

УДК 636.71:575.113.2

АНАЛІЗ ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ СОБАК ПОРОДИ ФРАНЦУЗЬКИЙ БУЛЬДОГ З ВИКОРИСТАННЯМ МІКРОСАТЕЛІТНИХ МАРКЕРІВ ДНК

С. Г. КРУГЛИК¹, В. В. ДЗИЦЮК², В. Г. СПИРИДОНОВ¹

¹Українська лабораторія якості та безпеки продукції АПК (Київ, Україна)

²Інститут розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН (Чубинське, Україна)

(dzitsiuk@yandex.ua)

За результатами дослідження собак породи французький бульдог з використанням шести мікросателітних локусів ДНК: PEZ1, PEZ3, PEZ6, PEZ8, FHC 2054 і FHC2010, встановлено найінформативніші з них PEZ3, PEZ6 і PEZ8, які мають високу ефективність використання у індивідуальній і породній паспортизації собак завдяки високій варіабельності генотипу за рідкісними алелями, до яких відносяться алелі: M, C, D, E, J, K, L, O, N і які становлять 60% від загальної кількості ідентифікованих алелів. Встановлено, що алелі C, D, E за локусом PEZ3 і алель O за локусом PEZ6 унікальні для даної вибірки собак, оскільки вони не мають повторів в інших локусах. Типові алелі: N, F, R, I, P, K, M становлять 40% від загальної кількості. Але алелі F, R локусу PEZ3 і алель P за локусом PEZ6 також не повторюються ні в типових, ні в рідкісних алельних варіантах, що свідчить про високу інформативність цих алелів і локусів, які слід використовувати для подальшого моніторингу алелофонду.

Ключові слова: локус, порода собак французький бульдог, генотип, алелофонд, типові алелі, рідкісні алелі, мікросателітні маркери ДНК, гомозиготність, гетерозиготність, поліморфізм

ANALYSIS OF GENETIC STRUCTURE OF DOGS OF FRENCH BULLDOG BREED USING MICROSATELLITE DNA MARKERS

S. Kruhlyk¹, V. Dzitsiuk², V. Spirydonov¹

¹Ukrainian Laboratory of Quality and Safety of Agricultural Products (Kyiv, Ukraine)

²Institute of Animal Breeding and Genetics nd. a. M.V.Zubets of NAAS (Chubynske, Ukraine)

The results of the study of dogs of French Bulldog breed with using six microsatellite DNA loci: PEZ1, PEZ3, PEZ6, PEZ8, FHC2054 and FHC2010, stated most informative, they are PEZ3, PEZ6 and PEZ8, which have high efficiency in individual and breed certification of dogs through high variability of genotype with rare alleles, which include alleles: M, C, D, E, J, K, L, O, N and representing 60% of the identified alleles. It is established that alleles C, D, E for locus PEZ3 and allele O for locus PEZ6 are unique for the sample of the dogs, because they do not have the repeats in other loci. Typical alleles: N, F, R, I, P, K, M constitute 40% of the total. But alleles F, R for locus PEZ3 and allele P for locus PEZ6, are not repeated either in typical or in rare allelic variants, indicating a high information content of these alleles and loci to be used for further monitoring allele pool.

Keywords: locus, French Bulldog dog breed, genotype, allele pool, typical alleles, rare alleles, microsatellite DNA markers, homozygosity, heterozygosity, polymorphism

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ СОБАК ПОРОДЫ ФРАНЦУЗСКИЙ БУЛЬДОГ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОСАТЕЛИТНЫХ МАРКЕРОВ ДНК

С. Г. Круглик¹, В. В. Дзицюк², В. Г. Спиридонов¹

¹Украинская лаборатория качества и безопасности продукции АПК (Киев, Украина)

²Институт разведения и генетики животных им. М.В.Зубца НААН (Чубинское, Украина)

По результатам исследования собак породы французский бульдог с использованием шести микросателлитных локусов ДНК: PEZ1, PEZ3, PEZ6, PEZ8, FHC 2054 и FHC2010, определены наиболее информативные из них PEZ3, PEZ6 и PEZ8, которые имеют высокую эффективность использования в индивидуальной и породной паспортизации собак благодаря высокой вариабельности генотипа за редкими аллелями, к которым относятся аллели: M, C, D, E, J, K, L, O, N и которые составляют 60% от общего количества идентифицированных аллелей. Установлено, что аллели C, D, E по локусу PEZ3 и аллель O в локусе PEZ6 уникальные для данной выборки собак, поскольку они не имеют повторов в других локусах. Типичные аллели: N, F, R, I, P, K, M составляют 40% от общего количества. Но аллели F и R по локусу PEZ3 и аллель P по локусу PEZ6 не повторяются в типичных и редких аллельных вариантах, что свидетельствует о высокой информативности этих аллелей и локусов, которые следует использовать для дальнейшего мониторинга аллелофонда.

