



НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ
АГРАРНИХ НАУК
УКРАЇНИ

NATIONAL ACADEMY
OF AGRARIAN SCIENCES
OF UKRAINE



ІНСТИТУТ РОЗВЕДЕННЯ
І ГЕНЕТИКИ ТВАРИН
імені М. В. ЗУБЦЯ

INSTITUTE OF ANIMAL BREEDING
AND GENETICS NAMED
after M. V. ZUBETS

**ПРОВЕДЕННЯ
досліджень та оцінювання
генетичного поліморфізму
і мікроеволюційних процесів
за монолокусними
та мультилокусними
ділянками ДНК
у різних видів
СВІЙСЬКИХ ТВАРИН**



Аграрна наука

NATIONAL ACADEMY OF AGRARIAN SCIENCES OF UKRAINE

Institute of Animal Breeding and Genetics named after M. V. Zubets

K. KOPYLOV, L. STARODUB, A. SHEL'YOV,
N. MOKHNACHOVA, Y. LESNYAK, M. DOBRIANSKA

CONDUCTING
research and evaluation
of genetic polymorphism
and microevolutionary processes
in monolocus
and multilocus
DNA sections
in various species
of DOMESTIC ANIMALS

METHODOLOGICAL RECOMMENDATIONS

Kyiv
Agrarna nauka
2026

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ

Інститут розведення і генетики тварин імені М. В. Зубця

К. КОПИЛОВ, Л. СТАРОДУБ, А. ШЕЛЬОВ,
Н. МОХНАЧОВА, Ю. ЛЕСНЯК, М. ДОБРЯНСЬКА

**ПРОВЕДЕННЯ
досліджень та оцінювання
генетичного поліморфізму
і мікроеволюційних процесів
за монолокусними
та мультилокусними
ділянками ДНК
у різних видів
СВІЙСЬКИХ ТВАРИН**

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Київ
Аграрна наука
2026

УДК 636:575.113:577.21
DOI: 10.31073/978-966-540-685-3

П 78

*Рекомендовано до друку вченою радою
Інституту розведення і генетики тварин імені М. В. Зубця НААН
14 листопада 2025 р. (протокол № 11)*

Рецензенти:

Р. Кулібаба – доктор сільськогосподарських наук, професор,
завідувач кафедри біології тварин (Національний університет
біоресурсів і природокористування України);

Т. Супрович – доктор сільськогосподарських наук, професор, завідувачка кафедри
гігієни тварин та ветеринарного забезпечення кінологічної служби Національної
поліції України (Заклад вищої освіти «Подільський державний університет»)

Авторський колектив:

К. Копилов – д-р с.-г. наук, проф., гол. наук. співроб.; **Л. Стародуб** – д-р с.-г. наук,
гол. наук. співроб.; **А. Шельов** – д-р с.-г. наук, пров. наук. співроб.; **Н. Мохначова** –
канд. с.-г. наук, пров. наук. співроб.; **Ю. Лесняк** – канд. с.-г. наук, наук. співроб.;

М. Добрянська – канд. с.-г. наук, ст. наук. співроб.

(Інститут розведення і генетики тварин імені М. В. Зубця НААН)

**Копилов К., Стародуб Л., Шельов А., Мохначова Н., Лесняк Ю.,
Добрянська М.**

П 78 Проведення досліджень та оцінювання генетичного поліморфізму
і мікроеволюційних процесів за монолокусними та мультилокусними
ділянками ДНК у різних видів свійських тварин: методичні рекоменда-
ції. Київ: Аграрна наука, 2026. 84 с. [Kopylov K., Starodub L., Shelyov A.,
Mokhnachova N., Lesnyak Y., Dobrianska M. Conducting research and evalu-
ation of genetic polymorphism and microevolutionary processes in monolo-
cous and multilocus DNA sections in various species of domestic animals:
methodological recommendations. Kyiv: Agrarna nauka, 2026. 84 p.]

ISBN 978-966-540-685-3

У методичних рекомендаціях висвітлено базові теоретичні основи і представлено ме-
тодичні підходи до проведення молекулярно-генетичних досліджень та математико-ста-
тистичного аналізу результатів за мультилокусними й монолокусними ділянками ДНК у
різних видів свійських тварин.

Розраховано на науковців і фахівців з генетики та розведення тварин, викладачів, здо-
бувачів вищої освіти аграрного профілю.

The methodological recommendations highlight the basic theoretical foundations and pres-
ent methodological approaches to conducting molecular genetic research and mathematical and
statistical analysis of results on multilocus and monolocus DNA regions in various species.

Designed for scientists and specialists in genetics and animal breeding, teachers, and higher
education students in agricultural fields.

УДК 636:575.113:577.21

DOI: 10.31073/978-966-540-685-3

© К. Копилов, Л. Стародуб, А. Шельов,
Н. Мохначова, Ю. Лесняк, М. Добрянська, 2026

© Інститут розведення і генетики тварин
імені М. В. Зубця НААН, 2026

© Державне видавництво
«Аграрна наука» НААН, 2026

ISBN 978-966-540-685-3

Зміст

ВСТУП	7
--------------------	----------

1.

Проведення молекулярно-генетичних досліджень	11
---	-----------

2.

Здійснення мікросателітного аналізу біологічного матеріалу від представників різних видів тварин.....	14
--	-----------

2.1. Визначення генотипу тварин за монолокусними ділянками ДНК (STR-локусами) у великої рогатої худоби (<i>Bos Taurus</i>).....	15
---	----

2.2. Визначення генотипу тварин за монолокусними ділянками ДНК (STR-локусами) у коней (<i>Equus caballus</i>)	19
---	----

2.3. Визначення генотипу тварин за монолокусними ділянками ДНК (STR-локусами) у собак (<i>Canis familliaris</i>)	21
--	----

2.4. Визначення генотипу тварин за монолокусними ділянками ДНК (STR-локусами) свійської курки (<i>Gallus domesticus</i>)	23
--	----

3.

Дослідження мультилокусних (міжмікросателітних) ділянок ДНК у представників різних видів тварин	25
--	-----------

3.1. Здійснення міжмікросателітного аналізу ДНК (метод ISSR-ПЛП) у великої рогатої худоби (<i>Bos Taurus</i>)	25
---	----

3.2. Здійснення міжмікросателітного аналізу ДНК (метод ISSR-ПЛП) у кіз (<i>Capra aegagrus hircus</i>)	26
---	----

3.3. Здійснення міжмікросателітного аналізу ДНК (метод ISSR-ПЛР) у коней (<i>Equus caballus</i>)	27
3.4. Здійснення міжмікросателітного аналізу ДНК (метод ISSR-ПЛР) у водяного буйвола (<i>Bubalus bubalis</i>)	28

4.

Оцінювання генетичного поліморфізму та мікроеволюційних процесів за монолокусними (STR) та мультилокусними (ISSR) ділянками ДНК у різних видів тварин (за результатами власних досліджень)	29
Перелік використаних джерел	78
Основна інформація про програмне забезпечення	83

ВСТУП

У багатьох організмах тільки мала частина загальної послідовності геному кодує білки, а понад 90% ДНК складається з сателітної ДНК, інтронів, тандемних повторів, транспозонів тощо. Некодуючі послідовності – це ділянки ДНК, послідовність яких не переводиться безпосередньо в амінокислотну послідовність білків. Причини існування такої великої кількості некодуючої ДНК в еукаріотичних геномах і величезна різниця в розмірах геномів – одна з наукових загадок. Частина некодуючої ДНК безпосередньо задіяна в регуляції активності кодуючих ділянок. Проте функції її більшої частини невідомі. Численні проекти з секвенування та аналізу ДНК останніми роками ХХ ст. та на початку ХХІ призвели до встановлення послідовностей та опису геномів багатьох організмів усіх основних таксономічних груп.

Результати наукових досліджень, отримані при вивченні структури і організації геномної ДНК тварин, рослин і мікроорганізмів, істотно вплинули на методологію їх систематизації, раніше заснованої переважно на аналізі фенотипічних ознак. Проблема адекватного зарахування конкретного організму до тієї чи іншої групи не є чисто академічною. Точність критеріїв систематики живих організмів, що визначає еволюційну спорідненість між ними, крім суто теоретичного являє собою і практичний інтерес. Зокрема, ідентифікація мікроорганізмів важлива не лише для медичної практики, а також і в інших сферах, наприклад, за сертифікації продуктів харчування, визначення екологічної чистоти води, ґрунтів та ін. Нині молекулярно-генетичні методи дають змогу здійснювати ідентифікацію особистості в судово-медичних дослідженнях, а також вирішувати в спірних випадках проблему визначення батьківства.

Застосування технологій генотипування в сільському господарстві дають можливість виявити особливості геному різних систематичних груп та встановити філогенетичні зв'язки між ними.

Спільність походження та наявність ідентичних ділянок у геномі різних видів дає можливість прогнозувати функції генів у одного виду, якщо ці функції відомі у близьких чи навіть віддалених видів, відкриває нові можливості для ефективного вирішення різних завдань сучасної селекції, таких як підтримка генетичних колекцій, підбір батьківських форм для схрещування, складання родоводів, контроль за інтрогресією генетичного матеріалу, паспортизація і сертифікація сортів рослин та порід тварин, визначення ступеня гомозиготності, генетичної спорідненості, рівня внутрішньопородної та міжпородної генеалогічної диференціації, індивідуального генотипування, генетичного картування, паспортизації тварин, вивчення питань філогенії та походження видів [1–9].

Найважливішим підходом у дослідженні генетичного поліморфізму є використання методів молекулярного аналізу, які дають змогу отримувати індивідуальну характеристику окремого генотипу – ДНК-профіль. Наявні методи ДНК-типування геномів відрізняються за складністю, надійністю й обсягом одержуваної інформації. Для надійного розрізнення та ідентифікації генотипів, дослідження філогенетичних взаємозв'язків і інтрогресії генетичного матеріалу перспективним є метод аналізу поліморфізму гіперваріабельних послідовностей геному, який дає можливість отримувати відтворювані, інформативні профілі фрагментів геному.

Послідовності ДНК розділяють на мультилокусні (RAPD, AFLP, ISSR), монолокусні (STMS, SNP, SSCP) та інші. Дослідження мультилокусних маркерів засноване на застосуванні полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Суть методу ISSR-ПЛР (*Inter-simple sequence-repeats*) полягає у використанні мікросателітних локусів як ділянок випалу праймерів, комплементарних мікросателітним повторам (4–12 одиниць повтору) і мають на одному 5' чи 3'-кінці 1–4 якірних нуклеотиди, які визначають місце випалу праймера. Такі праймери уможливають ампліфікацію фрагментів ДНК, які розташовані між мікросателітними послідовностями. Отримані патерни видоспецифічні. ISSR-маркери зараховують до маркерів домінантного типу успадкування, поліморфізм яких виявляється

наявністю чи відсутністю фрагментів, спектр яких істотно вирізняється між таксонами. Цей метод застосовується для вивчення генетичної структури як на міжвидовому, так і на внутрішньовидовому рівнях, а також може використовуватися для генетичного картування, паспортизації тварин, для вивчення питань філогенії та походження видів [10–16].

Повторювальні послідовності розділяють на два класи: дисперсні послідовності та тандемні повтори. Дисперсні послідовності залежно від довжини класифікують на довгі інтерсперсійні елементи (LINEs) завдовжки понад 1000 п. н. і короткі (SINEs) – менші як 500 п. н. Функція цих елементів нині до кінця невідома. Тандемні повтори – багатократні повтори окремих послідовностей, кількість яких у тварин різних видів дуже варіює і характеризується ступенем гетерозиготності понад 90%. Залежно від довжини повторюваних фрагментів вирізняють кілька класів: максі (довжина понад 5×10^5 п. н.), міні (довжина тандемно повторюваної послідовності 10–60 п. н.) та мікросателіти з довжиною мотиву 1–6 п. н. Мінісателіти застосовують у «геномній дактилоскопії» (ДНК-фінгерпринт). Основним механізмом виникнення та існування поліморфізму в мінісателітах вважають нерівний кросинговер і генну конверсію, а високу варіабельність пов'язують з ініціатором мутацій, який фланкує повтор та активацію мутагенних систем геному. Мікросателіти дисперговані тандемно повторювальні моно-, ди-, три-, тетра- та пентануклеотидні послідовності, розмір яких становить у середньому не більше 100 п. н. Ці маркери мають кілька назв: мікросателіти, STMS (*Sequence Tagged Microsatellite Site*), STR (*short tandem repeat*), SSR (*simple sequence repeat*). Поліморфізм STR маркерів визначається різним копіюванням мономерних одиниць у кластері. Перевагою мікросателітних локусів є їх велика гетерозиготність, наявність досить великої кількості алелів (у середньому 6–10 на локус), які мають кодомінантний характер успадкування. Це дає змогу чітко відрізняти гомозиготу від гетерозиготи і контролювати гени, що отримані від батьків. Частота мутацій мікросателітів 10^{-9} – 10^{-10} . У роботах з визначення батьків-

ства у людей встановлена середня частота мутацій на один локус (на одне покоління) і дорівнює 10^{-3} , а миші, вівці, свині 10^{-3} – 10^{-4} , $1,3 \times 10^{-4}$, 7×10^{-5} відповідно. Припускають, що така висока частота мутацій мікросателітів виникає або при помилках реплікації окремої ДНК, або в процесі рекомбінації між молекулами ДНК. Вони є універсальною системою генетичних маркерів для аналізу змін, що успадковуються на рівні ядерної ДНК і застосовуються у тваринництві як для аналізу еволюційних зв'язків між різними породами сільськогосподарських тварин, визначення часу появи тієї чи іншої породи, так і при експертизі походження, дослідженнях генетичного поліморфізму різних видів тварин [17–25]. Оскільки алельні варіанти поліморфних систем не змінюються впродовж індивідуального розвитку особи, не залежать від віку, хвороб, фізіологічного стану тварини і зовнішніх впливів навколишнього середовища, генетичне тестування тварин здійснюють один раз за життя. Мікросателітні ДНК маркери використовують у дослідженнях генетичної мінливості, картографуванні геномів, аналізі взаємозв'язків особин та популяцій, оцінюванні рівнів інбридингу (Fis), аналізі генетичної структури субпопуляцій та популяцій, оцінюванні ефективного розміру популяції (Ne) і дрейфу генів між популяціями у різних видів – великої рогатої худоби, коня свійського [26–35], аналізі та дослідженнях з молекулярно-генетичної еволюції геному курки, оцінюванні мікроеволюційних процесів та генетичного різноманіття [36–44], дослідженнях собак [45–47] та багатьох інших видів. Відповідно до рекомендацій *International Society of Animal Genetics – ISAG/FAO* запропоновані панелі найбільш інформативних мікросателітних маркерів для деяких видів сільськогосподарських тварин, які дають можливість оцінювання достовірності походження племінних тварин та племінного матеріалу для їх паспортизації.

Усі таблиці та рисунки, які не мають посилань, розраховано і сформовано авторами цих методичних рекомендацій

1. Проведення молекулярно-генетичних досліджень

Для молекулярно-генетичних досліджень придатним є різноманітний біологічний матеріал: кров, біоптати, волосся (шерсть), ембріони, молоко, ооцити, а також нативна, охолоджена та кріоконсервована сперма та інші тканини.

Забір *крові* проводиться з яремної вени одноразовим шприцем об'ємом 5–10 мл або вакуумними системами типу *Venoproject*, *Vacutainer* та ін. (з ЕДТА або цитратом натрію). При заборі в шприц, кров переноситься в одноразові пробірки з антикоагулянтom (3% розчин ЕДТА (трилон Б) із розрахунку 10:1 або 3,8% розчином цитрату Na у співвідношенні 1:9). *Гепарин як антикоагулянт – не використовувати!*

Пробірку з кров'ю необхідно зберігати у холодильнику при температурі (+4°C) до 5 год. За неможливості швидкої доставки матеріалу для тривалого зберігання кров заморожують при (-20°C). Наступне транспортування здійснюється в замороженому стані.

Сперма відбирається в одноразові стерильні пробірки або пасти. Сперму для виділення ДНК можна використовувати як нативну, так і заморожену. Транспортування та зберігання аналогічне з вимогами зберігання крові.

Відбір біоптатів. Біоптати можуть мати різне походження. Для ДНК-аналізу можна використовувати вищипи з вуха, які залишаються при міченні тварин. Термін зберігання шматочків розміром від 5×5 мм за температури 4°C – 3–4 доби, у замороженому стані (-20°C і нижче) – необмежений.

Під час відбору кожену пробу маркують індивідуальним номером. Складають акт про відбір проб у довільній формі, в якому вказують повну назву підприємства/власника, де зроблено відбір біоматеріалу, час відбору, його вид, записують номери тварин та відповідні номери проб.

Виділення ДНК здійснюють за кількома методиками залежно від мети дослідження. За умови, якщо метою дослідження є скри-

нінговий експрес-аналіз певної групи тварин на наявність генетичних аномалій чи особливостей, то ДНК виділяють експрес-методом у невеликій кількості, термін зберігання такої проби – 1–2 доби.

З метою зберігання проби тривалий час і використання для ряду аналізів – ДНК виділяють відповідним методом. Такий ДНК-зразок може зберігатися кілька років.

Методи виділення ДНК:

Експрес-метод виділення ДНК з різних тканин за допомогою реагенту «Chelex-100».

Виділення ДНК із крові: до 200–500 мкл крові або гомогенізованих тромбів додають 1000 мкл стерильної дистильованої води та перемішують на мікрозмішувачі типу «Vortex»; суміш інкубують протягом 15–30 хв за кімнатної температури, періодично перемішують способом струшування; центрифугують протягом 1 хв при 6000 об/хв; обережно видаляють надосадову рідину, залишають 20–30 мкл рідини над осадом, додають 170–180 мкл 5%-го стерильного водяного розчину «Chelex-100»; інкубують протягом 15–30 хв за температури 56°C; ретельно перемішують способом струшування та витримують 8 хв на водяній бані за температури 100°C; ретельно перемішують способом струшування; центрифугують протягом 5 хв при 6 000 об/хв.

Для ампліфікації використовують 5 мкл надосадової рідини, яка містить ДНК. Зразки зберігають за температури -20°C. Після кожного розморожування зразки перемішують та центрифугують протягом 5 хв при 6000 об/хв.

Виділення ДНК із сперми: до 3 мкл нативної сперми додають 200 мкл 5% стерильного водного розчину, «Chelex-100»; до суміші додають 2 мкл протеїнази К концентрацією 10 мг/мл та 7 мкл дітіотрейтолу; обережно перемішують способом струшування та інкубують зразки 30–60 хв за температури 56°C; перемішують вміст пробірок на мікрозмішувачі та інкубують 8 хв за температури 100°C; перемішують на мікрозмішувачі та центрифугують 2–5 хв при 8000–10000 об/хв.

Зразки зберігають за температури -20°C. Для ампліфікації використовують 5 мкл надосадової рідини, яка містить ДНК.

Концентрацію та ступінь очищення ДНК визначають спектрофотометрично (спектрофотометр СФ-46) при довжині хвилі 260 та 280 нанометрів. Нативність ДНК визначають способом електрофорезу в 1% агарозному гелі за умови відсутності «шлейфу» фрагментів ДНК та інтенсивності флуоресценції бромистого етидію при ультрафіолетовому опромінюванні електрофореграм.

Виділення ДНК здійснюють за використання стандартних наборів для виділення ДНК відповідно до протоколу виробника.

Обладнання для проведення ПЛР: ампліфікатор (термоциклер); генетичний аналізатор; автоматичні мікропіпетки (0,5–200 мкл) для відбору зразків; центрифуга для пробірок типу «Eppendorf» (частота обертання ротора до 14000 об/хв); прилади для вертикального (у поліакриламідному гелі) та горизонтального (в агарозному гелі) електрофорезу; транслюмінатор; система для фото- або цифрової документації результатів.

Реакційна суміш для проведення ПЛР уміщує реакційний буфер для проведення ПЛР з $MgCl_2$ або без нього, оптимізований для конкретної термостабільної ДНК-полімерази, суміш чотирьох дезоксинуклеотид-трифосфатів; праймер, високоочищену (деіонізовану) воду. Реактиви поставляються у готовому вигляді фірмами-виробниками.

Електрофоретичне розділення ISSR-маркерів здійснюють у 2%, 4% агарозному гелях у тріс-боратному електрофорезному буфері (ТВЕ: 0,0879 М Тріс, 0,089 М борна кислота, 0,002 М ЕДТА рН 8,0). Для нанесення зразків на гель використовують буфер такого складу: 0,25% бромфеноловий синій, 0,25% ксилолціанол, 30% гліцерин. Електрофорез здійснюють 1–3 год за напруги 2 в/см геля. Забарвлюють гелі за допомогою бромистого етидію (0,5 мкг/мл) 10 хв з послідуною їх багаторазовою відмивкою у дистильованій воді. Візуалізація здійснюється на транслюмінаторі в УФ-світлі за довжини хвилі 380 нм після забарвлення гелю етидієм бромідом.

Розміри отриманих в ПЛР або в результаті рестрикції продуктів виявляють за допомогою маркера молекулярних мас, наприклад, *GeneRuler DNA Ladder Mix ready-to-use*, «Fermentas».

