar identification. *J Agric Food Chem*. 2011. Vol. 59. P. 1557-1564.

203. Segatto A. L. A., Caze A. L. R., Turchetto C., Klahre U., Kuhlemeier C., Bonatto S. L., Freitas L. B. Nuclear and plastid markers reveal the persistence of genetic identity: A new perspective on the evolutionary history of Petuniaexserta. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2014. Vol. 70. P. 504–512.

204. Cui Y., Lee M. Y., Huo N., Bragg J., Yan L., Yuan C., Li C., Holditch S. J., Xie J., Luo M. C., Li D., Yu J., Martin J., Schackwitz W., Gu Y. Q., Vogel J. P., Jackson A. O., Liu Z., Garvin D. F. Fine mapping of the Bsr 1 barley stripe mosaic virus resistance gene in the model grass Brach podium distachyon. *PLoSOne*. 2012. Vol. 7.

205. Jo K.-R., Arens M., Kim T.-Y., Jongsma M. A., Visser R. G. F., Jacobsen E., Vossen H. J. Mapping of the S. Demissum late blight resistance gene R8 to a new locus on chromosome IX. *Theor Appl Genet*. 2011. Vol. 123. P. 1331–1340.

206. Williams J. G. K., Kubelik A. R., Livak K. J., Rafalski J. A., Tingey S. V. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res*.1990. Vol. 18. P. 6531-6535.

207. Kumar N. S., Gurusubramanian G. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers and its applications. *Sci Vis*. 2011. Vol. 11 (3). P. 116-124.

208. Barua U., Chalmers K., Hackett C. Thomas W. T. B., Powell W., Waugh R. Identification of RAPD markers linked to a *Rhynchosporium secalis* resistance locus in barley using near-isogenic lines and bulked segregant analysis. *Heredity*. 1993.Vol. 71. P. 177-184. https://doi.org/10.1038/hdy.1993.122.

209. Arif I. A., Khan H. A. Molecular markers for biodiversity analysis of wildlife animals: a brief review. *Animal Biodiversity and Conservation*. 2009. Vol. 32 (1). P. 9-17.

210. Nybom H., Bartish I. V. Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics.* 2000. Vol. 3 (2). P. 93-114.

211. Fernandez S., Costa A. C., Katsuyama Â. M., Madeira A. M. B. N., Gruber A. A survey of the inter- and intraspecific RAPD markers of *Eimeriaspp*. of the domestic fowl and the development of reliable diagnostic tools. *Parasitol Res.* 2003. Vol. 89. P. 437-445. doi: 10.1007/s00436-002-0785-2.

212. Ruiz P., Izquierdo P. M., Seseña S., Palop M. L. Intraspecific genetic diversity of lactic acid bacteria from malolactic fermentation of Cencibel wines as derived from combined analysis of RAPD-PCR and PFGE patterns. *Food Microbiology.* 2008. Vol. 25 (7). P. 942-948.

213. Panwar P., Nath M., Yadav V. K., Kumar A. Comparative evaluation of genetic diversity using RAPD, SSR and cytochrome P450 gene based markers with respect to calcium content in finger millet (*Eleusine coracana* L. Gaertn.). *J Genet*. 2010. Vol. 89. P. 121-133. https://doi.org/10.1007/s12041-010-0052-8

214. Raza A., Shaukat H., Ali Q., Habib M. Assessment of RAPD Markers to Analyse the Genetic Diversity among Sunflower (Helianthus annuus L.) Genotypes. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*. 2018. Vol. 6 (1). P. 107.

215. Fasalu R., Balasubramanian T., Pawan K., Shejina M. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) - a tool for gene mapping. *Conference: National conference on Advances in Laboratory Medicine*. At: Perinthalmanna. Kerala, 2015. Vol. 2. P. 163-167.

216. Bardakci F. Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) Markers. *Turk J Biol.* 2001. Vol. 25. P. 185-196.

217. Tingey S. V., Rafalski J. A., Hanafey M. K. Genetic Analysis with RAPD Markers. In: Coruzzi G., Puigdomènech P. (eds) Plant Molecular Biology. NATO ASI Series (Series H: Cell Biology). 1994. Vol. 81. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-78852-9_45.

218. Hatanaka T., Galetti Jr. P. M. RAPD markers indicate the occurrence of structured populations in a migratory freshwater fish species. *Genet. Mol. Biol.* 2003. Vol. 26 (1). P. 19-25.

219. Shu Q. Y., Liu G. S., Qi D. M., Chu C. C., Liu. J, Li H. J. Aneffective method for axillary bud culture and RAPD analysis of cloned plants in tetra ploidblack locust. *Plant Cell Rep*. 2003. Vol. 22. P. 1751-1780.

220. Sreedhar R. V., Venkatachalam L., Bhagyalakshmi N. Genetic fidelity of long-term micro propagated shoot cultures of vanilla (Vanilla plan folia Andrews) as assessed by molecular markers. *Biotechnol. J.* 2007. Vol. 2. P. 1007–1013.

221. Rai G. K, Singh M., Rai N. P., Bhardwaj D. R., Kumar S. In vitro propagation of spine gourd (Momordica dioica Roxb.) and assessment of genetic fidelity of micro propagated plants using RAPD analysis. *Physiol Mol Biol Plants*. 2012. Vol. 18. P. 273-280.

222. Calvo J. H., Zaragoza P., Osta R. Random amplified polymorphic DNA fingerprints for identification of species in poultry pate. *Poultry science*. 2001. Vol. 80. P. 522-524.

223. Bhagyawant S. S. RAPD-SCAR Markers: An Interface Tool for Authentication of Traits. *Journal of Biosciences and Medicines*. 2016. Vol. 4. P. 1-9.

224. Kim J. K., An G. H., Ahn S. H., Moon Y. H., Cha Y. L., Bark S. T., Choi Y. H., Suh S. J., Seo S. G., Kim S. H., Koo B. C. Development of SCAR marker for simultaneous dentification of Miscanthus sacchariflorus, M. Sinensisand M. x giganteus. *Bioprocess Biosyst Eng*. 2012. Vol. 35. P. 55-59.

225. Pankin A. A., Khavkin E. E. Genome-specific SCAR markers help solve taxonomy issues: a case study with Sinapis arvensis (Brassiceae, Brassicaceae). *Am J Bot*. 2011. Vol. 98. (3).

226. Ray T., Roy S. C. Genetic diversity of Amaranth us species from the Indo-Gangeticplainsre vealed by RAPD analysis leading to the development of ecotype-specific SCAR marker. *J Hered*. 2009. Vol. 100. P. 338-347.

227. Osipova E. S., Lysenko E. A., Troitsky A. V., Dolgikh Y. I., Shamina Z. B., Gostimskii S. A. Analysis of SCAR marker nucleotide sequences in maize (Zeamays L.) soma clones. *Plant Sci*. 2011. Vol. 180. P. 313-322.

228. Rahman M., Sun Z., McVetty P. B., Li G. High throughput genome-specific and gene-specific molecular markers for erucic acid genes in Brassica napus (L.) for marker-assisted selection in plant breeding. *Theor Appl Genet*. 2008. Vol. 117. P. 895-904.

229. Naeimi S., Kocsubé S., Antal Z., Okhovvat S. M., Javan-Nikkhah M., Vágvölgyi C., Kredics L. Strain-specific SCAR markers for the detection of Trichoderma

harzianum AS12-2, a biological control agent against Rhizoctonia solani, the causal agent of rice sheath blight. *Acta Biol Hung*. 2011. Vol. 62 (1). P. 73-84.

230. Sasazaki S., Itoh K., Arimitsu S., Imada T., Takasuga A., Nagaishi H., Takano S., Mannen H., Tsuji S. Development of breed identification markers derived from AFLP in beef cattle. *Meat Science*. 2004. Vol. 67 (2). P. 275-280.

231. Ajmone Marsan P., Vecchiotti Antaldi G., Bertoni G., Valentini A., Kuiper M. AFLP™ markers for DNA fingerprinting in cattle. *Animal Genetics*. 2003. Vol. 28 (6). P. 418-426.

232. Fossati T., Zapelli I., Bisoffi S., Micheletti A. Genetic relationships and clonal identity in a collection of commercially relevant poplar cultivars assessed by AFLP and SSR. *Tree Genetics & Genomes.* 2005. Vol. 1. P. 11–20. doi: 10.1007/s11295-004-0002-9.

233. Saker M. M., Adawy S. S., Mohamed A. A., El-Itriby H. A. Monitoring of cultivar identity in tissue culture-derived date palms using RAPD and AFLP analysis. *Biol Plan*. 2006. Vol. 50. P. 198-204. https://doi.org/10.1007/s10535-006-0007-3.

234. Tripathi S. B., Jatav G., Malik A. A., Joshi S., Singh V. K., Negi M. S., Chauhan L., Sharma S. S. AFLP markers based genetic diversity and population structure analysis of Kadaknath: an indigenous black meat poultry breed of India. *Animal Biotechnology*. 2021. Vol. 10. P. 1-11. doi: 10.1080/10495398.2020.1865390

235. Barcaccia G., Felicetti M., Galla G., Capomaccio S., Cappelli K., Albertini E., Buttazzoni L., Pieramati C., Silvestrelli M., Supplizi A.V. Molecular analysis of genetic diversity, population structure and inbreeding level of the Italian Lipizzan horse. *Livestock Science*. 2013. Vol. 151 (2–3). P. 124-133. doi: 10.1016/j.livsci.2012.11.022.

236. Teneva A. Molekularni markeri u analizi genoma životinja. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 2009. Vol. 25 (5-6-2). S. 1267-1284

237. Falush D., Stephens M., Pritchard J. K. Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Molecular Ecology Notes*. 2007. Vol. 7. P. 574-578.

238. Varshney R. K., Graner A., Sorrells M. E. Genic microsatellite marker sin plants: features and applications. *TREND Sin Biotechnology*. 2005. Vol. 23. P.48-55.

239. GenBank : вебсайт URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/

240. Ellis R., Burke J. M. EST-SSRs as a resource for population genetic analyses. *Heredity*. 2007. Vol. 99. P. 125-132.

241. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*. 1994. Vol. 20. P. 176–183.

242. Glazko V. I., Gladyr E. A., Feofilov A. V., Bardukov N. V., Glazko T. T. ISSR-PCR and mobile genetic elements in genomes of farm mammalian species. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya* [*Agricultural Biology*]. 2013. Vol. 2. P. 71-76.

243. Омашева М. Е., Аубакирова К. П., Рябушкина Н. А.Молекулярные маркеры. Причины и последствия ошибок генотипирования. *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*. 2013. Vol. 4. P. 20-28.

244. Voronkova V. N., Tsedev T., Sulimova G. E. Comparative analysis of the in formativeness of ISSR markers for estimating genetic diversity of horse breeds. *Russ J Genet.* 2011. Vol. 47. P. 1004. doi: 10.1134/S1022795411080175.

245. Stolpovskii Y. A., Lazebny O. E., Stolpovskii K. Y., Sulimova G. E. The use of the ISSR-PCR method for identifying domesticated animal breeds and species, inferring their population stuctures, and assessing gene pool similarity. *Russ J Genet. 2010.* Vol. 46. P. 732–739. doi: 10.1134/S1022795410060141.

246. Mokhnachova N. B., Starodub L. F., Dobryanska M. L. Optimization of the method of DNA isolation from fossils. *Animal Breeding and Genetics*. 2020. Vol. 60. P. 110-115.

247. Habza-Kowalska E., Grela M., Gryzińska M., Listos P. Molecular techniques for detecting food adulteration. *Med. Weter*. 2019. Vol. 75 (7). P. 404-409.

248. Tanchev Sv. Conservation of genetic resources of autochthonous domestic livestock breeds in Bulgaria. A review. *Bulg. J. Agric. Sci*. 2015. Vol. 21. P. 1262–1271.

249. Xi M., Sun L., Qiu, S., Liu J., Xu J., Shi J. In vitro mutagenesis and identification of mutants via ISSR in lily (Lilium longiflorum). *Plant Cell Rep*. 2012. Vol. 31. P. 1043-1051. doi: 10.1007/s00299-011-1222-8.

250. Городная А. В., Глазко В. И. Полиморфизм структурных генов и ISSR-PCR маркеров при популяционно-генетических исследованиях некоторых пород крупного рогатого скота. *Цитология и генетика*. 2006. Т. 40, № 1. С. 49-57.

251. Kosovsky G. Y., Glazko V. I., Arkhipov A. V., Petrova I. O.,Glazko T. T. Dairy cattle population-specific genetic differentiation based on ISSR-PCR markers. *Russ. Agricult. Sci.* 2014. Vol. 40. P. 463-466.doi: 10.3103/S1068367414060135

252. Nahid A., Mohammadreza M. A., Amin B. ISSR markers for assessing dna polymorphism and genetic characterization of cattle, goat and sheep populations. *Iranian journal of biotechnology*. 2011. Vol. 9 (3). P. 222-229.

253. Pradeep Reddy M., Sarla N., Siddiq E. Inter simple sequence repeat (ISSR) polymorphism and its application in plant breeding. *Euphytica*. 2002. Vol. 128. P. 9-17. doi: 10.1023/A:1020691618797.

254. Li S., Jia J., Wei X., Zhang X., Li L., Chen, H., FanY.D., Sun H., Zhao X., Lei T., Xu Y., Jiang F., Wang H. Li L. A intervarietal genetic map and QTL analysis for yield traits in wheat. *Mol Breeding*. 2007. Vol. 20. P. 167-178. doi:10.1007/s11032-007-9080-3.

255. Saunders I. W., Brohede J., Hannan G. N. Estimating genotype ingerrorrates from Mendelian errors in SNP array genotypes and their impact on in ference. *Genomics*. 2007. Vol. 90. P. 291-296.

256. Guichoux E., Lagache L., Wagner S., Chaumeil P., Le. Ger P., Lepais O., Lepoittevin C., Malausa E., Revardel E., Salin F., Petit R. J. Current trends in microsatellite genotyping. *Molecular Ecology Resources*. 2011. Vol. 11. P. 591-611.

257. Степанов В. А., Спиридонова М. Г., Тадинова В. Н., Пузырёв В. П. Анализ генетического разнообразия популяций северной евразии по аутосомным микросателитным локусам. *Генетика*. 2003. Т. 39, № 9. С. 1-8.

258. Tapio M., Miceikiene I., Kantanen J. Microsatellite and blood proteindiversity in the sheep breeds of Finland and North-Western Russia. Animalth Genomics: Synthesis of Past, Present, and Future Directions. 27 International Conference on Animal Genetics. Minnesota, 2000. P.78.

259. Zhao S., Yang L., Li K., Yu M., Liu B. Analysis of genetic variation among five Chinese indigenous goat breeds by using bovine and ovine microsatellitesth Animal Genomics: Syntesis of Past, Present, and Future Directions. 27 International Conference on Animal Genetics. Minnesota. 2000.

260. Озеров М. Ю. Характеристика аллелофонда у различных пород овец по микросателлитам : дис. ... канд. биол. наук : 03.00.15. Дубровицы, Моск. обл., 2004. 114 с.

261. Caballo C., Castro P., Gil, J. Izquierdo I., Millan T., Rubio J. STMS (sequence tagged microsatellite site) molecular markers as a valuable tool to confirm controlled

crosses in chickpea (*Cicer arietinum* L.) breeding programs. *Euphytica*. 2018. Vol. 214. P. 231. doi: 10.1007/s10681-018-2314-0.

262. Vieira M. L., Santini L., Diniz A. L., Munhoz C. F. Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful. *Genet Mol Biol*. 2016. Vol. 39 (3). P. 312-328. doi: 10.1590/1678-4685-GMB-2016-0027

263. Боева В. А. Идентификация и анализ тандемных повторов и близких структурированных сигналов в ДНК : дис ... канд. физ.-мат. наук : 03.00.02. Москва, 2006. 126 с.

264. Гайцхоки В. С., Паткин Е. Л. Сателлитные ДНК и болезни - возможные механизмы тринуклеотидные повторы. *Генетика*. 2000. № 7. С. 869-886.

265. Powell W., Machray G. C., Provan J. Polymorphism revealed by simple sequence repeats. *Trends Plant Sci*. 1996. Vol. 1. P. 215-222.

266. Zhang L., Yuan D., Yu Sh., Li Zh., Cao Y., Miao Zh., Qian H., Tang K. Preference of simple sequence repeats in coding and non-coding regions of Arabidopsis thaliana. Bioinformatics. 2004. Vol. 20 (7). P. 1081–1086.

267. Senan S., Kizhakayi l D., Sasicumar B., Sheeja Th. Methods for Development of Microsatellite Markers: An Overview. *Not. Sci. Biol*. 2014. Vol. 6 (1). P. 1-13.

268. Zhang L., Yuan D., Yu Sh., Li Zh., Cao Y., Miao Zh., Qian H., Tang K. Preference of simple sequence repeats in coding and non-coding regions of Arabidopsis thaliana. *Bioinformatics*. 2004. Vol. 20 (7). P. 1081-1086.

269. Chung A. M., Staub J. E., Chen J. F. Molecular phylogeny of Cucumis species as revealed by consensus chloroplast SSR marker length and sequence variation. *Genome*. 2006. Vol. 49 (3). P. 219-229. doi: 10.1139/g05-101.

270. Rajendrakumar P., Biswal A. K., Balachandran S. M., Srinivasarao K., Sundaram R. M. Simple sequence repeats in organellar genomes of rice: frequency and distribution in genic and intergenic regions. *Bioinformatics*. 2007. Vol. 23. P.1-4.

271. Orr H. T., Zoghbi H. Y. Trinucleotide repeat disorders. Annu. Rev. *Neurosci*. 2007. Vol. 30. P. 575-621.

272. Gymrek M., Golan D., Rosset S., Erlich Y. lob STR: A short tandem repeat profiler for personal genomes. *Genome Res.* 2012. Vol. 22. P. 1154-1162.

273. Caetano-Annoles G., Gersshof P. M. DNA markers: Protocols, Applications and Overviews. Wiley-Liss, 1997. 364 p.

274. Kashi Y., King D. G. Simple sequence repeats as advantageous mutators in evolution. *Trends Genet*. 2006. Vol. 22. P. 253-259.

275. Reif J. C., Warburton M. L., Xia X. C., Hoisington D. A., Crossa J., Taba S., Muminovic J., Bohn M., Frisch M., Melchinger A. E. Grouping of accessions of Mexican races of maize re visited with SSR markers. *Theor Appl Genet*. 2006. Vol. 113. P. 177-185.

276. Смарагдов М. Г. Тотальная геномная селекция с помощью как возможный ускоритель традиционной селекции. *Генетика*. 2009. 45. С. 725-728.

277. Kalia R. K., Rai M. K, Kalia S., Singh R., Dhawan A. K. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants. *Euphytica*. 2011. Vol. 177. P. 309-334.

278. Neff B. D., Gross M. R. Microsatellite evolution in vertebrates: inference from AC dinucleotide repeats. *Evolution*. 2001. Vol. 55 (9). P. 1717-1733.

279. Омельченко А. В. Молекулярная характеристика локусов, содержащих динуклеотидные микросателлиты, генома партеногенетической ящерицы *Darevskia unisexualis* : дисс. ... канд. биол. наук : 03.00.04. Москва, 2009 122 с.

280. Hughes-Stamm S. R., Ashton K. J., van Daal A. Assessment of DNA degradation and the genotyping success of highly degraded samples. *Int J Legal Med*. 2011. Vol. 25. P. 341-348. doi: 10.1007/s00414-010-0455-3.

281. Kanthaswamy S., Tom B. K., Mattila A. M., Johnston E., Dayton M., Kinaga J., Erickson B. J., Halverson J., Fantin D., DeNise S., Kou A., Malladi V., Satkoski J., Budowle B., Smith D. G., Koskinen M. T. Canine population data generated from a multiplex STR kit for use in forensic casework. *J Forensic Sci*. 2009. Vol. 54(4). P. 829-40. doi: 10.1111/j.1556-4029.2009.01080.x.

282. Pei J., Bao P., Chu M., Liang C., Ding X., Wang H., Wu X., Guo X., Yan P. Evaluation of 17 microsatellite markers for parentage testing and individual identification of domestic yak (Bos grunniens). *Peer J*. 2018. Vol. 6. (1). doi: 10.7717/peerj.5946

283. Ellegren. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nat Rev Genet*. 2004. Vol. 5 (6). P. 435-45.

284. Zhivotovsky L., Underhill P. A., Cinnioğlu C., Kayser M. The Effective Mutation Rate at Y Chromosome Short Tandem Repeats, with Application to Human Population-Divergence Time. *The American Journal of Human Genetics*. 2004. Vol. 74 (1). P. 50-61.