Ключевые слова: локус, порода собак французский бульдог, генотип, аллелофонд, типичные аллели, редкие аллели, микросателлитные маркеры ДНК, гомозиготность, гетерозиготность, полиморфизм

Вступ. Генетична мінливість домашньої собаки є джерелом ефективного породотворного процесу, створення в породах унікальних генних комплексів. Для збереження цінних генетичних ресурсів собак у світі існують кінологічні асоціації, які мають велику довіру: Американський клуб собаководів (АКС), Британський клуб собаківництва (КС) і Міжнародна кінологічна федерація (FCI), діяльність яких спрямована на захист племінних собак, створення стандартів, реєстрацію породи та видачу точних родоводів.

Відсутність єдиної уніфікованої державної системи з органами регулювання і контролю племінної справи з розведення племінних собак призводить до недовіри світового кінологічного співтовариства до вітчизняних асоціацій собаківників через неодноразові випадки фальсифікації у виданих родоведах. Тому невід'ємною частиною розведення і збереження порід собак є використання в практиці молекулярно-генетичних методів, які дають змогу контролювати розведення племінних собак, підтверджувати достовірність їх походження, своєчасно виявляти причини генетичних хвороб та аномалій і вчасно елімінувати їх носіїв із селекційного процесу. Згідно з вимогами International Society for Animal Genetics (Міжнародне Товариство Генетики Тварин, ISAG) обов'язковим є проведення ДНК-тестування собак відповідно до стандартів і методик, в яких визначено і рекомендовано використання високоінформативних микросателітних маркерів, оскільки завдяки своїй високій поліморфності, стабільному аутосомному кодомінантному успадкуванню за законами Менделя та їх чіткому прояву у вигляді алельних варіантів микросателіти дають можливість визначення як генотипу окремої тварини, так і родинних зв'язків у окремій популяції [5].

Оцінка генетичної різноманітності порід собак здатна суттєво доповнити і покращити програми їх розведення. Оскільки породи собак відрізняються між собою за морфологічними і господарськими ознаками, проблема пошуку породних особливостей у геномі тварин стає все більш актуальною. З цієї точки зору представляє інтерес порода собак французький бульдог – (FRANC.BULLDOGGE, стандарт FCI № 101) (рис.1), яка за класифікацією порід, прийнятою в FCI, відноситься до IX групи – собака – компаньйон для охорони та забави, але до підгрупи бійцівських собак малого формату. В наукових дослідженнях порода французький бульдог маловідома не лише в Україні, а й за її межами, оскільки основна робота усіх

кінологічних об'єднань акцентується у вирішенні теоретичних і практичних питань розведення, утримання, годівлі, ветеринарного захисту та багато інших [4].



Рис. 1. MELWILL IZ MONPANSIE – представник породи французький бульдог (FRANC. BULLDOGGE)

В Україну французькі бульдоги завезені після Другої світової війни з Європи, що поклало початок селекційній роботі з цією породою. За даними Кінологічної спілки України нині є 30 розплідників, які займаються розведенням французьких бульдогів, оскільки популярність їх лише зростає.

Актуальними є дослідження контролю чистопородності і походження собак породи французький бульдог, тому наші дослідження спрямовані на проведення генетичного аналізу собак породи за допомогою мікросателітних маркерів ДНК.

Матеріали і методи. Дослідження проводили у науково-дослідному відділі молекулярно-діагностичних досліджень Української лабораторії якості та безпеки продукції АПК. Для генетичного аналізу за допомогою ДНК-маркерів було задіяно 33 собаки породи французький бульдог, які допущені до племінного використання у Кінологічній спілці України (КСУ). Матеріалом досліджень слугували клітини букального епітелію, які відбиралися перед ранковою годівлею тварин зіскобом слизової оболонки ротової порожнини одноразовими, сухими, стерильними ватними паличками [6, 7]. Геномну ДНК екстрагували за допомогою стандартного набору реагентів для виділення ДНК згідно з інструкцією виробника.