2. Здійснення мікросателітного аналізу біологічного матеріалу від представників різних видів тварин

На сьогодні, відповідно до рекомендацій ISAG/FAO (*International Society of Animal Genetics*), запропоновані панелі найбільш інформативних мікросателітних маркерів для різних видів тварин, зокрема й для великої рогатої худоби, які дають можливість оцінювання генетичної структури та достовірності походження тварин і племінного матеріалу з вірогідністю 99,99%.

Дослідження генетичної структури за мікросателітними маркерами здійснюють на генетичних аналізаторах, таких як ABI Prism 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США) з використанням, приміром, такого обладнання: програмований термостат (ампліфікатор) Applied Biosystems Veriti™ 96 Well Thermal Cycler (Applied Biosystems, США), твердотільний термостат типу «Drayblock», $t = 95^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$; УФ-бокс для ПЛР UVC/T (Biosan, Латвія); центрифуга Eppendorff 5715R (Eppendorf, Німеччина); стерильна ламінарна шафа 2-го кл. захисту, БАВп-01 – «Ламінар-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); транслюмінатор TM 36 LCF 900 122 V (UVP, США); спектрофотометр СФ – 46; камери для горизонтального гель-електрофорезу; блок живлення (джерело постійного струму $300 \pm 10\text{В}$), «Б-5-50»; холодильна камера на (-20°C) , «NORD»; ваги «OHAUS»; термостати «TC – 80М-2» на $28 - 60^{\circ}\text{C}$;

магнітна мішалка МН; лабораторний посуд (колби 25–1000 мл, мірні склянки об'ємом 25–1000 мл).

2.1. Визначення генотипу тварин за монолокусними ділянками ДНК (STR-локусами) у великої рогатої худоби (*Bos Taurus*)

Постановка ПЛР. Аналіз здійснюють за різними мікросателітними локусами ДНК, наприклад (табл. 1).

Таблиця 1. Мікросателітні ДНК-локуси для ідентифікації великої рогатої худоби

Локус	Локалізація в геномі	Розмір алелів, п. н.	Структура мікросателітної послідовності
TGLA126	D20S1	111–127	(TG) _n
TGLA122	D21S6	136–182	(AC) _n (AT) _n
INRA023	D3S10	201–225	(AC) _n
ETH003	D19S2	100–128	(GT) _n AC(GT) ₆
ETH225	D9S2	139–157	(TG) ₄ CG(TG)(CA) _n
BM1824	D1S34	176–188	(GT) _n
TGLA227	D18S1	76–104	(TG) _n
BM2113	D2S26	124–146	(CA) _n
ETH10	D5S3	206–222	(AC) _n
SPS115	D15	247–261	(CA) _n TA(CA) ₆

Для здійснення ампліфікації використовують послідовності праймерів до мікросателітних локусів, які містять відповідний мікросателіт. Олігонуклеотидні послідовності праймерів (табл. 2).

Порядок здійснення

1. Відбирають і маркують необхідну кількість пробірок об'ємом 0,2 мл.

2. По 10 мкл готової реакційної суміші (табл. 3) вміщують у чисті пробірки.

3. Використовуючи наконечник для дозатора з аерозольним фільтром, додують по 1 мкл ДНК зразків у пробірки з реакційною сумішшю.

4. Вмикають ампліфікатор згідно з інструкцією до приладу і задають параметри ампліфікації (табл. 4).

Таблиця 2. Послідовності праймерів для дослідження

Локус	Послідовність праймерів		Барвник
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:	GATCACCTTGCCACTATTTCTCT ACATGACAGCCAGCTGCTACT	R6G
BM1824	F: R:	GAGCAAGGTGTTTTTCCAATC CATCTCCAAGTCTTCCTTG	R6G
TGLA227	F: R:	GGAATTCCAAATCTGTAAATTTGCT ACAGACAGAAACTCAATGAAAGCA	FAM
BM2113	F: R:	GCTGCCTTCTACCAATACCC CTTCCTGAGAGAAGCAACACC	FAM
ETH10	F: R:	GTTCAGGACTGGCCCTGCTAACA CCTCCAGCCCACTTTCTCTTCTC	FAM
SPS115	F: R:	AAAGTGACACAACAGCTTCACCAG AACCGAGTGTCTAGTTTGGCTGTG	FAM

Таблиця 3. Склад ПЛР-суміші

№ з/п	Компонент суміші	На 1 реакцію, мкл
1	ПЛР-буфер 5x blue 1,5 мМ Mg ²⁺	3,00
2	Суміш дезоксинуклеотидтрифосфатів (dNTP) 1,76 мМ	1,5
3	Taq-polymerase 5 U/мкл	0,25
4	Суміш праймерів	2,75
5	Деіонізована вода	1,50
6	ДНК матриця	1,0
Усього		10,0

Таблиця 4. Умови та параметри ампліфікації

Температура, °C	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	

5. Після закінчення реакції пробірки охолоджують до $+4^{\circ}\text{C}$ та переносять для здійснення аналізу результатів до генетичного аналізатора.

Здійснення фрагментного аналізу (для всіх видів)

Після закінчення реакції пробірки перемішують у зону для здійснення аналізу результатів на генетичному аналізаторі.

Порядок роботи

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

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

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

4. Зразки 2 хв денатурують за 94°C , після цього витримують 3 хв за 0°C .

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

6. Планшету поміщають у ABI Prism генетичний аналізатор і виконують аналіз згідно з інструкцією виробника.

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

У процесі проведення капілярного електрофорезу досліджуваних зразків комп'ютерна програма «Genescan» (Applied Biosystems, США) визначає розмір флуоресцентно мічених ПЛР-продуктів (у парах нуклеотидів) і зберігає отримані дані. Потім збережені дані експортують у комп'ютерну програму GeneMapper (Applied Biosystems, США) для здійснення генотипування.

Результати програмного опрацювання можуть бути надані у графічному вигляді (карта піків, з вказівкою розмірів фрагментів і відносною інтенсивністю піків) (рис. 1).

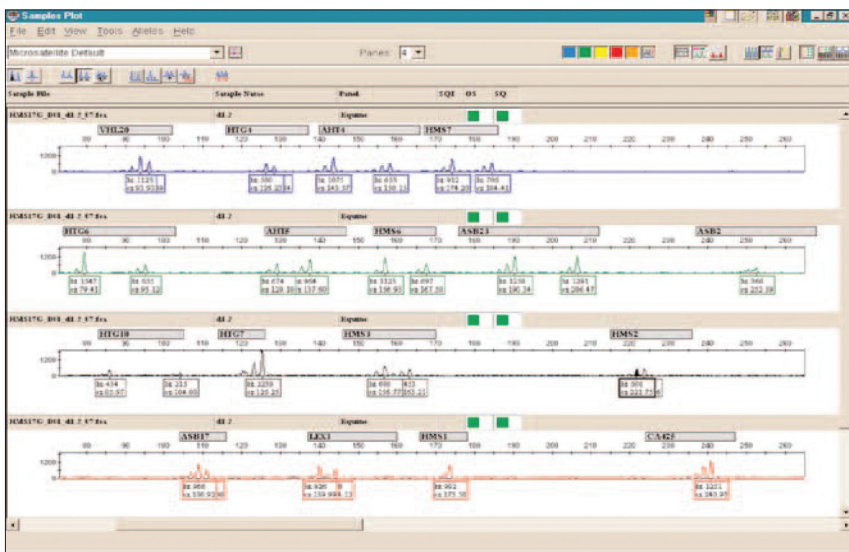


Рис. 1. Результат програмного опрацювання у графічному вигляді

Результатом успішної ампліфікації алеля є 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 цього локусу в геномі досліджуваної тварини. Якщо кількість піків – один – гомозигота, якщо – два основних піки – гетерозигота.

З метою розробки ефективної системи генотипування за SSR-маркерами та дослідження ДНК-структури порід різних видів ми пропонуємо проведення мультиплексного ампліфікування генотипів за комплексом мікросателітних маркерів, що дає змогу оптимізувати процес аналізу. Для створення мультиплексу враховано розміри мікросателітних локусів, що були обрані для типування генотипів тварин, барвник, яким позначено маркер та співвідношення GC складу. Врахувавши ці показники нами розроблено та відпрацьовано такі мультиплексні поєднання:

- велика рогата худоба (*Bos Taurus*) – 3 мультиплексні комбінації:
1. TGLA227, BM2113, TGLA122, ETH003;

2. TGLA126, INRA023;
3. ETH225, BM1824;
- *коні (Equus caballus)* – 4 мультиплексні комбінації:
 1. HTG04, HMS06, HTG06;
 2. АНТ04, HTG07, ASB23;
 3. VHL20, CA425, HMS03;
 4. HMS07, ASB17;
- *собаки (Canis familiaris)* – 2 мультиплексні комбінації:
 1. PEZ01, PEZ06, PEZ08;
 2. FHC2010, FHC2054
- *свійська курка (Gallus domesticus)* – 2 мультиплексні комбінації:
 1. ADL0268, MCW0248, MCW0216;
 2. ADL0278, LEI0094.

2.2. Визначення генотипу тварин за монолокусними ділянками ДНК (STR-локусами) у коней (*Equus caballus*)

Постановка ПЛР. Аналіз здійснюють за різними мікросателітними локусами ДНК, наприклад (табл. 5).

Таблиця 5. Мікросателітні ДНК-локуси для ідентифікації коней

Локус	Локалізація в геномі	Розмір алелів, п. н.	Структура мікросателітної послідовності
HTG04	9	127–139	(TG) _n AT(AG) ₅ AAG(GA) ₅ ACAG(AGGG) ₃
HMS06	4	151–169	(GT) _n
АНТ04	24q14	144–164	(AC) _n AT(AC) _n
ASB23	3q22.1–q22	128–154	(TG) _n and (TG) _n TT(TG) ₄
HTG07	4	118–128	(TG) ₁₉
HTG06	15q26–q27	84–102	(TG) _n
CA425	28q18	226–246	(GT) _n
VHL20	30	87–105	(TG) ₁₇
HMS03	9	148–170	(TG) ₂ (CA) ₂ TC(CA) _n and (TG) ₂ (CA) ₂ TĈ(CA) _n GA(CA) ₅
HMS07	1q25	165–185	(AC) ₂ (CA) _n
ASB17	2q14p15	87–129	(AC) _n

Для здійснення ампліфікації використовують послідовності праймерів до мікросателітних локусів, які містять відповідний мікросателіт. Олігонуклеотидні послідовності праймерів (табл. 6).

Таблиця 6. Послідовності праймерів для дослідження

Локус		Послідовність праймерів	Барвник
HTG04	F: R:	CTATCTCAGTCTTGATTGCAGGAC CTCCCTCCCTCCCTCTGTCTC	FAM
HMS06	F: R:	GAAGCTGCCAGTATTCAACCATTG CTCCATCTTGTGAAGTGTAACCTCA	R6G
HTG06	F: R:	CCTGCTTGGAGGCTGTGATAAGAT GTTCACTGAATGTCAAATCTGCT	R6G
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:	CCATCCTCACTTTTTCACCTTGT CCAACCTCTTGCACATAACAAGA	TAMRA
VHL20	F: R:	CAAGTCCTCTTACTTGAAGACTAG AACTCAGGGAGAATCTTCCTCAG	FAM
HMS07	F: R:	CAGGAAACTCATGTTGATACCATC TGTTGTTGAAACATACCTTGACTGT	FAM

Порядок проведення

1. Відбирають і маркують необхідну кількість пробірок об'ємом 0,2 мл.
2. По 15 мкл готової реакційної суміші (табл. 7) вміщують у чисті пробірки.
3. Використовуючи наконечник для дозатора з аерозольним фільтром додають по 1 мкл ДНК зразків у пробірки з реакційною сумішшю.

4. Вмикають ампліфікатор згідно з інструкцією до приладу і задають параметри ампліфікації (табл. 8).

Таблиця 7. Склад ПЛР-суміші

№ з/п	Компонент суміші	На 1 реакцію, мкл
1	ПЛР-буфер 5x blue 1,5 mM Mg ²⁺	2,5
2	Суміш дезоксинуклеотидтрифосфатів (dNTP) 1,76 mM	4,0
3	Taq-polymerase 5 U/мкл	0,5
4	Суміш праймерів, по 5 pM/мкл кожного	4,0
5	Деіонізована вода	3,0
6	ДНК матриця	1,0
Усього		15,0

Таблиця 8. Умови та параметри ампліфікації

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

5. Після закінчення реакції пробірки охолоджують до +4°C та переносять для здійснення аналізу результатів до генетичного аналізатора.

Здійснення фрагментного аналізу відповідно до 2.1.

2.3. Визначення генотипу тварин за монолокусними ділянками ДНК (STR-локусами) у собак (*Canis familiaris*)

Постановка ПЛР. Аналіз здійснюють за різними мікросателітними локусами ДНК, наприклад (табл. 9).

Таблиця 9. Мікросателітні ДНК-локуси для ідентифікації собак

Локус	Локалізація в геномі	Розмір алелів, п. н.	Структура мікросателітної послідовності
PEZ01	CFA8	92–136	TACA
PEZ06	CFA16	164–216	(GAAA) _n
PEZ08	CFA17	215–257	AAAG-
FHC2010	CFA24	208–260	(ATGA) _n
FHC2054	CFA12	131–183	(GATA) _n

Для проведення ампліфікації використовують послідовності праймерів до мікросателітних локусів, які містять відповідний мікросателіт. Олігонуклеотидні послідовності праймерів (табл. 10).

Таблиця 10. Послідовності праймерів для дослідження

Локус		Послідовність праймерів	Барвник
PEZ01	F: R:	GGCTGTCACTTTTCCCTTTC CACCACAATCTCTCTCATAAATAC	FAM
PEZ06	F: R:	ATGAGCACTGGGTGTTATAC ACACAATTGCATTGTCAAAC	FAM
PEZ08	F: R:	TATCGACTTTTATCACTGTGG ATGGAGCCTCATGTCTCATC	FAM
FHC2010	F: R:	AAATGGAACAGTTGAGC ATGCCCCCTTACAGCTTCATTTTCC	FAM
FHC2054	F: R:	GCCTTATTCATTGCAGTTAGGG ATGCTGAGTTTGAACCTTCCC	FAM

Порядок здійснення

1. Відбирають і маркують необхідну кількість пробірок об'ємом 0,2 мл.
2. По 9 мкл готової реакційної суміші (табл. 11) вміщують у чисті пробірки.
3. Використовуючи наконечник для дозатора з аерозольним фільтром додають по 1 мкл ДНК зразків у пробірки з реакційною сумішшю.

Таблиця 11. Склад ПЛР-суміші

№ з/п	Компонент суміші	На 1 реакцію, мкл
1	ПЛР-буфер 5x blue 15 mM Mg ²⁺	2,00
2	Суміш дезоксинуклеотидтрифосфатів (dNTP) 2 mM	0,50
3	Taq-polymerase 1,5 U/мкл	0,15
4	Суміш праймерів, по 5 pM/мкл, кожного	1,0
5	Деіонізована вода	4,35
6	ДНК матриця	1,0
Усього		10,0

Таблиця 12. Умови та параметри ампліфікації

Темпе- ратура, °C	Час	Кіль- кість циклів
94	4 хв	1
94	15с	35
60	15с	
72	25 с	
72	5 хв	1
4	Зберігання	

4. Вмикають ампліфікатор згідно з інструкцією до приладу і задають параметри ампліфікації (табл. 12).

5. Після закінчення реакції пробірки охолоджують до +4°C та переносять для здійснення аналізу результатів до генетичного аналізатора.

Проведення фрагментного аналізу відповідно до 2.1.

2.4. Визначення генотипу тварин за монолокусними ділянками ДНК (STR-локусами) свійської курки (*Gallus domesticus*)

Постановка ПЛР. Аналіз здійснюють за різними мікросателітними локусами ДНК, наприклад (табл. 13).

Для проведення ампліфікації використовують послідовності праймерів до мікросателітних локусів, які містять відповідний мікросателіт. Олігонуклеотидні послідовності праймерів (табл. 14).

Таблиця 13. Мікросателітні ДНК-локуси для ідентифікації свійської курки

Маркер	Локалізація в геномі	Розмір алелів, п. н.	Структура мікросателітної послідовності
ADL0268	1	127–139	(GT) ₁₂
ADL0278	8	108–122	(TG) ₁₈
MCW0248	1	215–223	(AC) ₉
LEI0094	4	259–283	(AC) ₁₆
MCW0216	13	141–145	(GT) ₉

Таблиця 14. Послідовності праймерів для дослідження

Локус	Послідовність праймерів		Барвник
ADL0268	F: R:	CTCCACCCCTCTCAGAACTA CAACTTCCCATCTACCTACT	FAM
ADL0278	F: R:	CCAGCAGTCTACCTTCCTAT TGTCATCCAAGAACAGTGTG	FAM
MCW0248	F: R:	GTTGTTCAAAAGAAGATGCAG TTGCATTAAGTGGGCACTTTC	FAM
LEI0094	F: R:	GATCTCACCAGTATGAGCTGC TCTCACACTGTAACACAGTGC	FAM
MCW0216	F: R:	GGGTTTTACAGGATGGGACG AGTTTCACTCCCAGGGCTCG	FAM

Порядок здійснення

1. Відбирають і маркують необхідну кількість пробірок об'ємом 0,2 мл.
2. По 9 мкл готової реакційної суміші (табл. 15) вміщують у чисті пробірки.
3. Використовуючи наконечник для дозатора з аерозольним фільтром додають по 1 мкл ДНК зразків у пробірки з реакційною сумішшю.
4. Вмикають ампліфікатор згідно з інструкцією до приладу і задають параметри ампліфікації (табл. 16).
5. Після закінчення реакції пробірки охолоджують до +4°C та переносять для здійснення аналізу результатів до генетичного аналізатора.

Таблиця 15. Склад ПЛР-суміші

№ з/п	Компонент суміші	На 1 реакцію, мкл
1	ПЛР-буфер 5x blue 15 mM Mg ²⁺	2,0
2	Суміш дезоксинуклеотид-трифосфатів (dNTP) 2 mM	1,0
3	Taq-polymerase 5 U/мкл	0,15
4	Суміш праймерів	2,5
5	Деіонізована вода	1,85
6	ДНК матриця	1,0
Усього		10,0

Таблиця 16. Умови та параметри ампліфікації

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

Здійснення фрагментного аналізу відповідно до 2.1.

3. Дослідження мультилокусних (міжмікросателітних) ділянок ДНК у представників різних видів тварин

3.1. Здійснення міжмікросателітного аналізу ДНК (метод ISSR-ПЛР) у великої рогатої худоби (*Bos Taurus*)

Генотипування тварин за ISSR-маркерами здійснюють методом ISSR-ПЛР з використанням як праймерів мікросателітних локусів, при цьому відбувається ампліфікація ДНК-фрагментів, розташованих між інвертованими послідовностями мікросателітних локусів. В аналіз включають амплікони (фрагменти), які стабільно відтворюються не менше ніж у трьох повторях процедури ампліфікації.

Для здійснення полімеразної ланцюгової реакції (ISSR-ПЛР) в роботі використовували реакційну суміш об'ємом 10 мкл: H_2O – 3,0 мкл; 5х буфер (67 мМ Трис- HCl (pH 8,3), 17 мМ $(NH_4)_2 SO_4$, 2,5 мМ $MgCl_2$, 0,1% Твин-20, 0,12 мг/мл БСА, 8% гліцерин) – 1,0 мкл; 10-х dNTP суміш (по 2мМ кожного) – 1,0 мкл; праймер (70 нг) – 0,8 мкл; Taq-полімераза (1мол/1000 U) – 0,2 мкл; ДНК 50–100 нг – 4,0 мкл.

Режим здійснення ПЛР

За використання як праймерів фрагментів тринуклеотидних повторів мікросателітних локусів $(GAG)_6C$ та $(ACC)_6G$: початкова денатурація – 2 хв при $95^\circ C$; 30 циклів: денатурація – $95^\circ C$ – 30 с; випал праймерів – $64^\circ C$ – 30 с; синтез – $72^\circ C$ – 1 хв; термінальна елонгація – $72^\circ C$ – 5 хв.

За використання як праймерів динуклеотидних повторів $(GA)_9C$ та $(AG)_9C$: початкова денатурація – 2 хв при $95^\circ C$; 30 циклів: денатурація – $95^\circ C$ – 30 с; випал праймерів – $57^\circ C$ – 30 с; синтез – $72^\circ C$ – 1 хв; термінальна елонгація – $72^\circ C$ – 5 хв.

ПЛР-продукти розділяли в 2% агарозному гелі методом електрофорезу в 1 х TBE-буфері. Розміри ДНК-продуктів визначали за допомогою маркера молекулярних мас ThermoScientific™ GeneRuler 1 kbPlusDNA Ladder, ready-to-use-75-20000 bp.