285. Willems T., Gymrek M., Poznik G. D., Tyler-Smith C. 1000 Genomes Project Chromosome Y Group, Erlich Y. Population-Scale Sequencing Data Enable Precise Estimates of Y-STR Mutation Rates. *Am J Hum Genet*. 2016. Vol. 98(5). P. 919-933. doi: 10.1016/j.ajhg.2016.04.001.

286. Rosenberg N. A., Pritchard J. K., Weber J. L. Etal. Genetic structure of human populations. *Science*. 2002. Vol. 298. P. 2381-2385.

287. Zhivotovsky L. A., Rosenberg N. A., Feldman M. W. Features of evolution and expansion of modern humans inferred from genome-wide microsatellite markers. *Am. J. Hum. Genet*. 2003. Vol. 72. P. 1171-1186.

288. Зимницкий А. Н., Башкатов С. А., Уразбаев В. Н. Тамдемные повторы ДНК и концепция матричного синтеза протеогликанов. Москва : Лабиринт, 2005. 103 с.

289. Животовский JI. А. Микросателлитная изменчивость в популяциях человека и методы её изучения. *Информационный Вестник ВОГиС*. 2006. Т. 10, № 1. С. 74-96.

290. Sharma R. K., Gupta P., Sharma V., Sood A., Mohapatra T., Ahuja P. S. Evaluation of rice and sugarcane SSR markers for phylogenetic and genetic diversity analyses in bamboo. *Genome*. 2008. Vol. 51 (2). P. 91-103.

291. Hedrick Ph. W. Genetics of populations. Jones&Bartlett Learning. 2011. 675 p.

292. Jin L., Macaubas C., Hallmayer J., Kimura A., Mignot E. Mutation rate varies among alleles at a microsatellite locus: phylogenetic evidence. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996. Vol. 93. P. 15285-15288.

293. Brinkmann B., Klintschar M., Neuhuber F., Hühne J., Rolf B. Mutation Rate in Human Microsatellites : In fluence of the Structure and Length of the Tandem Repeat. A*m J Hum Genet*. 1998. Vol. 62 (6). P. 1408-15.

294. Sammalkorpi H., Alhopuro P., Lehtonen R., Tuimala J., Mecklin J. P., Järvinen H. J., Jiricny J., Karhu A., Aaltonen L. A. Background mutation frequency in microsatellite-unstable colorectal cancer. *Cancer Res*. 2007. Vol. 67 (12). P. 5691-5698.

295. Вергун А. А., Гирнык А. Е., Осипов Ф. А., Омельченко А. В. Клональное разнообразие и механизмы его формирования у однополых видов ящериц рода Darevskia : монография. Москва : МПГУ, 2016. 96 с.

296. Aboukhalid K., Machon N., Lambourdière J., Abdelkrim J., Bakha M., Douaik A., Korbecka-Glinka G., Gaboun F., Tomi F., Lamiri A., AlFaiz C. Analysis of genetic

diversity and population structure of the endangered Origanum compactum from Morocco, using SSR markers: Implication for conservation. *Biological Conservation*. 2017. Vol. 212 (A). P. 172-182.

297. Ismail S., Essawi M. Genetic polymorphism studies in humans. *Middle East Journal of Medical Genetics.* 2012. Vol. 1 (2). P. 57-63. doi: 10.1097/01.MXE.0000415225.85003.47.

298. Weber J. L., May P. E. Abundant class of human DNA polymorphism swhich can be typed using the polymerase chainresction. *Am. J. Hum. Genet*. 1989. Vol. 44. P. 388-396.

299. Тихомирова Т. И. Мультилокусное исследование ДНК-микросателлитов в характеристике генофонда свиней различной породной принадлежности и происхождения : дис. ... канд.биол. наук : 03.00.23. Дубровицы Московской обл., 2008. 144 с.

300. Ziegle J. S., Su Y., Corcoran K. P., Nie L., Mayrand P. E., Hoff L. B., Mcbride L. J., Kronick M. N., Diehl S. R. *Genomics*. 1992. Vol. 14. P. 1026-1031.

301. Маркеры микросателлитные/ База знаний по биологии человека: вебсайт. URL: http://humbio.ru/humbio/01122001/kartirovan/0000f5d0.htm. (дата звернення: 08.07.2020).

302. Selkoe K. A., Toonen R. J. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecol Lett.* 2006. Vol. 9 (5). P. 615-629.

303. Hanotte O., Jianlin H. Genetic characterization of livestock populations and its use in conservation decision-making. The role of biotechnology, Villa Gualino, Turin, Italy – 5-7 March. 2005. P. 131-136.

304. Brenig B., Schütz E. Recent development of allele frequencies and exclusion probabilities of microsatellites used for parentage control in the German Holstein Friesian cattle population. *BMC Genetics*. 2016. Vol. 8. P. 17-18.

305. Steffen P., Eggen A., Stranzinger G., Fries R., Dietz A. B., Womack Y. E. Isolation and mapping of polymorphic microsatellites in cattle. *Animal Genetics*. 1993. Vol. 24 (2). P. 121-124.

306. Fries R. A., Eggen Y. E., Womack J. The bovine genome map. *Mammalian Genome*. 1993. Vol. 4. P. 405-428.

307. Trommelen G. J., Den Daas J H., Vijg J., Uitterlinden A. G. DNA profiling of cattle using micro- and minisatellite core probes. *Animal Genetics*. 1993. Vol. 24 (4). P. 235-241.

308. Wakchaure R., Ganguly S., Parveez A. P., Praveen K., Qadri K. Molecular markers and their applications in farm animals: a review. *International Journal of Recent Biotechnology*. 2015. Vol. 85(9). P. 2368-2375.

309. Machugh D. E., Loftus R., Bradley D., Sharp P., Cunningham P. Proceedings of the Royal Society of London. 1994. Vol. 256. P. 25-31.

310. Glowatzki-Mullis M. L., Gaillard C., Wigger G., Fries R. Microsatellite-based parentage control in cattle. *Animal Genetics*. 1995. Vol. 26(1). P. 7-12.

311. Heyen D. W., Beever J. E., Da Y., Evert R. E., Green C., Bates S. R., Ziegle J. S., Lewin H. A. Exclusion probabilities of 22 bovine microsatellite markers in fluorescent multiplexes for semi automated parentage testing. *Animal Genetics*. 1997. Vol. 28(1). P. 21–7.

312. Kemp S. J., Hishida O., Wambugu J., Rink A., Longeri M. L., Ma R. Z., Da Y., Lewin H. A., Barendse W., Teale A. J. A panel of polymorphic bovine, ovine and caprine microsatellite markers. *Animal Genetics*. 1995. Vol. 26(5). P. 299–306.

313. Peelman L. J., Mortiaux F., van Zeveren A., Dansercoer A., Mommens G., Coopman F., Bouquet Y., Burny A., Renaville R., Portetelle D. Evaluation of the genetic variability of 23 bovine microsatellite markers in four Belgian cattle breeds. *Animal Genetics.*1998. Vol. 29(3). P. 161–167.

314. Ma R. Z., Russ I., Park C., Heyen D. W., Beever J. E., Green C. A., Lewin H. A. Isolation and characterization of 45 polymorphic microsatellites from the bovine genome. *Animal Genetics*. 1996. Vol. 27(1). P. 43–7.

315. Moazami-Goudarzi K., Laloe D., Furet J. P, Grosclaude F. Analysis of genetic relationships between 10 cattle breeds with 17 microsatellites. *Anim Genetics.* 1997. Vol. 28. P. 338-345.

316. Loftus R. T., Machugh D. E., Bradley D. G., Sharp P. M., Cunningham P. Evidence for two independent domestications of cattle. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States*. 1994. Vol. 91. P. 2757-2761.

317. Kantanen J., Olsaker I., Holm L.-E., Lien S., Vilkki J., Brusgaard K., Eythorsdottir E., Danel B., Adalsteinsson S. Genetic diversity and population structure of 20 north European cattle breeds. *Journal of Heredity*. 2000. Vol. 91. (6). P. 446-457.

318. Canon J., Alexandrino P., Bessa I., Carleos C., Carretero Y., Dunner S. Genetic diversity measures of local European beef cattle breeds for conservation purposes. *Genetics Selection Evolution*. 2000. Vol. 133. P. 311-332.

319. Hanotte O., Ronin Y., Agaba M., Nilsson P., Gelhaus A., Horstmann R., Sugimoto Y., Kemp S., Gibson J., Korol A., Soller M., Teale A. Mapping of quantitative trait loci controlling trypanotolerance in a cross of tolerant West African N'Dama and susceptible East African Boran cattle. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2003. Vol. 100 (13). P. 7443-7448.

320. Beja-Pereira A., Alexandrino P., Bessa I., Carretero Y., Dunner S., Ferrand N., Jordana J., Laloe D., Moazami-Goudarzi K., Sanchez A. Genetic Characterization of Southwestern European Bovine Breeds: A Historical and Biogeographical Reassessment With a Set of 16 Microsatellites. *Journal of Heredity*. 2003. Vol. 94 (3). P. 243-250.

321. Gargani M., Pariset L., Lenstra J. A., de Minicis E., Valentini A. European cattle genetic diversity consortium, Holm L.-E. Microsatellite genotyping of medieval cattle from central Italy suggests an old origin of Chianina and Romagnola cattle. *Frontiers in Genetics.* 2015. Vol. 6. P. 1-6.

322. Ajmone-Marsan., P. And the global diversity consortium. A global view of livestock biodiversity and conservationglobal diversity. *Animal Genetics*. 2010. Vol. 41. P. 1–5.

323. Bruford M. W., Cheesman D. J., Coote T., Green H. A. A., Haines S. A., O'Ryan C., Williams T. R. Microsatellites and their application to conservation genetics. *Smith, Thomas B. and Wayne, Robert K. eds. Molecular Genetic Approaches in Conservation*. New York : Oxford University Press, 1996. P. 278-297.

324. Montaldo H. H., Meza-Herrera C. A. Use of molecular markers and major genes in the genetic improvement of livestock. *Electronic Journal of Biotechnology*. 1998. Vol. 1(2). P. 83-89.

325. Beuzen N. D, Stear M. J, Chang K. C. Molecular markers and their use in animal breeding. *The Veterinary Journal*. 2000. Vol. 160. P. 42-52.

326. Schlötterer C. The evolution of molecular markers just a matter of fashion. *Nature Reviews Genetics.* 2004. Vol. 5. P. 63-69.

327. Visscher P. M, Woolliams J. A, Smith D., Williams J. L. Estimation of pedigree errors in the UK dairy population using microsatellite markers and the impact on selection. *Journal of Dairy Science*. 2002. Vol. 85. P. 2368-2375.

328. Hansen C., Shrestha J. N., Parker R. J., Crow G. H., Mcalpine P. J., Derr J. N. Genetic diversity among Canadienne, Brown Swiss, Holstein, and Jersey cattle of Canada based on 15 bovine microsatellite markers. *Genome*. 2002. Vol. 45(5). P. 897-904.

329. Ibeagha-Awemu E. M., Erhardt G. Genetic structure and differentiation of 12 African Bos indicus and Bos taurus cattle breeds, inferred from protein and microsatellite polymorphisms. *Journal of Animal Breed Genetics*. 2005. Vol. 122(1). P. 12-20.

330. Xia X., Yao Y., Li C., Zhang F., Qu K., Chen H., Huang B., Lei C. Genetic diversity of Chinese cattle revealed by Y- SNP and Y- STR markers. *Anim Genet.* 2019. Vol. 50. P. 64-69.doi: 10.1111/age.12742.

331. MacHugh D. E., Shriver M. D., Loftus R. T., Cunningham P., Bradley D. G. Microsatellite DNA variation and the evolution, domestication and phylogeography of Taurine and Zebu cattle (Bos taurus and Bos indicus). *Genetics*. 1997. Vol. 146(3). P. 1071-1086.

332. Groeneveld L. F., Lenstra J. A., Eding H., Toro M. A., Scherf B., Pilling D., Negrini R., Finlay E. K., Jianlin H., Groeneveld E. Weigendand the globaldiv consortium: Genetic diversity in farm animals – a review. *Animal Genetics*. 2010. Vol. 41 (1). P.6-31.

333. Navani N., Jain P. K., Gupta S., Sisodia B. S., Kumar S. A set of cattle microsatellite DNA markers for genome analysis of riverine buffalo (Bubalus bubalis). *Animal Genetics*. 2002. Vol. 33(2). P. 149-154.

334. Ashwell M. S., Heyen D. W., Sonstegard T. S., van Tassell C. P., Day., Vanraden P. M., Ron M. J., Weller I., Lewin H. A. Detection of quantitative trait loci affecting milk production, health, and reproductive traits in Holstein cattle. *Journal of Dairy Science*. 2004. Vol. 87(2). P. 468-475.

335. Sun W. B., Chen H., Lei C. Z., Lei X. Q., Zhang Y. H. Study on population genetic characteristics of Qinchuan cows using microsatellite markers. *Journal of Genetics and Genomics*. 2007. Vol. 34. P. 17–25.

336. Lenstra J. A., Ajmone Marsan P. European cattle genetic diversity consortium, econogene consortium. Microsatellites and Y-chromosomal haplotypes of European and Middle-Eastern cattle, sheep and goats. Geographic clines, clusters, male introgression, conflicting views on diversity. 30th International Congress on Animal Genetics, Porto Seguro. 2006. Available at: http://www.isag.org.uk/Docs/2006ISAG_Proceedings.pdf

337. Medugorac I., Medugorac A., Russ I., Veit-Kensch C. E., Taberlet P., Luntz B., Mix H. M., Forster M. Genetic diversity of European cattle breeds highlights the

conservation value of traditional unselected breeds with high effective population size. *Molecular Ecology*. 2009. Vol. 18. P. 3394–3410.

338. Bennewitz J., Kantanen J., Tapio I., Li M., Kalm E., Vilkki J., Ammosov I., Ivanova Z., Kiselyova T., Popov R., Meuwissen T. Estimation of breed contributions to present and future genetic diversity of 44 North Eurasian cattle breeds using core set diversity measures. Genetics Selection Evolution 2006. Vol. 38. P. 201-220.

339. Tapio I., Varv S., Bennewitz J. et al. Prioritization for conservation of northern European cattle breeds based on analysis of microsatellite data. *Conservation Biology*. 2006. Vol. 20. P. 1768–1779.

340. Teneva A., Todorovska E., Tyufekchiev N., Kozelov L., Atanassov A., Foteva S., RalchevaS., ZlatarevS. Molecular characterization of Bulgarian livestock genetic resources. I. Genetic diversity in Bulgarian Grey cattle as revealed by microsatellite markers. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 2005. Vol. 11 (3). P. 363-372.

341. Teneva A., Todorovska E., Tyufekchiev N., Stella A., Boettcher P., Dimitrova I. Molecular characterization of Bulgarian livestock genetic resources. II. Microsatellite variation within and among Bulgarian cattle breeds. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 2007. Vol. 23 (5-6). P. 227-242.

342. Garcia D., Martinez A., Dunner S., Vega-Pla J. L., Fernandez C., Delgado J. V., Canon J. Estimation of the genetic admixture composition of Iberian dry-cured ham samples using DNA multilocus genotypes. *Meat Science*. 2006. Vol. 72 (3). P. 560–566.

343. Ginja C., Telo da Gama L., Penedo M. C. Analysis of STR markers reveals high genetic structure in Portuguese native cattle. *Journal of Heredity*. 2009. Vol. 101(2). P. 201–210.

344. Li M. H., Kantanen J. Genetic structure of Eurasian cattle (Bos taurus) based on microsatellites: clarification for their breed classification. *Animal Genetics*. 2009. Vol. 41(2). P. 150-158.

345. Qi X. B., Jianlin H., Wang G., Rege J. E. O., Hanotte O. Assessment of cattle genetic introgression into domestic yak populations using mitochondrial and microsatellite DNA markers. *Animal Genetics*. 2009. Vol. 41. P. 242-252.

346. European cattle genetic diversity consortium: Marker assisted conservation of European cattle breeds: an evaluation. *Animal Genetics*. 2006. Vol. 37 (5). P. 475-481.

347. Martinez R. D., Fernandez E. N., Broccoli A. M., Martinez A., Delgado J. V. Genetic varialbility in the Argentinian Creole Cattle of Patagonic origin. *Archivos de Zootecnia*. 2005. Vol. 54. P. 415-421.

348. Armstrong E., Postiglioni A., Martinez A., Rincon G., Vega-Pla J. L. Microsatellite analysis of a sample of Uruguayan Creole bulls (Bos taurus). *Genetics and Molecular Biology*. 2006. Vol. 29. P. 267–272.

349. Quiroz-Valiente J., Martinez A., Ulloa R., Vega-Pla J. L. Caracterizacion Genetica de las Poblaciones Bovinas Criollas de Me´xico. *VII Simposio Iberoamericano sobre conservacion y Utilizacion de Recursos Zoogeneticos* (Ed. by A. Stemmer). 2006. P. 220–222.

350. Aquino Y. N., Veli E. A., Rivas Seoane E., Rivas Palma V.,Estrada R. Genetic variability of Criollo cattle of Peru using microsatellite markers. *Archivos de Zootecnia*. 2008. Vol. 57. P. 337–40.

351. Ulloa-Arvizu R., Gayosso-Vazquez A., Ramos-Kuri M., Estrada F. J., Montano M., Alonso R. A. Genetic analysis of Mexican Criollo cattle populations. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2008. Vol. 125. P. 351–359.

352. Martinez-Correal G., Alvarez L. A., Martinez G. C. Conservacion, Caracterizacion y Utilizacion de los bovinos Criollos en Colombia. *X Simposio Iberoamericano sobre Conservacion y Utilizacion de Recursos Zoogeneticos* (Ed. by L.A. Alvarez). 2009. P. 1695-7504.

353. Delgado J. V., Martínez A. M., Acosta A., Alvarez L. A., Armstrong E., Camacho E., Cañón J., Cortés O., Dunner S., Landi V., Marques J. R., Martín-Burriel I., Martínez O. R., Martínez R. D., Melucci L., Muñoz J. E., Penedo M. C., Postiglioni A., Quiróz J., Rodellar C., Sponenberg P., Uffo O., Ulloa-Arvizu R., Vega-Pla J. L., Villalobos A., Zambrano D., Zaragoza P., Gama L. T., Ginja C. Genetic characterization of Latin-American Creole cattle using microsatellite markers. *Animal Genetics*. 2011. Vol. 43(1). P. 2–10.

354. Chaudhari M. V., Parmar S. N. S., Joshi C. G., Bhong C. D., Fatima S., Thakur M. S., Thakur S. S. Molecular characterization of Kenkatha and Gaolao (Bos indicus) cattle breeds using microsatellite markers. *Animal Biodiversity and Conservation*. 2009. Vol. 32 (2). P. 71–76.

355. Alex R., Singh U., Alyethodi R. R., et al. A review on draught animal research in India: constraints and future thrust areas. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. 2013. Vol. 1 (6). P. 178-182.

356. Frankham R., Ballou J. D., Briscoe D. A. Introduction to Conservation Genetics. New York : Cambridge University Press, 2002.

357. Freeman A. R., Bradley D. G, Nagda S., Gibson J. P., Hanotte O. Combination of multiple microsatellite data sets to investigate genetic diversity and admixture of domestic cattle. *Animal Genetics*. 2006. Vol. 37 (1). P 1-9.

358. Mohamad K., Olsson M., van Tol H. T. A., Mikko S., Vlamings B. T. H., Andersson G., Rodríguez-Martínez H., Purwantara B., Paling R. W., Colenbrander B., Lenstra J. A. On the Origin of Indonesian Cattle. *PLoS ONE*. 2009. Vol. 4(5). P. 10. doi:10.1371/annotation/e674f274-4378-47f1-97e1-f95a2.

359. Chikhi L., Goossens B., Treanor A., Bruford M. Population genetic structure of and inbreeding in an insular cattle breed, the Jersey, and its implications for genetic resource management. *Heredity*. 2004. Vol. 92(5). P. 396–401.

360. Egito A. A., Paiva S. R., Maria D. O., Socorro M. A. E., Arthur S. M., Almeida L. D., Castro S. R., Grattapaglia D. Microsatellite based genetic diversity and relationships among ten Creole and commercial cattle breeds raised in Brazil. *BMC Genetics*. 2007. Vol. 7 (8). P. 83.