Для досліджень використали маркери PEZ1, PEZ3, PEZ6, PEZ8, FHC 2010, FHC 2054, рекомендовані Міжнародним товариством вивчення генетики (ISAG), АКС, КС та FCI (табл. 1) [16, 17].

1. Характеристика 6 мікросателітних маркерів ДНК, використаних у дослідженні

| Локус | Локалізація в геномі, № хромосоми | Структура повтору | Розмір алелів, п.н* | | Флуо- ресцентна мітка |
|----------|--------------------------------------|-------------------|------------------------|-------|-----------------------------|
| | | | мін. | макс. | |
| PEZ 01 | cfa 7 | TATG | 92 | 136 | FAM |
| PEZ 03 | cfa 19 | AAG | 95 | 154 | FAM |
| PEZ 06 | cfa 27 | AAAT | 164 | 215 | TAMRA |
| PEZ 08 | cfa 17 | AAAT | 230 | 260 | TAMRA |
| FHC 2010 | cfa 24 | ATGA | 208 | 260 | FAM |
| FHC 2054 | cfa 12 | GATA | 141 | 181 | FAM |

Примітка. *Літературні дані [16, 17]

В мультиплексній ПЛР ДНК-маркери об'єднали таким чином, щоб вони за барвником флуоресценції і розміром маркера не перекривали один одного на лінійній площині розмірного стандарту S450 (рис. 2).

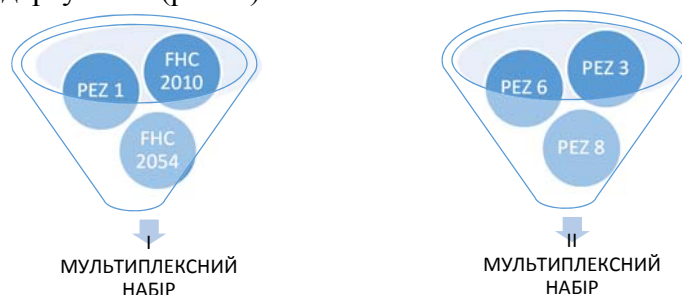


Рис. 2. Мультиплексний набір для проведення ПЛР

Полімеразну ланцюгову реакцію проводили згідно з протоколом оптимальних параметрів ампліфікації для генотипування собак (табл. 2) [8].

2. Протокол рекомендованих параметрів ампліфікації для генотипування собак

| Термоциклер | Стадія | Режим ампліфікації | | Процес | Число циклів |
|-----------------|--------|--------------------|------------|------------------------|--------------|
| | | Температура, °C | Час, с | | |
| Biosystems 2720 | 1 | 94 | 240 | преденатурація ДНК | 1 |
| | 2 | 94 | 15 | денатурація ДНК | 35 |
| | | 60 | 15 | відпалювання праймерів | |
| | | 72 | 25 | елонгація | |
| | 3 | 72 | 300 | фінальна елонгація | 1 |
| 4 | 4 | ∞ | зберігання | | |

Продукти ампліфікації денатурували формамідом (Sigma) і розділяли шляхом електрофорезу на 4-х капілярному генетичному аналізаторі «ABI Prism 3130» Genetic Analyser (Applied Biosystems, США). Розміри алелів визначали за допомогою програми «Gene Mapper 3.7» (Applied Biosystems, США) з використанням внутрішнього розмірного стандарту S450.

Генетико-популяційний аналіз включав показники фактичної (Ho) і теоретичної гетерозиготності (He), індекс поліморфізму (PIC) та вірогідності виключення випадкового збігу алелів (PE), які обраховували із застосуванням програм Cervus 3.0.3. (Единбурзький університет) [9], Power Stats V12 (Promega) [10, 18] та з допомогою програми для роботи з електронними таблицями Microsoft Office Excel 2010 і пакетом програм Statistica 6.0

Результати дослідження. В результаті проведених досліджень у дослідній вибірці собак виявлено 25 алелів за всіма локусами. Середня кількість алелів на локус Na, отримана прямим підрахунком, становила 4,16. Найполіморфнішими для даної породи виявилися локуси PEZ6 і PEZ3 з 8-ми і 6-ти алельними варіантами. Мономорфними є локуси PEZ8 і FHC2054, які мали 4 і 3 алелі, а найменший поліморфізм спостерігався за локусами PEZ 1 і FHC2010, у яких ідентифіковано лише 2 алелі (рис. 2).