3.2. Здійснення міжмікросателітного аналізу ДНК (метод ISSR-ПЛР) у кіз (*Capra aegagrus hircus*)

Для здійснення полімеразної ланцюгової реакції (ISSR-ПЛР) в роботі використовували реакційну суміш об'ємом 10 мкл: H_2O – 3,0 мкл; 5х буфер (67 мМ Трис-НСl (рН 8,3), 17 мМ $(NH_4)_2 SO_2$, 2,5 мМ $MgCl_2$, 0,1% Твин-20, 0,12 мг/мл БСА, 8% гліцерин) – 1,0 мкл; 10-х dNTP суміш (по 2мМ кожного) – 1,0 мкл; праймер (70 нг) – 0,8 мкл; Taq-полімераза (1мол/1000 U) – 0,2 мкл; ДНК 50–100 нг – 4,0 мкл.

Режим здійснення ПЛР

За використання як праймерів фрагментів тринуклеотидних повторів мікросателітних локусів $(GAG)_6C$, $(CTC)_6C$ та $(ACC)_6G$: початкова денатурація – 2 хв при $95^\circ C$; 30 циклів: денатурація – $95^\circ C$ – 30 с; випал праймерів – $64^\circ C$ – 30 с; синтез – $72^\circ C$ – 1 хв; термінальна елонгація – $72^\circ C$ – 5 хв.

За використання як праймерів динуклеотидних повторів $(GA)_9C$ та $(AG)_9C$: початкова денатурація – 2 хв при $95^\circ C$; 30 циклів: денатурація – $95^\circ C$ – 30 с; випал праймерів – $57^\circ C$ – 30 с; синтез – $72^\circ C$ – 1 хв; термінальна елонгація – $72^\circ C$ – 5 хв.

За використання як праймерів повторів $(GA)_6CC$ та $(AG)_8CA$: початкова денатурація – 2 хв при $95^\circ C$; 30 циклів: денатурація – $95^\circ C$ – 30 с; випал праймерів – $54^\circ C$ – 30 с; синтез – $72^\circ C$ – 1 хв; термінальна лонгація – $72^\circ C$ – 5 хв.

За використання як праймера повтору $(AG)_8CG$: початкова денатурація – 2 хв при $95^\circ C$; 30 циклів: денатурація – $95^\circ C$ – 30 с; випал праймерів – $56^\circ C$ – 30 с; синтез – $72^\circ C$ – 1 хв; термінальна елонгація – $72^\circ C$ – 5 хв.

ПЛР-продукти розділяли в 2% агарозному гелі методом електрофорезу в 1 х TBE-буфері. Розміри ДНК-продуктів визначали за допомогою маркера молекулярних мас ThermoScientific™ GeneRuler 1 kbPlusDNALadder, ready-to-use-75-20000 bp.

3.3. Здійснення міжмікросателітного аналізу ДНК (метод ISSR-ПЛР) у коней (*Equus caballus*)

Для здійснення полімеразної ланцюгової реакції (ISSR-ПЛР) у роботі використовували реакційну суміш об'ємом 10 мкл: H₂O – 3,0 мкл; 5х буфер (67 мМ Трис-НСl (рН 8,3), 17 мМ (NH₄)₂ SO₂, 2,5 мМ MgCl₂, 0,1% Твин-20, 0,12 мг/мл БСА, 8% гліцерин) – 1,0 мкл; 10-х dNTP суміш (по 2мМ кожного) – 1,0 мкл; праймер (70 нг) – 0,8 мкл; Taq-полімераза (1мол/1000 U) – 0,2 мкл; ДНК 50–100 нг – 4,0 мкл.

Режим здійснення ПЛР.

За використання як праймерів фрагмента тринуклеотидного повтору мікросателітного локусу (СТС)₆C : початкова денатурація – 2 хв при 95°C; 30 циклів: денатурація – 95°C – 30 с; випал праймерів – 64°C – 30 с; синтез – 72°C – 1 хв; термінальна елонгація – 72°C – 5 хв.

За використання як праймерів динуклеотидних повторів (GA)₉C та (AG)₉C: початкова денатурація – 2 хв при 95°C; 30 циклів: денатурація – 95°C – 30 с; випал праймерів – 57°C – 30 с; синтез – 2°C – 1 хв; термінальна елонгація – 72°C – 5 хв.

За використання (AG)₈CA: початкова денатурація – 2 хв при 95°C; 30 циклів: денатурація – 95°C – 30 с ; випал праймерів – 54°C – 30 с; синтез – 72°C – 1 хв; термінальна елонгація – 2°C – 5 хв.

При використанні (AG)₈CG: початкова денатурація – 2 хв при 95°C; 30 циклів: денатурація – 95°C – 30 с ; випал праймерів – 56°C – 30 с; синтез – 72°C – 1 хв; термінальна елонгація – 72°C – 5 хв.

ПЛР-продукти розділяли в 2% агарозному гелі методом електрофорезу в 1 х TBE-буфері. Розміри ДНК-продуктів визначали за допомогою маркера молекулярних мас ThermoScientific™ GeneRuler 1 kbPlusDNALadder, ready-to-use-75-20000 bp.

3.4. Здійснення міжмікросателітного аналізу ДНК (метод ISSR-ПЛР) у водяного буйвола (*Bubalus bubalis*)

Для здійснення полімеразної ланцюгової реакції (ISSR-ПЛР) у роботі використовували реакційну суміш об'ємом 10 мкл: H_2O – 4,4 мкл, 5х буфер (67 мМ Трис-НСl (рН 8,3), 17 мМ $(NH_4)_2 SO_2$, 2,5 мМ $MgCl_2$, 0,1% Твин-20, 0,12 мг/мл БСА, 8% гліцерин) – 2,0 мкл; 10-х dNTP суміш (по 2мМ кожного) – 1,0 мкл; праймер (70 нг) – 0,4 мкл; Taq-полімераза (1мол/1000 U) – 0,2 мкл; ДНК 50–100 нг – 2,0 мкл.

Режим здійснення ПЛР

За використання як праймерів фрагментів тринуклеотидних повторів мікросателітних локусів $(GAG)_6C$, $(CTC)_6C$ та $(ACC)_6G$: початкова денатурація – 2 хв при 95°C; 35 циклів: денатурація – 94,5°C – 30 с; випал праймерів – 64°C – 30 с; синтез – 72°C – 2 хв; термінальна елонгація – 72°C – 5 хв.

За використання як праймера динуклеотидного повтору $(AG)_9C$: початкова денатурація – 2 хв при 95°C; 35 циклів: денатурація – 94,5°C – 30 с; випал праймерів – 57°C – 30 с; синтез – 72°C – 2 хв; термінальна елонгація – 72°C – 5 хв; термінальна елонгація – 72°C – 5 хв.

За використання як праймерів повторів $(GA)_6CC$ та $(AG)_8CA$: початкова денатурація – 2 хв при 95°C; 35 циклів: денатурація – 94,5°C – 30 с; випал праймерів – 54°C – 30 с; синтез – 72°C – 2 хв; термінальна елонгація – 72°C – 5 хв; термінальна елонгація – 72°C – 5 хв.

За використання як праймерів повтору $(AG)_8CG$: початкова денатурація – 2 хв при 95°C; 35 циклів: денатурація – 94,5°C – 30 с; випал праймерів – 56°C – 30 с; синтез – 72°C – 2 хв; термінальна елонгація – 72°C – 5 хв.

ПЛР-продукти розділяли в 2% агарозному гелі методом електрофорезу в 1 х ТВЕ-буфері. Розміри ДНК-продуктів визначали за допомогою маркера молекулярних мас ThermoScientific™ GeneRuler 1 kbPlusDNALadder, ready-to-use-75-20000 bp.

4. Оцінювання генетичного поліморфізму та мікроеволюційних процесів за монолокусними (STR) та мультилокусними (ISSR) ділянками ДНК у різних видів тварин (за результатами власних досліджень)

Основні формули, що використовуються для обчислення головних популяційно-генетичних характеристик наведено нижче.

Для розрахунку генної частоти за відсутності домінування використовували таку формулу:

$$P_i = \frac{2n_{ii} + n_{i2} + n_{i3} + n_1(k-1)}{2n},$$

де n_{ii} – кількість гомозиготних особин за одним з алелів; n_{i2} , n_{i3} – кількість гетерозиготних тварин, n – загальна кількість тварин, досліджених за цим локусом.

Стандартну похибку для частот алеля P_i обчислюють за формулою:

$$m = \frac{\sqrt{P_i(1-P_i)}}{2n}.$$

Достовірність різниці частот алелів серед різних популяцій тварин, що досліджуються, розраховували за методом Фішера:

$$F_\varphi = (\varphi_1 - \varphi_2)^2 \frac{n_1 n_2}{n_1 + n_2},$$

де n_1 та n_2 – об'єми груп, що порівнюються, а $\varphi = 2 \frac{\pi}{180} \arcsin \sqrt{P}$, де P – частота алеля.

Перевірку популяції на відповідність генетичній рівновазі Гарді-Вайнберга здійснюють за допомогою критерію χ^2 Пірсона:

$$\chi^2 = \frac{\sum \Phi - T}{T},$$

де χ^2 – стандартні значення критерію; Φ – фактична кількість генотипів; T – теоретична кількість генотипів.

За оцінювання рівня генетичної мінливості ми використовували показники фактичної гетерозиготності:

$$H_0 = \frac{1}{n} \sum_j^n h_j,$$

де h_j – кількість гетерозигот на об'єм вибірки, усереднене за всіма досліджуваними локусами (n);
очікуваної гетерозиготності:

$$H_E = \frac{1}{n} \sum_j^n \left(1 - \sum_i^k P_{ij}^2 \right),$$

де n – кількість досліджених локусів, P_{ij} – частота i алеля в j локусі, k – кількість алелів у j локусі.

Формула Роджерса.

$$D_r = \frac{1}{n} \sum_j^n \left[\frac{1}{2} \sum_i^k (X_{ij} - Y_{ij})^2 \right]^{1/2},$$

де X_{ij} , Y_{ij} – частоти i алеля j локусу в популяціях, які порівнюються; k – кількість алелів у j локусі; n – кількість досліджених локусів.

Частка поліморфних локусів (P) – це відношення поліморфних локусів до загальної кількості:

$$P = n_{pj} / n_{total},$$

де P – частка поліморфних локусів; n_{pj} – кількість поліморфних локусів; n_{total} – загальна кількість локусів.

Індекс поліморфізму (PIC)

$$PIC = 2f(1-f),$$

де f – частота одного з двох алелів, і $f = \sqrt{R}$, де R – частота варіантів, у яких відсутній фрагмент ДНК відповідної довжини.

Примітка: $PIC < 0,250$ (низькополіморфні), $PIC = 0,250-0,500$ (помірно-поліморфні); $PIC > 0,500$ (високополіморфні локуси).

Середнє на локус генне різноманіття (H_e) – це оцінювання рівня генетичної мінливості в популяції.

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2,$$

де $p_1, p_2, \dots, p_n$ – частоти алелів.

Показник внутрішньопопуляційного різноманіття (μ) – середня кількість морф/алелів у вибірці:

$$\mu = \left(\sqrt{p_1} + \sqrt{p_2} + \dots + \sqrt{p_m} \right)^2,$$

де p – частка поліморфних алелів.

$$H' = - \sum_{i=1}^n (p_i \times \ln p_i)$$

Індекс Шеннона:

H' – індекс Шеннона, де $p_1, p_2, \dots, p_n$ – частоти поліморфних алелів.

Механізм наявності великої кількості некодуючої ДНК в еукаріотичних геномах і величезна різниця в їх розмірах – одна з нерозв'язаних наукових загадок. Частина некодуючої ДНК безпосередньо задіяна в регуляції активності кодуючих ділянок. Проте функції її більшої частини невідомі.

Оцінювання генетичного поліморфізму та мікроеволюційних процесів за монолокусними (STR) та мультилокусними (ISSR) ділянками ДНК у досліджених нами різних видів свійських тварин ми пропонуємо проводити за такими показниками.

Для аналізу алелофондів популяцій свійських тварин нами було розраховано частоти фактично виявлених алелів (N_a), породоспецифічних ($N_{a_{unic}}$) та рідкісних алелів (N_{a_1}) – алелів, що траплялися в популяції лише один раз.

Спектри алельної мінливості визначали для кожного мікросателітного локусу та оцінювали характер їх 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. Дані, одержані за використання критерію χ^2 Пірсона, за аналізу малочисельних вибірок та поліалельних локусів можуть бути зсунуті. З огляду на те, що ми маємо справу з поліалельними системами і невеликим обсягом вибірок, на нашу думку, більш прийнятним є розрахунок рівноваги за Гарді-Вайнбергом за допомогою процедури марківських ланцюгів Монте-Карло (MCMC). Розрахунки здійснювали за використання програмного забезпечення PAST [48].

З метою оцінювання відповідності характеру розподілу виявлених алелів певній мутаційній моделі, яка відображає як алельну різноманітність, так і характер розподілу алелів мікросателітної ДНК за певним локусом було розраховано за моделями: модель нескінченної кількості алелів (*IAM – infinite alleles model*) та покрокова мутаційна модель (*SMM – stepwise mutation model*) за використання програмного забезпечення MICROSATELLITE ANALYSER [49]. Для всіх досліджених нами видів і порід модель *SMM* була більш адекватною для апроксимації рівня алельного різноманіття за всіма, без виключень, дослідженими мікросателітними локусами, ніж модель *IAM*, яка значно завищує фактичні величини як по кожній породі зокрема, так і по виду загалом.

Для аналізу генотипного поліморфізму досліджуваних популяцій свійських тварин нами було розраховано частоти фактично виявлених генотипів (N_g), частоти породоспецифічних генотипів ($N_{g_{unic}}$) та рідкісних генотипів (генотипи, які виявлялись у популяції лише один (N_{g_1}), чи два (N_{g_2}) рази.

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

Статистичну вірогідність отриманих результатів обчислювали методами математичної статистики та біометрії за критеріями χ^2 , Ст'юдента, Фішера з використанням стандартних комп'ютерних програм Gen Alex 6.5, STATISTICA 6 [50].

Оцінювання популяційно-генетичних процесів у досліджуваних популяціях здійснювали за допомогою програмного забезпечення

PowerStats V12 (Promega) та PowerMarker V3.0 за такими показниками: фактична кількість алелів (N_a) та кількість ефективних алелів (A_e) на локус; фактична (H_o), очікувана (H_e) та індивідуальна (H_i) гетерозиготність; індекс поліморфізму (PIC); індекс фіксації (F); індекс Шеннона (I); вірогідність виключення випадкового збігу алелів (PE); комбіновану вірогідність виключення випадкового збігу алелів (CPE) для мікросателітних локусів ДНК було визначено за допомогою програмного забезпечення Cervus 3.0.3.

Оцінювання стану генетичної рівноваги за кожним мікросателітним локусом виконано за методом MCMC за використання програмного забезпечення GeneALEx та GENEPOP [51].

Індекси фіксації (або F -статистика Райта), що дають змогу визначити ступінь генетичної диференціації, було розраховано за методом Б. Вейра і К. Кохермана [52] як для всіх мікросателітних локусів загалом, так і для кожного зокрема, за використання програмного забезпечення FSTAT [53].

З метою оцінювання генетичної структури популяцій було розраховано значення потоку генів та здійснено аналіз молекулярної мінливості (AMOVA) на основі емпіричного розподілу генотипів за дослідженими локусами мікросателітної ДНК із визначенням рівня значущості оцінки F_{st} за використання permutation-методу (застосовано 999 перестановок) за допомогою програмного забезпечення GenALEx.

Оцінювання ефективної чисельності популяції (N_e) було розраховано за мультилокусними генотипами досліджених мікросателітів ДНК використовуючи програмне забезпечення NeEstimator [54].

За результатами аналізу мультилокусних генотипів з використанням програмного забезпечення GenALEx здійснено assignment-тест та розраховано матрицю попарних генетичних відстаней [55], за останнім алгоритмом було побудовано дендрограму подібності (метод UPGMA – незваженого попарного арифметичного середнього – *unweighted pair-group method using arithmetic averages*).

Для аналізу мікроеволюційних процесів було розраховано оцінки M -ratio. У 2001 р. Дж. Гарза та Е. Вільямсоном [56] було по-

казано, що досить адекватним маркером вияву генетико-автоматичних процесів є співвідношення кількості визначених алелів (за певним мікросателітним локусом) до розмаху між довжиною крайніх за розмірами алелів за цим локусом, що і було названо авторами M-ratio (тест знаків: $p < 0,001$). Цей 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 зазначених вище процесів, а також можуть бути свідченнями дії штучного добору. Гіпотезу відсутності вияву ефекту «пляшкового горлечка» було перевірено за використання непараметричного тесту знаків [57, 58]. Наявність нерівноваги за зчепленням (LD) між усіма парами використаних для кожного виду свійських тварин мікросателітних локусів ДНК було проаналізовано за допомогою програмного забезпечення PopGene [59]. Оцінки ефективної чисельності популяції (N_e) було розраховано за мультилокусними генотипами досліджених мікросателітів ДНК використовуючи програмне забезпечення NeEstimator [54].

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 дають змогу оцінити потенційне різноманіття (за умови, що розмір оцінюваної вибірки прагне до нескінченності), це непараметричний метод А. Чао [60] та *rarefaction*-метод із застосуванням програмного забезпечення HP-Rare [61].

Застосування запропонованого нами комплексного підходу щодо здійснення молекулярно-генетичних досліджень з подальшим оцінюванням генетичного поліморфізму та мікроеволюційних процесів за моно- та мультилокусними ділянками ДНК у різних видів свійських тварин дало нам можливість отримати такі загальні результати.

Аналіз генетичного поліморфізму й оцінювання мікроеволюційних процесів за мультилокусними та монолокусними ділянками ДНК у досліджених популяціях тварин різних порід великої рогатої худоби.

У результаті досліджень щодо генетичної структури представників *Bos Taurus* за поліморфізмом мікросателітних локусів ДНК нами було виявлено 279 різних алельних варіантів локусів, діапазон яких варіював від 76–110 п. н. (TGLA227) до 246–264 п. н. (SPS115). Кількість виявлених алельних варіантів для української червоно-рябої молочної (УЧЕР) породи становила від 7-ми (за ETH3, ETH10) до 13-ти – за TGLA227, в середньому $9,5 \pm 0,637$ алеля на локус. Середня кількість ефективних алелів – $6,757 \pm 0,484$ від 4,465 (ETH3) до 8,617 (BM2113). У тварин чорно-рябої молочної (УЧР) встановлено від 6-ти (TGLA126) до 14-ти (TGLA227) алельних варіантів, що становило в середньому $9,2 \pm 0,841$ алеля на локус при середній кількості ефективних алелів $6,023 \pm 0,605$ в діапазоні від 3,216 (TGLA126) до 9,732 (TGLA227). Для сірої української породи (СУ) кількість алельних варіантів була від 6-ти за TGLA126 до 14-ти за TGLA122 і становила в середньому $9,2 \pm 0,712$ алеля на локус при середній кількості ефективних алелів $5,707 \pm 0,504$ від 3,986 (BM2113) до 9,142 (TGLA122).

Генетична структура популяцій великої рогатої худоби за 10 мікросателітними локусами ДНК українських червоно- та чорно-рябої молочних та сірої української порід представлена у *табл. 17–19*.

Встановлено подібність та більшу генетичну мінливість українських порід молочного напрямку продуктивності порівняно з абorigенною сірою українською породою (*табл. 20*).

Для цих порід (УЧЕР/УЧР/СУ) виявились характерними вищі середні значення таких показників: ефективна кількість алелів ($A_e - 6,7/6,0/5,7$); індекс Шеннона-Уівера ($H - 2,0/1.9/1,8$); фактична гетерозиготність ($H_o - 0,7/0,8/0,6$); очікувана гетерозиготність ($H_e - 0,84/0,82/0,81$); індекс поліморфізму досліджених локусів ($PI_C - 0,82/0,80/0,78$); вірогідність виключення випадкового збігу

алелів ($PE = 0,57, 0,65, 0,44$) за показником комбінованої вірогідності виключення випадкового збігу алелів (CPE) в середньому становила 0,99.