361. Sharma R., Kishore A., Mukesh M., Ahlawat S., Maitra M., Kumar A., Pandey A. K., Tantia M. S. Genetic diversity and relationship of Indian cattle inferred from microsatellite and mitochondrial DNA markers. *BMC Genetics*. 2015. Vol. 16. P. 73.

362. Ilie D., Cean A., Cziszter L., Gavojdian D., Ivan A. L., Kusza S. Microsatellite and Mitochondrial DNA Study of Native Eastern European Cattle Populations: The Case of the Romanian Grey. *PLoS ONE*. 2015. Vol. 10 (9). P. 1-18.

363. Botstein D., White R. L., Skolnick M., Davis R. W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *American Journal of Human Genetics*. 1980. Vol. 32 (3). P. 314–331.

364. Bradley D. G., Machugh D. G., Loftus R. T., Sow R. S., Hoste C. H., Cunningham E. P. Zebu–taurine variation in Y chromosome DNA: a sensitive assay for introgression in West African trypanotolerant cattle populations. *Animal Genetics*. 1994. Vol. 25. P. 7–12.

365. Maudet C., Luikart G., Taberlet P. Genetic diversity and assignment test among seven French cattle breeds based on microsatellite DNA analysis. *Journal of Animal Science.* 2002. Vol. 80. P. 942-950.

366. Kumar P., Freeman A. R., Loftus R. T., Gallard C., Fuller D. Q., Bradley D. G. Admixture analysis of South Asian cattle. *Heredity*. 2003. Vol. 91 (1). P. 43–50.

367. Metta M., Kanginakudru S., Gudiseva N., Nagaraju J. Genetic characterization of the Indian cattle breeds, Ongole and Deoni (Bos indicus), using microsatellite markers – a preliminary study. *BMC Genetics.* 2004. Vol. 18(5). P. 16.

368. Mukesh M., Sodhi M., Bhatia S., Mishra B. P. Genetic diversity of Indian native cattle breeds as analyzed with 20 microsatellites. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2004. Vol. 121. P. 416-424.

369. Pandey A. K., Sharma R., Singh Y., Prakash B. B., Ahlawat S. P. S. Genetic diversity studies of Kherigarh cattle based on microsatellite markers. *Journal of Genetics.* 2006. Vol. 85(2). P. 117-122.

370. Sodhi M., Mukesh M., Prakash B., Ahlawat S. P. S., Sobti R. C. Microsatellite DNA typing for assessment of genetic variability in Tharparkar breed of Indian zebu (Bos indicus) cattle, a major breed of Rajasthan. *Journal of Genetics*. 2006. Vol. 85. P. 165–170.

371. Chaudhari M. V., Parmar S. N. S., Joshi C. G., Bhong C. D., Fatima S., Thakur M. S., Thakur S. S. Molecular characterization of Kenkatha and Gaolao (Bos indicus) cattle breeds using microsatellite markers. *Animal Biodiversity and Conservation.* 2009. Vol. 32 (2). P. 71-76.

372. Зиновьева Н. А., Стрекозов Н. И., Малофеева Л. А. Оценка роли ДНК-микросателлитов в генетической характеристике популяции скота чѐрно-пѐстрой породы. *Зоотехния*. 2009. № 1. С. 2-4.

373. Глинская Н. А. Анализ генетической дифференциации популяций крупного рогатого скота черно-пестрой породі белорусской селекции по STR-локусам. *Веснік палескага дзяржаунага унісерсітэта.* Серыя прыродазнаучых навук. 2013. № 2. С. 21-26.

374. Траспов А. А. Характеристика аллелофонда башкирских популяций крупного рогатого скота чѐрно-пѐстрой и симментальской породы пород по микросателлитам : дисс. ... канд. с.-х. наук : 06.02.07. Дубровицы, 2012. 129 с.

375. Шумкина С. Г. Полиморфизм микросателлитных локусов ДНК крупного рогатого скота красно-пестрой породы : дис. ... канд. биол. наук : 06.02.01. Лесные Поляны Моск. обл, 2004. 105 с.

376. Коновалова Е. Н., Сельцов В. И., Зиновьева Н. А. Характеристика симментальского скота различного происхождения с использованием ДНК-микросателлитов. *Зоотехния*. 2006. № 8. С. 6-9.

377. Opara A., Razpet A., Logar B. Breed assignment test of Slovenian cattle breeds using microsatellites. *Acta argiculturae Slovenica*. 2012. № 3. P. 167–170.

378. Wakchaure R., Ganguly S., Parveez A. Para, Praveen K., Qadri K. Molecular markers and their applications in farm animals: a review. *International Journal of Recent Biotechnology*. 2015. Vol. 85(9). P. 2368-2375.

379. Ihara N., Takasuga A., Mizoshita K., Takeda H., Sugimoto M., Mizoguchi Y., Hirano T., Itoh T., Watanabe T, Kent M. R., Snelling W. M., Kappes S. M., Beattie C. W., Bennett G. L., Sugimoto Y. A comprehensive genetic map of the cattle genome based on 3802 microsatellites. *Genome research*. 2004. Vol. 14. P. 1987-1998.

380. Van Marle-Köster E., Nel L. H. Genetic markers and their application in livestock breeding in South Africa: A review. *South African J. Anim. Sci*. 2003. Vol. 33. P. 1-10.

381. Киселева Т. Ю., Подоба Б. Е., Заблудовский Е. Е., Терлецкий В. П., Воробьев Н. И., Кантанен Ю. Анализ 30 микросателлитных маркеров у шести локальных популяций крупного рогатого скота. *Сельскохозяйственная биология*. 2010. № 6. С. 20-25.

382. Mariani S., Bekkevold D. The nuclear genome: Neutral and adaptive markers in fisheries science. Cadrin S. X., Kerr L. A., Mariani S., editors. *Stock Identification Methods: Applications in Fishery Science.* 2. ed. Amsterdam : Academic Press, 2014. P. 297-328.

383. Mukhamedyarov D. A., Kulametov Z. A., Kalimkulova M. S., Akhmetollaev I. A. Синтез модифицированных олигонуклеотидов для идентификации микросателлитных локусов крупного рогатого скота. *Вестник КазНУ :* Серия биологическая. 2013. Вып. 3/1 (59). С. 145-146.

384. Georges M., Dietz A. B., Mishra A. Et al. Microsatellite mapping of the gene causing weaver disease in cattle will allow the study of an associated quantitative trait locus. *PNAS*. 1993. Vol. 90. P.1058-1062.

385. Ashwell M. S., Van Tassell C. D. Detection on putative loci atfecting milk, health and type traits is a US Holstein population using 70 microsatellite markers in agenome scan. *J. Dairy Sc*. 1999.Vol. 82 (11). P. 2497-2502.

386. Ma R. I., Russ Z., Park C., Heyen D. W., Beever J. E., Green C. A., Lewin H. A. Isolation and characterization of 45 polymorphic microsatellites from the bovine genome. *Animal Genetics*. 1996. Vol. 27. P. 43-47.

387. Peelman L., Mortiaux F., Van Zeveren A., Dansercoer A. Evaluation to the genetic variability of 23 bovine microsatellite markers in tour Belgian cattle breeds. *Animal Genetics*. 1998. Vol. 29 (3). P. 161-167.

388. Lingyang Xu, Ryan J. Haas l, Jiajie Sun, Yang Zhou, Derek M. Bickhart, Junya Li, Jiuzhou Song, Tad S. Sonstegard, Curtis P. Van Tassell, Harris A. Lewin, George E. Liu. Systematic Profiling of Short Tandem Repeats in the Cattle Genome. *Genome Biol Evol*. 2017. Vol. 9(1). P. 20–31. doi: 10.1093/gbe/evw256.

389. DeAtley K. L., Rincon G., Farber C. R., Medrano J. F., Luna-Nevarez P., Enns R. M., Vanleeuwen D. M., Silver G. A., Thomas M. G. Genetic analyses involving microsatellite ETH10 genotypes on bovine chromosome 5 and performance trait measures in Angus and Brahman influenced cattle. *Journal of Animal Science*. 2011. Vol. 89 (7). P. 2031–2041.

390. Meirelles S. L., Gouveia G. V., Gasparin G., Alencar M. M., Gouveia J. J., Regitano L. C. Candidate gene region for control of rib eye area in Canchim beef cattle. *Genetic Molecular Research*. 2011. Vol. 10(2). P. 1220–1226.

391. Gutierrez-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 x Holstein population. *BMC Genetics*. 2007. Vol. 16(8). P. 56.

392. Drogemuller C., Rossi M., Gentile A., Testoni S., Jorg H., Stranzinger G., et al. Arachnomelia in Brown Swiss cattle maps to chromosome 5. *Mammalian Genome*. 2009. Vol. 20 (1). P. 53–59.

393. Chu M. X., Zhou G. L., Jin H. G., Shi W. H., Cao F. C., Fang L., et al. Study on relationships between seven microsatellite loci and somatic cell score in Beijing Holstein cows. *Yi Chuan Xue Bao*. 2005. Vol. 32(5). P. 471-475.

394. Smith S. B., Zembayashi M., Lunt D. K., Sanders J. O., Gilbert C. D. Carcass traits and microsatellite distributions in offspring of sires from three geographical regions of Japan. *Journal of Animal Science*. 2001. Vol. 79(12). P. 3041-3051.

395. Brenig B., Schütz E. Recent development of allele frequencies and exclusion probabilities of microsatellites used for parentage control in the German Holstein Friesian cattle population. *BMC Genetics*. 2016. Vol. 8 (17). P. 18.

396. Hu Z. L., Park C. A., Wu X. L., Reecy J. M. Animal QTLdb: an improved database tool for livestock animal QTL/association data dissemination in the postgenome era. Nucleic Acids Research, 41(Database issue). 2013.

397. Deb R., Kumar A., Chakraborty S., Verma A. K., Tiwari R., Dhama K., Singh U., Kumar S. Trends in diagnosis and control of bovine mastitis: a review. *Pak Journal of Biology Science*. 2013. Vol. 16 (23). P. 1653-1661.

398. Olsen H. G., Lien S., Svendsen M., Nilsen H., Roseth A., Aasland Opsal M., Meuwissen T. H. Fine mapping of milk production QTL on BTA6 by combined linkage and linkage disequilibrium analysis. *Journal of Dairy Science*. 2004. Vol. 87 (3). P. 690-698.

399. Kühn C., Freyer G., Weikard R., Goldammer T., Schwerin M. Detection of QTL formilk production traits in cattle by application of a specifically developed marker map of BTA6. *Animal Genetics.* 1999. Vol. 30 (5). P. 3330-3340.

400. Sharma A., Deb R., Kumar S., Singh U. Advances in Cattle Research. New Delhi: Satish Serial Publishing; 2013. 276 p.

401. Chu M., Zhuang H., Zhang Y., Jin M., Li X., DI R., Cao G., Feng T., Fang L. Polymorphism of inhibin beta B gene and its relationship with litter size in sheep. *Anim Sci J.* 2011. Vol. 82. P. 57–61.

402. Lee T., Cho S., Seo K. S., Chang J., Kim H., Yoon D. Genetic variants and signatures of selective sweep of Hanwoo population (Korean native cattle). *BMB Rep*. 2013. Vol. 46 (7). P. 346-351. doi:10.5483/bmbrep.2013.46.7.211.

403. Shin D.-H., Lee H.-J., Cho S., Kim H. J., Hwang J. Y., Lee C.-K., Jeong J. Y., Yoon D., Kim H. Deleted copy number variation of Hanwoo and Holstein using next generation sequencing at the population level. *BMC Genomics.* 2014. Vol. 15. P. 240.

404. Hering D. M., Olenski K., Kaminski S. Genome-wide association study for poor sperm motility in Holstein-Friesian bulls. *Anim Reprod. Sci.* 2014. Vol. 146. P. 89–97.

405. Doan R, Cohen N., Harrington J., Veazey K., Juras R., Cothran G., McCue M. E., Skow L., Dindot S. V. Identification of copy number variants in horses. *Genome Res.* 2012. Vol. 22. P. 899–907.

406. Clutton-Brock J. A Natural History of Domesticated Mammals. Cambridge University Press, Cambridge. 1999. 238 p.

407. Håkansson M. Slutrapport Projekt Pegasus. Västra Götalands Landsting, Psykiatriskakliniken NU-sjukvården. 2000.

408. Scherf B. World Watch List for Domestic Animal Diversity, 2ndedn. The Food and Agriculture Organization (FAO). Rome, 1995.

409. Ellegren H., Johansson M., Sandberg K., Andersson L. Cloning of highly polymorphic micro satellites in the horse. *Animal Genetics*. 1992. Vol. 23. P.133-142.

410. Guerin G., Bertaud M., Amigues Y. Characterisation of seven new horse microsatellites, HMS1, HMS2, HMS3, HMS5, HMS6, HMS7, and HMS8. *Animal Genetics*. 1994. Vol. 25. P. 62-62.

411. Marklund S, Ellegren H., Eriksson S., Sandberg K., Andersson L. Parentage testing and linkage analysis in the horse using a set of highly polymorphic microsatellite. *Animal Genetics*. 1994. Vol. 25. P. 19-23.

412. Khrabrova L. A., Blohina N. V., Suleymanov O. I., Rozhdestvenskaya G. A., Pustovoyet V. F. Assessment of line differentiation in the Thoroughbred horse breed using DNA microsatellite loci. *Vavilov J.Genet. Bred.* 2019. Vol. 23 (5). P. 569-574. doi:10.18699/VJ19.526.

413. Bowling A. T., Eggleston-Stott M. L., Byrns G., Clark R. S., Dileanis S., Wictum E., Validation of Microsatellite Markers for Routine Horse Parentage Testing. *Anim. Genet*. 1997. Vol. 28. P. 247252.

414. Binns M. M., Holmes N. G., Rolliman A., Scott A. M. The identification of polymorphic microsatellite loci in the horse and their use in thorough bred parentage testing. *British Veterinary Journal.* 1995. Vol. 151 (1). P. 9-15. doi: 10.1016/S0007-1935(05)80057-0.

415. Tozaki T. Characterization of equine microsatellites and repetitive elements, and validation of paternity testing for Thorough breds. Japan : Showa University, 2001. Ph.D. Dissertation

416. Van De Goor L. H. P., Panneman H., Van Haeringen W. A. A proposal for standardization in forensic equine DNA typing: allele nomenclature for 17 equine specific STR loci. *Animal Genetics*. 2010. Vol. 41. P. 122-127.doi: 10.1111/j.1365-2052.2009.01975.x.

417. Dimsoski P. Development of a 17-plex microsatellite polymerasecha in reaction kit for genotyping horses. *Croat Med J*. 2003. Vol. 44 (3). P. 332-335.

418. Cho G. J. Genetic relationship and characteristics using microsatellite DNA loci in horse breeds. *J Life Sci*. 2007. Vol. 17. P. 699-705.

419. Jakabová D., Trandžík J., Chrastina J., Hudecová L'., Zetochová E., Bulla J., Bugarský A., Jakab F., Kozlík P. Effectiveness of six highly polymorphic microsatellite markers in resolving paternity cases in Thoroughbred horses in Slovakia. *Czech Journal of Animal Science*. 2002. Vol. 47. P. 497-501.

420. Tozaki T., Kakoi H., Mashima S., Hirota K., Hasegawa T., Ishida N., Miura N., Choi-Miura N. H., Tomita M. Population study and validation of paternity testing for Thorough bred horses by 15 microsatellite loci. *J Vet Med Sci*. 2001. Vol. 63(11). P. 1191-1197. doi: 10.1292/jvms.63.1191.

---

421. Lee S. Y., Cho G. J. Parentage testing of Thoroughbred horse in Korea using microsatellite DNA typing. *Journal of veterinary science*. 2006. Vol. 7(1). P. 63-67. doi: 10.4142/jvs.2006.7.1.63.

422. Machado F. B., de Vasconcellos Machado L., Bydlowski C. R., Bydlowski S. P., Medina-Acosta E. Gametic phase disequilibrium between the syntenic multiallelic HTG4 and HMS3 markers widely used for parentage testing in Thorough bred horses. *Mol Biol Rep*. 2012. Vol. 39 (2). P. 1447-52. doi: 10.1007/s11033-011-0881-4.

423. Sereno F., Sereno J., Vega-Pla J., Delgado J. DNA testing for parentage verification in a conservation nucleus of Pantaneiro horse. *Genet. Mol. Biol.* 2008. Vol. 31 (1). P. 64-67. doi: 10.1590/S1415-47572008000100013.

424. Saadat M., Sadegh R., Javaheri-Koupaei M. DNA Fingerprinting of Iranian Arab Horse Using Fourteen Microsatellites Markers. *Research Journal of Biological Sciences*. 2011. Vol. 6. P. 402-405.

425. Kakoi H., Nagata S., Kurosawa M. DNA Typing with 17 Microsatellites for Parentage Verification of Racehorses in Japan. *Nihon Chikusan Gakkaiho.* 2001. Vol. 72. P. 453-460.

426. Takezaki N., Nei M. Genetic Distances and Reconstruction of Phylogenetic Trees From Microsatellite DNA. *Genetics*. 1996. Vol. 144. P. 389-399.

427. Gupta A., Upriya, Bhardwaj A. S., Sharma P., Pal Y. M., Kumar M., Kumar S. Mitochondrial DNA- a tool for phylogenetic and biodiversity search in equines. *J. Biodiver. Endang. Species*. 2015. S1: 006. doi:10.4172/2332-2543.s1-006.

428. Vostrá Vydrová H., Vostrý L., Hofmanová B., Veselá Z., Schmidová J., Majzlík I. Population studies of Czech Hucul horses. *Poljo Privreda.* 2015. Vol. 21 (1). P. 41-43.

429. Khanshour A., Juras R., Blackburn R.,Cothranet G. The legend of the Canadian horse: genetic diversity and breed origin. *J. Heredity*. 2015. Vol. 106 (1) P. 37-44. doi:10.1093/jhered/esu074.

430. Rukavina D., Hasanbašic D., Pojskic N., Ramic J., Zahirovic A., Ajanovic A., Beganovic K., Durmic A. Analysis of genetic diversity among certain horse breeds from Bosnia and Herzegovina. *Veterinaria*. 2015. Vol. 64 (1). P. 25-9.

431. Winton C. L., Hegarty M. J., McMahon R., Slavov G. T., McEwan N. R., Davies-Morel M. C. G., Morgan C. M., Powell W., Nash D. M. Genetic diversity and phylogenetic analysis of native mountain ponies of Britain and Ireland reveals a novel rare population. *Ecol. Evol.* 2013. Vol. 3 (4). P. 934-947. doi: 10.1002/ece3.507.

432. Putnová L., Štohl R., Vrtková I. Using nuclear microsatellite data to trace the gene flow and population structure in Czechhorses. *Czech. J. Anim. Sci.* 2019. Vol. 64. P. 67-77. doi:10.17221/2/2018-CJAS.

433. Mackowski M., Mucha S., Cholewinski G.,Cieslak J. Genetic diversity in Hucul and Polish primitive horse breeds. *Arch. Anim. Breed*. 2015. Vol. 58 (1). P. 23-31. doi: 10.5194/aab-58-23-2015.

434. Breen M., Lindgren G., Binns M. M., Norman J., Irvin Z., Bell K., Sandberg K., Ellegren H. Genetical and physicalassign ments of equine microsatellitesfirst in tegration of anchored markers in horse genome mapping. *Mamm Genome*. 1997. Vol. 8(4). P. 267-273. doi: 10.1007/s003359900407.

435. Canõn J., Checa M. L., Carleos C., Vega-Plá J. L., Vallejo M., Dunner S. The Genetic Structure Of Spanish Celtic Horse Breeds Inferred From Microsatellite Data. *Anim. Genet*. 2000. Vol. 31. P. 39-48.

436. Bjørnstad G., Gunby E., Røed K. H. Genetic Structure of Norwegian Horse Breeds. *J. Anim. Breed. Genet.* 2000. Vol. 117. P. 307-317.

437. Bjørnstad G., Røed K. H. Breed Demarcation and Potential for Breed Allocation of Horses Assessed by Microsatellite Markers. *Anim. Genet*. 2001. Vol. 32. P. 59-65.

438. Tozaki T., Takezaki N., Hasegawa T., Ishida N., Kurosawa M., Tomita M., Saitou N., Mukoyama H. Microsatellite Variation in Japanese and Asian Horses and Their

Phylogenetic Relationship Using a European Horse Outgroup. *J. Hered*. 2000. Vol. 94. P. 374-380.