Для зручності обробки даних було використано номенклатурну маркерну панель, яку можна використовувати при оформленні генетичних паспортів або у протоколах випробувань для індивідуальної ідентифікації собак та підтвердження походження (батьківства) за розмірами алелів (таб. 3) [11].

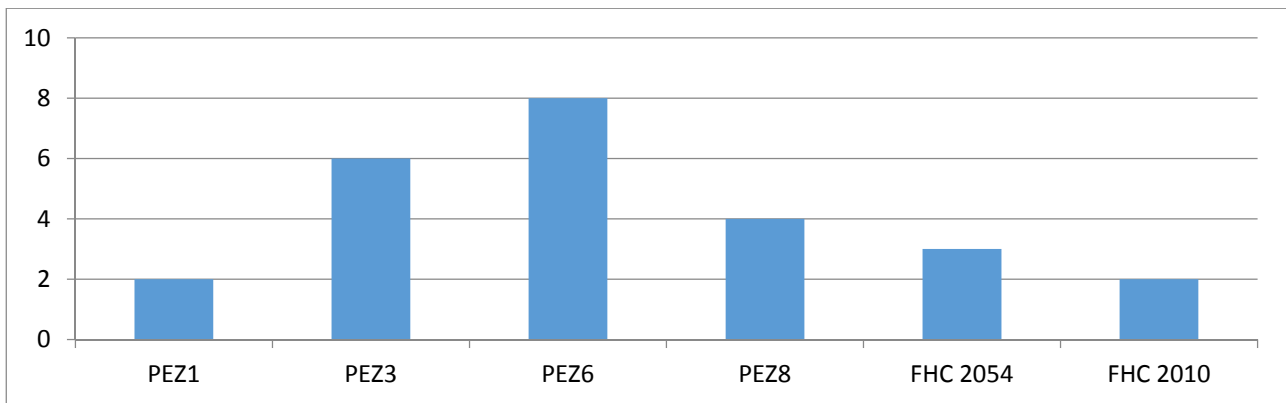


Рис. 2. Кількість ідентифікованих алелів у кожному локусі

3. Ідентифіковані алелі і частоти собак породи французький бульдог згідно з номенклатурною панеллю

| | C | D | E | F | I | J | K | L | M | N | O | P | R |
|----------|---------------|--------|--------|--------|--------|---------------|--------|--------|---------------|---------------|---------------|--------|--------|
| PEZ1 | | | | | | | | | 0,9533 | 0,0417 | | | |
| PEZ3 | 0,4697 | 0,0606 | 0,4091 | 0,0303 | | | | | | 0,0152 | | | 0,0152 |
| PEZ6 | | | | | 0,0152 | 0,2121 | 0,0606 | 0,1364 | 0,0606 | 0,0455 | 0,4545 | 0,0152 | |
| PEZ8 | | | | | 0,0152 | 0,4697 | 0,1970 | 0,3182 | | | | | |
| FHC 2054 | | | | | | 0,9167 | 0,0417 | | 0,0417 | | | | |
| FHC 2010 | | | | | | | | | 0,0833 | 0,1667 | | | |
| | n=25 | | | | | | | | | | | | |

Як і очікувалося, алелофонд породи французький бульдог ідентифікувався широким спектром алельних варіантів $n=25$ у шести мікросателітних локусах.

У локусі PEZ1 виявлено лише два алельні варіанти M (0,9583) і N (0,0417). У поліморфному локусі PEZ3 ідентифіковано алелі C, D, E, F, N і R частота повтору яких становила від 0,0152 до 0,4697. Найбільший поліморфний локус для даної вибірки - PEZ 6 у якого ідентифіковано 8 алелів (J, K, L, M, O, I, N і P) частота яких варіювалася від 0,0152 до 0,4545. Локус PEZ8 складався з чотирьох алельних варіантів – J, K, L і I частота повтору становила від 0,0152 до 0,4697.