Таблиця 17. Генетична структура популяції української червоно-рябої молочної (УЧЕР) за дослідженими мікросателітними локусами

Локус	Na	Ae	I	Ho	He	F	PIC	PE
ETH3	7,000	4,465	1,676	0,844	0,776	-0,088	0,75	0,684
ETH10	7,000	5,938	1,849	0,822	0,832	0,011	0,81	0,641
ETH225	8,000	7,232	2,019	0,778	0,862	0,097	0,85	0,558
TGLA122	11,000	6,947	2,114	0,756	0,856	0,117	0,84	0,519
TGLA126	8,000	4,490	1,702	0,667	0,777	0,142	0,75	0,379
TGLA227	13,000	8,438	2,292	0,778	0,881	0,118	0,87	0,558
BM1824	10,000	7,514	2,146	0,800	0,867	0,077	0,85	0,599
BM2113	11,000	8,617	2,275	0,867	0,884	0,020	0,87	0,728
INRA023	11,000	8,149	2,228	0,733	0,877	0,164	0,87	0,482
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
<i>CPE</i>								0,99985

Таблиця 18. Генетична структура популяції української чорно-рябої молочної (УЧР) породи за дослідженими мікросателітними локусами

Локус	Na	Ae	I	Ho	He	F	PIC	PE
ETH03	7,000	4,594	1,701	0,860	0,782	-0,100	0,77	0,684
ETH10	7,000	5,031	1,781	0,814	0,801	-0,016	0,78	0,599
ETH225	8,000	5,194	1,838	0,907	0,807	-0,123	0,80	0,818
TGLA122	11,000	6,247	2,041	0,744	0,840	0,114	0,84	0,519
TGLA126	6,000	3,216	1,377	0,628	0,689	0,089	0,68	0,348
TGLA227	14,000	9,732	2,444	0,930	0,897	-0,037	0,88	0,864
BM1824	11,000	6,153	2,039	0,814	0,837	0,028	0,83	0,641
BM2113	9,000	6,174	1,947	0,767	0,838	0,084	0,82	0,558
INRA23	12,000	8,640	2,275	0,884	0,884	0,001	0,88	0,773
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

Таблиця 19. Генетична структура популяції сірої української породи за дослідженими мікросателітними локусами

Локус	Na	Ae	I	Ho	He	F	PIC	PE
ETH03	8,000	4,856	1,768	0,689	0,794	0,132	0,77	0,411
ETH10	8,000	4,505	1,701	0,600	0,778	0,229	0,75	0,291
ETH225	11,000	6,358	2,027	0,844	0,843	-0,002	0,82	0,684
TGLA122	14,000	9,142	2,355	0,622	0,891	0,301	0,88	0,318
TGLA126	6,000	4,726	1,646	0,444	0,788	0,436	0,76	0,143
TGLA227	11,000	7,068	2,092	0,889	0,859	-0,035	0,84	0,773
BM1824	9,000	5,938	1,919	0,733	0,832	0,118	0,81	0,482
BM2113	8,000	3,986	1,583	0,244	0,749	0,674	0,71	0,043
INRA023	9,000	6,289	1,969	0,756	0,841	0,102	0,82	0,519
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

Таблиця 20. Популяційно-генетичні характеристики у різних порід виду *Bos Taurus*

Порода	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

Відхилення від стану генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом (проводили за MCMC, за допомогою програмного забезпечення GeneALEx та GENEPOP) встановлено у УЧЕР – за локусами BM1824, TGLA122 ($p < 0,001$), TGLA126 ($p < 0,01$) та ETH225 ($p < 0,05$); УЧР – за ETH225 та BM2113 ($p < 0,05$); СУ – за всіма дослідженими локусами, крім ETH225, що може бути наслідком малої чисельності та замкнутості наявної популяції сірої української худоби. Тільки для СУ було встановлено достовірний надлишок гетерозигот за локусом SPS115 ($p < 0,05$) та відсутність повних гетерозигот ($H_i - 1$). У результаті проведених розрахунків середні значення індексів фіксації Райта (F_{is} та F_{it}) мають позитивне значення та достовірно відхиляються від нуля ($F_{is} = 0,033$, $F_{it} = 0,092$),

що свідчить про значний рівень генетичної консолідованості популяцій за всіма локусами, крім ETH3, *табл. 21*.

Таблиця 21. Індеси фіксації С. Райта у великої рогатої худоби різних порід

Локус	Fis	Fit	Fst
ETH3	0,005	-0,005	-0,001
ETH10	0,072	0,085	0,151
ETH225	0,018	0,006	0,024
TGLA122	0,018	0,192	0,206
TGLA126	0,027	0,241	0,262
TGLA227	0,017	0,027	0,044
BM1824	0,015	0,086	0,101
BM2113	0,070	0,253	0,305
INRA23	0,029	0,101	0,127
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.

Тварини різних порід характеризувались достовірним рівнем генетичної диференціації (для 10 локусів у середньому $F_{st} = 0,122$), найбільшу генетичну варіабельність спостерігали за локусами BM2113, TGLA126, TGLA122 ETH10, INRA23 та BM1824, а внесок локусів ETH3 та SPS115 був мінімальним. Розрахунки були здійснені за використання програмного забезпечення FSTAT.

Результати аналізу молекулярної мінливості (AMOVA, здійснено за допомогою програмного забезпечення GenALEx (*табл. 22*)) вказують на те, що на 6% генетична мінливість досліджуваного поголів'я була зумовлена їхнім походженням (породною належністю), а на 94% – індивідуальною мінливістю. Водночас, незважаючи на відносно низьке значення (0,058), генетична диференціація досліджуваних порід мала високий рівень значущості ($p \leq 0,001$).

Таблиця 22. Результати аналізу генетичної мінливості (AMOVA) різних порід великої рогатої худоби за мікросателітними локусами

Мінливість	df	SS	MS	E(MS)	Φst	p
Між групами	2	68,297	34,148	0,564		
У 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, GenALEx) вказують на те, що загалом точність прогнозу щодо зарахування певної тварини до однієї з порід становила близько 84%. Причому найвищою є точність прогнозу щодо СУ породи (89%), а УЧЕР та УЧР (82 та 81% відповідно).

Показником вияву генетико-автоматичних процесів у популяціях є співвідношення кількості визначених алелів (за певним мікросателітним локусом) до розмаху між довжиною крайніх за розмірами алелів за цим локусом – показник M-ratio (тест знаків: $p < 0,001$), який характеризує інтенсивність зменшення рівня генетичного різноманіття внаслідок дії генетико-автоматичних процесів (коливань чисельності, інбридингу та ефекту «пляшкового горлечка»). Низькі його значення вказують на дію цих процесів, а також факторів штучного добору. 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. 23).

Нами не було встановлено істотних відмінностей за показником M-ratio серед досліджених порід, що свідчить про приблизно однаковий рівень мікроеволюційних процесів у цих популяціях. Отже, можна очікувати, що у разі різкого зниження чисельності передусім в генофонді популяції будуть зникати рідкісні алелі, але не завжди із найменшою чи найбільшою довжиною. Відповідно алельне різноманіття буде зменшуватись швидше, ніж розмах розмірів алелів, що призводить до зниження оцінок M-ratio. Оцінювання дрейфу генів здійснювали за методами SMM, IAM та TPM, програмного забезпечення Bottleneck. Гіпотезу відсутності вияву ефекту «пляшко-

Таблиця 23. 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
ETH3	7	0,412	7	0,538	8	0,533	9	0,529
ETH10	7	0,538	7	0,538	8	0,471	9	0,471
ETH225	8	0,533	8	0,533	11	0,524	11	0,524
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
TGLA227	13	0,419	14	0,400	11	0,524	16	0,457
BM1824	10	0,526	11	0,268	9	0,529	11	0,268
BM2113	11	0,524	9	0,474	8	0,381	11	0,524
INRA23	11	0,524	12	0,480	9	0,429	13	0,481
SPS115	9	0,474	7	0,412	8	0,471	10	0,526

вого горлечка» було перевірено за використання непараметричного тесту знаків.

Водночас проявом дії генетико-автоматичних процесів є зниження рівня гетерозиготності. В цьому разі фактична гетерозиготність буде значно нижчою за рівноважну (Неq), оскільки дрейф генів переважатиме дію мутаційного процесу. Оцінювання фактичної та рівноважної гетерозиготності представлено у *табл. 24*. Найбільшу різницю спостерігали у тварин породи УЧеР для семи локусів, було виявлено переважання рівноважної гетерозиготності над фактичною, у тварин УЧР це співвідношення було чотири до п'яти, а у породи СУ – вісім до двох.

Одержані результати вказують на тенденцію вияву ефекту «пляшкового горлечка» для популяції тварин СУ, оскільки нульову гіпотезу в їхньому випадку можна відкинути з рівнем значущості 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. Відзначаються випадки зчепленого успадкування різних локусів у тварин усіх досліджених порід великої рогатої худоби (*табл. 25*).

Таблиця 24. Стан гетерозиготності мікросателітних локусів великої рогатої худоби

Локус	УЧеР		УЧР		СУ	
	Ho	Heq	Ho	Heq	Ho	Heq
ETH3	0,844	0,772	0,860	0,773	0,689	0,803
ETH10	0,822	0,769	0,814	0,772	0,600	0,802
ETH225	0,778	0,802	0,907	0,803	0,844	0,860
TGLA122	0,756	0,861	0,744	0,861	0,622	0,895
TGLA126	0,667	0,803	0,628	0,728	0,444	0,730
TGLA227	0,778	0,886	0,930	0,896	0,889	0,861
BM1824	0,800	0,844	0,814	0,862	0,733	0,826
BM2113	0,867	0,862	0,767	0,828	0,244	0,802
INRA23	0,733	0,861	0,884	0,876	0,756	0,824
SPS115	0,800	0,824	0,860	0,771	0,911	0,801
Тест знаків	0,066		0,605		0,014	

Таблиця 25. 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

Загалом оцінка міри не випадкового об'єднання гамет (HWD) у тварин породи СУ (0,328) достовірно ($p < 0,001$) переважала відповідну у тварин інших порід, а значення цього показника у тварин УЧР породи є близьким до нуля (-0,021), це свідчить про те, що об'єднання гамет у зазначеній популяції є практично випадковим. Велике значення N_{LD} для СУ (39 випадків з 45) вказує на високий ступінь інбредованості цієї популяції.

Найбільшу кількість (38 ампліфікованих фрагментів, або 13,62% 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 послі-

довністю $(AC)_n(AT)_n$ зі спектром ампліконів 114–188 п. н. Слід зазначити, що саме за цими локусами виявлено найбільшу кількість породоспецифічних алельних та генотипних 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 у цього виду було виявлено також у представників усіх трьох порід за локусом $(AC)_n$ INRA023 (11, 12, 9 та 32 відповідно). Отже, за результатами досліджень ми спостерігаємо тенденцію, що для тварин великої рогатої худоби за такими показниками, як фактична кількість алелів (Na) (38, 32 та 36), генотипів (Ng) (60, 54 та 48), рідкісних генотипів Ng_1 / Ng_2) (31/12, 21/14 та 14/13) і породоспецифічних (Ng_{unik}) (38, 30 та 33) найбільш інформативними виявились мікросателітні локуси TGLA227 $(TG)_n$, INRA023 $(AC)_n$ та TGLA122, з динуклеотидною структурою $(AC)_n$ і $(TG)_n$ та з коровим тандемним мотивом $(AC)_n(AT)_n$.

З метою оцінювання генетичних процесів, які відбувались при створенні вітчизняних порід різного напрямку продуктивності (української чорно- та червоно-рябої молочних порід і південної м'ясної) ми здійснили порівняльний аналіз генетичної структури цих порід з аборигенною сірою українською породою, оскільки вона свого часу була маточною породою при формуванні місцевих та перших вітчизняних порід, які згодом стали материнськими для сучасних вітчизняних порід молочної та м'ясної худоби.

У результаті проведеного аналізу виявлено 138 алельних варіантів. Ступінь алельного різноманіття різних порід тварин представлено у *табл. 26*.

Для різних порід від третини до майже половини кількості відзначених алелів представлені рідкісними алелями (із часткою $\leq 0,050$). При цьому достовірні відмінності (критерій Хі-квадрат Пірсона: $\chi^2 = 8,79$; $df = 2$; $P = 0,013$) встановлено між породами лише за часткою найпоширеніших алелів, оцінки якої коливалися

Таблиця 26. Загальна кількість алелів (NAT), кількість/частка рідкісних ($\leq 0,050$) та поширених ($\geq 0,200$) алелів для 10 локусів МС-ДНК

Напрямок продуктивності (породи)	NAT	Частота/Частка алелів із даною частотою	
		$\leq 0,050$	$\geq 0,200$
Молочні	110 (79,7%)	36 / 0,327	6 / 0,055
Аборигенна	94 (68,1%)	35 / 0,372	16 / 0,170
М'ясні	102 (73,9%)	48 / 0,471	18 / 0,176
χ^2 (P)	—	4,73 (ns)	8,79 (0,013)

Примітка: ns – $P > 0,05$.

від 0,055 (молочного напрямку продуктивності) до 0,176 (південна м'ясна).

Оцінки показників генетичного різноманіття та оцінки M-ratio для 10 локусів мікросателітної ДНК худоби різної селекції (в середньому на один локус) наведено в *табл. 27*. Лише щодо оцінок ефективної кількості алелів (Ae) та очікуваної гетерозиготності (He) відзначено достовірний зв'язок між породою та мікросателітним локусом (критерій Фрідмана: в обох випадках ($P < 0,01$)). Отже, патерни генетичної мінливості за цими показниками для окремих локусів істотно різнилися серед особин належних до різних груп худоби.

Таблиця 27. Показники (Mean $\pm$ SE) генетичного різноманіття та оцінки M-ratio для 10 локусів МС-ДНК (в середньому на один локус)

Напрямок продуктивності (породи)	Показник					
	Na	Ae	Ho	He	Fis	M-ratio
Молочні	11,00 $\pm$ $\pm 1,05$	7,56 $\pm$ $\pm 0,55$	0,802 $\pm$ $\pm 0,021$	0,861 $\pm$ $\pm 0,010$	0,069 $\pm$ $\pm 0,022$	0,895 $\pm$ $\pm 0,053$
Аборигенна	9,40 $\pm$ $\pm 0,78$	6,02 $\pm$ $\pm 0,50$	0,672 $\pm$ $\pm 0,064$	0,824 $\pm$ $\pm 0,013$	0,185 $\pm$ $\pm 0,078$	0,898 $\pm$ $\pm 0,041$
М'ясні	10,20 $\pm$ $\pm 0,83$	4,74 $\pm$ $\pm 0,49$	0,642 $\pm$ $\pm 0,060$	0,773 $\pm$ $\pm 0,019$	0,160 $\pm$ $\pm 0,080$	0,874 $\pm$ $\pm 0,053$
Критерій Фрідмана χ^2 (P)	4,638 (ns)	9,604 (0,008)	5,446 (ns)	10,612 (0,005)	0,495 (ns)	1,202 (ns)

Середня кількість алелів була найвищою у тварин молочно-го напряму продуктивності (11,0 алелів на локус), м'ясної худоби (10,2 алелів на локус), а найнижчою – серед тварин сірої української породи (9,4 алеля на локус). Однак при цьому серед м'ясної худоби було встановлено найнижчу оцінку ефективної кількості алелів (4,74 алеля на локус), що була більше ніж удвічі нижчою середньої кількості алелів. Це може бути наслідком наявності у цієї породи великої кількості алелів як із дуже низькою, так і дуже високою частотою (18 алелів із 102 зареєстрованих). Середні оцінки фактичної гетерозиготності варіювали від 0,642 (м'ясна худоба) до 0,802 (молочна худоба), тоді як середні оцінки очікуваної гетерозиготності варіювали від 0,773 (м'ясна худоба) до 0,861 (молочна худоба). У всіх випадках було відзначено переважання оцінок очікуваної гетерозиготності над фактичною, що зумовило отримання позитивних і відносно великих оцінок індексу гетерозиготності – від 0,069 (молочна худоба) до 0,185 (аборигенна худоба) в середньому на локус. Це свідчить про наявність значного дефіциту гетерозигот серед особин досліджених порід, особливо серед молочної худоби, що може слугувати виявом активної селекційної роботи, яка проводиться із тваринами цих порід. Характерним є те, що на фоні зниження рівня алельного різноманіття не було виявлено звуження спектра цього різноманіття, як і серед тварин інших двох груп, що підтверджується дуже близькими для всіх трьох груп тварин оцінками *M-ratio*, які були значно вищими за критичну величину у 0,600. У розрізі окремих локусів лише для локусу *TGLA122* нами було виявлено низькі оцінки *M-ratio* (0,500–0,652), що свідчить про швидшу втрату алельного різноманіття за цим локусом, ніж в середньому для 10 досліджених локусів мікросателітної ДНК. Особливо це було характерним для м'ясної худоби, для якої великої кількості алелів не було у досліджених тварин (*TGLA122*¹⁴⁷, *TGLA122*¹⁵⁵, *TGLA122*¹⁵⁷, *TGLA122*¹⁵⁹, *TGLA122*¹⁶³, *TGLA122*¹⁶⁵ та *TGLA122*¹⁶⁷).

Щодо мультилокусної гетерозиготності (MLH), то найвищі оцінки цього показника було зафіксовано у молочної худоби (0,802 ± 0,015), для якої з 10 досліджених мікросателітних ДНК-локусів

вісім (в середньому) перебували у гетерозиготному стані. Тоді як для аборигенної та м'ясної худоби ці оцінки були досовірно нижчими – $0,672 \pm 0,021$ та $0,677 \pm 0,011$ відповідно (однофакторний дисперсійний аналіз: $F_{2; 315} = 23,63$; $P < 0,001$). Для трьох (TGLA122, INRA023 та ETH10) достовірного відхилення від стану генотипної рівноваги Гарді-Вайнберга не було виявлено (табл. 28).

Таблиця 28. Результати перевірки генотипної рівноваги Гарді-Вайнберга для 10 мікросателітних локусів ДНК на підставі G-тесту максимальної правдоподібності (likelihood ratio G-test)

Локус	Напрямок продуктивності (породи)		
	молочні	аборигенна	м'ясні
TGLA126	0,041	$< 0,001$	ns
TGLA122	ns	ns	ns
INRA023	ns	ns	ns
ETH3	0,009	ns	$< 0,001$
ETH225	0,001	ns	$< 0,001$
BM1824	0,009	ns	0,036
TGLA227	ns	0,050	ns
BM2113	0,004	$< 0,001$	ns
ETH10	ns	ns	ns
SPS115	ns	$< 0,001$	0,028

Оцінка індексу інбридингу F_{is} (загалом для трьох груп) варіювала від $-0,040$ (локус SPS115) до $0,262$ (локус ETH225) і становила $0,138 \pm 0,030$ (в середньому на локус), що свідчить про значний дефіцит гетерозиготності серед досліджуваних тварин (табл. 29).

Оцінка індексу генетичної диференціації між породами (F_{st}) також варіювала в значних межах – від $0,032$ (локус ETH225) до $0,093$ (локус TGLA126) і в середньому становила $0,060 \pm 0,007$. Для всіх мікросателітних локусів, а також для середньої оцінки F_{st} , було встановлено достовірні відмінності між породами відносно розподілу частот алелів. Високий рівень специфічності підтверджується й результатами Assignment-тесту на підставі розподілу частот мультилокусних генотипів за 10 локусами мікросателітної ДНК

(табл. 30). Генетична унікальність досліджуваної худоби варіювала від 90,7% (сіра українська) до 100% (південна м'ясна).

Таблиця 29. Оцінки індексів Фішера (Fis та Fst) для 10 локусів МС-ДНК

Локус	Fis	P	Fst	P
TGLA126	0,186	ns	0,093	< 0,001
TGLA122	0,186	0,038	0,051	< 0,001
INRA023	0,070	ns	0,079	< 0,001
ETH3	0,191	ns	0,044	< 0,001
ETH225	0,262	ns	0,032	0,002
BM1824	0,113	ns	0,060	< 0,001
TGLA227	0,070	ns	0,064	< 0,001
BM2113	0,252	< 0,001	0,057	< 0,001
ETH10	0,090	ns	0,087	< 0,001
SPS115	-0,040	ns	0,033	< 0,001
У середньому $\pm$ SE	0,138 $\pm$ 0,030	< 0,001	0,060 $\pm$ 0,007	< 0,001

Таблиця 30. Результати Assignment-тесту між різними породами великої рогатої худоби на підставі розподілу частот мультилокусних генотипів за 10 локусами МС-ДНК

Напрямок продуктивності (породи)	Напрямок продуктивності (породи) (передбачена)			Точність зарахування особини до власної породи, %
	молочні	аборигенна	м'ясні	
Молочні	78	5	0	94,0
Аборигенна	4	39	0	90,7
М'ясні	0	0	192	100,0

Незважаючи на те, що *a priori* мікросателітні локуси ДНК є нейтральними молекулярно-генетичними маркерами, нами було встановлено, що серед використаних нами 10 локусів, були наявні локуси, для яких гіпотеза щодо їхньої нейтральності достовірно відхилялась на підставі результатів тесту Євенса-Ваттерсона (табл. 31). Як можна було й очікувати, зважаючи на активну селекційну роботу із цими породами, найбільша кількість таких локусів (7 із 10) було відзначено у молочної худоби. Тоді як для аборигенної та м'ясної худоби кількість таких локусів була значно нижчою (три

та два), при цьому половина з них мали оцінки Obs. F дуже близькі до нижньої межі 95% довірчого інтервалу.

Водночас для цих двох груп було відзначено достовірний прояв ефекту «пляшкового горлечка» (bottleneck effect) в минулому на підставі оцінок гетерозиготності 10 мікросателітних локусів (табл. 32).

**Таблиця 31. Результати тесту на нейтральність
Евенса-Ваттерсона (Ewens-Watterson test) для 10 локусів
МС-ДНК (наведено лише локуси, для яких гіпотезу
щодо нейтральності вірогідно відхилено)**

Напря́м продуктивності (породи)	Локус	Obs. F	L95–U95
Молочні	INRA023	0,1088	0,1395–0,5182
	ETH3	0,1495	0,1682–0,6210
	ETH225	0,1555	0,1957–0,6884
	BM1824	0,1353	0,1567–0,5398
	BM2113	0,1008	0,1489–0,5292
	ETH10	0,1585	0,2167–0,7683
	SPS115	0,1542	0,1761–0,6511
Аборигенна	TGLA126	0,2155	0,2299–0,7480
	INRA023	0,1652	0,1668–0,5489
	TGLA227	0,1214	0,1374–0,4321
М'ясні	TGLA122	0,1891	0,1977–0,7205
	ETH225	0,1150	0,1200–0,3882

Примітка: Obs. F – фактична сума квадратів частот алелів; L95, U95 – нижня та верхня межі 95% довірчого інтервалу оцінки Obs. F, розраховані на підставі 1000 симуляцій.