439. Vilá C., Leonard J. A., Göthreström A., Marklund S., Sandberg K., Lidén K., Wayne R. K., Ellegren H. Widespread Origins of Domestic Horse Lineages. *Science*. 2001. Vol. 291. P. 474-477.

440. Cho G. J., Cho B. W. Microsatellite DNA typing using 16 markers for parentage verification of the Korean native horse. *Asian-Aust J. Anim Sci*. 2004. Vol. 17. P. 750-754.

441. Georgescu S. E., Manea M. A., Costache M. The genetic structure of indigenous Romanian Hucul horse breed inferred from microsatellite data. *Romanian Biotechnological Letters*. 2008. Vol. 13. P. 4030–4036.

442. Seo J. H., Park K. D., Lee H. K., Kong H. S.Genetic diversity of Halla horses using microsatellite markers. *J Anim Sci Technol*. 2016. Vol. 58. (40). doi: 10.1186/s40781-016-0120-6.

443. Додохов В. В. Оценка биоразнообразия лошадей якутской породы с использованием ДНК маркеров : дис. … канд. биол. наук : 06.02.07. Якутск, 2017. 133 с.

444. Byung-Wook Ch., Ji-Hye J., Sang-Wook K., Heui-Soo K., Hak-Kyo L., Gil-Jae Ch., Ki-Duk S. Establishment of Genetic Characteristics and Individual I dentification System Using Microsatellite Lociin Jeju Native Horse. *Journal of Life Science*. 2007. Vol. 17. Is. 10. P.1441-1446.

445. Додохов В. В., Филиппова Н. П. Генетическая характеристика лошадей якутской породы по 15 микросателлитным локусам ДНК. *Эрэл-2016* : материалы Всеросс. конф. науч. молодежи. Якутск : Издательский дом СВФУ, 2016. С. 315-317.

446. Храброва Л. А. Сохранение и использование генофонда аборигенных пород лошадей. *Эффективное животноводство*. 2016. № 4. С. 33-35.

447. Калинкова Л. В., Зайцев А. М., Брэм Г., Калашников В. В. Изучение генетических особенностей вятской лошади с использованием микросателлитов ДНК. *Коневодство и конный спорт*. 2014. № 2. С.18-19.

448. Vande Goor L. H. P., van Haeringen W. A. And Lenstra J. A. Population studies of 17 equine STR for forensic and phylogenetic analysis. *Animal Genetics*. 2011. Vol. 42. P. 627-633. doi: 10.1111/j.1365-2052.2011.02194.x.

449. Калашников В. В., Зайцев А. М., Калинкова Л. В. Генетическая структура трѐх отечественных тяжеловозных пород и их генетическая дифференциация по локусам микросателлитной ДНК. *Коневодство и конный спорт*. 2014. № 4. С. 3-5.

450. Бейшова И. С. Генетическая характеристика линий костанайской породы лошадей по 17 локусам микросателлитов ДНК. *Наука и образование* : материалы IX Междунар. конф. Астана, 2014. С. 3679-3683.

451. Дудуев А. С., Хаудов А.-Б. Д., Коков З. А., Амшоков Х. К., Жекамухов М. Х., Зайцев А. М., Зайцева М. А., Гавриличева И. С., Калинкова Л. В., Райссман М. Генетическая структура кабардинской породы лошадей по локусам микросателлитов ДНК и возможности метода идентификации популяций. *Коневодство и конный спорт*. 2015. № 6. С. 18-19.

452. Калашников В. В., Калинкова Л. В., Зайцева А. М., Брем Г. Генетическая структура забайкальской породы лошадей. *Коневодство и конный спорт*. 2017. № 4. С. 22-23.

453. Сыдыков Д. А., Оразымбетова З. С. Молекулярно-генетические методы в линейном разведении лошадей кожамбердинской породной группы. *Коневодство и конный спорт*. 2017. № 4. С. 24-25.

454. Калинкова Л. В., Зайцева А. М., Брем Г., Калашников В. В. Генетический портрет башкирской лошади. *Коневодство и конный спорт*. 2016. № 6. С. 5-7.

455. Храброва Л. А. Теоретические и практические аспекты генетического мониторинга в коневодстве : дис. … д-ра с.-х. наук : 06.02.01. Дивово, 2011. 296 с.

456. Barcaccia G., Felicetti M., Galla G., Capomaccio S. Molecular analysis of genetic diversity, population structure and inbreeding level of the Italian Lipizzan horse. *Livestock Science*. 2013. Vol. 151 (2-3). P. 124–133.

457. Azor P., Valera M., Gomez M., Goyache F., Molina A. Genetic characterization of the Spanish Trotter horse breed using microsatellite markers. *Genetics and Molecular Biology*. 2007. Vol. 30. P. 37-42.

458. Thirstrup J. P., Pertoldi C., Loeschcke V. Genetic analysis, breed assignment and conservation priorities of three native Danish horse breeds. *Animal Genetics*. 2008. Vol. 39. P. 496-505.doi: 10.1111/j.1365-2052.2008.01767.x.

459. Vostry L., Vostra-Vydrova H., Hofmanova B., Moravcikova N., Vesela Z., Majzlik I. Genetic diversity in five Czech native horse breeds assessed using microsatellite markers. *Acta fytotechn zootechn*. 2018. Vol. 21 (4). P. 190-193.

460. Kusza S., Priskin K., Ivankovic A., Jedrzejewska B., Podgorski T., Javor A., Mihok S. Genetic characterization and population bottleneck in the Hucul horse based on microsatellite and mitochondrial data. *Biological Journal of the Linnean Society*. 2013. Vol. 109. P. 54 –65. doi: 10.1111/bij.12023.

461. Falconer D. S., Mackay T. F. C. Introduction in to quantitative genetics. Longman House. *Harlow Essex*. 1996. 464 p.

462. Putnová L., Štohl R., Vrtková I. Genetic monitoring of horses in the Czech Republic : A large-scale study wit hafocuson the Czech autochthonous breeds. *J Anim Breed Genet*. 2018. Vol. 135. P. 73–83. doi: 10.1111/jbg.12313.

463. Marklund S., Ellegren H., Eriksson S., Sandberg K., Andersson L. Parentage testing and linkage analysis in the horse using a set of highly polymorphic microsatellites. *Anim Genet*. 1994. Vol. 25(1). P. 19-23.

464. Wade C. M., Giulotto E., Sigurdsson S., Zoli M., Gnerre S., Imsland F., Lear T. L., Adelson D. L., Bailey E., Bellone R. R., Blöcker H., Distl O., Edgar R. C., Garber M., Leeb T., Mauceli E., MacLeod J. N., Penedo M. C., Raison J. M., Sharpe T., Vogel J., Andersson L., Antczak D. F., Biagi T., Binns M. M., Chowdhary B. P., Coleman S. J., DellaValle G., Fryc S., Guérin G., Hasegawa T., HillE W., Jurka J., Kiialainen A., Lindgren G., Liu J., Magnani E., Mickelson J. R., Murray J., Nergadze S. G., Onofrio R., Pedroni S., Piras M. F., Raudsepp T., Rocchi M., Røed K. H., Ryder O. A., Searle S., Skow L., Swinburne J. E., Syvänen A. C., Tozaki T., Valberg S. J., Vaudin M., White J. R., Zody M. C., Broad Institute Genome Sequencing Platform ; Broad Institute Whole Genome Assembly Team, Lander E. S., Lindblad–TohK. Genome sequence, comparative analysis, and population genetics of the domestic horse. *Science*. 2009. Vol. 326 (5954). P. 865-867. doi: 10.1126/science.1178158.

465. Garafutdinov R., Gainullina K. P., Kiryanova O. Y., Dolmatova I. Y., Loginov O. N., Chemeris A. DNA polymorphism of horse Equus caballus and methods of its detection. *Biomics*. 2020. Vol. 12. P. 272-299. doi:10.31301/2221-6197.bmcs.2020-16.

466. Al Abri M. A., Holl H. M., Kalla S. E., Sutter N. B., Brooks S. A. Whole genome detection of sequence and structural polymorphism in six diverse horses. *PLo S One*. 2020. Vol. 15 (4). doi: 10.1371/journal.pone.0230899.

467. Wade C. M. Assembly and Analysis of the Equine Genome Sequence. Equine Genomics. Chowdhary B. P. (Ed). 2013. P. 103-111. doi:10.1002/9781118522158.ch6.

468. Doan R., Cohen N. D, Sawyer J., Ghaffari N., Johnson C. D, Dindot S. V. Whole-genome sequencing and genetic variant analysis of a Quarter Horse mare. *BMC Genomics*. 2012. Vol. 13. P. 78. doi: 10.1186/1471-2164-13-78.

469. Jun J., Cho Y. S., Hu H., Kim H., Jho S., Gadhvi P., Park K. M., Lim J., Paek W. K., Han K., Manica A., Edwards J. S., Bhak J. Whole genome sequence and analysis of the Marwari horse breed and its genetic origin. *BMC Genomics*. 2014. Vol. 15. S. 4. doi: 10.1186/1471-2164-15-S9-S4.

470. Kalbfleisch T. S., Rice E. S., De Priest Jr. M. S., Walenz B. P., Hestand M. S, Vermeesch J. R., OConnell B. L., Fiddes I. T., Vershinina A. O., Saremi N. F., Petersen J. L., Finno C. J, Bellone R. R., McCue M. E., Brooks S. A, Bailey E., Orlando L., Green R. E., Miller D. C., Antczak D. F., MacLeod J. N. Improved reference genome for the domestic horse increases assembly contiguity and composition. *Commun. Biol*. 2018. Vol. 1. P. 197. doi: 10.1038/s42003-018-0199-z.

471. Cosgrove E. J., Sadeghi R., Schlamp F., Holl H. M., Moradi-Shahrbabak M., Miraei-Ashtiani S. R., Abdalla S., Shykind B., Troedsson M., Stefaniuk-Szmukier M., Prabhu A., Bucca S., Bugno-Poniewierska M., Wallner B., Malek J., Miller D. C., Clark A. G., Antczak D. F., Brooks S. A. Genome Diversity and the Origin of the Arabian Horse. *Sci. Rep*. 2020. Vol. 10(1). P. 9702. doi: 10.1038/s41598-020-66232-1.

472. Seong H. S., Kim N. Y., Kim D. C., Hwang N. H., Son D. H., Shin J. S., Lee J. H., Chung W. H., Choi J. W. Whole genome sequencing analysis of horse populations in habiting the Korean Peninsula and Przewalski's horse. *Genes Genomics*. 2019. Vol. 41(6). P. 621-628. doi: 10.1007/s13258-019-00795-w.

473. Lindgren G., Sandberg K., Persson H., Marklund S., Breen M., Sandgren B., Carlstén J., Ellegren H. A primary male autosomal linkage map of the horse genome. *Genome Research.* 1998. Vol. 8. P. 951-966.

474. Guérin G., Bailey E., Bernoco D., Antczak D. F., Bell K., Binns M. M., Bowling A. T., Brandon R., Cholewinski G., Cothran E. G., Ellegren H., Förster M., Godard S., Horin P., Ketchum M., Lindgren G., McPartlan H., Mériaux J.- C., Mickelson J. R., Millon L. V., Murray J., Neau A., Røed K., Sandberg K., Shiue Y.- L., Skow L. C., Stott M., Swinburne J., Valberg S. J., Van Haeringen H., Van Haeringen W. A., Ziegle J. Report of the International Equine Gene Mapping Workshop : Male Linkage Map. *Animal Genetics.* 1999. Vol. 30. P. 341-354.

475. Swinburne J., Gerstenberg C., Breen M., Aldridge V., Lockhart L., Marti E., Antczak D., Eggleston-Stott M., Bailey E., Mickelson J., Røed K., Lindgren G., von Haeringen W., Guérin G., Bjarnason J., Allen T., Binns M. First comprehensive low-density horse linkage map based on two three-generation, full-sibling, cross-bred reference families. *Genomics.* 2000. Vol. 66. P. 123-134.

476. Bailey E., Reid R. C., Skow L. C., Mathiason K., Lear T. L., Mc Guire T. C. Linkage of the gene for equine combinedimmuno deficiency diseaseto microsatellite markers HTG8 and HTG4. *Animal Genetic*. 1997. Vol. 28 (1). P. 268-273.

477. Putnová L., Štohl R. The assignment success for 22 horse breeds registered in the Czech Republic: The machine learning perspective. *Czech Journal of Animal Science.* 2021. Vol. 66. P. 1-12. doi:10.17221/120/2020-CJAS.).

478. Goncharenko G., Zyat`kov S., Kruk A. STR-markery` v DNK daktiloskopii domashnix sobak Canis familiaris L. *Izvestiya Gomel`skogo gosudarstvennogo universiteta imeni F. Skoriny`*.2017. 3. P. 25-30.

479. Тарасенкова Н. А., Коптев В. В. Значение ДНК маркеров для развития современного собаководства. *Вестник АПК Верхневолжья*. 2015. Вып. 1 (29). С. 44-52.

480. Savolainen P., Zhang Y. P., Luo J., Lundeberg J., Leitner T. Genetic evidence for an East Asian origin of domestic dogs. *Science*. 2002. Vol. 298. P. 1610-1613.

481. Yilmaz O. Controversies of Origin of Domestic Dog-III-References of Modern Dogs until 2006. *Sch J Agric Vet Sci*. 2017. Vol. 4 (11). P. 484-490.

482. Рябинина О. М. Филогенетические связи и генетическое разнообразие некоторых отечественных пород собак (по данным анализа мтДНК) : дис. ... канд. биол. наук : 03.00.15. Москва, 2008. 117 с.

483. Eckert K.A., Hile S.E. Every microsatellite is different: Intrinsic DNA features dictate mutagenesis of common microsatellites present in the human genome. *Mol. Carcinog*. 2009. 48. P. 379-388.

484. Parker H. G., Kim L. V., Sutter N. B., Carlson S., Lorentzen T. D., Malek T. B., Johnson G. S., DeFrance H. B., Ostrander E. A., Kruglyak L. Genetic structure of the purebred domestic dog. *Science.* 2004. Vol. 304. P. 1160-1164.

485. Ye J.-H., Ren D., Xie A.-F., Wu X.-P., Xu L., Fu P.-F., Zhao H.-A., Yang Q.-Y. Microsatellite-based Genetic Diversity and Evolutionary Relationships of Six Dog Breeds. *Psychology Faculty Publications*. 2009. Vol. 22 (8). P. 112-1106.

486. Hartl D. L., Clark A. G. Principles of population genetics. 3rd edition (1993· re· issued 1997). By Daniel L. Hartl and Andrew G. Clark. Sunderland, MA: Sinauer 519 pp. *BioEssays*. 1999. Vol. 20 (12). P. 1055-1055.

487. Ji H. J., Kim E., Lee K. K., Kang T. Y., Lee J. M., Shin H. D., Kim L. Beagle dog's parentage testing by using 22 ISAG microsatellite markers. *Korean J Vet Res*. 2007. Vol. 47. P. 457-460.

488. Cargill E. J., Clark L. A., Steiner J. M., Murphy K. E. Multiplexing of canine microsatellite markers for whole-genome screens. Genomics. 2002. Vol. 80. P. 250-253. doi: 10.1006/geno.2002.6827.

489. Pádár Z., Egyed B., Kontadakis K., Zöldág L., Fekete S. Resolution of parentage in dogs by examination of microsatellites after death of putative sire: case report. *Acta Vet Hung*. 2001. Vol. 49(3). P. 269-273. doi: 10.1556/004.49.2001.3.2.

490. Zajc I., Sampson J. DNA microsatellites in domesticated dogs: application in paternity disputes. *Pflugers Arch*. 1996. Vol. 431 № 6 (2). doi: 10.1007/BF02346338.

491. Jouquand S., Priat C., Hitte C., Lachaume P., André C., Galibert F. Identification and characterization of a set of 100 tri· and dinucleotide microsatellites in the canine genome. *Animal Genetics*. 2000. Vol. 31. P. 266-272. doi:10.1046/j.1365-2052.2000.00642.x.

492. Moon S. H., Jang Y. J., Han M. S., Cho M. H. Population genetic study of 10 short tandem repeat loci from 600 domestic dogs in Korea. *J Vet Sci*. 2016. 17 (3). P. 391-398. doi: 10.4142/jvs.2016.17.3.391.

493. Gentilini F., Turba M. E., Andreani G. DNA fingerprinting using microsatellites to solve a parentage testing in the boxer breed. *Vet Res Commun*. 2004. Vol. 28 (1). P. 185-8. doi: 10.1023/b:verc.0000045402.24840.71.

494. Ichikawa Y., Takagi K., Tsumagari S., Ishihama K., Morita M., Kanemaki M., Takeishi M., Takahashi H. Canine parentage testing based on microsatellite polymorphisms. *J Vet Med Sci*. 2001. Vol. 63 (11). P. 1209-1213. doi: 10.1292/jvms.63.1209.

495. Oishi N, Maeda M, Makimura K., Sawaguchi T., Hayashiya M., Kubo T.,

Kano R., Hasegawa A., Kasahara M. Microsatellite polymorphism in Japanese mongrel dogs. *J Vet Med Sci*. 2005. Vol. 67 (10). P. 1055-1057. doi: 10.1292/jvms.67.1055.

496. Vychodilova L., Necesankova M., Albrechtova K., Hlavac J., Modry D., Janova E., Vyskocil M., Mihalca A. D., Kennedy L. J., Horin P. Genetic diversity and population structure of African village dogs based on microsatellite and immunity-related molecular markers. *PLoS One*. 2018. Vol. 13(6). doi: 10.1371/journal.

497. Leroy G., Verrier E., Meriaux J. C., Rognon X. Genetic diversity of dog breeds: between- breed diversity, breed assignation and conservation approaches. *Animal Genetics*. 2009. Vol. 40. P. 333-343.doi: 10.1111/j.1365-2052.2008.01843.x.

498. Zenke P., Egyed B., Zöldág L., Pádár Z. Population genetic study in Hungarian canine populations using forensically informative STR loci. *Forensic Sci Int Genet*. 2011. Vol. 5(1). doi: 10.1016/j.fsigen.2010.03.013.

499. Ogden R., Mellanby R. J., Clements D., Gow A. G., Powell R., McEwing R. Genetic data from 15 STR loci for forensic individual identification and parentage analyses in UK domestic dogs (Canis lupus familiaris). *Forensic Sci Int Genet*. 2012. Vol. 6(2). P. 63-65. doi: 10.1016/j.fsigen.2011.04.015.

500. Radko A., Słota E. Application of 19 microsatellite DNA markers for parentage control in Borzoi dogs. *Pol J Vet Sci*. 2009. Vol. 12(1). P. 113-7.

501. Arata S., Asahi A., Takeuchi Y., Mori Y. Microsatellite loci analysis for individual identification in Shiba Inu. *J Vet Med Sci*. 2016. Vol. 78 (3). P. 439-41. doi: 10.1292/jvms.15-0579.

502. Přibáňová M., Horák P., Schröffelová D., Urban T., Bechyňová R., Musilová L. Analysis of genetic variability in the Czech Dachshund population using microsatellite markers. *J. of Animal Breeding and Genetics*. 2009. Vol. 126. P. 311-318. doi: 10.1111/j.1439-0388.2008.00772.x.

503. Zajc I., Mellersh C. S., Sampson J. Variability of canine microsatellites with in and between different dog breeds. *Mammalian Genome.* 1997. Vol. 8. P. 182–185. doi: 10.1007/s003359900386.

504. Goleman M., Balicki I., Radko A., Rozempolska-Rucińska I., Zięba G. Pedigree and Molecular Analyses in the Assessment of Genetic Variability of the Polish Greyhound. *Animals*. 2021. Vol. 11(2). P. 353. doi: 10.3390/ani11020353.

505. Goleman M., Balicki I., Radko A., Jakubczak A., Fornal A. Genetic diversity of the Polish Hunting Dog population based on pedigree analyses and molecular studies. *Livestock Science*. 2019. Vol. 229. P. 114-117. doi: 10.1016/j.livsci.2019.09.017.

506. San José C., Cárcel M. J., Tejedor M. T. Monteagudo L. V. Microsatellite DNA markers applied to the classification of the Podenco Valenciano canine breed. *Italian Journal of Animal Science*. 2018. Vol. 17. (1). P. 49-52. doi:10.1080/1828051X.2017.1350119.