Локус FHC2054 ідентифікувався за трьома алельними варіантами (J,K і M) спектр частоти становив від 0,0417 до 0,9167. Локус FHC2010 як і PEZ1 ідентифікувався за двома алелями – M (0,0833) і N (0,1667).

В результаті розподілу алелів у номенклатурній панелі, їх можна класифікувати на типові частота повтору яких становить менше 0,05 ($p > 0,05$), та рідкісні (приватні) алелі з показником частоти більше 0,05 ($q < 0,05$), які характеризують алелофонд породи (табл. 4). Проаналізувавши молекулярно-генетичні особливості собак породи французький бульдог, ми встановили високу варіабельність генотипу за рідкісними алелями, до яких відносяться алелі: M,C,D,E,J,K,L,O,N і які становлять 60% від загальної кількості ідентифікованих алелів. Алелі C,D,E за локусом PEZ3 і алель O за локусом PEZ6 унікальні для даної вибірки собак, оскільки вони не повторюються в інших локусах. Типові алелі: N,F,R,I,P,K,M становлять 40% від загальної кількості. Але алелі F,R локусу PEZ3 і алель P за локусом PEZ6 також не повторюються ні в типових ні в рідкісних алельних варіантах, що свідчить про високу інформативність цих алелів і локусів, які слід використовувати для подальшого моніторингу алелофонду, генетичної паспортизації та ідентифікації собак.

4. Спектр 25 алельних варіантів породи французький бульдог

| Локус | Кількість алелів на локус (Na) | Типові алелі p>0,05 | Рідкісні алелі q<0,05 |
|----------|--------------------------------|---------------------|-----------------------|
| PEZ1 | 2 | N | M |
| PEZ3 | 6 | F,N,R | C,D,E, |
| PEZ6 | 8 | I,N,P | J,K,,L,M,O |
| PEZ8 | 4 | I | J,K,L |
| FHC 2054 | 3 | K,M | J |
| FHC 2010 | | - | M,N |

Рівень фактичної гетерозиготності (*Hobs*) коливався від 0,083 для локусів PEZ1 і FHC2054 до 1,000 за локусом PEZ3 (табл. 5) з середнім значенням 0,376.

5. Показники поліморфізму собак породи французький бульдог (n=33)

| Назва локусу | Кількість алелів на локус (Na) | Hobs | Hexp | PIС | PE |
|--------------|--------------------------------|-------|-------|-------|-------|
| PEZ1 | 2 | 0,083 | 0,083 | 0,077 | 0,006 |
| PEZ3 | 6 | 1,000 | 0,616 | 0,529 | 1,000 |
| PEZ6 | 8 | 0,606 | 0,731 | 0,687 | 0,298 |
| PEZ8 | 4 | 0,485 | 0,649 | 0,569 | 0,175 |
| FHC 2054 | 3 | 0,083 | 0,163 | 0,150 | 0,006 |
| FHC 2010 | 3 | - | 0,290 | 0,239 | - |
| середнє | 4,3 | 0,376 | 0,422 | 0,357 | 0,247 |

Рівень теоретично очікуваної гетерозиготності (*Hexp*) варіює в межах від 0,0083 за локусом PEZ1 до 0,649 за локусом PEZ8. В середньому теоретично очікувана гетерозиготність на 0,046 переважала середнє значення фактичної гетерозиготності, що свідчить про нестачу гетерозиготних генотипів у популяції, спричинену, очевидно, використанням інбридингу у розведенні цієї групи тварин.

Для оцінки інформативності мікросателітних ДНК локусів використовували показник PIC (індекс поліморфності локуса). Значення PIC для проаналізованих локусів варіювало від 0,077 до 0,68 з середнім значенням 0,357. Локуси PEZ3, PEZ6 і PEZ8 оптимально відповідають вимогам щодо їх придатності до генетичної паспортизації генотипів, оскільки їх частота варіює в межах від 0,529 до 0,687. Низький середній індекс поліморфізму викликаний мономорфними локусами PEZ1, FHC 2054 і FHC2010, що підтверджує недостатній рівень їх поліморфізму для генетичної оцінки породи (PIC<0,500).

Вірогідність виключення випадкового збігу алелів складає в середньому 0,247, що теж підтверджує низьку інформативність обраних для породи французьких бульдогів мікросателітних маркерів PEZ1, FHC 2054 і FHC2010.