**Таблиця 32. Результати перевірки гіпотези щодо вияву ефекту
«пляшкового горлечка» в минулому на підставі оцінок гетерозиготності 10 локусів МС-ДНК (наведено теоретично очікувану та фактичну кількість локусів, що мають надлишок гетерозиготності)**

Напря́м продуктивності (породи)	Модель		
	IAM	TPM	SMM
Молочні	6,01/9 (ns)	5,90/5 (ns)	5,85/4 (ns)
Аборигенна	5,99/5 (ns)	5,92/3 (ns)	5,89/2 (0,015)
М'ясні	5,96/5 (ns)	5,97/5 (ns)	5,98/0 (0,001)

Аналогічно, негативні наслідки популяційно-демографічних процесів у сірої української та південної м'ясної худоби було відзначено й щодо їхніх оцінок середньої кореляції між алелями (r) використаних в аналізі локусів, що достовірно перевищували 0, а також значної кількості достовірних випадків нерівноваги за зчепленням (N_{LD}) між окремими алелями 10 мікросателітних локусів ДНК (табл. 33).

Таблиця 33. Оцінки середньої кореляції між алелями (r) та кількість вірогідних випадків нерівноваги за зчепленням (N_{LD}) між окремими алелями 10 локусів ДНК

Напрямок продуктивності (породи)	r	df	χ^2	P	N_{LD}
Молочні	0,127	45	38,01	ns	13
Аборигенна	0,262	45	66,66	0,020	24
М'ясні	0,138	45	102,03	< 0,001	32

Наслідками цих процесів, насамперед пов'язаних із обмеженою кількістю особин та низьким рівнем їхньої гетерозиготності, стали низькі оцінки ефективної чисельної популяції (N_e) та ефективної чисельності плідників (N_{eb}) для аборигенної та м'ясної худоби (табл. 34).

Таблиця 34. Оцінки середньої кореляції між алелями (r) та кількість вірогідних випадків нерівноваги за зчепленням (N_{LD}) між окремими алелями 10 локусів ДНК

Напрямок продуктивності (породи)	r	df	χ^2	P	N_{LD}
Молочні	0,127	45	38,01	ns	13
Аборигенна	0,262	45	66,66	0,020	24
М'ясні	0,138	45	102,03	< 0,001	32

Загалом оцінка ефективної чисельної популяції досліджуваної худоби становила 61–78 особин (з 95% довірчим інтервалом від 40 до 127 особин), тоді як для молочної худоби оцінка N_e становила 709 особин (із відкритою верхньою межею 95% довірчого інтервалу). Оцінка ефективної чисельності плідників (N_{eb}) для цих тварин також була в 2,0–2,5 рази вище, ніж для аборигенних та м'ясних порід.

У результаті проведених досліджень за мультилокусними ділянками ДНК (ISSR) було одержано 59 фрагментів різної довжини (28 за динуклеотидними ISSR маркерами та 31 за тринуклеотидними). Найбільшу кількість фрагментів за локусом $(GAG)_6C$ – 19 фрагментів, найменшу за $(ACC)_6G$ – 12. Встановлено фрагменти характерні для всіх порід за кожним з досліджених локусів, а саме: $(AG)_9C$ (діапазон 280–1050 п. н.) – фрагменти розміром 300, 420, 450 та 500 п. н., $(GA)_9C$ (діапазон 220–1500 п. н.) – 220, 250, 320, 460 та 550 п. н., $(ACC)_6G$ (300–1600 п. н.) – чотири фрагменти – 300, 380, 650 і 900 п. н., $(GAG)_6C$ (280–950 п. н.) – фрагменти 280, 450 та 650 п. н.

За кожним з досліджених ISSR локусів було виявлено породоспецифічні фрагменти, які траплялися в одній породі і були відсутні у представників інших порід. За $(AG)_9C$ для УЧеР (380 п. н.), УЧР (400 та 1000 п. н.), південної м'ясної (530 п. н.); $(GA)_9C$ – УЧеР (1200 п. н.), у УЧР (350 п. н.), для волинської м'ясної (400, 500 п. н.); $(ACC)_6G$ – УЧеР (980 та 1300 п. н.), південної м'ясної (1600 п. н.), поліська м'ясна порода мала найменший спектр ампліфікованих фрагментів і серед них не було виявлено жодного унікального; $(GAG)_6C$ – УЧеР (300, 420 та 950 п. н.), УЧР (580, 620, 700, 880 та 900 п. н.), південної м'ясної (400 п. н.). У результаті проведених досліджень встановлено, що використання як праймерів інвертованих фрагментів динуклеотидних $(AG)_9C$, $(GA)_9C$ та тринуклеотидних $(ACC)_6G$, $(GAG)_6C$ мікросателітних локусів виявляє значний поліморфізм серед досліджених представників різних порід.

Отже, в результаті проведеного аналізу за 10 мікросателітними локусами виявлено найхарактерніші спектри для кожної з досліджених порід. Встановлено, що найбільший рівень поліморфізму за мікросателітними локусами ДНК спостерігався у тварин молочних порід великої рогатої худоби. Застосування запропонованого нами підходу аналізу дає можливість оцінювання ступеня консолідованості та генетичної диференціації досліджуваних популяцій, генеалогічних породних зв'язків та наслідків селекційних заходів, що підтверджується спільністю походження та наявністю ідентичних тенденцій у формуванні генетичної структури у тварин вітчизняної селекції.

Популяційно-генетична структура та мікроеволюційні процеси у різних порід коней за монолокусними та мультилокусними ділянками ДНК.

У результаті проведеного аналізу за 11 мікросателітними локусами (табл. 35), залежно від нуклеотидної структури мікросателітних локусів, тварин гуцульської породи коней, а саме за 6 динуклеотидними мікросателітними локусами ДНК: VHL20, HTG06, HTG07, HMS06, CA425, ASB17, було виявлено 59 алельних варіантів в діапазоні від 76 п. н. за локусом HTG06 (15q26-q27) до 171 п. н. за HMS06 з однаковою частотою (0,013).

За локусом VHL20 зі структурою мікросателітної послідовності (TG)₁₇ було виявлено 11 алельних варіантів у діапазоні від 83 до 105 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,321) траплявся алель VHL2087, а з найменшою (0,006) – VHL2083. За цим локусом було встановлено 32 генотипних варіанти. Найпоширенішими були тварини з генотипами VHL20^{87/93}, VHL20^{87/95} та VHL20^{87/97}. Тварин з різноманітними рідкісними генотипами (Ng₁), які траплялися в популяції лише по одному разу, було 17, а по 2 рази (Ng₂) – шість. За цим локусом розподіл генотипів достовірно не відрізнявся від стану генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом. Загалом популяція коней за дослідженим мікросателітним локусом характеризувалась такими генетичними показниками: Na – 11, Na_{unik} – 0,420, Ng – 32, Ng₁ – 17, Ng₂ – 6, Ng_{unik} – 14, Ae – 6,036, I – 2,054, Ho – 0,833, He – 0,834, F – 0,001, PIC – 0,820, PE – 0,062. Генетична структура дослідженої популяції за мікросателітним локусом (TG)₁₉ – HTG07 була такою: розмір одержаних алельних варіантів варіював від 118 до 132 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,372) траплявся алель HTG07¹²⁸, з найменшою (0,013) – HTG07¹³² і який є породоспецифічним. У популяції встановлено 17 різних генотипних варіантів, з яких найпоширенішими були HTG07^{128/128} та HTG07^{126/128} і спостерігались у 14 та 13 гол. відповідно. За цим локусом п'ять різних генотипних варіантів траплялися лише по одному разу та 2 генотипи – по два рази. За цим локусом було виявлено достовірну різницю за розподілом генотипів за Гарді-Вайнбергом ($p < 0,01$).

Таблиця 35. Генетична структура тварин гундульської породи
за 11 мікросателітними локусами ДНК

Локус	Кіль- кість	Розмір п. н. / (частота) алелів												
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)											
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)				
CA425	7	230 (0,006)	232 (0,083)	234 (0,103)	236 (0,038)	238 (0,173)	240 (0,462)	242 (0,135)						
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)		
HTG07	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)					
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)		
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)		
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)			
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)				
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)			

Загалом встановлено, що за HTG07 для дослідженої популяції було характерно: $N_a = 8$, $N_{a_{\text{unik}}} = 0,870$, $N_g = 17$, $N_{g_1} = 5$, $N_{g_2} = 2$, $N_{g_{\text{unik}}} = 3$, $A_e = 4,167$, $I = 1,627$, $H_o = 0,679$, $H_e = 0,760$, $F = 0,106$, $PIC = 0,730$, $PE = 0,397$. У дослідженій популяції коней гуцульської породи за локусом HTG06 (15q26–q27) було виявлено 11 алельних варіантів розміром від 76 до 102 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,372) траплявся алель HTG06¹⁰⁰, а з найменшою (0,006) – HTG06⁸² та HTG06¹⁰². За цим локусом виявлено 24 різних генотипи тварин. Найчастіше у популяції спостерігали тварин з генотипом HTG06^{100/100} (12 гол.). За цим локусом виявлено 18 тварин з рідкими генотипами, породоспецифічна алель HTG06¹⁰² спостерігалась з частотою 0,006. За HMS07 було виявлено достовірну різницю за розподілом генотипів за Гарді-Вайнбергом ($p < 0,001$) і для дослідженої популяції характерним є таке: $N_a = 11$, $N_{a_{\text{unik}}} = 0,790$, $N_g = 24$, $N_{g_1} = 9$, $N_{g_2} = 3$, $N_{g_{\text{unik}}} = 12$, $A_e = 4,779$, $I = 1,850$, $H_o = 0,692$, $H_e = 0,791$, $F = 0,125$, $PIC = 0,770$, $PE = 0,416$. За локусом HMS06 виявлено 9 алельних варіантів розміром від 155 до 171 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,288) траплявся алель HMS06¹⁶⁹, а найменшою (0,006) – HMS06¹⁵⁵. За цим локусом було встановлено 24 різних генотипних варіанти. Найбільш поширеними були тварини з генотипами HMS06^{163/169}. Тварин з різноманітними рідкісними генотипами (N_{g_1}), які траплялися в популяції лише по одному разу було 11, а по 2 рази (N_{g_2}) – три. За цим локусом розподіл генотипів достовірно не відрізнявся від стану генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом. Загалом популяція коней за дослідженим мікросателітним локусом характеризувалась такими генетичними показниками: $N_a = 9$, $N_{a_{\text{unik}}} = 0,03$, $N_g = 24$, $N_{g_1} = 11$, $N_{g_2} = 3$, $N_{g_{\text{unik}}} = 4$, $A_e = 4928$, $I = 1,768$, $H_o = 0,808$, $H_e = 0,797$, $F = -0,013$, $PIC = 0,77$, $PE = 0,613$. Генетична структура дослідженої популяції за мікросателітним локусом CA425 була такою: розмір одержаних алельних варіантів варіював від 230 до 242 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,462) траплявся алель CA425²⁴⁰, з найменшою (0,006) – CA425²³⁰. У популяції встановлено 17 різних генотипних варіантів, з яких найпоширенішими був CA425^{240/240}. За цим локусом шість

різних генотипних варіантів траплялися лише по одному разу та 4 генотипи – по два рази. За цим локусом розподіл генотипів достовірно не відрізнявся від стану генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом. Загалом встановлено, що за CA425 для дослідженої популяції було характерно: $N_a - 7$, $N_{a_{\text{unik}}} - 0,0003$, $N_g - 17$, $N_{g_1} - 6$, $N_{g_2} - 4$, $N_{g_{\text{unik}}} - 2$, $A_e - 3,570$, $I - 1,529$, $H_o - 0,756$, $H_e - 0,720$, $F = -0,051$, $PIC - 0,690$, $PE - 0,521$. За локусом ASB17 (2q14p15) було виявлено 13 алельних варіантів розміром від 90 до 114 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,256) траплявся алель ASB17¹¹⁴, а з найменшою (0,006) – ASB17⁹⁴ та ASB17¹⁰². За цим локусом виявлено 34 різних генотипи тварин. Найчастіше у популяції спостерігали тварин з генотипом ASB17^{106/114}. Розподіл генотипів достовірно не відрізнявся від стану генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом і для дослідженої популяції характерним виявилось таке: $N_a - 13$, $N_{a_{\text{unik}}} - 0,06$, $N_g - 34$, $N_{g_1} - 17$, $N_{g_2} - 4$, $N_{g_{\text{unik}}} - 10$, $A_e - 6,448$, $I - 2,095$, $H_o - 0,885$, $H_e - 0,845$, $F = -0,047$, $PIC - 0,830$, $PE - 0,764$. Одержані результати свідчать, що максимальні значення за низкою основних генетичних параметрів одержані за локусом ASB17 можуть бути пов'язані з його нуклеотидною послідовністю (AC)_n порівняно з іншими локусами, для яких характерні послідовності (GT)_n – HMS06, CA425 та (TG)_n – HTG07, HTG06 VHL20.

За мікросателітними локусами з більш складною молекулярно-генетичною структурою, а саме: HTG04 ((TG)_nAT(AG)₅AAG(GA)₅ACAG(AGGG)₃), HMS03 ((TG)₂(CA)₂TC(CA)_n (TG)₂(CA)₂TC(CA)_nGA(CA)₅), АНТ04 ((AC)_nAT(AC)_n), ASB23 ((TG)_nTT(TG)₄), HMS07 ((AC)₂(CA)_n) було виявлено 51 алельний варіант в діапазоні від 119 п. н. (HTG04) до 184 п. н. (HMS07). За локусом HTG04 одержано 10 алельних варіантів розміром від 119 до 139 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,372) траплявся алель HTG04¹³¹, а найменшою (0,013) – HTG04¹¹⁹. За цим локусом було встановлено 25 різних генотипних варіантів. Найпоширенішими були тварини з генотипами HTG04^{129/131}. Тварин з різноманітними рідкісними генотипами (N_{g_1}), які траплялися в популяції лише по одному разу було 7, по 2 рази (N_{g_2}) – 7. Виявлено породоспеци-

фічну алель у 139 п. н. з частотою 0,026. За цим локусом розподіл генотипів достовірно не відрізнявся від стану генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом. Загалом популяція коней за дослідженим мікросателітним локусом характеризувалась такими генетичними показниками: $N_a = 10$, $N_{a_{\text{unik}}} = 0,340$, $N_g = 25$, $N_{g_1} = 7$, $N_{g_2} = 7$, $N_{g_{\text{unik}}} = 5$, $A_e = 4,779$, $I = 1,862$, $H_o = 0,808$, $H_e = 0,791$, $F = -0,021$, $PIC = 0,770$, $PE = 0,613$. Генетична структура за мікросателітним локусом HMS03 була такою: розмір одержаних 10 алельних варіантів варіював від 150 до 172 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,288) траплявся алель HMS03¹⁶⁶, з найменшою (0,019) – HMS03¹⁵⁰ та HMS03¹⁶². У популяції встановлено 30 різних генотипних варіанти, з яких найпоширенішими був HMS03^{152/152}. За цим локусом сімнадцять генотипів траплялися лише по одному разу та 3 генотипи – по два рази. За цим локусом розподіл генотипів достовірно не відрізнявся від стану генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом. Загалом встановлено, що за HMS03 було характерно: $N_a = 10$, $N_{a_{\text{unik}}} = 0,130$, $N_g = 30$, $N_{g_1} = 17$, $N_{g_2} = 3$, $N_{g_{\text{unik}}} = 6$, $A_e = 5,160$, $I = 1,875$, $H_o = 0,718$, $H_e = 0,806$, $F = 0,109$, $PIC = 0,780$, $PE = 0,457$. За локусом АНТ04 зі структурою мікросателітної послідовності (AC)_n АТ(AC)_n було виявлено 11 алельних варіантів у діапазоні від 140 до 162 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,276) траплявся алель АТН04¹⁶⁰, а з найменшою (0,006) – АТН04¹⁴. За цим локусом було встановлено 29 генотипних варіантів. Найпоширенішими були тварини з генотипами АНТ04^{146/160}. Тварин з різноманітними рідкісними генотипами (N_{g_1}), які траплялися в популяції лише по одному разу було 13, а по 2 рази (N_{g_2}) – шість. За цим локусом було виявлено достовірну різницю за розподілом генотипів за Гарді-Вайнбергом ($p < 0,001$). Загалом популяція коней за дослідженим мікросателітним локусом характеризувалось такими генетичними показниками: $N_a = 11$, $N_{a_{\text{unik}}} = 0,200$, $N_g = 29$, $N_{g_1} = 13$, $N_{g_2} = 7$, $N_{g_{\text{unik}}} = 8$, $A_e = 6,631$, $I = 2,092$, $H_o = 0,910$, $H_e = 0,849$, $F = -0,072$, $PIC = 0,830$, $PE = 0,816$. Генетична структура дослідженої популяції за мікросателітним локусом (TG)nTT(TG)₄ – ASB23 була такою: розмір одержаних алельних варіантів варіював від 128 до 154 п. н., серед яких

з найбільшою частотою (0,269) траплявся алель ASB23¹³²⁸, з найменшою (0,013) – ASB23¹⁴⁰ та ASB23¹⁴⁴. У популяції встановлено 34 різних генотипних варіанти, з яких найпоширенішими був генотип ASB23^{132/148}. За цим 16 різних генотипних варіантів траплялися лише по одному разу та 15 генотипів – по два рази. За цим локусом розподіл генотипів достовірно не відрізнявся від стану генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом. Загалом встановлено, що за ASB23 для дослідженої популяції було характерно: N_a – 11, $N_{a_{\text{unik}}}$ – 0,180, N_g – 34, N_{g_1} – 16, N_{g_2} – 9, $N_{g_{\text{unik}}}$ – 5, A_e – 6,922, I – 2,114, H_o – 0,859, H_e – 0,856, F – (-0,004), PIC – 0,840, PE – 0,713. У дослідженій популяції коней гуцульської породи за локусом HMS07 ((AC)₂(CA)_n) було виявлено 9 алельних варіантів розміром від 168 до 184 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,359) траплявся алель HMS07¹⁸⁰, а з найменшою (0,006) – HMS07¹⁶⁸ та HMS07¹⁸⁴. За цим локусом виявлено 20 різних генотипів тварин. Найчастіше спостерігали у популяції тварин з генотипом HMS07^{180/180} (15 гол.). За цим локусом 8 генотипів траплялись лише по одному разу та 5 генотипів по два рази. За HMS07 було виявлено достовірну різницю за розподілом генотипів за Гарді-Вайнбергом ($p < 0,001$). Для дослідженої популяції виявилось характерним таке: N_a – 9, $N_{a_{\text{unik}}}$ – 0,001, N_g – 20, N_{g_1} – 8, N_{g_2} – 2, $N_{g_{\text{unik}}}$ – 1, A_e – 4,366, I – 1,694, H_o – 0,577, H_e – 0,771, F – 0,252, PIC – 0,740, PE – 0,264.

Загалом, у дослідженій популяції гуцульських коней виявлено 110 алельних варіантів за 11 мікросателітними локусами від 7-ми (CA425) до 13-ти (ASB17), що становило в середньому $10 \pm 0,5$ алеля на локус, а середня кількість ефективних алелів $5,253 \pm 0,331$ в діапазоні 3,570 (CA425) – 6,922 (ASB23). З найбільшою частотою (0,372) траплялись алелі HTG06¹⁰⁰, HTG07¹²⁸, з найменшою (0,006) – HMS06¹⁵⁵, CA425²³⁰, VHL20⁸³, АНТ04¹⁴⁰, HMS07^{168, 184}. За мікросателітними локусами HTG04, HTG06, HTG07 було виявлено породоспецифічні алельні варіанти розміром 139 п. н. з частотою 0,026, 102 (0,006), 132 (0,013) відповідно. За всіма локусами було встановлено 286 генотипних варіанти, найбільшу кількість 34 за локусами ASB17 та CA425, а найменшу по 17 за CA425 та

HTG07. Виявлено найхарактерніші генотипи за кожним з досліджених локусів, а саме: VHL20^{87/93}, VHL20^{87/95}, VHL20^{87/97}, HTG07^{128/128}, HTG07^{126/128}, HTG06^{100/100}, HMS06^{163/169}, CA425^{240/240}, ASB17^{106/114}, HTG04^{129/131}, HMS03^{152/152}, АНТ04^{146/160}, ASB23^{132/148}, HMS07^{180/180}. За дослідженими локусами розподіл генотипів достовірно не відрізнявся від стану генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом, за винятком HTG06 (достовірна різниця за розподілом генотипів ($p < 0,001$), HMS07 ($p < 0,001$) та АНТ04 ($p < 0,01$), HTG07 ($p < 0,01$). Загалом, для дослідженої популяції встановлено такі генетичні показники (табл. 36).