507. La Manna V., Lasagna E., Ceccobelli S., Di Lorenzo P., De Cosmo A. M., Attard G., Sarti F. M., Panella F., Renieri C. Genetic Differentiation Between *Segugio Dell'Appeinnino* and *Segugio Maremmano* Dog Breeds Assessed by Microsatellite Markers. *Italian Journal of Animal Science*. 2015. Vol. 14. P. 3. doi:10.4081/ijas.2015.3809.

508. Vladimir D., Marko R., Ljubodrag S., Darko D., Milivoje U., Umit O., Zoran S. Use of Microsatellites in Genetic Diversity Assessment, Parentage Testing and Individual Identification of the Kangal Shepherd Dog. *Acta Veterinaria*. 2020. Vol. 70 (2). P. 170-181. doi: https://doi.org/10.2478/acve-2020-0012.

509. Gagliardi R., Silvia L., García C., Arruga M. V. Microsatellite characterization of Cimarron Uruguayo dogs. *Genetics and Molecular Biology*. 2011. Vol. 34(1). P. 165-168. doi: 10.1590/S1415-47572010005000101.

510. Radko A., Rubiś D., Szumiec A. Analysis of microsatellite DNA polymorphism in the Tatra Shepherd Dog. *Journal of Applied Animal Research*. 2017. Vol. 46 (1). P. 1-3. doi:10.1080/09712119.2017.1292912.

511. Bigi D., Marelli S., Randi E., Polli M. Genetic characterization of four native Italian shepherd dog breeds and analysis of their relationship to cosmopolitan dog breeds using microsatellite markers. *Animal*. 2015. Vol. 9(12). P. 1921-1928. doi:10.1017/S1751731115001561.

512. Irion D. N., Schaffer A. L., Famula T. R., Eggleston M. L., Hughes S. S., Pedersen N. C. Analysis of Genetic Variation in 28 Dog Breed Populations With 100 Microsatellite Markers. *Journal of Heredity*. 2003. Vol. 94 (1). P. 81-87. doi: 10.1093/jhered/esg004

513. Wayne R. K., Nash W. G., O'Brien S. J. Chromosomal evolution of the Canidae. I. Species with high diploid numbers. *Cytogenet. Cell Genet.* 1987. Vol. 44. P. 123-133.

514. Wayne R. K., Nash W. G., O'Brien, S. J. Chromosomal evolution of the Canidae. II. Divergence from the primitive carnivore karyotype. *Cytogenet. Cell Genet.* 1987. Vol. 44. P. 134-141.

515. Vila C., Savolainen P., Maldonado J. E., Amorim I. R., Rice J. E., Honeycutt R. L., Crandall K. A., Lundeberg J., Wayne R. K. Multiple and ancient origins of the domestic dog. *Science.* 1997. Vol. 276. P. 1687-1689.

516. Leonard J. A., Wayne R. K., Wheeler J., Valadez R., Guillen S., Vila C. Ancient DNA evidence for Old World origin of New World dogs. *Science*. 2002. Vol. 298. P. 1613-1616.

517. Savolainen P., Zhang Y. P., Luo J., Lundeberg J., Leitner T. Genetic evidence for an East Asian origin of domestic dogs. *Science.* 2002. Vol. 298. P. 1610-1613.

518. Štikarová R., Vašek J., Čílová D., Vejl P. Estimation of genotyping errors of STR markers in dogs and wolves. Forensic Science International: Genetics Supplement Series. 2019. Vol. 7 (1). P. 901-902. doi: 10.1016/j.fsigss.2019.11.014.

519. Seddon J., Sundqvist A. K., Björnerfeldt S., Ellegren H. Genetic identification of immigrants to the Scandinavian wolf population. Conserv Genet. 2006. Vol. 7. P. 225-230. doi: 10.1007/s10592-005-9001-0.

520. Sundqvist A.-K. Conservation Genetics of Wolves and their Relationship with Dogs. Acta Universitatis Upsaliensis. Digital comprehencive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Technology. Uppsala, 2008. 384 p.

521. Klukowska J., Strabel T., Mackowski M., Switonski, M. Microsatellite polymorphism and genetic distances between the dog, red fox and arctic fox. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2003. Vol. 120. P. 88-94. doi:10.1046/j.1439-0388.2003.00375.x.

522. Zatoń-Dobrowolska M., Mucha A., Wierzbicki H., Morrice D., Moska M., Dobrowolski M., Przysiecki P. Microsatellite polymorphism and its association with body weight and selected morphometrics of farm red fox (Vulpes VulpesL.). *J Appl Genetics*. 2014. Vol. 55. P. 475-484. doi: 10.1007/s13353-014-0217-x.

523. Manivannan A. Population Genetic Analysis of Red Foxes (Vulpes vulpes) in Hedmark Country, Norway - A Pilot Study. 2013. 95 p.

524. Hong Y., Kim K. S., Lee H., Min M. S. Population genetic study of the raccoon dog (Nyctereutes procyonoides) in South Korea using newly developed 12 microsatellite markers. *Genes Genet Syst*. 2013. Vol. 88(1). P. 69-76. doi: 10.1266/ggs.88.69.

525. Ślaska B., Jeżewska G., Zięba G., Pierzchała M. Genetic variability and linkage of selected microsatellite markers in the Chinese raccoon dog (Nyctereutes procyonoides procyonoides). *Arch. Anim. Breed*. 2008. Vol. 51 (2). P. 187-198.

526. Koskinen M. T. Individual assignment using microsatellite DNA reveals unambiguous breed identification in the domestic dog. *Anim Genet*. 2003. Vol. 34 (4). P. 297-301. doi: 10.1046/j.1365-2052.2003.01005.x.

527. Brewer G.J., Venta P.J., Yuzbasiyan-Gurkan V. Microsatellite markers for identifying canine genetic diseases or traits. Patent WO 97/31011. URL: https://patents.google.com/patent/WO1997031011A1/en.

528. DeNise S., Johnston E., Halverson J., Marshall K., Rosenfeld D., McKenna S., Sharp T., Edwards J. Power of exclusion for parentage verification and probability of match for identity in American kennel club breeds using 17 canine microsatellite markers. *Animal Genetics*. 2004. Vol. 35. P. 14-17.doi: 10.1046/j.1365-2052.2003.01074.x

529. Ostrander E. A., Wayne R. K. The canine genome. *Genome Res*. 2005. Vol. 15. P. 1706-1716.

530. Ostrander E. A., Dreger D. L., Evans J. M. Canine Cancer Genomics : Lessons for Canine and Human Health. *Annu Rev Anim Biosci*. 2019. Vol. 15 (7). P. 449-472. doi: 10.1146/annurev-animal-030117-014523.

531. Ciampolini R, Cecchi F, Bramante A, Tancredi M, Presciuttini S. Towards standardization of canine STRs: a proposed nomenclature for six markers from the ISAG comparison-test panel. *Anim Genet*. 2012. Vol. 43(4). P. 463-467. doi: 10.1111/j.1365-2052.2011.02267.x.

532. Leroy G., Verrier E., Meriaux J. C., Rognon X. Genetic diversity of dog breeds: between- breed diversity, breed assignation and conservation approaches. *Animal Genetics*. 2009. Vol. 40. P. 333-343. doi:10.1111/j.1365-2052.2008.01843.x.

533. Zenke P., Egyed B., Zöldág L., Pádár Z. Population genetic study in Hungarian canine populations using forensically informative STR loci. *Forensic Sci Int Genet*. 2011.

Vol. 5(1). P. 31-36. doi: 10.1016/j.fsigen.2010.03.013.

534. Breen M., Hitte C., Lorentzen T. D., Thomas R., Cadieu E., Sabacan L., Scott A., Evanno G., Parker H. G., F Kirkness E., Hudson R., Guyon R., Mahairas G. G., Gelfenbeyn B., Fraser C. M., André C., Galibert F., Ostrander E. A. An integrated 4249 marker FISH/RH map of the canine genome. *BMC Genomics*. 2004. Vol. 5 (65). P. 1-11. doi: 10.1186/1471-2164-5-65.

535. Hitte C., Derrien T., Andre C., Ostrander E.A., Galibert E. CRH_Server: An online comparative and radiation hybrid mapping server for the canine genome. *Bioinformatics*. 2004. Vol. 20. P. 3665–3667.

536. Kirkness E. F., Bafna V., Halpern A. L., Levy S., Remington K., Rusch D. B., Delcher A. L., Pop M., Wang W., Fraser C. M., Venter J. C. The dog genome: Survey sequencing and comparative analysis. *Science*. 2003. Vol. 301. P. 1898-1903.

537. Jouquand S., Priat C., Hitte C., Lachaume P., André C., Galibert F. Identification and characterization of a set of 100 tri- and dinucleotide microsatellites in the canine genome. *Animal Genetics*. 2000. Vol. 31. P. 266-272. doi: 10.1046/j.1365-2052.2000.00642.x.

538. Genomic institute. Santa Cruz. Universiti of California. вебсайт URL: http://www.genome.ucsc.edu.

539. Lindblad-Toh K., Wade C. M., Mikkelsen T. S., Karlsson E. K., Jaffe D. B., Kamal M., Clamp M., Chang J. L., Kulbokas E. J., Zody M. C., Mauceli E., Xie X., Breen M., Wayne R. K., Ostrander E. A., Ponting C. P., Galibert F., Smith D. R., DeJong P. J., Kirkness E., Alvarez P., Biagi T., Brockman W., Butler J., Chin C. W., Cook A., Cuff J., Daly M. J., DeCaprio D., Gnerre S., Grabherr M., Kellis M., Kleber M., Bardeleben C., Goodstadt L., Heger A., Hitte C., Kim L., Koepfli K. P., Parker H. G., Pollinger J. P., Searle S. M., Sutter N. B., Thomas R., Webber C., Baldwin J., Abebe A., Abouelleil A., Aftuck L., Ait-Zahra M., Aldredge T., Allen N., An P., Anderson S., Antoine C., Arachchi H., Aslam A., Ayotte L., Bachantsang P., Barry A., Bayul T., Benamara M., Berlin A., Bessette D., Blitshteyn B., Bloom T., Blye J., Boguslavskiy L., Bonnet C., Boukhgalter B., Brown A., Cahill P., Calixte N., Camarata J., Cheshatsang Y., Chu J., Citroen M., Collymore A., Cooke P., Dawoe T., Daza R., Decktor K., DeGray S., Dhargay N., Dooley K., Dooley K., Dorje P., Dorjee K., Dorris L., Duffey N., Dupes A., Egbiremolen O., Elong R., Falk J., Farina A., Faro S., Ferguson D., Ferreira P., Fisher S., FitzGerald M.,

Foley K., Foley C., Franke A., Friedrich D., Gage D., Garber M., Gearin G., Giannoukos G., Goode T., Goyette A., Graham J., Grandbois E., Gyaltsen K., Hafez N., Hagopian D., Hagos B., Hall J., Healy C., Hegarty R., Honan T., Horn A., Houde N., Hughes L., Hunnicutt L., Husby M., Jester B., Jones C., Kamat A., Kanga B., Kells C., Khazanovich D., Kieu A. C., Kisner P., Kumar M., Lance K., Landers T., Lara M., Lee W., Leger J. P., Lennon N., Leuper L., LeVine S., Liu J., Liu X., Lokyitsang Y., Lokyitsang T., Lui A., Macdonald J., Major J., Marabella R., Maru K., Matthews C., McDonough S., Mehta T., Meldrim J., Melnikov A., Meneus L., Mihalev A., Mihova T., Miller K., Mittelman R., Mlenga V., Mulrain L., Munson G., Navidi A., Naylor J., Nguyen T., Nguyen N., Nguyen C., Nguyen T., Nicol R., Norbu N., Norbu C., Novod N., Nyima T., Olandt P., O'Neill B., O'Neill K., Osman S., Oyono L., Patti C., Perrin D., Phunkhang P., Pierre F., Priest M., Rachupka A., Raghuraman S., Rameau R., Ray V., Raymond C., Rege F., Rise C., Rogers J., Rogov P., Sahalie J., Settipalli S., Sharpe T., Shea T., Sheehan M., Sherpa N., Shi J., Shih D., Sloan J., Smith C., Sparrow T., Stalker J., Stange-Thomann N., Stavropoulos S., Stone C., Stone S., Sykes S., Tchuinga P., Tenzing P., Tesfaye S., Thoulutsang D., Thoulutsang Y., Topham K., Topping I., Tsamla T., Vassiliev H., Venkataraman V., Vo A., Wangchuk T., Wangdi T., Weiand M., Wilkinson J., Wilson A., Yadav S., Yang S., Yang X., Young G., Yu Q., Zainoun J., Zembek L., Zimmer A., Lander E. S. Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature*. 2005. Vol. 438, is.7069. P.803-19. doi: 10.1038/nature04338.

540. Graham E. A. Nonhuman DNA. *Forensic science, medicine, and pathology*. 2005. Vol. 1(2). P. 159-161.

541. Kun T., Lyons L. A., Sacks B. N., Ballard R. E., Lindquist C., Wictum E. J. Developmental validation of Mini-DogFiler for degraded canine DNA. Forensic Sci. Int. Genet. 2013. Vol. 7. P. 151–158. doi: 10.1016/j.fsigen.2012.09.002.

542. Gül E., Erkan I., Rayimoğlu G., Yükseloğlu E. H. Forensic Sciences Pets Dog (Canis lupus familiaris) with the Identification of STR Analysis. European Academy of Forensic Science (EAFS), The Hague. Hollanda. 20-24 Ağustos. 2012. P. 336.

543. Gül E.,Ülgensaka S., Rayimoğlu G., Yükseloğlu E. H. Pet dogs (Canis lupus familiaris) with the identification of str analysis in forensic sciences International VET istanbul group congress 2014. İstanbul, Türkiye. 28-30 Nisan. 2014. P. 1.

544. Moon S. H., Jang Y. J., Han M. S., Cho M. H. Population genetic study of 10 short tandem repeat loci from 600 domestic dogs in Korea. J Vet Sci. 2016. Vol. 17(3). P. 391-398. doi: 10.4142/jvs.2016.17.3.391.

545. Liu, Y., Xu, J., Chen, M., Wang C., Li S. A unified STR profiling system across multiple species with whole genome sequencing data. *BMC Bioinformatics.* 2019. Vol. 20. P. 671. https://doi.org/10.1186/s12859-019-3246-y.

546. Wang M. L., Jin X. Y., Xiong X., Yang J. L., Li J. P., Wang Q., Zhu B. F., Deng Y. J. Polymorphism analyses of 19 STRs in Labrador Retriever population from China and its heterozygosity comparisons with other retriever breeds. *Mol Biol Rep*. 2019. Vol. 46 (2). P. 1577-1584. doi: 10.1007/s11033-019-04601-4.

547. Kanthaswamy S., Tom B. K., Mattila A. M., Johnston E., Dayton M., Kinaga J., Erickson B. J., Halverson J., Fantin D., DeNise S., Kou A., Malladi V., Satkoski J., Budowle B., Smith D. G., Koskinen M. T. Canine population data generated from a multiplex STR kit for use in forensic casework. J. Forensic Sci. 2009. Vol. 54. P. 829-840. doi: 10.1111/j.1556-4029.2009.01080.x.

548. Wictum E., Kun T., Lindquist C, Malvick J, Vankan D, Sacks B. Developmental validation of Dog Filer, a novel multiplex for canine DNA profiling in forensic casework. *Forensic Sci Int Genet*. 2013. Vol. 7(1). P. 82-91. doi: 10.1016/j.fsigen.2012.07.001

549. Van Asch B., Alves C., Gusmão L., Pereira V., Pereira F., Amorim A. A new autosomal STR nineplex for canine identification and parentage testing. *Electrophoresis*. 2009. Vol. 30(2). P. 417-23. doi: 10.1002/elps.200800307

550. Van Asch B., Pereira F. State-of-the-Art and Future Prospects of Canine STR-Based Genotyping. *The Open Forensic Science Journal*. 2010. Vol. 3. P. 45-52.

551. Burt D. W. Origin and evolution of avian microchromosomes. *Cytogenet. Genome Res*. 2002. Vol. 96. P. 97-112.

552. Schmid A., Knoebber J., Vogt S., Konig D., Deibert P., Bultermann D., Heinrich L., Baumstark M. W., Berg A., Storch M. J. Lipid profiles of persons with paraplegia and tetraplegia: sex differences. *J Spinal Cord Med.* 2008. Vol. 31. P. 285-289.

553. Derjusheva S., Kurganova A., Habermann F., Gaginskaya E. High chromosome conservation detected by comparative chromosome painting inchicken, pigeon and passerine birds. *Chromosome Res*. 2004. Vol. 12. P. 715-723.

554. Shetty S., Griffin D. K., Marshall Graves J. A. Comparative painting reveals strong chromosome homology over 80 million years of bird evolution. *Chromosome Research*. 1999. Vol. 7. P. 289-295.

555. Лановенко О. Г. Спадкова мінливість виду *Gallus gallusl*. Та можливість використання генетичних маркерів у селекції на продуктивність. *Природничий альманах.* Серія : Біологічні науки. 2011. № 15. С. 74-82.

556. Bateson W., Saunders E. R. Experimental Studies in the Physiology of Heredity. Reports to the Evolution Committee of the Royal Society. Report I. London : Harrison and Sons, 1902. 160 p.

557. Чепіга А. М. Аналіз генетичного різноманіття локальних порід та породних груп качок китайської та української селекції за використання мікросателітних ДНК-локусів : дис. ... канд. с.-г. наук : 03.00.15. с. Чубинське, Київ. обл, 2020. 200с.

558. Schmid M., Nanda I., Hoehn H., Schartl M., Haaf T., Buerstedde J. M., Arakawa H., Caldwell R. B., Weigend S., Burt D. W., Smith J., Griffin D. K., Masabanda J. S., Groenen M. A., Crooijmans R. P., Vignal A., Fillon V., Morisson M., Pitel F., Vignoles M., Garrigues A., Gellin J., Rodionov A. V., Galkina S.A., Lukina N. A., Ben-Ari G., Blum S., Hillel J., Twito T., Lavi U., David L., Feldman M. W., Delany M. E., Conley C. A., Fowler V. M., Hedges S. B., Godbout R., Katyal S., Smith C., Hudson Q., Sinclair A., Mizuno S. Second reporton chicken genes and chromosomes 2005. *Cytogenet. Genome Res*. 2005. Vol. 109 (4). P. 415-479.

559. Wakchaure R., Ganguly S., Para P.A., Praveen P. K., Qadri K. Molecular Markers and their Applications in Farm Animals: A Review. *International Journal of Recent Biotechnology*. 2015. Vol. 3 (3). P. 23-29.

560. Новгородова И. П., Гладырь Е. А., Фисинин В. И., Зиновьева Н. А. Идентификация породной принадлежности кур на основе микросателлитного анализа. *Достижения науки и техники АПК*. 2015. № 29 (11). P. 88-90.

561. Новгородова И. П., Фисинин В. И., Зиновьева Н. А., Гладырь Е. А., Михайлов М. В., Ройтер Я. С., Брем Г. Исследование информативности мультиплексных тест-систем анализа микросателлитов кур с различным числом локусов. *Достижения науки и техники АПК*. 2012. № 8. С. 62-65.

562. Новгородова И. П., Зиновьева Н. А., Гладырь Е. А., Фисини В. Е. Анализ генетического разнообразия декоративных пород кур на основе микросателлитных маркеров. *Достижения науки и техники АПК*. 2016. № 30 (1). С. 69-71.

563. Abebe A. S., Mikko S., Johansson A. M. Genetic diversity of five local Swedish chicken breeds detected by microsatellite markers. *A Peer – Reviewed, Open Access Journal*. 2015. Vol. 10 (4). P. 1-13.

564. Chen G., Bao W., Shu J., Ji C., Wang M., Eding H. Assessment of population structure and genetic diversity of 15 Chinese indigenous chicken breeds using microsatellite markers. *Asian-Aust J Anim Sci*. 2008. Vol. 21 (3). P. 331-339.

565. Bianchi M., Ceccobelli S., Landi V., Di Lorenzo P., Lasagna E., Ciocchetti M., Sahin E., Mugnai C., Panella F, Sarti F. A microsatellites – based survey on the genetic structure of two Italian local chicken breeds. *It. J. Anim. Sci*. 2011. Vol. 10(3). P. 205-210.

566. Maharani D., Hariyono D. N. H., Cho S., Manjula P., Seo D., Choi N., Sidadolog J. H. P., Lee J. H. Genetic diversity among Indonesian local duck populations in Java Island assessed by microsatellite markers. *Journal of Animal Breeding and Genomics.* 2017. Vol. 1 (2). P. 136-142.