Таким чином, у дослідній групі собак породи французький бульдог найбільш інформативними виявилися три мікросателітних ДНК-маркери, які доцільно використовувати для проведення подальших досліджень цієї породи.

Висновки. В результаті проведених досліджень собак породи французький бульдог проаналізовано мікросателітні локуси ДНК і встановлено найінформативніші: PEZ3, PEZ6 і PEZ8, які мають високу ефективність використання в індивідуальній і породній паспортизації собак, завдяки високій варіабельності. Отримані дані дають змогу подальшого моніторингу стану генетичного різноманіття породи і розробки заходів для покращення селекційної роботи

з метою збереження структури племінного матеріалу. Для розведення породи собак французький бульдог «в чистоті» і збереження в ній цінних генних комплексів доцільно продовжувати дослідження індивідуальної і популяційної генетичної мінливості.

Перспективи подальших досліджень. Отримані результати є основою подальшого моніторингу інформативності запропонованої панелі мікросателітних маркерів ДНК для генотипування собак породи французький бульдог та проведення їх комплексної оцінки.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Інтернет ресурс <http://frenchrosary.jimdo.com>
2. Інтернет ресурс <http://frenchbulldog.ru/index.html>
3. Куропаткина, М. В. Французский бульдог / М. В. Куропаткина. – Вече, 2005. – 200 с.
4. Дзіцюк, В. Генетичні дослідження у собаківництві / В. Дзіцюк, С. Круглик // Тваринництво України. – К., 2014. – № 6. – С. 7–12.
5. Круглик, С. Г. Генетичний аналіз української популяції собак породи німецький дог з використанням мікросателітних ДНК-маркерів / С. Г. Круглик, В. В. Дзіцюк, В. Г. Спиридонов // Розведення і генетика тварин. – 2014. – Вип. 48. – С. 189–193. – Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/rgt_2014_48_28
6. ДСТУ 7315:2013 Біологічний матеріал для генетичних досліджень. Методи відбору проб.
7. Кондрахин, И. П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: справочник / И. П. Кондрахин. – М. : Колос, 2004. – 520 с.
8. Генетична ідентифікація собак (методичні рекомендації) / В. В. Дзіцюк, та ін. – К., 2012. – 24 с.
9. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations / T. Marshall, J. Slate, L. Kruuk, J. Pemberton // *Molecular Ecology*. – 2002. – 7. – С. 639–655.
10. Kalinowski, S. T. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment / S. T. Kalinowski, M. L. Taper, T. C. Marshall // *Molecular Ecology*. – 2007. – 16 (5). – P. 1099–1106.
11. An international parentage and identification panel for the domestic cat (*Felis catus*) / M. J. Lipinski, Y. Amigues, M. Blasi, T. E. Broad, C. Cherbonnel, G. J. Cho, S. Corley, P. Daftari, D. R. Delattre, S. Dileanis, J. M. Flynn, D. Grattapaglia, A. Guthrie, C. Harper, P. L. Karttunen, H. Kimura, G. M. Lewis, M. Logneri, J.-C. Meriaux, M. Morita, R. C. Morrin-O'Donnell, T. Niini, N. C. Pedersen, G. Perrotta, M. Polli, S. Rittler, R. Schubbert, M. G. Strillacci, H. Van Haeringen, L. A. Lyons // *Animal Genetics*. – 2007. – 38. – P. 371–377.
12. Yeh, FC, Yang R-C, Boyle TJB, Ye Z-H, Mao JX. POPGENE, the userfriendly shareware for population genetic analysis / FC. Yeh, , R-C. Yang, TJB. Boyle, Z-H. Ye, JX. Mao. // *Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta. – Canada.*– 1997.
13. Weir, B. S. Genetic data analysis II. Sunderland. // MA: Sinauer Associates – 1996.
14. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms / D. Botstein, R. L. White, M. H. Skolnick, R. W. Davies // *Am J Hum Genet*. – 1980. – 32. – P. 314–331.
15. Jamieson, A. The genetics of transferrins in cattle / A. Jamieson // *J. Hered*. – 1965. – 20. – Pp. 419–41.
16. Genetic variation detected by microsatellites in five Spanish dog breeds / L. Morera, C. J. Barba, J. J. Garrido, M. Barbancho, D. F. de Andres // *J. Hered*. – 1999. – 90 (6). – P. 654–656.
17. Identification and characterization of dinucleotide repeat (CA)_n markers for genetic mapping in dog / E. A. Ostrander, F. George, Jr. Sprague, J. Rine // *Genomics*. – 1993. – 16. – P. 207–213.
18. Айла, Ф. Введение в популяционную и эволюционную генетику/ Ф. Айла — М.: Мир, 1984. – 232 с.