За локусами ASB17 та HMS07 встановлено мінімальні та максимальні значення за низкою основних генетичних параметрів, що може бути пов'язане з їх нуклеотидною послідовністю та $(AC)_2(CA)_n$ порівняно з іншими локусами, для яких характерна наявність послідовностей $(GT)_n$ – HMS06, CA425 та $(TG)_n$ – HTG07, HTG06, HTG04; VHL20, ASB23, HMS03. Для дослідженої популяції встановлено широкий спектр генотипної мінливості (Lim_{Ng}) (за 6 мікро-

Таблиця 36. Популяційно-генетична структура коней гуцульської породи за 11 мікросателітними локусами

Локус	Na	Ae	I	Ho	He	F	PIC	PE
VHL20	11,000	6,036	2,054	0,833	0,834	0,001	0,82	0,062
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
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
АНТ04	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
HTG04	10,000	4,779	1,862	0,808	0,791	-0,021	0,77	0,613
HMS03	10,000	5,160	1,875	0,718	0,806	0,109	0,78	0,457
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

сателітними локусами ДНК з 11) за переважання в них генотипів з більшим розміром алелів та середнім рівнем поліморфізму ($N_a = 10$, $N_g = 26$, $N_{g1} = 11,64$, $N_{a1} = 7$, $N_{g2} = 5,09$, $N_{a_{un}} = 3$, $N_{g_{un}} = 70$, $N_e = 5,253$, $H_o = 0,775$, $H_e = 0,802$, $H_i = 0,673$, $I = 1,869$, $PIC = 0,779$) та наявністю гомозиготних тварин за 5 генотипами з 18 найбільш представлених: (HTG04^{129/129} – 12%, HMS06^{169/169} – 17, THG06^{100/100} – 12, CA425^{240/240} – 17, HTG07^{128/128} – 14%).

З метою подальших досліджень поліморфізму мікросателітних локусів нами був проведений порівняльний аналіз генетичної структури, залежно від нуклеотидної послідовності мікросателітних локусів, гуцульської породи коней з представниками англійської чистокровної верхової та новоствореної української верхової порід. Усього за 11 мікросателітними локусами виявлено 355 алельних варіантів (ГУЦ – 110, ЧВ – 88 та УВП – 154). Для тварин ЧВ кількість алельних варіантів (5 за HTG04 – 13 за ASB23) становила в середньому $8 \pm 0,632$ алеля на локус при середній кількості ефективних алелів $3,963 \pm 0,473$ в межах 1,917 (CA425) – 6,652 (ATH04). Для тварин УВП кількість алельних варіантів (11 за HTG07 – 16 за ASB17) становила в середньому $14,273 \pm 0,506$ алеля на локус при середній кількості ефективних алелів $7,627 \pm 0,403$ у межах 5,256 (CA425) – 10,041 (ASB17) .

Порівняльний аналіз генетичної структури різних порід коней за основними популяційно-генетичними показниками представлено у *табл. 37*.

Загалом, кількість різних генотипів усіх порід за дослідженими локусами перебувала в межах від 8 за локусом HTG06 у чистокровної верхової породи до 57 за локусом HMS03 в української верхової породи. Встановлено наявність значної кількості гомозиготних генотипів за всіма мікросателітними локусами у тварин гуцульської породи (5 з 18 генотипів – HTG04^{129/129} – 12%, HMS06^{169/169} – 17, THG06^{100/100} – 12, CA425^{240/240} – 17, HTG07^{128/128} – 14%), у чистокровної верхової (7 з 16 за локусами: HTG04^{127/127} – 9%, HMS06^{169/169} – 16, THG06^{90/90} – 16, ASB17^{106/106} – 7, CA425^{240/240} – 29, HTG07^{128/128} – 11, HMS03^{152/152} – 16%), а в української верхової

Таблиця 37. Порівняльний аналіз популяційно-генетичних показників досліджених порід коней

Порода	Na	Ae	Ng	Ng ₁	Ng ₂	Ng _{unik}	I	Ho	He	F	PIС
Гуцульська	10,00	5,25	26	11,6	5,1	6,4	1,869	0,775	0,802	0,035	0,779
Чистокровна верхова	8,00	3,96	15,4	6,6	3	1,5	1,539	0,653	0,707	0,081	0,670
Українська верхова	14,27	7,63	43,8	21,3	9	27,9	2,250	0,812	0,865	0,062	0,842
Середнє	10,758	5,61	28,4	13,2	5,7	11,9	1,886	0,747	0,791	0,059	0,764

(3 з 18 за АНТG04^{160/160} – 13%, СА425^{240/240} – 29, НТG07^{128/128} – 21%) ($p < 0,0001$). У кожній породі виявлено наявність породоспецифічних алелів, які траплялися в одній породі і були відсутні в іншій. Найбільшу кількість алелів і локусів встановлено у тварин УВП (41 алель (82%), максимальна кількість 8 за СА425); ГУЦ (3 (27,3%) за локусами НТG04 (139 п. н.), НТG06 (102 п. н.) та НТG07 (132 п. н.); ЧВ (2 (9,1%) за локусом ASB23 (124 та 126 п. н.).

У результаті здійсненого аналізу встановлено, що популяція коней УВП мала найвищі, а ЧВ найнижчі значення, ефективної кількості алелів ($A_e = 7,63/3,96$); індекс Шеннона ($I = 2,25/1,54$); фактичної ($H_o = 0,812/0,653$), очікуваної ($H_e = 0,865/0,707$) гетерозиготностей, індексу поліморфізму досліджених локусів ($PIС = 0,842/0,670$), виключення випадкового збігу алелів ($PE = 0,610/0,386$), за показником комбінованої вірогідності виключення випадкового збігу алелів (CPE) в середньому становила 0,99. 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 $H_i < 0,45$. Для тварин УВП був характерним найбільший рівень поліморфізму серед досліджених порід (табл. 38), на що вказують такі показники, як (найбільша середня кількість алелів 14,3), розмах алельного поліморфізму ($Lim_{Na} = 11-16$), кількість породоспецифічних алелів (41 (89%)) та локусів, в яких їх виявлено

Таблиця 38. Алелофонд різних порід коней

Порода	Na/ Lim _{Na}	Na _{unic}	Частота Na _{unic}	Rarefaction (25)	
				Na	Na _{unic}
Гуцульська	10 (7–13)	3	0,015	9,54 ± 0,471	0,28 ± 0,092
Чистокровна верхова	8 (5–13)	2	0,01	7,97 ± 0,629	0,24 ± 0,175
Українська верхова	14,3 (11–16)	41	0,019	12,96 ± 0,434	2,93 ± 0,314

(9 (82%)), а найнижчий рівень поліморфізму спостерігали у тварин чистокровної верхової породи.

Встановлено нижчий рівень фактичної гетерозиготності ніж очікуваної в середньому по виду та за всіма породами, що вказує на тенденцію до консолідації порід.

За результатами розрахунку Гарді-Вайнбергом (MCMC) встановлено, що у популяції ГУЦ за 7 локусами розподіл генотипів достовірно не відхилявся від стану генетичної рівноваги, а достовірну різницю було виявлено лише за локусами АТН04, НТГ07 ($p < 0,01$) та НТГ06, НМС07 ($p < 0,001$); у ЧВ породи лише чотири локуси перебували у стані рівноваги (НТГ06, НТГ07, VHL20 та НМС07), а 7 мали достовірні відхилення, а у УВП лише за локусами VHL20 та НМС07 не спостерігали відхилення від стану генетичної рівноваги. За локусом АТН04 в усіх порід було достовірно встановлено відхилення від стану генетичної рівноваги і лише один локус VHL20 перебував у стані генетичної рівноваги в усіх трьох порід коней. Значення індексів С. Райта ($F_{is} = 0,062$ та $F_{it} = 0,108$) свідчать про значний рівень генетичної консолідованості популяцій коней (табл. 39).

Водночас тварини досліджених порід характеризувались незначним але достовірним рівнем генетичної диференціації ($F_{st} = 0,049$) ($p < 0,001$, крім НТГ07, що підтверджується результатами аналізу молекулярної мінливості (AMOVA). Відносно низьке значення (0,089) генетичної диференціації порід є високодостовірним ($p \leq 0,001$), табл. 40. Середнє значення потоку генів для цього виду становило 5,599.

Точність прогнозу щодо зарахування певної тварини до однієї з порід (assignment-тест, *табл. 41*) становив близько 89,8%.

Істотних відмінностей за показником M-ratio не було встановлено серед досліджених порід коней, що, як і у великої рогатої худоби, свідчить про приблизно однаковий рівень мікроеволюційних процесів у цих популяціях (*табл. 42*).

Результати порівняльного оцінювання фактичної та рівноважної гетерозиготності вказують на тенденцію вияву ефекту «пляшкового горлечка» для всіх досліджених порід коней, оскільки нульову гіпотезу можна відкинути для ГУЦ – $p < 0,05$, УВП $p < 0,01$, ЧВ – $p < 0,001$ (тест знаків) (*табл. 43*).

Таблиця 39. Індеси фіксації С. Райта у коней різних порід

Локус	Fis	Fit	Fst
ASB17	0,012	0,054	0,043
VHL20	-0,021	0,039	0,059
HTG07	0,120	0,126	0,007
HTG06	0,039	0,151	0,116
HMS06	0,033	0,083	0,052
CA425	0,121	0,167	0,052
АНТ04	0,059	0,071	0,013
ASB23	0,046	0,063	0,017
HMS07	0,083	0,106	0,025
HMS03	0,116	0,174	0,066
HTG04	0,082	0,158	0,084
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.

Таблиця 40. Результати аналізу генетичної мінливості (AMOVA)

Мінливість	df	SS	MS	E(MS)	Φst	p
Між групами	2	176,033	88,017	0,934		
У середині груп	278	2672,910	9,615	9,615	0,089	0,001
Загальна	280	2848,943	97,632	10,549		

Таблиця 41. Assignment-тест між різними породами коней

Фактична група	Теоретична група			Точність прогнозу
	ГУЦ	ЧВ	УВП	
ГК	73	3	2	93,6
БЧ	3	47	1	92,2
УВП	15	10	127	83,6
	91	60	130	89,8

Таблиця 42. Показник M-ratio для мікросателітних локусів різних порід коней

Локус	ГУЦ		ЧВ		УВП		Загалом	
	Na	M-ratio	Na	M-ratio	Na	M-ratio	Na	M-ratio
ASB17	13	0,520	8	0,348	16	0,457	16	0,457
VHL20	11	0,478	7	0,467	15	0,517	15	0,517
HTG07	8	0,533	7	0,539	11	0,524	12	0,522
HTG06	11	0,407	7	0,333	15	0,484	16	0,516
HMS06	9	0,529	7	0,467	12	0,522	12	0,522
CA425	7	0,539	7	0,467	16	0,485	16	0,485
АНТ04	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
HMS07	9	0,529	8	0,533	14	0,519	14	0,519
HMS03	10	0,435	10	0,476	16	0,485	16	0,485
HTG04	10	0,476	5	0,556	13	0,482	14	0,519

Таблиця 43. Гетерозиготність мікросателітних локусів коней різних порід

Локус	ГУЦ		ЧВ		УВП	
	Ho	Heq	Ho	Heq	Ho	Heq
1	2	3	4	5	6	7
ASB17	0,885	0,877	0,706	0,800	0,901	0,896
VHL20	0,833	0,851	0,725	0,769	0,914	0,889
HTG07	0,679	0,791	0,647	0,769	0,724	0,845
HMS06	0,808	0,818	0,647	0,767	0,796	0,860
CA425	0,756	0,762	0,314	0,768	0,691	0,896
АНТ04	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

Закінчення табл. 43

1	2	3	4	5	6	7
HMS07	0,577	0,816	0,765	0,797	0,862	0,880
HMS03	0,718	0,836	0,588	0,843	0,796	0,896
HTG04	0,808	0,832	0,588	0,671	0,783	0,871
Тест знаків	0,03863		0,00006		0,00801	

Випадки зчепленого успадкування різних локусів спостерігали в усіх досліджених порід (табл. 44), оцінка міри не випадкового об'єднання гамет (HWD) у тварин достовірно не відрізнялась між породами і була близька до 0.

Таблиця 44. Результати аналізу LD

Порода	N _{LD}	HWD	df	χ^2	p
ГУЦ	29	0,0101	11	7,77	0,7341
ЧВ	24	0,0106	11	7,67	0,7425
УВП	106	0,0557	11	13,67	0,2516

У результаті проведеного аналізу за 11 мікросателітними локусами виявлено найхарактерніші спектри для кожної з досліджених порід. Встановлено, що найбільший рівень поліморфізму за мікросателітними локусами ДНК спостерігався у тварин новоствореної української верхової породи.

Генетична структура різних порід Equus caballus за мультилокусними ділянками ДНК. За ISSR-маркерами у коней гуцульської породи (табл. 45) одержано 54 локуси, 33 з яких були поліморфними. За локусами (GA)₉C, (AG)₉C, (GA)₆CC, (ACC)₆G, (GAG)₆C, (CTC)₆C рівень інформативності PIC становив 0,290–0,401, за (AG)₈CA PIC – 0,600, а за (AG)₈CG спектр фрагментів був консервативним.

У коней арабської породи за ISSR-маркерами (табл. 46) виявлено 53 фрагменти в діапазоні 280–1900 п. н., 9 з яких – поліморфні.

У результаті міжпородного аналізу (табл. 47) встановлено, що найбільша частка поліморфних локусів була характерна для коней гуцульської породи (0,494), а для арабської (0,172), середнє генне

різноманіття на локус (H_s) – 0,603 та 0,546, алельне різноманіття (H') – 0,311 та (0,116), ступень різноманітності (μ) – 25,97 та 3,99 відповідно. Частка рідкісних локусів h_μ у коней арабської породи становила 0,560, а в коней гуцульської породи 0,200.

Таблиця 45. Характеристика тварин гуцульської породи за ISSR-локусами

Локус	(GA) ₉ C	(AG) ₉ C	(AG) ₈ CA	(AG) ₈ CG	(GA) ₆ CC	(ACC) ₆ G	(GAG) ₆ C	(CTC) ₆ C	Σ
К-сть локусів	8	5	9	6	8	5	9	4	54
Діапазон	280–930	320–1050	260–1230	300–870	380–1750	380–1050	280–870	680–1750	260–1750
Поліморфні локуси	6	4	6	0	4	4	6	3	33
РІС	0,32	0,30	0,60	0	0,41	0,29	0,31	0,29	0,31
Р, %	75	60	67	0	50	80	67	75	59,2

Таблиця 46. Характеристика тварин арабської породи за ISSR-локусами

Локус	(GA) ₉ C	(AG) ₉ C	(AG) ₈ CA	(AG) ₈ CG	(GA) ₆ CC	(ACC) ₆ G	(GAG) ₆ C	(CTC) ₆ C	Σ
К-сть локусів	4	5	6	7	12	5	6	8	53
Діапазон (п. н.)	380–870	280–590	380–1050	320–870	340–1750	380–1050	340–1050	500–1900	280–1900
Поліморфні локуси	0	2	1	1	1	0	2	2	9
РІС	0	0,14	0,16	0,05	0,03	0	0,14	0,1	0,08
Р, %	0	40	17	14,2	8,3	0	33,3	25	17,22

Таблиця 47. Міжпородний аналіз коней гуцульської та арабської порід за ISSR-маркерами

Порода	P	H _s	H'	μ	h _μ
Гуцульська	0,498	0,603	0,311	25,9 ± 3,96***	0,20 ± 0,12
Арабська	0,172	0,546	0,116	3,99 ± 1,99***	0,56 ± 0,22

Примітка: тут і в табл. 48: P – частка поліморфних локусів; H_s – середнє на локус генне різноманіття; H' – інформаційний індекс Шеннона; μ – показник внутрішньопопуляційного різноманіття; h – частка рідкісних локусів; *** P > 0,999.

Загалом, встановлено, що для популяції коней гуцульської породи характерним є вищий рівень генетичного різноманіття. Оцінювання стану генофондів коней гуцульської та арабської порід за ISSR-локусами ДНК здійснювали за такими показниками генетичного різноманіття: частка поліморфних локусів – P, середнє на локус генне різноманіття – H_s, інформаційний індекс Шеннона – H', показник внутрішньопопуляційного різноманіття – μ та частку рідкісних локусів – h_μ. Найбільша частка поліморфних локусів була встановлена для коней гуцульської породи (0,494) порівняно з конями арабської породи (0,172) (табл. 48).

Таблиця 48. Основні показники генетичного різноманіття коней гуцульської та арабської порід

Порода	P	H _s	H'	μ	h _μ
Гуцульська	0,498	0,603	0,311	25,9 ± 3,96***	0,20 ± 0,12
Арабська	0,172	0,546	0,116	3,99 ± 1,99***	0,56 ± 0,22

Середнє на локус генне різноманіття (H_s), яке визначає гетерозиготність за всіма локусами, для гуцульської породи коней було найвище і становило 0,603, у коней арабської породи – 0,546. Найбільші показники алельного різноманіття (H') властиві коням гуцульської породи (0,311) і найменш виражена ця різноманітність (0,116) у коней арабської породи. Середня кількість поліморфних локусів μ (ступінь різноманіття за поліморфною ознакою) становила у гуцульської породи μ (25,97), арабської μ (3,99) відповідно. Високі значення μ можуть вказувати на нерівномірність розподілу частот алелів, так частка рідкісних локусів (h_μ = 0,56) була у коней

арабської породи, а в коней гуцульської породи дорівнювала 0,20. За результатами оцінювання стану генофондів досліджених коней встановлено, що найвище генетичне різноманіття притаманне коням гуцульської породи. Для встановлення внутрішньопородної та міжпородної мінливості у досліджуваних коней застосовували генофондний профіль (сукупність усіх виявлених фрагментів ISSR-PCR локусів та їх частоту) й породоспецифічні патерни (фрагменти ДНК), які траплялися з найбільшою частотою (частота > 0,4). В результаті проведеної роботи встановлено, що найбільша міжпородна відмінність спостерігалася за локусом (GA)₆CC. Так, коні арабської породи відрізнялися 9 фрагментами від коней порід гуцульської, які різнилися між собою лише одним фрагментом (гуцульські коні – фрагментом A28). У гуцульської породи коней за локусом (AG)₈C міжпородна відмінність з кінями арабської породи не проявилася. Відсутність міжпородної відмінності за локусом (AG)₈CA спостерігалась і в арабської породи коней по відношенню до інших досліджуваних порід. У результаті проведеної роботи були встановлені породоспецифічні фрагменти за дослідженими локусами (для коней гуцульської породи за локусом (GA)₉C (880–930 п. н.), (AG)₉C (760–810 п. н.), (AG)₈CA (1180–1230 п. н.), (CTC)₆C (1400–1450 п. н.), (GAG)₆C (470–490 п. н.; 260–270 п. н.); для арабської породи (GA)₆CC (1300–1350, 1060–1110, 560–590, A – 440–460, A – 340–350), (GAG)₆C (440–460; 340–350), (CTC)₆C (1800–1900; 880–930)).

Аналіз генетичної структури свійської курки (Gallus domesticus) залежно від нуклеотидної послідовності та кількості тандемних повторів за монолокусними ділянками ДНК.

У результаті проведеного аналізу за 5 досконалими динуклеотидними мікросателітними локусами MCW0248, LEI094, MCW0216, ADL0268, ADL0278 п'яти спеціалізованих промислових яєчних кросів *Gallus domesticus* було виявлено 164 ательних варіанти в діапазоні від 104 п. н. за локусами ADL0268, ADL0278 до 283 п. н. за LEI094. За локусом MCW0248 із структурою мікросателітної послі-

доверсті (AC), загалом було виявлено 9 різних за розміром алельних варіантів у діапазоні довжин 207 – 223 п. н., для птиці кросу ЛБ – 3 алельні варіанти розміром 211–221 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,785) траплявся алель MCW248²¹³, а найменш часто (0,010) – MCW248²²¹; кросу ЛК 9 алельних варіантів розміром від 207 до 223 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,331) траплявся алель MCW248²¹³, а найменш часто (0,006) – MCW248²⁰⁷; кросу ХСБ 6 алельних варіантів розміром від 211 до 221 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,418) траплявся алель MCW248²¹⁵, а найменшою частотою (0,033) – MCW248²¹¹ та MCW248²²¹, кросу ХЛБ 4 алельні варіанти розміром від 213 до 219 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,636) траплявся алель MCW248²¹³, а найменш часто (0,045) – MCW248²¹⁹; кросу ХСК 6 алельних варіантів розміром від 213 до 223 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,272) траплявся алель MCW248²²¹, а найменш часто (0,037) – MCW248²²³. Частота окремих алельних варіантів локусу MCW0248 достовірно відрізнялась у різних кросів птиці ($p = 0,0001$). За цим локусом було встановлено 26 різних генотипних варіантів (Ng). У птиці кросу ЛК – 21, ХСК – 14, ХСБ – 8, ЛБ та ХЛБ – по 4. Найбільш поширеними була птиця з генотипом MCW0248^{213/213} (31,6%). Загалом для досліджених кросів птиці встановлено такі генетичні показники: рідкісних генотипів (Ng₁), які траплялися в популяції лише по одному разу було шість, по 2 рази (Ng₂) – чотири; кількість породоспецифічних генотипів (Ng_{unic}) дванадцять.