567. Granevitze Z., Hillel J., Chen G. H., Cuc N. T. K., Feldman M., Eding H. Genetic diversity within chicken populations from different continents and management histories. *Anim Genet*. 2007. Vol. 38. P. 576-583.

568. Suh S., Sharma A., Lee S., Cho C. Y., Kim J. H., Choi S. B., Kim H., Seong H. H., Yeon S. H., Kim D. H., Ko Y. G. Genetic diversity and relationships of Korean chicken breeds based on 30 microsatellite markers. *Asian Australas. J. Anim. Sci*. 2014. Vol. 27 (10). P. 1399-1405.

569. Genet C., Vignal A., Larzul C. Isolation and characterization of microsatellite genetic markers from Peking and Muscovy ducks. *Br Poult Sci*. 2003. Vol. 44. P. 794-795.

570. Huang Y. H, Tu J. F, Cheng X. B. Characterization of 35 novel microsatellite DNA markers from the duck (Anas platyrhynchos) genome and cross-amplification in other birds. *Genet Sel Evol.* 2005. Vol. 37. P. 455-472.

571. Crittenden L. B., Provencher L., Levin I., Abplanalp H., Briles R. W. Characterization of a Red Jungle Fowl by White Leghorn back crossreference population for molecular mapping of the chicken genome. *Poult Sci*. 1993. Vol. 72. P. 334-348.

572. Hillel J., Granevitze Z., Twito T., Ben-Avraham D., Blum S., Lavi U., David

L., Feldman M. W., Cheng H., Weigend S. Molecular markers for the assessment of chicken biodiversity. *World's Poultry Science Journal*. 2007. Vol. 63. P. 34-45.

573. Hillel J., Groenen M. A. M., Tixier-Boichard M., Korol A. B., David L., Kirzhner V. M. Biodiversity of 52 chicken populations assessed by microsatellite typing of DNA pools. *Genet Sel Evol*. 2003. Vol. 35. P. 533-557.

574. Carco G., Grajewski B., Cassandroa M., Lisowski M., Szwaczkowski T. Genetic variability of some Italian and Polish duck breeds. *Italian Journal of Animal Science*. 2018. http://www.tandfonline.com/loi/tjas20.

575. Новгородова И. П., Волкова В. В., Гладырь Е. А., Селионова М. И., Растоваров Е. И., Фисинин В. И., Зиновьева Н. А. Изучение информативности микросателлитов кур G. gallus для характеристики аллелофонда индеек M. gallopavo. *Достижения науки и техники АПК.* 2011. № 10. P. 66-67.

576. Nedup D., Monchai D., Yupin P. Genetic characterization of Bhutanese native chickens based on an analysis of Red Junglefowl (Gallus gallus gallus and Gallus gallus spadecieus), domestic Southeast Asian and commercial chicken lines (Gallus gallus domesticus). *Genetics and Molecular Biology.* 2012. Vol. 35(3). P. 603-609. doi: 10.1590/S1415-47572012005000039.

577. Romanov M. N, Weigend S. Analysis of genetic relationships between various populations of domestic and Jungle fowl using microsatellite markers. *Poult Sci.* 2001. Vol. 80. P. 1057-1063.

578. Mahammi F., Gaouar S., LaloÖe D., Faugeras R., Tabet-Aoul N., Rognon X., Tixier-Boichard M., Saidi-Mehtar N. A molecular analysis of the patterns of genetic diversity in local chickens from western Algeria in comparison with commercial lines and wild jungle fowls. *J. Anim. Breed. Genet*. 2016. Vol. 33. P. 59-70.

579. Hariyono D. N. H., Maharani D., Cho S., Manjula P., Seo D., Choi N., Sidadolog J. H. P., Lee J. H. Genetic diversity and phylogenetic relationship analyzed by microsatellite markers in eight Indonesian local duck populations. *Asian-Australas J Anim Sci*. 2019. Vol. 32. P31-37.

580. Huo J. L., Wu G. S., Chen T., Huo H. L., Yuan F., Liu L. X., Ge C. R., Miao Y. W. Genetic diversity of local Yunnan chicken breeds and their relation ships with Red Junglefowl. *Genet Mol Res*. 2014. Vol. 13 (2). P. 3371-3383. doi: 10.4238/2014.April.29.16.

581. Carvalho D. A., Martínez A. M., Carolino I., Barros M. C., Vallejo M. E. C., Santos-Silva F., de Oliveira Almeida M. J., Carolino N., Delgado Bermejo Bermejo J. V., Sarmento J. L. R. Diversity and Genetic Relationship of Free-Range Chickens from the Northeast Region of Brazil. Animals. *Open Access Journal From MDPI*. 2020. Vol. 10 (10). P. 1857. doi: 10.3390/ani10101857.

582. Loywyck V., Bed'Hom B., Pinard-van der Laan M.-H., Pitel F., Verrier E., Bijma P. Evolution of the polymorphism at molecular markers in QTL and non-QTL regions in selected chicken lines (Open Access publication). *Genetics, selection, evolution: GSE*. 2008.Vol. 40. P. 639-661. 10.1051/gse:2008025.

583. Dorji N., Duangjinda M., Phasuk Y. Genetic characterization of Bhutanese native chickens based on an analysis of Red Junglefowl (Gallus gallus gallus and Gallus gallus spadecieus), domestic Southeast Asian and commercial chicken lines (Gallus gallus domesticus). *Genetics and Molecular Biology*. 2012. Vol. 35(3). P. 603-609. doi:10.1590/S1415-47572012005000039.

584. Romanov M. N, Weigend S. Analysis of genetic relationships between various populations of domestic and Jungle fowl using microsatellite markers. *Poult Sci*. 2001. Vol. 80. P. 1057-1063.

585. Mahammi F., Gaouar S., LaloÖe D., Faugeras R., Tabet-Aoul N., Rognon X., Tixier-Boichard M., Saidi-Mehtar N. A molecular analysis of the patterns of genetic diversity in local chickens from western Algeria in comparison with commercial lines and wild jungle fowls. *J.Anim.Breed. Genet*. 2016. Vol. 33. P. 59-70.

586. Hariyono D. N. H., Maharani D., Cho S., Manjula P., Seo D., Choi N., Sidadolog J. H. P., Lee J. H. Genetic diversity and phylogenetic relationship analyzed by microsatellite markers in eight Indonesian local duck populations. *Asian-Australas J Anim Sci*. 2019. Vol. 32. P. 31-37.

587. Agatep R. C., Lambio A. L., Vega R. S. A., Capitan S. S., Mendioro M. S., Yebron M. G. N. Microsatellite-based genetic diversity and relationship analyses of three genetic groups of domesticated Mallard ducks (Anas Platyrhynchos Domesticus L). *Philipp J Vet Anim Sci*. 2016. Vol. 42 (2). P. 102-111.

588. Duran C., Appleby N., Edwards D., Batley J. Molecular genetic markers: discovery, applications, data storage and visualization. *Current bioinformatics*. 2009. Vol. 4. P. 16-27.

589. Liua Z. J., Cordes J. F. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture*. 2004. Vol. 238. P. 1-37.

590. Beuzen N. D., Stear M. J., Chang K. C. Molecular markers and their use in animal breeding. *The Veterinary Journal*. 2000. Vol. 160. P. 42-52.

591. Wardecka B., Olszewski R., Jaszczak K., Zieba G., Pierzchala M., Wicinska K. Relationship between microsatellite marker alleles on chromosomes 1-5 originating arom the Rhode Island Red and Green-legged Partrigenous breeds and egg production and quality traits in F2 mapping population. *J. Appl. Genet*. 2002. Vol. 43 (3). P. 319-329.

592. Loywyck V., Bed'hom B., Pinard-van der Laan M. H., Pitel F., Verrier E., Bijma P. Evolution of the polymorphism at molecular markers in QTL and non-QTL regions in selected chicken lines. *Genet. Sel. Evol*. 2008. Vol. 40. P. 639-661.

593. McElroy J. P., Dekkers J. C., Fulton J. E., O'Sullivan N. P., Soller M., Lipkin E., Zhang W., Koehler K. J., Lamont S. J., Cheng H. H. Microsatellite Markers Associated with Resistance to Marek's Disease in Commercial Layer Chickens. *Poultry Science*. 2005. Vol. 84. P. 1678-1688.

594. Bumstead N. Genomic mapping of resistance to Marek's disease. *Avian Pathology*. 1998. Vol. 27 (1). P. 578-581.

595. Palinkas-Bodzsar N., Sztan N., Molnar T., Hidas A. Gene conservation of six Hungarian local chicken breeds maintained in small populations over time. *PLoS ONE*. 2020. Vol. 15 (9). doi: 10.1371/journal.pone.0238849.

596. Zanetti E., De Marchi M., Abbadi M., Cassandro M. Variation of genetic diversity over time in local Italian chicken breeds undergoing in situ conservation. *Poult Sci*. 2011. Vol. 90 (10). P. 2195-201. doi: 10.3382/ps.2011-01527.

597. Ceccobelli S., DiLorenzo P., Lancioni H., MonteagudoIbáñez L.V., Tejedor M. T., Castellini C., Landi V., MartínezMartínez A., DelgadoBermejo J. V., Vega Pla J. L., Leon Jurado J. M., García N., Attard G., Grimal A., Stojanovic S., Kume K., Panella F., Weigend S., Lasagna E. Genetic diversity and phylogeographic structure of sixteen Mediterranean chicken breeds assessed with microsatellites and mitochondrial DNA. *Livestock Science*. 2015. Vol. 175. P. 27-36. doi: 10.1016/j.livsci.2015.03.003.

598. Abebe A. S., Mikko S., Johansson A. M. Genetic diversity of five local Swedish chicken breeds detected by microsatellite markers. *PLoS ONE.* 2015. Vol. 10 (4). doi: 10.1371/journal.pone.0120580.

599. Berthouly C., Bed-Hom B., Tixier-Boichard M., Chen C. F., Lee Y. P., Laloë D., Legros H., Verrier E., Rognon X. Using molecular markers and multivariate methods to study the genetic diversity of local European and Asian chicken breeds. *Anim Genet.* 2008. Vol. 39. P. 121-129.

600. Qu L., Li X., Xu G., Chen K., Yang H., Zhang L., Wu G., Hou Z., Xu G., Yang N. Evaluation of genetic diversity in Chinese indigenous chicken breeds using microsatellite markers. *Sci China C Life Sci*. 2006. Vol. 49(4). P. 332-341. doi: 10.1007/s11427-006-2001-6.

601. Bodzsar N., Eding H., Revay T., Hidas A., Weigend S. Genetic diversity of Hungarian indigenous chicken breeds based on microsatellite markers. *Anim Genet*. 2009. Vol. 40(4). P. 516-523. doi: 10.1111/j.1365-2052.2009.01876.x.

602. Palinkas-Bodzsar N., Sztan N., Molnar T., Hidas A. Gene conservation of six Hungarian local chicken breeds maintained in small populations over time. *PLoS One*. 2020. Vol. 15 (9). doi: 10.1371/journal.pone.0238849.

603. Habimana R., Okeno T. O., Ngeno K., Mboumba S., Assami P., Gbotto A. A., Keambou C. T., Nishimwe K., Mahoro J., Yao N. Genetic diversity and population structure of indigenous chicken in Rwanda using microsatellite markers. *PLoS One*. 2020. Vol. 15 (4). doi: 10.1371/journal.pone.0225084.

604. Fathi M., El-Zarei M., Al-Homidan I., Abou-Emera O. Genetic diversity of Saudi native chicken breeds segregating for naked neck and frizzle genes using microsatellite markers. *Asian-Australasian journal of animal sciences.* 2018. Vol. 31 (12). P. 1871–1880. doi:10.5713/ajas.18.0041.

605. Berthouly C., Bed-Hom B., Tixier-Boichard M., Lee Y. P., Laloë D., Legros H., Verrier E., Rognon X. Using molecular markers and multivariate methods to study the genetic diversity of local European and Asian chicken breeds. *Anim Genet.* 2008. Vol. 39. P. 121-129.

606. Pham M. H., Berthouly-Salazar C., Tran X. H., Chang W. H., Crooijmans R. P., Lin D. Y., Hoang V. T., Lee Y. P., Tixier-Boichard M., Chen C. F.

Genetic diversity of Vietnamese domestic chicken populations as decision-making support for conservation strategies. *Anim Genet.* 2013. Vol. 44. P. 509-521.

607. Shahbazi S., Mirhosseini S. Z., Romanov M. N. Genetic diversity in five Iranian native chicken populations estimated by microsatellite markers. *Biochem Genet.* 2007. Vol. 45. P. 63-75.

608. Kaya M., Yildiz M. A. Genetic diversity among Turkish native chickens, Denizli and Gerze, estimated by microsatellite markers. *Biochem Genet.* 2008. Vol. 46. P. 480-491.

609. Carvalho D. A., Bonafé C. M., Rodriguez-Rodriguez M. D. P., Almeida M. J. O., Sarmento J. L. R., Britto F. B., Silva M. A. Caracterização genética estrutura populacional degalinha caipiras Canela-Preta. *Pesq. Agropec. Bras.* 2016. Vol. 51. P. 1899-1906. doi: 10.1590/s0100-204x2016001100012.

610. Toalombo Vargas P. A., León J. M., Fiallos Ortega L. R., Martinez A., Villafuerte Gavilanes A. A., Delgado J. V., Landi V. Deciphering the patterns of genetic admixture and diversity in the Ecuadorian Creole chicken. *Animals.* 2019. Vol. 9. P. 670. doi: 10.3390/ani9090670.

611. Копилов К. В., Бірюкова О. Д., Шельов А. В., Добрянська М. Л., Мохначова Н. Б., Маковська Н. М., Стародуб Л. Ф. Визначення адаптаційної здатності племінних ресурсів молочної худоби та молекулярно-генетичні методи у системі збереження біологічного різноманіттятварин : метод. рек. Чубинське. 2020. 36 с.

612. Спиридонов В. Г., Шельов А. В., Кухтіна К. В., Мельничук С. Д., Григорюк І. П. Генетична ідентифікація та експертиза походження свійських коней (Equuscaballus) мікросателітними фрагментами дезоксиксирибонуклеїнової кислоти : метод. рек. Київ, 2010. 22 с.

613. Копилов К. В., Дзіцюк В. В., Стародуб Л. Ф., Шельов А. В., Мохначова Н. Б., Бірюкова О. Д., Добрянська М. Л. Методика з проведення молекулярно-генетичних досліджень аборигенних та малочисельних порід сільськогосподарських тварин : метод. рек. Чубинське. 2017. 30 с.

614. Шельов А. В., Спиридонов В. Г., Сонько Р. В., Глушаков Ю. І Назаренко В. В., Омельченко Л. П. Генетичний аналіз популяції сірої української породи великої рогатої худоби. *Тваринництво України*. 2011. № 6. С. 10-12.

615. Рєзникова-Галашевич І. С., Степура В. В., Шельов А. В., Спиридонов В. Г., Табака П. П., Мельничук С. Д., Алимов С. І. Генетична ідентифікація промислових видів риб : метод. рек. Київ : ВЦ НУБіП України, 2011. 33 с.

616. Дзіцюк В. В., Ященко В. М., Круглик С. Г., Мельник О. В., Шельов А. В., Спиридонов В. Г., Мельничук С. Д. Генетична ідентифікація собак. Київ : ВЦ НУБіП України, 2012. 33 с.

617. Бородай В. П., Пономаренко Н. П., Мельник В. В., Шельов А. В., Спиридонов В. Г., Мельничук С. Д. Рекомендації щодо проведення генетичної оцінки популяцій курей спеціалізованих яєчних кросів із застосуванням ДНК-маркерів. Київ : Аграр Медіа Груп, 2012. 41с.

618. Georges M., Massey J. M. Polymorphic DNA markers in Bovidae. Geneva : World Intellectual Property Organization. 1992. (Patent application WO 92/13102)

619. Vaiman D., Mercier D., Moazami-Goudarzi K., Eggen A., Ciampolini R., Lépingle A., Velmala R., Kaukinen J., Varvio S. L., Martin P.et al. A set of 99 cattle microsatellites: characterization, synteny mapping, and polymorphism. *Mamm Genome*. 1994. Vol. 5(5). P. 288-297. doi: 10.1007/BF00389543.

620. Toldo S. S., Fries R., Steffen P., Neiberg H. L.,Barendse W., Womack J. E., Hetzel D. J. S., Stranzinger G. Physically mapped, cosmid derived microsatellite markers as anchor loci on bovine chromosomes. *Mammalian Genome*. 1993. Vol. 4. P. 720-727.

621. Steffen P., Eggen A., Dietz A. B., Womack J. E., Stranzinger G., Fries R. Isolation and mapping of polymorphic microsatellites in cattle. *Animal Genetics*. 1993. Vol. 24. P. 121-124.

622. Barendse W., Armitage S. M., Kossarek L. M., Shalom A., Kirkpatrick B. W., Ryan A. M., Clayton D., Li L., Neibergs H. L., Zhang N. Grosse W. M., Weiss J., Creighton P., McCarthy F., Ron M., Teale A. J., Fries R., McGraw R. A., Moore S. S., Georges M., Soller M., Womack J. E., Hetzel D. J. S. A genetic linkage map of the bovine genome. *Nature Genetics*. 1994. Vol. 6. P. 227-235.

623. Sunden S. L., Stone R. T., Bishop M. D., Kappes S. M., Keele J. W., Beattie C. W. A highly polymorphic bovine microsatellite locus: BM2113. *Animal Genetics*. 1993. Vol. 24. P. 69.

624. Ellegren H., Johansson M., Sandberg K., Andersson L. Cloning of highly polymorphic microsatellites in the horse. *Animal Genetics*. 1992. Vol. 23 (2). P.133-42. doi: 10.1111/j.1365-2052.1992.tb00032.x.

625. Guérin G., Bertaud M., Amigues Y. Characterization of seven new horse microsatellites: HMS1, HMS2, HMS3, HMS5, HMS6, HMS7 and HMS8. *Anim. Gen*. 1994. Vol. 25. P. 62.

626. Binns M. M., Holmes N. G., Rolliman A., Scott A. M. The identification of polymorphic microsatellite loci in the horse and their use in thorough bred parentage testing. *British Veterinary Journal*. 1995. Vol. 151 (1). P. 9-15.

627. Irvin Z., Giffard J., Brandon R., Breen M., Bell K. Equine dinucleotide repeat polymorphisms at loci ASB21, 23, 25 and 37-43. *Anim. Genet*. 1998. Vol. 29. P. 67.

628. Marklund S., Ellegren H., Eriksson S., Sandberg K., Andersson L. Parentage testing and linkage analysis in the horse using a set of highly polymorphic microsatellites. *Anim. Gen*. 1994. Vol. 25. P. 19–23.

629. Van Haeringen H., Bowling A. T., Lenstra J. A., Zwaagstra K. A., Stott M. L. A highly polymorphic horse microsatellite locus VHL 20. *Anim. Genet*. 1994. Vol. 25. P. 207.

630. Breen M., Lindgren G., Binns M. M., Norman J., Irvin Z., Bell K., Sandberg K., Ellegren H. Genetical and physical assignments of equine microsatellites – First integration of anchored markers in horse genome mapping. *Mammalian Genome*. 1997. Vol. 8 (4). P. 267-273.

631. Kanthaswamy S., Tom B. K., Mattila A. M., Johnston E., Dayton M., Kinaga J., Erickson B. J., Halverson J., Fantin D., DeNise S., Kou A., Malladi V., Satkoski J., Budowle B., Smith D. G., Koskinen M. T. Canine population data generated from a multiplex STR kit for use in forensic casework. *J Forensic Sci*. 2009. Vol. 54(4). P. 829-840. doi: 10.1111/j.1556-4029.2009.01080.x.

632. Hellmann A. P., Rohleder U., Eichmann C., Pfeiffer I., Parson W., Schleenbecker U. A proposal for standardization in forensic canine DNA typing: allele nomenclature of six canine-specific STR loci. *J Forensic Sci*. 2006. Vol. 51(2). P. 274-281. doi: 10.1111/j.1556-4029.2006.00049.x.

633. van Asch B., Alves C., Gusmão L., Pereira V., Pereira F., Amorim A. A new autosomal STR nineplex for canine identification and parentage testing. *Electrophoresis.* 2009. Vol. 30. P. 417-423.