REFERENCES

1. Internet resurs <http://frenchrosary.jimdo.com>

2. Internet resurs <http://frenchbulldog.ru/index.html>
3. Kuropatkyna, M. V. 2005. *Frantsuzskyy bul'doh*. Veche, 200 (in Russian).
4. Dzitsiuk, V., and S. Kruhlyk. 2014. Henetychni doslidzhennya u sobakivnytstvi. *Tvarinnictvo Ukrayiny – Ukraine Animal Breeding*. Kyiv, 6:7–12 (in Ukrainian).
5. Kruhlyk S. H., Dzitsiuk V. V., Spyrydonov V. H. 2014. Henetychnyy analiz ukrayins'koyi populyatsiyi sobak porody nimets'kyy doh z vykorystannyam mikrosatelitnykh DNK-markeriv *Rozvedennya i henetyka tvaryn – Animal Breeding and Genetics*. Kyiv, Ahrarna nauka. 48:189–193. Rezhym dostupu: http://nbuv.gov.ua/UJRN/rgt_2014_48_28 (in Ukrainian).
6. DSTU 7315:2013. Biolohichnyy material dlya henetychnykh doslidzen'. *Metody vidboru prob – Sampling methods* (in Ukrainian).
7. Kondrakhin, I. P. 2004. *Metody veterinarnoy klinicheskoy laboratornoy diagnostiki. Spravochnik – Directory*. Moscow, Kolos, 520 (in Russian).
8. Dzitsiuk, V. V. 2012. *Henetychna identyfikatsiya sobak. Metodychni rekomendatsiyi – Methodical recommendations*. Kyiv, 24 (in Ukrainian).
9. Marshall, T., J. Slate, L. Kruuk, and J. Pemberton. 2002. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology*. 7:639–655.
10. Kalinowski, S. T., M. L. Taper, and T. C. Marshall. 2007. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular Ecology*. 16 (5):1099–1106.
11. Lipinski, M. J., Y. Amigues, M. Blasi, T. E. Broad, C. Cherbonnel, G. J. Cho, S. Corley, P. Daftari, D. R. Delattre, S. Dileanis, J. M. Flynn, D. Grattapaglia, A. Guthrie, C. Harper, P. L. Karttunen, H. Kimura, G. M. Lewis, M. Logneri, J.-C. Meriaux, M. Morita, R. C. Morrin-O'Donnell, T. Niini, N. C. Pedersen, G. Perrotta, M. Polli, S. Rittler, R. Schubbert, M. G. Strillacci, H. Haeringen, and L. A. Van and Lyons. 2007. An international parentage and identification panel for the domestic cat (*Felis catus*). *Animal Genetics*. 38:371–377.
12. Yeh, F. C., R.-C. Yang, T. J. B. Boyle, Z.-H. Ye, and J. X. Mao. 1997. POPGENE, the userfriendly shareware for population genetic analysis. *Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta*. Canada.
13. Weir, B. S. 1996. Genetic data analysis II. Sunderland. MA: Sinauer Associates.
14. Botstein, D., R. L. White, M. H. Skolnick, and R. W. Davies 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.* 32:314–31.
15. Jamieson, A. 1965. The genetics of transferrins in cattle. *J. Hered.* 20:419–41.
16. Morera, L., Ts. J. Barba, J. J. Garrido, M. Barbancho, and D. F. de Andres. 1999. Genetic variation detected by microsatellites in five Spanish dog breeds. *J. Hered.* 90(6):654–6.
17. Ostrander, E. A., F. George, Jr. Sprague, and J. Rine. 1993. Identification and characterization of dinucleotide repeat (T_nA)_n markers for genetics mapping in dog. *Genomics*. 16:207–13.
18. Ayla, F. 1984. *Vvedenye v populyatsyonnyuyu y evolyutsyonnyuyu henetyku*. Myr, 232 (in Russian).