Генетична структура досліджених кросів за мікросателітним локусом (AC)₁₆ – LEI094 була такою: діапазон різних за розміром 25 алельних варіантів варіював від 143 до 283 п. н., у птиці кросу ЛБ виявлено 8 алельних варіантів розміром від 143 до 279 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,725) траплявся алель LEI094²⁵⁹, а найменш часто (0,010) – LEI094²⁴⁷; кросу ЛК 17 алельних варіантів розміром від 165 до 283 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,259) траплявся алель LEI094²⁵⁹, а найменш часто (0,006) – LEI094¹⁶⁵ та LEI094²⁵⁵, кросу ХСБ 9 алельних варіантів розміром від 241 до 281 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,262) трап-

лявся алель LEI094²⁶¹, а найменш часто (0,008) – LEI094²⁴¹, кросу ХЛБ 6 алельних варіантів розміром від 245 до 263 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,477) траплявся алель LEI094²⁶¹, а найменш часто (0,023) – LEI094²⁴⁵, LEI094²⁴⁷ та LEI094²⁵⁵, кросу ХСК – 11 алельних варіантів розміром від 245 до 281 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,204) траплявся алель LEI094²⁴⁵, а найменш часто (0,006) – LEI094²⁵³ та LEI094²⁸¹. Частота окремих алельних варіантів достовірно відрізнялась у птиці різних кросів ($\chi^2 = 595,42$; $df = 84$; $p_{mc} = 0,0001$). Найбільший розмах спостерігали у птиці кросів ЛБ (LEI094¹⁴³ – LEI094²⁷⁹) та ЛК (LEI094¹⁶⁵ – LEI094²⁸³), а найменший поліморфізм у ХЛБ (LEI094²⁴⁵ – LEI094²⁶³). Найвищою частотою, з виявлених алелів, характеризувався алель LEI094²⁵⁹ у ЛБ (0,725). Слід зазначити, що алелі LEI094¹⁴³ та LEI094¹⁵⁷ було виявлено тільки у ЛБ; LEI094¹⁶⁵, LEI094²⁶⁷, LEI094²⁷¹, LEI094²⁷³, LEI094²⁷⁷, LEI094²⁸³ – лише у ЛК; LEI094²⁴¹ – у ХСБ, а LEI094²⁵³ – у ХСК. За цим локусом встановлено 55 (13,48%) різних генотипних варіантів (ХСК – 32, ЛК – 27, ХСБ – 19, ЛБ – 11 та ХЛБ – 8). У птиці кросу ЛК найчастіше траплявся генотип – LEI094^{259/263} (21,69%), у ХСБ – LEI094^{259/261} (14,75%), ХЛБ – LEI094^{261/261} (27,27%), у ХСК – генотип LEI094^{245/247} (14,82%). Найпоширенішим був генотип LEI094^{259/259} (20,34%) і у кросі ЛБ він становив 58 особин (58%). Загалом для досліджених кросів птиці встановлено такі генетичні показники: рідкісних генотипів (Ng_1), які траплялися в популяції лише по одному разу було 13, по 2 рази (Ng_2) – 13; кількість породоспецифічних генотипів (Ng_{unic}) – 31.

Отже, в результаті порівняльного аналізу генетичної структури свійської курки (*Gallus domesticus*) за локусами MCW0248 (AC)₉ та LEI 094 (AC)₁₆ з однаковими пурін-піримідиновими нуклеотидними послідовностями AC, але різною кількістю тандемних повторів, встановлено, що за більшістю основних генетичних показників найінформативнішим виявився локус з більшою кількістю тандемних повторів LEI 094 (AC)₁₆ порівняно з (AC)₉ за MCW0248, а саме: за цим локусом як за кожним кросом, так і за видом загалом спостерігали найбільшу кількість (25) різних за розміром алельних

варіантів у діапазоні довжин (143 до 283 п. н.) порівняно з 9 (207–223 п. н.) за MCW0248, генотипних варіантів 55/26, рідкісних генотипів (Ng_1) 13/6, Ng_2 – 13/4 та породоспецифічних генотипів (Ng_{unic}) 31/12 відповідно.

За локусом ADL0278 з нуклеотидною структурою мікросателітної послідовності (TG)₁₈ у локусів MCW0248 (AC)₉ та LEI 094 (AC)₁₆ загалом було виявлено 10 різних за розміром алельних варіантів в діапазоні 104 п. н. – 122 п. н. У птиці кросу ЛБ виявлено 4 алельних варіанти розміром від 106 до 116 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,470) траплявся алель ADL278¹¹⁴, а найменш часто (0,110) – ADL278¹⁰⁶, кросу ЛК – 7 алельних варіантів розміром від 104 до 118 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,343) траплявся алель ADL278¹¹⁴, а найменш часто (0,030) – ADL278¹⁰⁴, кросу ХСБ – 8 алельних варіантів розміром від 106 до 122 п. н., з найбільшою частотою (0,451) траплявся алель ADL278¹²⁰, а найменш часто (0,016) – ADL278¹²², кросу ХЛБ – 6 алельних варіантів розміром від 106 до 118 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,386) траплявся алель ADL278¹¹⁴, а найменш часто (0,023) – ADL278¹¹⁸, кросу ХСК – 7 алельних варіантів розміром від 108 до 122 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,185) траплявся алель ADL278¹⁰⁸, а найменш часто (0,099) – ADL278¹¹⁰. Частота алельних варіантів достовірно відрізнялась у птиці різних кросів ($p = 0,0001$). Найбільш поширеним алелем у птиці кросів ЛБ, ЛК та ХЛБ був ADL0278¹¹⁴, у ХСБ – ADL0278¹²⁰, а у ХСК частоти алелів були приблизно однаковими. Алель ADL0278¹⁰⁴ було визначено лише в особин кросу ЛК, алелі ADL0278¹¹⁰, ADL0278¹²⁰ та ADL0278¹²², було виявлено тільки у кросах ХСБ та ХСК. За локусом ADL0278 виявлено 36 різних генотипних варіантів, у птиці кросу ЛК – 22 (61,11%), ХСК – 21 (58,33%), ХСБ – 13 (36,11%), ХЛБ – 10 (27,78%) та ЛБ – 8 (22,22%). Найпоширенішим серед досліджуваних представників був генотип ADL0278^{108/114} (13,97%). Цей генотип найчастіше траплявся в кросах ЛБ (40%) та ЛК (16,87%), у кросі ХСБ найчастіше трапляється генотип – ADL0278^{120/120} (31,15%), ХЛБ – ADL0278^{106/114} (27,27%), у ХСК – генотипів ADL0278^{110/116}

та ADL0278^{120/122} (по 11,11%). За дослідженням локусом встановлено 16 породоспецифічних генотипів (N_{genik}): у ХСК – 9, у ЛК – 5, у ХСБ – 2, у ЛБ та ХЛБ – жодного.

За локусом MCW0216 з нуклеотидною структурою мікросателітної послідовності (GT)_n загалом було виявлено 11 різних за розміром алельних варіантів у діапазоні 125 – 147 п. н. У птиці кросу ЛБ виявлено 4 алельні варіанти розміром від 125 до 137 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,920) траплявся алель MCW216¹³⁷, а найменш часто (0,010) – MCW216¹³⁵, кросу ЛК – 8 алельних варіантів розміром від 125 до 141 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,398) траплявся алель MCW216¹³⁵, а найменш часто (0,006) – MCW216¹²⁷, кросу ХСБ – 5 алельних варіантів розміром від 135 до 143 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,393) траплявся алель MCW216¹³⁷, а найменш часто (0,008) – MCW216¹⁴³, кросу ХЛБ – виявлено 4 алельні варіанти розміром від 137 до 143 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,384) траплявся алель MCW216¹³⁹, а найменш часто (0,045) – MCW216¹⁴³, кросу ХСК – 7 алельних варіантів розміром від 135 до 147 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,241) траплявся алель MCW216¹³⁹, а найменш часто (0,074) – MCW216¹⁴⁷. Частота алельних варіантів дослідженого локусу достовірно відрізнялась у птиці різних кросів ($p = 0,0001$). У птиці кросів ЛБ та ХЛБ з найбільшою частотою виявлявся алель MCW0216²¹³, у ХСБ – MCW0216²¹⁵, у птиці кросів ХЛБ та ХСК частоти алелів були розподілені приблизно порівну. Встановлено специфічні алельні варіанти, притаманні лише птиці відповідного кросу: MCW0216¹⁴⁵ та MCW0216¹⁴⁷ було виявлено лише у ХСК, MCW0216¹²⁹ та MCW0216¹³³ – ЛК, MCW0216¹²⁵ та MCW0216¹²⁷ виявляли в кросах ЛБ і ЛК. Найбільший розмах алельного поліморфізму за цим локусом зафіксовано у кросу ЛК (MCW0216²⁰⁷ – MCW0216²²³), а найменший – у ХЛБ (MCW0216²¹³ – MCW0216²¹⁹). За цим локусом встановлено 20 різних генотипних варіантів, у птиці кросу ЛК – 12 (60%), ХСК – 9 (45%), ХСБ – 7 (35%), ХЛБ – 5 (25%) та 4 (20%) у ЛБ. Найпоширенішим був генотип MCW0216^{137/137} (133 (32,6%)). Цей самий генотип є наймасовішим у кросах ЛБ (84 осо-

бини (84%)) та ХСБ (38 особин (31,15%)). У птиці кросу ЛК наймасовішим був алель MCW0216^{135/137} (21 особина (25,3%)), у ХЛБ – MCW0216^{137/141} та MCW0216^{139/141} (по 7 особин (31,82%)), а у ХСК найчастіше трапляється генотип – MCW0216^{137/139} (у 13 особин (16,05%)). За цим локусом виявлено 14 породоспецифічних генотипів (у кросі ХСК – 7, ЛК – 5, в ЛБ та ХЛБ по 1, ХСБ – жодного). Загалом для досліджених кросів птиці встановлено такі генетичні показники: рідкісних генотипів (Ng_1), які траплялись у популяції лише по одному разу не було виявлено, по 2 рази (Ng_2) – 1; кількість породоспецифічних генотипів (Ng_{unic}) – 14.

За локусом ADL268 з нуклеотидною структурою мікросателітної послідовності (GT)₁₂ загалом було виявлено 6 різних за розміром алельних варіантів у діапазоні 104 – 114 п. н. У птиці кросу ЛБ виявлено 4 алельні варіанти розміром від 106 до 112 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,485) траплявся алель ADL268¹⁰⁸, а найменш часто (0,060) – ADL268¹⁰⁶, кросу ЛК – 5 алельних варіантів розміром від 104 до 112 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,367) траплявся алель ADL268¹¹⁰, а найменш часто (0,024) – ADL268¹⁰⁴, кросу ХСБ – 4 алельні варіанти розміром від 106 до 112 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,367) траплявся алель ADL268¹¹⁰, а найменш часто (0,016) – ADL268¹⁰⁶, кросу ХЛБ – 4 алельні варіанти розміром від 104 до 114 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,500) траплявся алель ADL268¹⁰⁸, а найменш часто (0,023) – ADL268¹⁰⁴, кросу ХСК – 6 алельних варіантів розміром від 104 до 114 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,265) траплявся алель ADL268¹¹⁰, а найменш часто (0,019) – ADL268¹⁰⁴. Частота окремих алельних варіантів локусу ADL268 достовірно відрізнялась у птиці різних кросів ($p_{mc} = 0,0001$) при нерівномірності їх розподілу. В окремих кросах спостерігається значна (> 30%) консолідація за окремими алельними варіантами, а саме: у ЛБ – за ADL268¹¹⁰ (30%) та ADL268¹⁰⁸ (48,5%); у ЛК – за ADL268¹⁰⁸ (33,7%) та ADL268¹¹⁰ (36,7%); у ХСБ – за ADL268¹¹⁰ (49%); у ХЛБ – за ADL268¹¹² (31,8%) та ADL268¹⁰⁸ (50%); і у ХСК – за ADL268¹⁰⁸ (31%). За локусом ADL268 з 6 виявлених алельних варіантів від-

носно високу частоту (0,2–0,3) мали лише 3, а інші ADL268¹⁰⁴ траплявся з частотою меншою за 0,025. Найбільший розмах встановлено у кросах ХЛБ та ХСК (ADL268¹⁰⁴ – ADL268¹¹⁴), середній – ЛК (ADL268¹⁰⁴ – ADL268¹¹²) та ХСБ (ADL268¹⁰⁶ – ADL268¹¹⁴) і найбільш консолідованою за цим показником виявилась птиця кросу ЛБ (ADL268¹⁰⁶ – ADL268¹¹²). Найвищою частотою, з виявлених алелів, характеризувались ADL268¹⁰⁸ (0,500 у ХЛБ та 0,485 у ЛБ), а також ADL268¹¹⁰ (0,490 у ХСБ). Серед особин кросу ХСБ не було виявлено алеля ADL268¹⁰⁴, а алеля ADL268¹¹⁴ не було в кросах ЛБ та ЛК. Спектри алельного різноманіття продемонстрували спільні для всіх досліджуваних кросів тенденції. За цим локусом виявлено 20 різних генотипних варіантів, 5 (25%) у ХЛБ, по 8 у кросів ЛБ (40%) та ХСБ (40%), 12 (60%) у ЛК та 17 (85%) у ХСК. Генотип ADL268^{108/110} був найпоширенішим як загалом (108 особин (26,47%)), так і за кросами ЛК 19 (22,89%), ХСБ 26 (21,31%) та ЛБ 50 (50%). У кросах ХСК та ХЛБ найбільш поширені були генотипи ADL268^{108/108} (17,28%) та ADL268^{108/112} (63,64%) відповідно. Породоспецифічні генотипи (14) за локусом ADL268 були виявлені лише у кросі ХСК – 7 та ХЛБ – 5.

Отже, в результаті порівняльного аналізу генетичної структури свійської курки (*Gallus domesticus*) за двома локусами MCW0248 (AC)₉ та LEI 094 (AC)₁₆ з однаковими пурін-пиримидиновими нуклеотидними послідовностями AC з трьома мікросателітними локусами ADL0268 (GT)_n, MCW021 (GT)_n, ADL0278 (TG)_n встановлено, що найбільш інформативними як за кожними кросом, так і за видом загалом, є мікросателітні локуси з коровим мотивом тандемних послідовностей (AC)_n. За цими локусами встановлено найбільшу кількість різних за розміром алельних варіантів – 34 порівняно з 27-ма локусами з послідовністю (GT)_n та (TG)_n генотипів (Ng) 81/76; рідкісних генотипів (Ng₁) 19/9, Ng₂ – 17/7 та породоспецифічних генотипів (Ng_{unic}) 43/38 відповідно.

Серед мікросателітних локусів з однаковою нуклеотидною структурою але різною кількістю тандемних повторів найбільш інформативним виявився локус з більшою кількістю тандемних пов-

торів LEI 094 (AC)₁₆ порівняно з (AC)₉ MCW0248: за цим локусом, спостерігали найбільшу кількість (25) різних за розміром алельних варіантів у діапазоні довжин (143 до 283 п. н.) порівняно з 9 (207 – 223 п. н.) за MCW0248, генотипних варіантів 55/26, рідкісних генотипів (Ng₁) 13/6, Ng₂ – 13/4 та породоспецифічних генотипів (Ng_{unic}) 31/12 відповідно. Однак ця тенденція не спостерігалась за іншими локусами ADL0268 (GT)₁₂ та MCW0216 GT)₉, що може бути пов'язано з нуклеотидною структурою мікросателітного повтору та невеликої різниці у кількості тандемних повторів у цих локусах.

Аналіз генетичної структури двох порід собак (Canis familliaris) залежно від нуклеотидної послідовності та кількості тандемних повторів за монолокусними ділянками.

У результаті проведеної роботи кількість виявлених алельних варіантів для собак породи німецька вівчарка (НВ) перебувала в межах від 5-ти PEZ06 до 13-ти PEZ08 і становила в середньому 9,2 алеля на локус, а середня кількість ефективних алелів 6,451 від 5,053 (FHC2010) до 10,04 (PEZ08), а у собак (німецький дог) (НД) ці показники були – від 6-ти PEZ01 до 13-ти PEZ08; 8,4 алеля на локус при ефективній кількості алелів 6,244 в діапазоні 4,469 (PEZ01) – 7,843 (PEZ08) відповідно. При порівняльному аналізі генетичної структури двох порід собак (*Canis familliaris*) НВ та НД за локусами PEZ06 та PEZ08 з пуріновими тетрануклеотидними послідовностями (GAAA)_n, (AAAG)_n, відповідно, було одержано такі результати: для тварин НВ кількість алельних варіантів (Na) за PEZ06 – 5 (від 166 до 174 п. н., серед яких з найбільшою частотою (0,359) траплявся алель PEZ06¹⁸², а найменшою (0,077) – PEZ06¹⁹⁰), PEZ08 – 13 (210 до 258 п. н., з частотою (0,179) траплявся алель PEZ08²¹⁸, (0,026) – PEZ08²³⁴, PEZ08²⁵⁸), у НД – 8 (від 166 до 206 п. н., з найбільшою частотою (0,250) траплявся алель PEZ06¹⁷⁰, а найменш часто (0,050) – PEZ06¹⁸²) та 13 (від 210 до 258 п. н., з найбільшою частотою (0,200) PEZ08²²², PEZ08²⁴⁶, а (0,025) – PEZ08²¹⁰, PEZ08²¹⁸, PEZ08²⁴², PEZ08²⁵⁰ та PEZ08²⁵⁴) відповідно; середня кількість ефективних алелів становила у НВ – 10,04 (PEZ08) у НД – 7,843. Найбільший рівень алельного різноманіття встанов-

лено у тварин породи НД за локусом PEZ08 (13), а найнижчий – у НВ за локусом PEZ06 (5). За PEZ06 у НВ – 11 різних генотипних варіанти (найпоширеніший PEZ06^{186/202}), НД – 8 (PEZ06^{166/178} та PEZ06^{170/202}). За PEZ08 виявлено НВ – 24 різних генотипних варіанти (PEZ08^{218/218}) у НД – 13 (PEZ08^{222/246}). За локусом PEZ08 серед НВ встановлено 3 породоспецифічних генотипи, за PEZ06 – 7, а у собак НД таких генотипів виявлено не було. В результаті аналізу встановлено, що найбільш поліморфним як за видом, так і за породами є локус PEZ08 порівняно з PEZ06 (кількість виявлених алельних варіантів 26/13), генотипних (N_g) – 37/19, (N_g) 20/6 – генотипи, які виявлено в популяції один раз, (N_{g_2}) 13/3 – генотипи, які виявлено в популяції два рази.

Загалом, у результаті аналізу генетичної структури двох порід собак за 5 мікросателітними локусами встановлено високий рівень консолідованості за одним чи двома алельними варіантами: зафіксовано у НВ – за PEZ06¹⁸⁶ (0,359), НД – за PEZ01¹²⁰ (0,300). У представників порід НВ та НД ці генотипи були однаковими. Генотипи PEZ06^{186/202}, PEZ06^{174/178}, FHC2054^{166/168}, FHC2054^{148/162} та FHC2054^{160/162} є породоспецифічними для НВ. Найбільшим поліморфізмом характеризувались тварини породи НВ, про що свідчать найширший та найповніший спектр ($Lim_{Na} = 5-13$), найбільша кількість виявлених алелів ($N_a = 9,2$) та генотипів ($N_g = 18,4$), рідкісних ($N_{g_1} = 8,6$, $N_{g_2} = 4,8$) та породоспецифічних ($N_{g_{unik}} = 5,8$) генотипів, ефективних алелів ($A_e = 6,451$) та значення індексу Шеннона ($I = 1,958$). Високий рівень генетичного поліморфізму зафіксовано також у собак породи НД. Для цієї породи характерними виявились найбільші значення фактичної ($H_o = 0,754$), очікуваної ($H_e = 0,833$), індивідуальної ($H_i = 0,820$) гетерозиготностей та індексу поліморфізму ($PI_C = 0,812$), середній розмах алельних спектрів ($Lim_{Na} = 6-11$), середня кількість виявлених ($N_a = 8,4$) та ефективних алелів ($A_e = 6,244$), а також індексу Шеннона ($I = 1,920$), найменша кількість виявлених ($N_g = 10,4$) і рідкісних ($N_{g_1} = 5$, $N_{g_2} = 3$) генотипів $F = 0,012$, а також відсутність породоспецифічних алелів та генотипів. Загальна кількість генотипних варіантів у

особин цього виду варіювалася від 15 (за локусом FHC2010) до 27 (за локусом FHC2054). При цьому найвищий рівень генотипного поліморфізму було зафіксовано за локусом PEZ08 у особин, що належать до породи НВ ($N_g = 24$). Загалом по виду *Canis familiaris* має місце подібність генетичних процесів у досліджених породах, про що свідчать однакові діапазони та межі розмаху спектрів алельного ($\text{Lim}_{N_a} = 5\text{--}13$) і генотипного ($\text{Lim}_{N_g} = 7\text{--}24$) поліморфізму та практично однакова кількість виявлених алельних варіантів ($N_a = 8,2\text{--}9,2$) (різниця не перевищувала 3 алелі/локус), що вказує про приблизно однаковий рівень генетико-автоматичних процесів у даних популяціях.