634. Tom B. K., Koskinen M. T., Dayton M., Mattila A. M., Johnston E., Fantin D., Denise S., Spear T., Smith D. G., Satkoski J., Budowle B., Kanthaswamy S. Development of a nomenclature system for a canine STR multiplex reagent kit. *J Forensic Sci*. 2010. Vol. 55(3). P. 597-604. doi: 10.1111/j.1556-4029.2010.01361.x.

635. FAO, 2011. Molecular genetic characterization of animal genetic resources. Food and Agriculture Organization of the United Nations Publ., Rome, Italy.

636. Hammer O., Harper D. A. T., Ryan P. D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*. 2001. Vol. 4. P. 1-9.

637. Chao A. Nonparametric estimation of the number of classes in a population. *Scandinavian Journal of Statistics*. 1984. Vol. 11. P. 265-270.

638. Kalinowski S. T. HP-Rare: a computer program for performing rarefaction on measures of allelic diversity. *Molecular Ecology Notes*. 2005. Vol. 5. P. 187-189.

639. Kimura M., Ohta T. Distribution of allelic frequencies in a finite population under stepwise production of neutral alleles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 1975. Vol. 72. P. 2761-2764.

640. Kimura M., Ohta T. Stepwise mutation model and distribution of allelic frequencies in a finite population. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 1978. Vol. 75. P. 2868-2872.

641. Ewens W. J. The sampling theory of selectively neutral alleles. *Theoretical Population Biology*. 1972. Vol. 3. P. 87-112.

642. Ohta T., Kimura M. A model of mutation appropriate to estimate the number of electrophoretically detectable alleles in a finite population. *Genetical Research*. 1973. Vol. 22. P. 201-204.

643. Dieringer D. Schlötterer C. MICROSATELLITE ANALYSER (MSA): a platform independent analysis tool for large microsatellite data sets. *Molecular Ecology Notes*. 2003. Vol. 3. P. 167-169.

644. Халафян А. А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных. Москва : Бином –Пресс, 2007. 512 с.

645. Peakall R., Smouse P. E. GenALEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics*. 2012. Vol. 28. P. 2537-2539.

646. Yang X., Zhang X., Zhu, J., Chen L., Liu C., Feng X.,Chen L., Wang H., Liu C. Genetic analysis of 19 X chromosome STR loci for forensic purposes in four Chinese ethnic groups. *Sci Rep*. 2017. Vol. 7. doi:10.1038/srep42782.

647. Kalinowski S. T., Taper M. L., Marshall T. C. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular Ecology*. 2007. Vol. 16. P. 1099-1106.doi: 10.1111/j.1365-294x.2007.03089.x.

648. Guo S. W., Thompson A. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. *Biometrics*. 1992. Vol. 48. P. 361-372.

649. Raymond M., Rousset F. GENEPOP Version 1.2: population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*. 1995. Vol. 86. P. 248-249.

650. Weir B. S., Cockerham C. C. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*. 1984. Vol. 38. P. 1358-1370.

651. Goudet J. FSTAT (Version 1.2): A computer program to calculate Fstatistics. *Journal of Heredity*. 1995. Vol. 86. P. 485-486.

652. Nei M. Genetic distance between populations. *American Naturalist*. 1972. Vol. 106. P. 283-392.

653. Pritchard J. K., Stephens M., Donnelly P. Inference of population structure using multi locus genotype data. *Genetics*. 2000. Vol. 155. P. 945-959.

654. Garza J. C., Williamson E. G. Detection of reduction in population size using data from microsatellite loci. *Molecular Ecology*. 2001. Vol. 10. P. 305-318.

655. Piry S., Luikart G., Cornuet J. M. Bottleneck: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. *Journal of Heredity*. 1999. Vol. 90. P. 502-503.

656. Шебаніна О. В., Крамаренко С. С., Ганганов В. М. Практикум з біометрії. Методи непараметричної статистики. Миколаїв : МДАУ, 2008. 166 с.

657. Yeh F. C., Yang R. C., Boyle T. Pop Gene. Microsoft Windows based freeware for population genetic analysis: Quick User Guide. University of Alberta. 1999. 28 p.

658. Do C., Waples R. S., Peel D., Macbeth G. M., Tillett B. J., Ovenden J. R. NeEstimator V2: re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size (Ne) from genetic data. *Molecular Ecology Resources*. 2014. Vol. 14. P. 209-214.

659. Hoshino A. A., Bravo J. P., Nobile P. M., Morelli K.A. Microsatellites as tools for genetic diversity analysis. *Genetic diversity in microorganisms*. Mahmut Caliskan, IntechOpen. 2012. P. 149-170 doi: 10.5772/35363.

660. GenBank : вебсайт URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/

661. Lorenz T. Polymerase Chain Reaction: Basic Protocol Plus Troubleshooting and Optimization Strategies. *Journal of visualized experiments*: *JoVE*. 2012. Vol. 63.

662. Резникова-Галашевич И. С., Спиридонов В. Г., Шельов А. В., Мельничук С. Д. Генетический анализ популяции белого толстолоба (*Hypophthalmicht hys molitrix, Val*) с использованием микросателлитных ДНК-маркеров. *Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України*. Київ, 2011. Т. 160, ч. 2. С. 306–309.

663. Eusebi P. G., Martine A., Cortes O. Genomic Tools for Effective Conservation of Livestock Breed Diversity. *Diversity.* 2020. Vol. 12 (8). doi: 10.3390/d12010008.

664. Мельник О. В., Шельов А. В., Спиридонов В. Г., Мельничук С. Д. Генетичний поліморфізм коней української верхової породи за мікросателітними ДНК-маркерами. *Вісник Житомирського національного аграрного університету*. 2013. № 1. Т. 2 (35). С. 75-78.

665. Шельов А. В., Копилова К. В., Спиридонов В. Г., Мельничук С. Д. Оцінка генофонду молочних порід великої рогатої худоби за мікросателітними локусами ДНК. *Розведення і генетика тварин.* Київ : Аграр. наука, 2012. Вип. 46. С. 254-257.

666. Копилов К. В., Шельов А. В., Копилова К. В., Березовський О. В. Генетична структура популяцій української чорно-рябої та української червоно- рябої молочних порід за поліморфізмом QTL та STR маркерів. *Вісник Сумського національного аграрного університету*. 2014. Вип. 7 (26). С.31-37.

667. Копилова К. В., Шельов А. В., Березовський О. В., Копилов К. В. Генетична структура різних порід великої рогатої худоби за молекулярно-генетичними маркерами. *Науково–технічний бюлетень* / Інститут тваринництва НААН. Харків, 2014. № 110. С. 76-83.

668. Спиридонов В. Г., Шельов А. В., Мельничук С. Д. Бородай В. П., Пономаренко Н. П. Молекулярно-генетичний аналіз популяцій курей кросу Ломанн коричневий. *Сучасне птахівництво*. 2009. № 9-10. С. 16-19.

669. Шельов А. В., Спиридонов В. Г., Пономаренко Н. П., Бородай В. П., Мельник В. В., Мельничук С. Д. Молекулярно-генетичний аналіз популяцій курей кросу «Хайсекс білий». *Наукові доповіді НУБіП*. 2011. Вип.4 (26). http://www.nbuv.gov.ua/e%2Djournals/Nd/2011_4/11sav.pdf

670. Шельов А. В., Пономаренко Н. П., Бородай В. П., Мельник В. В., Спиридонов В. Г., Мельничук С. Д. Використання мікросателітних маркерів ДНК для контролю походження та однорідності популяцій сільськогосподарської птиці. *Сучасне птахівництво*. 2013. № 2 (123). С. 2-5.

671. Шельов А. В., Пономаренко Н. П., Бородай В. П., Мельник В. В., Палькіна М. Д., Спиридонов В. Г., Мельничук С. Д. Аналіз генетичної структури популяцій курей кросів, створених на основі породи білий леггорн. *Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України.* Серія : Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. Київ, 2012. Вип. 179. С. 121-128.

672. Спиридонов В. Г., Шельов А. В., Мельничук С. Д., Ільницька Т. Е. Визначення достовірності походження коней української верхової породи та мікросателітний аналіз ДНК. *Біологія тварин*. 2009. Т. 11, № 1-2. С. 265-270.

673. Спиридонов В. Г., Шельов А. В., Кухтіна К. В., Стефурак Ю. П. Генетичний аналіз гуцульських коней за мікросателітними локусами. *Тваринництво України*. 2011. №4. С. 15–18.

674. Мельник О. В., Дзіцюк В. В., Спиридонов В. Г., Шельов А. В. Використання мікросателітів ДНК у конярстві. *Біологія тварин*. 2012. Т. 14, № 1-2. С. 678-681.

675. Шельов А. В., Копилов К. В., Крамаренко С. С., Крамаренко О. С., Хмельничий Л. М. Специфіка генотипової структури різних порід свійських собак за мікросателітами ДНК. *Вісник Сумського національного аграрного університету.* Серія : Тваринництво. 2020. Вип. 4 (43). С. 128-132.

676. Шельов А. В., Копилов К. В., Прокопенко Н. П., Крамаренко С. С., Крамаренко О. С. Алельний поліморфізм мікросателітних локусів ДНК яєчних курей. *Сучасне птахівництво*. 2020. № 7-8 (214-215). С. 22-27.

677. Шельов А. В., Копилов К. В., Прокопенко Н. П., Крамаренко С. С., Крамаренко О. С. Генотипова структура яєчних кросів курей за мікросателітами ДНК. *Сучасне птахівництво*. 2020. № 11-12 (218-219). С. 16-21.

678. Шельов А., Копилов К., Крамаренко С., Крамаренко О. Алельний поліморфізм мікросателітних локусів ДНК трьох порід виду Canisfamiliaris. *Аграрний вісник Причорномор'я.* Миколаїв, 2021. Вип. 98. С. 18-25. doi: 10.37000/abbsl.2021.98.04.

679. Shelyov A. V., Melnyk O. V., Suprun I. O., Spyrydonov V. G., Melnychuk S. D., Dzitsiuk V. V., Gopka B. M. The Comparative Analyzis of Allele Pool of Thoroughbred Horses in Different Countries. *Iranian Journal of Applied Animal Science*. 2014. Vol. 4 (3). P. 637-641.

680. Shelyov A. V., Kopylov K. V., Kramarenko S. S., Kramarenko A. S. Genetic structure of different equine breeds by microsatellite DNA loci. *Agricultural Science and Practice.* 2020. № 2. P. 3-13.

681. Шельов А. В., Спиридонов В. Г., Парій М. Ф., Мельничук С. Д. Генотипування коней української верхової породи з використанням панелі SSR-маркерів. *Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів*. 2009. Т. 7. С. 257-261.

682. Шельов А. В., Мельник О. В., Спиридонов В. Г., Мельничук С. Д. Зуєва Н. В. Оцінка української популяції чистокровної верхової породи коней за мікросателітними ДНК-маркерами. *Вісник українського товариства генетиків і селекціонерів*. 2013. Т. 11 (1). С. 153–158.

683. Шельов А. В. Спиридонов В. Г., Мельничук С. Д. Бородай В. П., Пономаренко Н. П. Генотипування курей кросу „Ломанн білий". *Біологія тварин*. 2009. Т. 11 (1/2). С. 277-281.

684. Kopylov K. V., Kopylova K. V., Shelov A. V., Berezovsky O. V. Use of the Molecular-genetic Markers in the Selection Process of the Ukrainian Animal Husbandry. *Agricultural Science and Practice.* 2014. № 2. P. 24-32.

685. Shelyov A. V., Kopylov K. V., Kramarenko A., Kramarenko S. Genetic variation determination and interbreed differentiation of two ukrainian dairy cattle breeds using microsatellite loci of dna. *Agricultural Science and Practice.* 2018. № 1. P. 51-58.

686. Кухтіна К. В., Шельов А. В. Використання STR-маркерів для експертизи достовірності походження коней. *Методологія наукових досліджень з питань селекції, генетики та біотехнології у тваринництві :* матеріали наук.-теор. конф. присвяч. пам.акад. УААН Валерія Петровича Бурката. Київ : Аграр. наука, 2010. С. 76-77.

687. Мельник О. В., Шельов А. В., Спиридонов В. Г., Зуєва Н. В. Генетичний аналіз жеребців чистокровної верхової породи за мікросателітами ДНК. *Зоотехнічна наука: історія, проблеми, перспективи* : матеріали III міжнар. наук.-практ. конф. Камянець-Подільський, 2013. С. 198-199.

688. Мельник О. В., Шельов А. В., Спиридонов В. Г. Генотипування коней української верхової породи за мікросателітними локусами ДНК. *Сучасні проблеми розведення і селекції сільськогосподарських тварин :* матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. 20-річ. створення кафедри розведення, генетики тварин та біотехнології Житомирського національного агроекологічного університету і 75-річчю з дня народження доктора с.-г. наук, професора Пелехатого Миколи Сергійовича. Житомир, 2013. С. 8-10.

689. Shelyov A., Melnyk O., Ignatenko A., Spyrydonov V., Melnychuk S., Kopylov K. Genetic Structure oh Hucul horses using microsatellite loci of DNA. Animal Science – Challenges and Innovations : scient. conf. with intern. part., 30 Oct.– 1 Nov., 2013. *Journal of Animal Science*. 2013. Vol. 4-5. P. 92-95.

690. Шельов А. В., Спиридонов В. Г., Кухтіна К. В. Застосування молекулярно-генетичних методів діагностики у тваринництві. *Геномна селекція у тваринництві: стан та перспективи розвитку :* матеріали творч. дискусії. Київ : Аграр. наука, 2011. С. 68-72.

691. Мельник О. В., Шельов А. В., Спиридонов В. Г. Впровадження генетичної експертизи походження коней за ДНК-маркерами. *Сучасна ветеринарна медицина*. 2012. № 4. С. 46-49.

692. Бородай В. П., Пономаренко Н. П., Мельник В. В., Шельов А. В., Спиридонов В. Г. Інформаційна база даних (каталог) показників генетичної

структури популяцій курей спеціалізованих яєчних кросів, які використовують в Україні. Київ : Аграр Медіа Груп, 2012. 20 с.

693. Shelyov A. V., Kopylov K. V., Kramarenko S. S. Analysis of population-genetic processes in different cattle breeds by microsatellite loci of DNA. *Agricultural Science and Practice*. 2017. № 1. P. 74-78.

694. Blott S. C., Williams J. L., Haley C. S. Genetic relationships among European cattle breeds. *Anim Genet*. 1998. Vol. 29 (4). P. 273-82. doi: 10.1046/j.1365-2052.1998.00327.x.

695. Frankham R., Bradshaw C. J., Brook B. W. Genetics in conservation management: revised recommendations for the 50/500 rules, Red List criteria and population viability analyses. *Biological Conservation*. 2014. Vol. 170. P. 56-63.

696. Шельов А. В. Поліморфізм мікросателітних локусів ДНК у різних видів сільськогосподарських тварин. *Розведення і генетика тварин.* Київ, 2015. Вип. 50. С. 183-189.

697. Копилов К. В., Жукорський О. М., Копилова К. В., Метлицька О. І., Вдовиченко Ю. В., Балацький В. М., Порхун М. Г., Шельов А. В., Шевченко Є. А., Писаренко Н. Б. Методологія оцінки генотипу тварин за молекулярно-генетичними маркерами в тваринництві України ;за наук. ред. акад. НААН М. В. Гладія. Київ : Аграр. наука, 2014. 208 с.

Додаток А

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Перший проректор
Миколаївського НАУ
_____Д.В. Бабенко
«26» січня 2021 р.

АКТ

про впровадження результатів докторської дисертаційної роботи у навчальний процес

Даним актом підтверджується, що результати наукових досліджень кандидата сільськогосподарських наук, старшого наукового співробітника відділу генетики і біотехнології Інституту розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця НААН України Шельова Андрія Володимировича, викладені у дисертаційній роботі на тему «Поліморфізм генетичних ресурсів тварин за мікросателітними локусами ДНК» на здобуття наукового ступеня доктора сільськогосподарських наук за спеціальністю 03.00.15 – генетика, впроваджено у навчальний процес Миколаївського національного аграрного університету.

Викладені у роботі теоретичні і практичні положення використовуються при викладанні освітніх компонент «Спеціальна генетика», «Молекулярно-генетичні методи діагностики», «Загальна та молекулярна генетика» та «Генетика у ветеринарній медицині та основи розведення тварин» здобувачам вищої освіти початкового-третього рівнів вищої освіти спеціальностей 162 – «Біотехнології та біоінженерія», 204 – «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва» та 212 – «Ветеринарна гігієна, санітарія і експертиза».

Декан факультету ТВППТСБ
Миколаївського НАУ М.І. Гиль

Додаток Б

ГРОМАДСЬКА СПІЛКА «АСОЦІАЦІЯ КІННОЗАВОДЧИКІВ УКРАЇНИ»

вул.Липнева 1 с.Чубинське Бориспільський р-н Київська обл. 08321 телефон: +38067 252 69 18

ЕДРПОУ 40030072 р/р 26001056115538 МФО 380775 філія «КиївСіті» ПАТКБ «ПриватБанк»
www.uhba.jimdofree.com E-mail: horsebreeders@ukr.net

Вих.№ 23/06-2019 від 13.06.2019

ЗАТВЕРДЖУЮ
Президент АКУ
_____ Т.Є. Ільницька
«_____» _____ 2019 р.

АКТ
про впровадження результатів науково-дослідної роботи
Шельова Андрія Володимировича
«Поліморфізм генетичних ресурсів різних тварин за мікросателітними локусами ДНК»

В результаті проведеної Шельовим А.В. роботи на конях української верхової породи, що належать приватним власникам, членам громадської спілки «Асоціація кіннозаводчиків України», впроваджено елементи генетичної експертизу походження коней за високополіморфними микросателітними локусами ДНК, відповідно до рекомендацій, ISAG-FAO та ISBC. За результатами проведених досліджень рекомендовано у селекційно-племінній роботі враховувати результати генотипування за мікросателітними локусами ДНК для ідентифікації коней з метою контролю достовірності їх походження.

Економічна ефективність впровадження науково-дослідної роботи полягає в скорочені часу проведення досліджень з генетичної експертизи за рахунок впровадження мультиплексної системи генотипування.

Члени комісії:

Від ГС «Асоціація кіннозаводчиків України»

Член Правління Н.О. Попова

Від Інституту розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця НААН

Старший науковий співробітник
відділу генетики і біотехнології тварин А.В. Шельов

Додаток В

WORLD CYNOLOGIC HUNTING SPORTS ALLIANCE
Всеукраїнська громадська організація
ФЕДЕРАЦІЯ СЛУЖБОВО-СПОРТИВНОГО СОБАКІВНИЦТВА УКРАЇНИ
(ФССУ)
FEDERATION OF GUARD AND SPORTS DOG-BREEDING OF UKRAINE

08105, Україна, Київська обл.,
Києво-Святошинський р-н.,
с. Горенка, пров. Папулова, 7
www.tcou.kiev.ua, www.fsssu.org
facebook.com/FCCCU

тел.: +38(044) 355-59-56
тел.: +38(095) 650-23-84
тел.: +38(067) 355-46-36
e-mail: 1alan@ukr.net
info@fsssu.org

ЗАТВЕРДЖУЮ
Президент ФССУ
_____ О.І. Василенко
«23» листопада 2019 р.

АКТ
про впровадження результатів науково-дослідної роботи
Шельова Андрія Володимировича
«Поліморфізм генетичних ресурсів різних тварин за мікросателітними локусами ДНК»

В результаті виконання молекулярно-генетичних робіт проведених Шельовим А.В. на тваринах порід німецька вівчарка, німецький дог та російський той-тер'єр, що належать приватним власникам, членам ФССУ, з досліджень генетичної структури за мультилокусними локусами ДНК впроваджено комплексну систему оцінювання генетичного поліморфізму за мікросателітними локусами ДНК.

На підставі результатів проведених досліджень рекомендовано у селекційно-племінній роботі враховувати результати типування за мікросателітними локусами ДНК, з метою ідентифікації особин, контролю достовірності походження та підбору батьківських пар для регуляції рівня гетерозиготності та інбредного навантаження. Економічна ефективність впровадження науково-дослідної роботи полягає у збільшенні ефективності ведення селекційної роботи за рахунок підвищення точності оцінювання генетичного різноманіття, отриманні додаткової інформації щодо генетичної структури та зменшенні собівартості досліджень за рахунок впровадження мультиплексної системи генотипування.