Генетична мінливість досліджених таксонів свійських тварин. З метою оцінювання генетичної мінливості проведено порівняльний аналіз особливостей генетичного поліморфізму у представників видів *Bos Taurus*, *Equus caballus*, *Canis familiaris*, *Gallus domesticus* за монолокусними ділянками ДНК. В результаті проведеної роботи встановлено, що: середня кількість виявлених алелів становила 12,1 від 10,8 у *Canis familiaris* до 14,8 *Equus caballus*, середня кількість виявлених генотипних варіантів (N_g) 38,09 від 22,4 (*Canis familiaris*) до 57,36 (*Equus caballus*) (табл. 49, 50). Кількість породоспецифічних алелів ($p < 0,001$) перебувала в діапазоні від 3 (0,033) у собак до 46 (0,018) у коней, а найбільшу кількість породоспецифічних генотипів виявлено у коней (35,73) породи українська верхова (27,91). Для представників *Gallus domesticus* було встановлено найнижчі значення за такими показниками: кількість виявлених (6,6) та ефективних (3,85) алелів, індекс Шеннона (1,42) та поліморфізму (0,644), фактичної (0,684) та очікуваної (0,624) гетерозиготностей, також для цього таксона були характерні найнижчі значення PE (0,39) та CPE (0,921).

Тварини всередині таксонів характеризувались незначним, але достовірним рівнем генетичної диференціації (F_{st}) (велика рогата худоба – 0,122, коні – 0,049, собаки – 0,047, курка – 0,143) (табл. 51), що підтверджувалось результатами аналізу молекулярної мінливості (AMOVA) – відносно низькі значення генетичної диференціації

(Φ_{st}) між досліджуваними породами (велика рогата худоба – 0,058, коні – 0,089 собаки – 0,082 та курка – 0,228) ($p < 0,001$). На достатній рівень достовірності результатів вказує значущість різниці між частотами виявлених алельних ($p < 0,001$) та генотипних ($p < 0,001$) варіантів. У кожному таксоні був встановлений локус, за яким значення потоку генів було вище за інші, саме за ним переважно і відбувається дрейф генів у великій рогатій худоби – ETH03 (23,4), у коней – HTG07 (27,7), у собак – FHC2054 (12,3), у курей – ADL268 (4,2).

Таблиця 49. Алельний поліморфізм різних видів свійських тварин

Вид	Na	Na _{unic}	Частота Na _{unic}	Rarefaction (25)	
				Na	Na _{unic}
<i>Bos Taurus</i>	11,3 (8–16)	23	0,031	8,763 ± 1,938	0,74 ± 0,827
<i>Equus caballus</i>	14,8 (12–16)	46	0,018	10,154 ± 2,691	1,149 ± 1,453
<i>Canis familiaris</i>	10,8 (9–13)	3	0,033	8,393 ± 2,35	0,344 ± 0,581
<i>Gallus domesticus</i>	11,6 (6–22)	17	0,022	5,865 ± 2,077	0,570 ± 0,910

Таблиця 50. Генотипний поліморфізм різних видів свійських тварин

Вид	Ng	Ng ₁	Ng ₂	Ng _{unic}
<i>Bos Taurus</i>	41,2	15,4	7,8	22,6
<i>Equus caballus</i>	57,36	21	9,81	35,73
<i>Canis familiaris</i>	22,4	5,4	4,2	7,2
<i>Gallus domesticus</i>	31,4	5,6	4,8	18,4
	38,09 ± 14,9675	11,85 ± 7,6809	6,65 ± 2,6289	20,98 ± 11,7849

Таблиця 51. Індекси фіксації С. Райта

Вид	Fis	Fit	Fst
<i>Bos Taurus</i>	0,033	0,092	0,122
<i>Equus caballus</i>	0,062	0,108	0,049
<i>Canis familiaris</i>	0,100	0,142	0,047
<i>Gallus domesticus</i>	0,131	0,257	0,143

Примітка: 95% CI – 95% довірчий інтервал.

Встановлено значний рівень консолідації порід та видів, відхилення від стану генетичної рівноваги за Гарді-Вайнбергом (MCMC) спостерігалися тільки: в української червоно-рябої молочної – за локусами BM1824, TGLA122 ($p < 0,001$), TGLA126 ($p < 0,01$) та ETH225 ($p < 0,05$); української чорно-рябої молочної – за ETH225 та BM2113 ($p < 0,05$); сірої української – за всіма локусами, крім ETH225 з 10 досліджених локусів; гуцульської породи коней – за ATH04, HTG07 ($p < 0,01$), HTG06 та HMS07 ($p < 0,001$); чисто-крової верхової – за 7 локусами, крім HTG06, HTG07, VHL20 та HMS07; української верхової – за локусами VHL20 та HMS07 з 11 локусів; німецького дога – за PEZ01, PEZ06, FHC2010 і FHC2054; німецької вівчарки – за PEZ08 ($p < 0,001$) та FHC2010 ($p < 0,01$) з 5 локусів. Визначено дефіцит гетерозигот у середньому за видами та породами (для великої рогатої худоби $Fis = 0,033$, $Fit = 0,092$; для коней $Fis = 0,062$, $Fit = 0,108$; для собак $Fis = 0,100$, $Fit = 0,142$).

Відносно новостворені породи (УЧеР, УЧР великої рогатої худоби, УВП коней та собаки породи німецька вівчарка) характеризувались більш високим рівнем генетичного поліморфізму порівняно з іншими, на що вказують такі показники: ефективна кількість алелів (A_e) – 6,7/6,02/7,6/6,5, відповідно, середня кількість генотипів (N_g) – 24,0/22,3/47,91/18,4, рідкісних генотипів (N_{g_1}) – 13,8/13,1/21,27/8,6; (N_{g_2}) – 5,0/5,3/9,4/8 відповідно, породоспецифічних генотипів ($N_{g_{unik}}$) – 9/8,1/3,7 та 5,8 відповідно, індекс Шеннона (I) – 2,02/1,92/2,25/1,95. Для УЧеР, УЧР порід великої рогатої худоби та УВП коней встановлено найвищі значення фактичної (H_o) – 0,784/0,821/0,812, очікуваної (H_e) – 0,844/0,819/0,865 та індивідуальної (H_i) – 0,784/0,821/0,784 гетерозиготності та індексу поліморфізму досліджених локусів (PI_C) – 0,826/0,807/0,842 відповідно. Найбільш консолідованими і менш поліморфними як за кількістю виявлених, так і за розмахом алельних спектрів були найдавніші за історією формування породи (ЧВ ($p \leq 0,001$), НД ($p < 0,05$)), що може бути наслідком більш тривалого та спрямованого штучного добору. 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 порівняно з моделлю IAM ($p < 0,001$)), яка значно завищувала фактичні величини як по кожній породі, зокрема, так і по кожному з досліджених видів загалом.

Застосування запропонованого нами підходу аналізу дає можливість оцінювання генетичної структури, ступеня консолідованості та генетичної диференціації досліджуваних популяцій, генеалогічних породних зв'язків та наслідків селекційних заходів, що підтверджується спільністю походження та наявністю ідентичних тенденцій у формуванні генетичної структури у тварин вітчизняної селекції.

Зрозуміло, що сама техніка аналізу геному, так само як і методи обробки даних, розвиваються і вдосконалюються через дедалі більшу автоматизацію експериментальної частини та ускладнення математичних алгоритмів. Тому планування майбутніх досліджень безпосередньо пов'язане з накопиченням інформації та обґрунтування вибору генів, які з найбільшою достовірністю відображають еволюцію формування ділянок геному різних видів.

Перелік використаних джерел

1. *Poultry genetics, breeding, and biotechnology*; ed. : W. M. Muir, S. E. Aggrey. Wallingford : CABI publishing, 2003. 744 p.
2. *Fulton J. E.* Molecular genetics in a modern poultry breeding organization. *World's poultry science journal*. 2008. Vol. 64. P. 171–176.
3. *Starodub L., Mokhnachova N., Zhukorskyi O.* Cytogenetic and ISSR-markers polymorphism in the population of local Ukrainian Lebedyn cows. *OBM Genet*. 2024. 8(4): 269–275. <https://doi.org/10.21926/obm.genet.2404269>
4. *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.
5. *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.
6. *Ye C., Yu Z., Kong F. et al.* R-ISSR as a new tool for genomic fingerprinting, mapping, and gene tagging. *Plant molecular biology reporter*. 2005. Vol. 23. P. 167–177.
7. *Schlotterer C.* The evolution of molecular markers – just a matter of fashion. *Nature reviews: genetics*. 2004. Vol. 5. P. 63–69.
8. *Rajendrakumar P., Biswal A. K., Balachandra S. M. et al.* Simple sequence repeats in organellar genomes of rice: frequency and distribution in genic and intergenic regions. *Bioinformatics*. 2007. Vol. 23. P. 1–4.
9. *Li Y., Korol A. B., Fahima T., Nevo E.* Microsatellites within genes: structure, function, and evolution. *Molecular Biology and Evolution*. 2004. Vol. 21 (6). P. 991–1007. <https://doi.org/10.1093/molbev/msh073>
10. *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.
11. *Habza-Kowalska E., Grela M., Gryzińska M., Listos P.* Molecular techniques for detecting food adulteration. *Medycyna Weterynaryjna*. 2019. Vol. 75 (7). P. 404–409.
12. *Tanchev Sv.* Conservation of genetic resources of autochthonous domestic livestock breeds in Bulgaria. A review. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 2015. Vol. 21. P. 1262–1271.

13. Xi M., Sun L., Qiu, S. et al. In vitro mutagenesis and identification of mutants via ISSR in lily (*Lilium longiflorum*). *Plant Cell Reports*. 2012. Vol. 31. P. 1043–1051. <https://doi.org/10.1007/s00299-011-1222-8>
14. 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.
15. 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. <https://doi.org/10.1023/A:1020691618797>
16. Li S., Jia J., Wei X. et al. A intervartietal genetic map and QTL analysis for yield traits in wheat. *Molecular Breeding*. 2007. Vol. 20. P. 167–178. <https://doi.org/10.1007/s11032-007-9080-3>
17. Vieira M. L., Santini L., Diniz A. L., Munhoz C. F. Microsatellite markers: what they mean and why they are so useful. *Genetics and Molecular Biology*. 2016. Vol. 39 (3). P. 312–328. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2016-0027>
18. Powell W., Machray G. C., Provan J. Polymorphism revealed by simple sequence repeats. *Trends in Plant Science*. 1996. Vol. 1. P. 215–222.
19. Orr H. T., Zoghbi H. Y. Trinucleotide repeat disorders. *Annu. Rev. Neurosci.* 2007. Vol. 30. P. 575–621.
20. Gymrek M., Golan D., Rosset S., Erlich Y. lobSTR: A short tandem repeat profiler for personal genomes. *Genome Research*. 2012. Vol. 22. P. 1154–1162.
21. Kashi Y., King D. G. Simple sequence repeats as advantageous mutators in evolution. *Trends in Genetics*. 2006. Vol. 22. P. 253–259.
22. Neff B. D., Gross M. R. Microsatellite evolution in vertebrates: inference from AC dinucleotide repeats. *Evolution*. 2001. Vol. 55 (9). P. 1717–1733.
23. Pei J., Bao P., Chu M. et al. Evaluation of 17 microsatellite markers for parentage testing and individual identification of domestic yak (*Bos grunniens*). *Peer J*. 2018. Vol. 6 (1): e5946. <https://doi.org/10.7717/peerj.5946>
24. Ellegren H. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nature Reviews Genetics*. 2004. Vol. 5 (6) P. 435–445.
25. Jin L., Macaubas C., Hallmayer J. et al. Mutation rate varies among alleles at a microsatellite locus: phylogenetic evidence. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1996. Vol. 93. P. 15285–15288.
26. Selkoe K. A., Toonen R. J. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters*. 2006. Vol. 9 (5). P. 615–629.

27. Jakabová D., Trandžík J., Chrastina J. et al. 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.
28. Tozaki T., Kakoi H., Mashima S. et al. Population study and validation of paternity testing for Thoroughbred horses by 15 microsatellite loci. *Journal of Veterinary Medical Science*. 2001. Vol. 63 (11). P. 1191–1197.
<https://doi.org/10.1292/jvms.63.1191>
29. Vostrá Vydrová H., Vostrý L., Hofmanová B. et al. Population studies of Czech Hucul horses. *Poljo Privreda*. 2015. Vol. 21 (1). P. 41–43.
30. Khanshour A., Juras R., Blackburn R., Cothranet G. The legend of the Canadian horse: genetic diversity and breed origin. *Journal of Heredity*. 2015. Vol. 106 (1) P. 37–44. <https://doi.org/10.1093/jhered/esu074>
31. Mackowski M., Mucha S., Cholewinski G., Cieslak J. Genetic diversity in Hucul and Polish primitive horse breeds. *Archives Animal Breeding*. 2015. Vol. 58 (1). P. 23–31. <https://doi.org/10.5194/aab-58-23-2015>
32. Kusza S., Priskin K., Ivankovic A. et al. 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. <https://doi.org/10.1111/bij.12023>
33. Dimsoski P. Development of a 17-plex microsatellite polymerase chain reaction kit for genotyping horses. *Croatian Medical Journal*. 2003. Vol. 44 (3). P. 332–335.
34. Cho G. J. Genetic relationship and characteristics using microsatellite DNA loci in horse breeds. *Journal Life Science*. 2007. Vol. 17. P. 699–705.
35. van de 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.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2011.02194.x>
36. 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 spadecius*), domestic Southeast Asian and commercial chicken lines (*Gallus gallus domesticus*). *Genetics and Molecular Biology*. 2012. Vol. 35 (3). P. 603–609. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572012005000039>
37. Romanov M. N., Weigend S. Analysis of genetic relationships between various populations of domestic and Jungle fowl using microsatellite markers. *Poultry Science*. 2001. Vol. 80. P. 1057–1063.
38. Mahammi F., Gaouar S., LaloËe D. et al. A molecular analysis of the patterns of genetic diversity in local chickens from western Algeria in compar-

ison with commercial lines and wild jungle fowls. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2016. Vol. 33. P. 59–70.

39. Hariyono D. N. H., Maharani D., Cho S. et al. Genetic diversity and phylogenetic relationship analyzed by microsatellite markers in eight Indonesian local duck populations. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2019. Vol. 32. P. 31–37.

40. Huo J. L., Wu G. S., Chen T. et al. Genetic diversity of local Yunnan chicken breeds and their relationships with Red Junglefowl. *Genetics and molecular research*. 2014. Vol. 13 (2). P. 3371–3383.
<https://doi.org/10.4238/2014.April.29.16>

41. Crittenden L. B., Provencher L., Levin I. et al. Characterization of a Red Jungle Fowl by White Leghorn back crossreference population for molecular mapping of the chicken genome. *Poultry Science*. 1993. Vol. 72. P. 334–348.

42. Hillel J., Groenen M. A. M., Tixier-Boichard M. et al. Biodiversity of 52 chicken populations assessed by microsatellite typing of DNA pools. *Genetics Selection Evolution*. 2003. Vol. 35. P. 533–557.

43. Carvalho D. A., Martinez A. M., Carolino I. et al. 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.
<https://doi.org/10.3390/ani10101857>

44. Agatep R. C., Lambio A. L., Vega R. S. A. et al. Microsatellite-based genetic diversity and relationship analyses of three genetic groups of domesticated Mallard ducks (*Anas Platyrhynchos Domesticus* L). *Philippine Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 2016. Vol. 42 (2). P. 102–111.

45. Savolainen P., Zhang Y. P., Luo J. et al. Genetic evidence for an East Asian origin of domestic dogs. *Science*. 2002. Vol. 298. P. 1610–1613.

46. Yilmaz O. Controversies of Origin of Domestic Dog-III-References of Modern Dogs until 2006. *IOSR Journal of Agriculture and Veterinary Science*. 2017. Vol. 4 (11). P. 484–490.

47. Ye J.-H., Ren D., Xie A.-F. et al. Microsatellite-based Genetic Diversity and Evolutionary Relationships of Six Dog Breeds. *Psychology Faculty Publications*. 2009. Vol. 22 (8). P. 112–1106.

48. 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.

49. 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.

<https://doi.org/10.1046/j.1471-8286.2003.00351.x>

50. 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.

51. 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.

52. Weir B. S., Cockerham C. C. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*. 1984. Vol. 38. P. 1358–1370.

53. Goudet J. FSTAT (Version 1.2): A computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity*. 1995. Vol. 86. P. 485–486.

54. Do C., Waples R. S., Peel D. et al. NeEstimator V2: re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size (N_e) from genetic data. *Molecular Ecology Resources*. 2014. Vol. 14. P. 209–214.

55. Nei M. Genetic distance between populations. *American Naturalist*. 1972. Vol. 106. P. 283–392.

56. 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.

57. Шебаніна О. В., Крамаренко С. С., Ганганов В. М. Практикум з біометрії: Методи непараметричної статистики. Миколаїв : МДАУ, 2008. 166 с.

58. Крамаренко С. С., Луговий С. І., Лихач А. В., Крамаренко О. С. Аналіз біометричних даних у розведенні та селекції тварин : навч. посіб. Миколаїв : МНАУ, 2019. 211 с.

59. Yeh F. C., Yang R. C., Boyle T. PopGene. Microsoft Windows based freeware for population genetic analysis: Quick User Guide. University of Alberta. 1999. 28 p.

60. Chao A. Nonparametric estimation of the number of classes in a population. *Scandinavian Journal of Statistics*. 1984. Vol. 11. P. 265–270.

61. 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.

62. 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.

63. 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.

Основна інформація про програмне забезпечення

1. Статистичний аналіз здійснювали за допомогою програмного пакету *Statistica 6.0* та *Exel (Microsoft Office 2007)*. Статистичний обробіток даних здійснювали в стандартному пакеті *Microsoft Excel* із використанням інтегрованої надбудови програми *Statisti XL 2.0* (<http://www.statistixl.com/>).

2. Microsatellite analyzer (MSA) 4.05 <https://mybiosoftware.com/msa-4-05-microsatellite-analyzer.html> – програма розрахунку теоретичної кількості алелів для різних мікросателітних локусів.

3. GenAlEx 6.51b2 <https://biology-assets.anu.edu.au/GenAlEx/Welcome.html>

4. Popgene for Windows https://download.cnet.com/popgene/3000-2054_4-75328340.html – програми розрахунку оцінювання стану генетичної рівноваги за кожним локусом PAv3.17/ Palaeontological Statistics.

5. PAST <https://rsload.net/soft/cam/19204-past.html> – програма розрахунку ступеня відмінності між тваринами різних груп за частотами алелів 12 мікросателітних локусів (критерію Хі-квадрат (χ^2) К. Пірсона).

6. FSTAT <https://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm> – індекс фіксації або F-статистики С.Райта – програма розрахунку ступеня генетичної диференціації для кожного локусу мікросателітів окремо, так і для всіх локусів загалом.

7. NeEstimator <https://www.molecularfisherieslaboratory.com.au/neestimator-software> – програма розрахунку оцінювання ефективної кількості алелів.

КОПИЛОВ Кирило Вячеславович
СТАРОДУБ Любов Феодилівна
ШЕЛЬОВ Андрій Володимирович
МОХНАЧОВА Наталія Борисівна
ЛЕСНЯК Юрій Іванович
ДОБРЯНСЬКА Марія Леонідівна

KOPYLOV Kyrylo
STARODUB Lyubov
SHELYOV Andriy
MOKHNACHOVA Natalia
LESNYAK Yuriy
DOBRIANSKA Maria

**ПРОВЕДЕННЯ
досліджень та оцінювання
генетичного поліморфізму
і мікроеволюційних процесів
за монолокусними
та мультилокусними
ділянками ДНК
у різних видів
СВІЙСЬКИХ ТВАРИН**

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Редактор і коректор *І. М. Баланчук*
Комп'ютерна верстка *Л. О. Гордієнко*
Дизайн обкладинки *І. Г. Хорошого*

Підписано до друку 20.07.2026 р. Формат 60×84/16.
Папір офс. Гарнітура «Таймс».
Ум. друк. арк. 5,2.
Наклад 100 пр.

Державне видавництво «Аграрна наука» НААН
Свідоцтво про державну реєстрацію № 4116 від 21.07.2011 р.
вул. Васильківська, 37, м. Київ, 03022
Тел. +38 (044) 257-85-27
e-mail: agrarnanauka@ukr.net

Віддруковано у друкарні видавця ФОП Марченко Т.В.
*Свідоцтво про внесення суб'єкта видавничої справи
до Державного реєстру видавців, виготовлювачів
і розповсюджувачів видавничої продукції:
серія ДК № 6784 від 30.05.2019 р.*
вул. Перфецького, 11 А, м. Львів, 79053
Тел. +38 (050) 370-19-57
e-mail: magnol06@ukr.net, <https://magnolia.lviv.ua>