Члени комісії:
Від Федерації службово-спортивного собаківництва України

Продовження додатку В

Віцепрезидент ФСССУ В.В.Василенко
Головний кінолог ФСССУ О.В.Остапчук

Від Інституту розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця НААН

Старший науковий співробітник
відділу генетики і біотехнології тварин А.В. Шельов

Додаток Г

У К Р А Ї Н А
Міністерство аграрної політики та продовольства
НАЦІОНАЛЬНЕ ОБ'ЄДНАННЯ ПО ПЛЕМІННІЙ СПРАВІ У ТВАРИННИЦТВІ

"УКРПЛЕМОБ'ЄДНАННЯ"
01011, м.Київ-11, вул. Панаса Мирного, 28, тел.050-334-50-45

e-mail: ukrplemunion@ukr.net

АКТ

впровадження результатів дисертаційної роботи
Шельова Андрія Володимировича
«ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНЕТИЧНИХ РЕСУРСІВ ТВАРИН ЗА МІКРОСАТЕЛІТНИМИ ЛОКУСАМИ ДНК»

В результаті роботи проведеної Шельовим А.В. щодо впровадження сучасних методів молекулярно-генетичних досліджень було відпрацьовано методику оцінювання особливостей генетичної структури популяцій великої рогатої худоби за мікросателітними локусами ДНК, відповідно до рекомендацій ISAG/FAO, ICAR з метою оптимізації селекційно-племінної роботи у тваринництві.

Результати роботи враховані при складанні перспективного плану селекційно-племінної роботи з поголів'ям великої рогатої худоби на основі використання кращого генофонду батьківського поголів'я, а також використовувались при характеристиці генетичної структури популяцій, оцінці генетичних відстаней між лініями породами і популяціями тварин. Застосовувались при вирішенні прикладних селекційних задач, починаючи з експертизи достовірності походження (батьківства) і закінчуючи підбором відповідних пар для схрещувань.

Рекомендовано використовувати результати мікросателітного аналізу при проведенні популяційного аналізу генофонду порід, контролі рівня гомозиготності у інбредних тварин, маркіруванні генотипів плідників і маток, що дозволить контролювати процес передачі генів родоначальника нащадкам у ряді поколінь, визначати фактичний індекс генетичної подібності та прогнозувати ефективність добору батьківських пар при формуванні груп великої рогатої худоби.

Економічний ефект впровадження науково-дослідної роботи полягає у підвищенні достовірності експертизи походження тварин до мінімального рівня у 99,9% та зменшенні часу і вартості генотипування за мікросателіними локусами ДНК за рахунок використання мультиплексних систем.

Виконавчий директор
НО «Укрплемоб'єднання» Бородин В.В.

Додаток Д

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Монографії

1. Копилов К. В., Жукорський О. М., Копилова К. В., Метлицька О. І., Вдовиченко Ю. В., Балацький В. М., Порхун М. Г., **Шельов А. В.**, Шевченко Є. А., Писаренко Н. Б. Методологія оцінки генотипу тварин за молекулярно-генетичними маркерами в тваринництві України : монографія / за наук. ред. М. В. Гладія. Київ : Аграр. наука, 2014. 208 с. *(Здобувачем здійснено проведення частини експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

Публікації у наукових фахових виданнях України

2. Спиридонов В. Г., **Шельов А. В.**, Мельничук С. Д. Бородай В. П., Пономаренко Н. П. Молекулярно-генетичний аналіз популяцій курей кросу Ломанн коричневий. *Сучасне птахівництво*. 2009. № 9-10. С. 16-19. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

3. Спиридонов В. Г., **Шельов А. В.**, Мельничук С. Д., Ільницька Т. Є. Визначення достовірності походження коней української верхової породи та мікросателітний аналіз ДНК. *Біологія тварин*. 2009. Т. 11, № 1-2. С. 265-270. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

4. Резникова-Галашевич И. С. Спиридонов В. Г., **Шельов А. В.**, Мельничук С. Д. Генетический анализ популяции белого толстолоба (*Hypophthalmichthys molitrix, Val*) с использованием микросателлитных ДНК-маркеров. *Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України*. Київ, 2011. Т. 160, ч. 2. С. 306–309. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

5. **Шельов А. В.**, Спиридонов В. Г., Пономаренко Н. П., Бородай В. П., Мельник В. В., Мельничук С. Д. Молекулярно-генетичний аналіз популяцій курей

Продовження додатку Д

кросу «Хайсекс білий». *Наукові доповіді НУБіП*. 2011. № 4 (26). http://www.nbuv.gov.ua/e%2Djournals/Nd/2011_4/11sav.pdf *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

6. Спиридонов В. Г., **Шельов А. В.**, Кухтіна К. В., Стефурак Ю. П. Генетичний аналіз гуцульських коней за мікросателітними локусами. *Тваринництво України*. 2011. № 4. С. 15-18. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

7. **Шельов А.В.**, Спиридонов В.Г., Сонько Р.В., Глушаков Ю.І Назаренко В.В., Омельченко Л.П. Генетичний аналіз популяції сірої української породи великої рогатої худоби. *Тваринництво України*. 2011. № 6. С.10-12. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

8. Мельник О. В., Дзіцюк В. В., Спиридонов В. Г., **Шельов А. В.,** Використання мікросателітів ДНК у конярстві. *Біологія тварин*. 2012. Т. 14. № 1-2. С. 678–681. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

9. **Шельов А. В.,** Копилова К. В., Спиридонов В. Г., Мельничук С. Д. Оцінка генофонду молочних порід великої рогатої худоби за мікросателітними локусами ДНК. *Розведення і генетика тварин.* Київ : Аграр. наука, 2012. Вип. 46. С. 254-257. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

10. **Шельов А. В.,** Пономаренко Н. П., Бородай В. П., Мельник В. В., Палькіна М. Д., Спиридонов В. Г., Мельничук С. Д. Аналіз генетичної структури популяцій курей кросів, створених на основі породи білий леггорн. *Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України.* Серія : Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. Київ, 2012. Вип. 179. С. 121–128. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів,*

Продовження додатку Д

формування висновків).

11. Мельник О. В., **Шельов А. В.**, Спиридонов В. Г., Мельничук С. Д. Генетичний поліморфізм коней української верхової породи за мікросателітними ДНК-маркерами. *Вісник Житомирського національного аграрного університету*. 2013. № 1, т. 2 (35). С. 75–78. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

12. **Шельов А. В.,** Пономаренко Н. П., Бородай В. П., Мельник В. В., Спиридонов В. Г., Мельничук С. Д. Використання мікросателітних маркерів ДНК для контролю походження та однорідності популяцій сільськогосподарської птиці. *Сучасне птахівництво*. 2013. № 2 (123). С. 2-5. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

13. Копилов К. В., **Шельов А. В.**, Копилова К. В., Березовський О. В. Генетична структура популяцій української чорно-рябої та української червоно-рябої молочних порід за поліморфізмом QTL та STR маркерів. *Вісник Сумського національного аграрного університету*. 2014. Вип. 7 (26). С. 31–37. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

14. Копилова К. В., **Шельов А. В.**, Березовський О. В., Копилов К. В. Генетична структура різних порід великої рогатої худоби за молекулярно-генетичними маркерами. *Науково-технічний бюлетень* / Ін-т тваринництва НААН. Харків, 2014. № 110. С. 76–83. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

15. **Шельов А. В.** Поліморфізм мікросателітних локусів ДНК у різних видів сільськогосподарських тварин. *Розведення і генетика тварин.* Київ, 2015. Вип. 50. С. 183–189.

16. **Шельов А. В.**, Копилов К. В., Крамаренко С. С., Крамаренко О. С., Хмельничий Л. М. Специфіка генотипової структури різних порід свійських собак за мікросателітами ДНК. *Вісник Сумського національного аграрного університету.*

17.

Продовження додатку Д

Серія : Тваринництво. 2020. Вип. 4 (43). С. 128–132. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

18. **Шельов А. В.**, Копилов К. В., Прокопенко Н. П., Крамаренко С. С., Крамаренко О. С. Алельний поліморфізм мікросателітних локусів ДНК яєчних курей. *Сучасне птахівництво*. 2020. № 7-8 (214-215). С. 22–27. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

19. **Шельов А. В.**, Копилов К. В., Прокопенко Н. П., Крамаренко С. С., Крамаренко О. С. Генотипова структура яєчних кросів курей за мікросателітами ДНК. *Сучасне птахівництво*. 2020. № 11-12 (218-219). С. 16-21. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

20. **Shelyov A. V.**, Kopylov K. V., Kramarenko S. S., Kramarenko A. S. Genetic structure of different equine breeds by microsatellite DNA loci. *Agricultural Science and Practice.* (*WoS*). 2020. № 2. P. 3–13. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

21. **Шельов А.**, Копилов К., Крамаренко С., Крамаренко О. Алельний поліморфізм мікросателітних локусів ДНК трьох порід виду Canis familiaris. *Аграрний вісник Причорномор'я*. 2021 Вип. 98. С. 18-25. doi: 10.37000/abbsl.2021.98.04. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

Публікації у виданнях іноземних держав або у виданнях України, які включені до міжнародних науковометричних баз

22. Shelyov A. V., Melnyk O. V., Suprun I. O., Spyrydonov V. G., Melnychuk S. D., Dzitsiuk V. V., Gopka B. M. The Comparative Analyzis of Allele Pool of Thoroughbred Horses in Different Countries. *Iranian Journal of Applied Animal Science.* 2014. Vol. 4 (3). P. 637–641. (*Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків*).

23. **Shelyov A. V.**, Kopylov K. V., Kramarenko S. S. Analysis of population

Продовження додатку Д

genetic processes in different cattle breeds by microsatellite loci of DNA. *Agricultural Science and Practice*. (*WoS*). 2017. № 1. P. 74-78. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

1.

2. **Shelyov A. V.**, Kopylov K. V., Kramarenko A., Kramarenko S. Genetic variation determination and interbreed differentiation of two Ukrainian dairy cattle breeds using microsatellite loci of dna. *Agricultural Science and Practice*. (*WoS*). 2018. № 1. P. 51–58. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

Наукові праці апробаційного характеру

3. Кухтіна К. В., **Шельов А. В.** Використання STR-маркерів для експертизи достовірності походження коней. *Методологія наукових досліджень з питань селекції, генетики та біотехнології у тваринництві : матеріали наук.-теорет. конф. присвяч. пам. акад. УААН Валерія Петровича Бурката*. Київ : Аграр. наука, 2010. С. 76–77. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

4. Мельник О. В., **Шельов А. В.**, Спиридонов В. Г., Зуєва Н. В. Генетичний аналіз жеребців чистокровної верхової породи за мікросателітами ДНК. *Зоотехнічна наука: історія, проблеми, перспективи* : матеріали III міжнар. наук.-практ. конф., Камянець-Подільський, 2013. С. 198-199. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

5. Мельник О. В., **Шельов А. В.**, Спиридонов В. Г. Генотипування коней української верхової породи за мікросателітними локусами ДНК. *Сучасні проблеми розведення і селекції сільськогосподарських тварин :* матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., присвяч. 20-річ. створення кафедри розведення, генетики тварин та біотехнології Житомирського нац. агроекол. ун-ту і 75-річ. з дня народж. д-ра с.-г. наук, проф. Пелехатого Миколи Сергійовича. Житомир, 2013. С. 8–10. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

6. **Shelyov A.,** Melnyk O., Ignatenko A., Spyrydonov V., Melnychuk S., Kopylov K. Genetic Structure oh Hucul horses using microsatellite loci of DNA. *Journal of*

Продовження додатку Д

7. *Animal Science*. 2013. Vol. L. 4-5. P. 92-95 : Animal Science – Challenges and Innovations : scient. conf. with intern. part., 30 Oct.-1 Nov., 2013. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

8. Шельов А. В. Різноманіття мікросателітної структури популяцій сільськогосподарських тварин. Актуальні дослідження з проблем розведення та генетики у тваринництві : матеріали XIII Всеукр. наук. конф. молодих вчених та аспірантів, присвяч. пам'яті акад. НААН Михайла Васильовича Зубця (28 трав. 2015 р.) / НААН, Ін-т розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця. – Чубинське, 2015. – С. 56-57.

Додатково відображають наукові результати дисертації

9. **Шельов А. В.**, Спиридонов В. Г., Парій М. Ф., Мельничук С. Д. Генотипування коней української верхової породи з використанням панелі SSR-маркерів. *Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів*. 2009. Т. 7, № 2. С. 257–261. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

10. Спиридонов В. Г., **Шельов А. В.**, Кухтіна К. В., Мельничук С. Д., Григорюк І. П. Генетична ідентифікація та експертиза походження свійських коней (*Equus caballus*) мікросателітними фрагментами дезоксирибонуклеїнової кислоти : метод. рек. Київ, 2010. 22 с. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

11. **Шельов А. В.,** Спиридонов В. Г., Кухтіна К. В. Застосування молекулярно-генетичних методів діагностики у тваринництві. *Геномна селекція у тваринництві: стан та перспективи розвитку :* матеріали творч. дискусії. Київ : Аграр. наука, 2011. С. 68–72. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

12. Рєзникова-Галашевич І. С., Степура В. В., **Шельов А. В.,** Спиридонов В. Г., Табака П. П., Мельничук С. Д., Алимов С. І. Генетична ідентифікація промислових видів риб : метод. рек. Київ : ВЦ НУБіП України, 2011.

Продовження додатку Д

33 с. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

13.

14. Мельник О. В., **Шельов А. В.**, Спиридонов В. Г. Впровадження генетичної експертизи походження коней за ДНК-маркерами. *Сучасна ветеринарна медицина.* 2012. № 4. С. 46-49. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

15. Бородай В. П., Пономаренко Н. П., Мельник В. В., **Шельов А. В.,** Спиридонов В. Г. Інформаційна база даних (каталог) показників генетичної структури популяцій курей спеціалізованих яєчних кросів, які використовують в Україні. Київ : ТОВ «Аграр Медіа Груп», 2012. 20 с. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

16. Бородай В. П., Пономаренко Н. П., Мельник В. В., **Шельов А. В.,** Спиридонов В. Г., Мельничук С. Д. Рекомендації щодо проведення генетичної оцінки популяцій курей спеціалізованих яєчних кросів із застосуванням ДНК-маркерів. Київ : ТОВ «Аграр Медіа Груп», 2012. 41 с. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

17. Дзіцюк В. В., Ященко В. М., Круглик С. Г., Мельник О. В., **Шельов А. В.,** Спиридонов В. Г., Мельничук С. Д. Генетична ідентифікація собак : метод. рек. Київ : ВЦ НУБіП України, 2012. 33 с. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

18. **Шельов А. В.,** Мельник О. В., Спиридонов В. Г., Мельничук С. Д. Зуєва Н. В. Оцінка української популяції чистокровної верхової породи коней за мікросателітними ДНК-маркерами. *Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів*. 2013. Т. 11, № 1. С. 153–158. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

19. Kopylov K. V., Kopylova K. V., **Shelov A. V.**, Berezovsky O. V. Use of the Molecular-genetic Markers in the Selection Process of the Ukrainian Animal Husbandry.

Agricultural Science and Practice. 2014. № 2. P. 24-32. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

20. Копилов К. В., Бірюкова О. Д., **Шельов А. В.,** Добрянська М. Л., Мохначова Н. Б., Маковська Н. М., Стародуб Л. Ф. Визначення адаптаційної здатності племінних ресурсів молочної худоби та молекулярно-генетичні методи у системі збереження біологічного різноманіття тварин : метод. рек. Чубинське, 2020. 36 с. *(Здобувачем здійснено проведення експериментів, збирання інформації, біометричну обробку, викладення частини основного змісту, аналіз результатів, формування висновків).*

Відомості про апробацію результатів дисертації

Результати досліджень було представлено на щорічних наукових звітах Інституту розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця НААН (Чубинське, 2012-2020), а також викладено в доповідях на:

– Наукових конференціях «Проблеми та перспективи розвитку конярства в сучасних умовах», які проходила під егідою виставок «EQUISVIT 2009 та 2010» на базі СКС «Магнат» за сприяння Асоціації розвитку кінного спорту в Україні (Чубинське, 11-14 червня 2009 року та 17-20 червня 2010, *форма участі: очна – виступи з доповідями*);

– Науково-практичній конференції, присвяченій пам`яті академіка В. П. Бурката «Методологія наукових досліджень з питань селекції, генетики та біотехнології у тваринництві» (Чубинське, 25 лютого 2010 року, *форма участі: заочна – публікація тез*);

– VIII конференції молодих вчених та аспірантів (Інститут розведення і генетики імені М.В.Зубця НААН), (с. Чубинське, 13 трав. 2010 року, *форма участі: очна – виступ з доповіддю*);

– IX конференції молодих вчених та аспірантів, Сучасна методологія, результати досліджень та перспективи виробництва, (Інститут розведення і генетики імені М.В.Зубця НААН), (с. Чубинське, 17 трав. 2011 р року, *форма участі: очна – виступ з доповіддю*);

Продовження додатку Д

– X наукової конференції молодих вчених та аспірантів (Інститут розведення і генетики імені М.В.Зубця НААН, с. Чубинське, 17 трав. 2012 року, *форма участі: очна – виступ з доповіддю*);

– XI наукової конференції молодих вчених та аспірантів (Інститут розведення і генетики імені М.В.Зубця НААН, с. Чубинське, 16 травня 2013 року, *форма участі: очна – виступ з доповіддю*);

– III міжнародній науково-практичній конференції «Зоотехнічна наука: історія, проблеми, перспективи» (Кам'янець–Подільський, 22-24 травня 2013, *форма участі: заочна – публікація тез*);

– Міжнародній науково-практичній конференції, присвяченій 20-річчю створення кафедри розведення, генетики тварин та біотехнології Житомирського національного агроекологічного університету і 75-річчю з дня народження доктора с.-г. наук, професора Пелехатого Миколи Сергійовича «Сучасні проблеми розведення і селекції сільськогосподарських тварин» (Житомир, 2013, *форма участі: заочна – публікація тез*);

– Міжнародній науковій конференції «*Challenges and Innovations*» (Софія, Болгарія, 3. X – 1. XI. 2013, *форма участі: заочна– публікація тез*).

– XII Всеукраїнський науковій конференції молодих вчених та аспірантів, присвяченій пам'яті академіка УААН Валерія Петровича Бурката (Інститут розведення і генетики тварин імені М. В. Зубця НААН, с. Чубинське, 13 березня 2014 року, *форма участі: очна – виступ з доповіддю*);

– XIII Всеукраїнський науковій конференції молодих учених та аспірантів, присвяченій пам'яті академіка УААН Михайла Васильовича Зубця (Інститут розведення і генетики тварин імені М. В. Зубця НААН, с. Чубинське, 28 травня 2015 року, *форма участі: очна – виступ з доповіддю*);

– XIV Всеукраїнська наукова конференція молодих учених та аспірантів, присвячена пам'яті академіка УААН Валерія Петровича Бурката «Практичні результати та методичні аспекти досліджень з розведення, генетики 165 та біотехнології у тваринництві (Чубинське, 20 травня 2016 року, *форма участі: очна – виступ з доповіддю*);

Продовження додатку Д

– XV Всеукраїнська наукова конференція молодих учених та аспірантів, присвячена 15-річчю присвоєння статусу національного надбання Банку генетичних ресурсів тварин Інституту розведення і генетики тварин імені М. В. Зубця НААН «Селекційні, генетичні та біотехнологічні методи збереження, поліпшення і використання генофонду тварин», Чубинське, 19 травня 2017 року, *форма участі: очна – виступ з доповіддю*);

– XVI Всеукраїнський науковій конференції молодих учених та аспірантів, присвяченій вшануванню 80-ї річниці від дня народження академіка НААН Михайла Васильовича Зубця (Інститут розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН, с. Чубинське, 24 травня 2018 року, *форма участі: очна – виступ з доповіддю*);

– XVII Всеукраїнський науковій конференції молодих учених та аспірантів, присвяченій 80-ї річниці від дня народження академіка УААН Валерія Петровича Бурката (Інститут розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН, с. Чубинське, 20 травня 2019 р., *форма участі: очна – виступ з доповіддю*);

– XVIII Всеукраїнський науковій конференції молодих учених та аспірантів, з міжнародною участю, присвяченій 95-й річниці від дня народження професора Володимира Юхимовича Недави (Інститут розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН, с. Чубинське, 20 липня 2020 р., *форма участі: дистанційна – виступ онлайн з доповіддю*);