

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
МИКОЛАЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**Факультет технології виробництва і переробки продукції тваринництва,
стандартизації та біотехнології**

Кафедра біотехнології та біоінженерії

Генетичні ресурси сільськогосподарських тварин

Методичні рекомендації
для самостійного вивчення матеріалу
на тему: «Молекулярні маркери – інструмент дослідження генетичного
різноманіття» для здобувачів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти
ОПП «Біотехнології та біоінженерія» спеціальності 162 «Біотехнології та
біоінженерія» денної форми здобуття вищої освіти



Миколаїв
2023

УДК 636.082:636

Г34

Друкується за рішенням науково-методичної комісії факультету технології виробництва і переробки продукції тваринництва, стандартизації та біотехнології Миколаївського національного аграрного університету від «19» квітня 2023 р., протокол № 9.

Укладачі:

О. С. Крамаренко - канд. с.-г. наук, доцент кафедри біотехнології та біоінженерії, Миколаївський національний аграрний університет.

Рецензенти:

П. А. Ващенко – д-р с.-г. наук, старший науковий співробітник, професор кафедри технології виробництва продукції тваринництва, Подільський державний аграрний університет;

С. С. Крамаренко – д-р біол. наук, професор, професор кафедри біотехнології та біоінженерії, Миколаївський національний аграрний університет.

ЗМІСТ

Тема 1. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ МАРКЕРИ ТА ЇХ ОСНОВНІ ТИПИ	4
Тема 2. ВИКОРИСТАННЯ QTL-ГЕНІВ	8
Тема 3. ПРИНЦИПИ ВИКОРИСТАННЯ МІКРОСАТЕЛІТІВ ДНК	11
Тема 4. НАПРЯМКИ ВИКОРИСТАННЯ МІКРОСАТЕЛІТІВ ДНК В СКОТАРСТВІ ТА СВИНАРСТВІ	16
СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	36

ТЕМА 1. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ МАРКЕРИ ТА ЇХ ОСНОВНІ ТИПИ

Аналіз літературних джерел вказує на широке запровадження ДНК-маркерів різних типів (як QTL-генів, так і мікросателітів ДНК) для порід ВРХ м'ясного та молочного напрямку. Мікросателіти все частіше використовуються в якості універсальної системи генетичних маркерів для аналізу спадкових змін на рівні ядерної ДНК. Вони використовуються в сфері питань популяційної та еволюційної генетики. Серед різноманітних напрямів використання мікросателітів у скотарстві можна виділити наступні: контроль походження (встановлення батьківства) та паспортизація тварин; оцінка рівня генетичної різноманітності (алельний спектр, гетерозиготність, наявність/відсутність генетичної рівноваги) на породному та внутрішньопородному рівні; оцінка рівня міжпородної генетичної диференціації та встановлення філогенетичних зв'язків; ступінь інтрогресії геномів при створенні нових порід (особливо, при використанні міжвидової гібридизації для тварин роду *Bos L.*, 1758); пошук зв'язків з показниками продуктивності та оцінка можливого використання цих зв'язків у маркер-допоміжній селекції; оцінювання негативних наслідків популяційно-генетичних процесів, особливо для малочисельних та автохтонних порід.

Таким чином, ДНК-маркери дозволяють вирішувати цілу низку різноманітних завдань як практичного, так і суто теоретичного спрямування. Хоча «новоствореним» породам (у т.ч. внутрішньопородним і зональним типам), для яких характерні низька консолідованість генофонду, обмежена чисельність плідників та високий рівень інбредованості, при плануванні досліджень приділяється недостатньо уваги. Тому в останній час набувають особливої актуальності дослідження «тонкої» генетичної структури порід (особливо, нещодавно створених) з використанням молекулярно-генетичних маркерів (як структурних генів, так і локусів мікросателітів ДНК), визначення механізмів формування цієї структури, а також пошук можливих асоціацій генетичних маркерів з показниками продуктивності, що надають можливість запровадження маркер-допоміжної селекції.

Більшість господарсько-цінних ознак сільськогосподарських тварин, що представляють інтерес для селекції, є кількісними. Вони детермінуються багатьма генами, що мають малий ефект (полігенами) і значною мірою схильні до дії чинників зовнішнього середовища. З розвитком молекулярно-генетичних методів були створені маркерні системи, які дозволили проводити пряме дослідження ДНК різних видів тварин. Тим самим стає можливим відбирати їх безпосередньо за генотипами, тобто у рамках традиційних програм селекції проводити маркер-допоміжну селекцію (marker-assisted selection, MAS).

Нині ідентифіковані окремі ключові гени або групи зчеплення генів, які зумовлюють формування кількісних ознак у більшості видів

сільськогосподарських тварин. Такі генетичні локуси прийнято позначати терміном «локус кількісної ознаки» (Quantitative Trait Loci, QTL). За термінологією INTERBULL, QTL – це локуси, що впливають на фенотипічну варіацію ознак з безперервною мінливістю. Існує істотне уточнення: «QTL – це генетичний локус, варіабельність якого на базі різних алелей веде до статистично значимих змін фенотипічного прояву ознаки».

Переваги ДНК-технологій полягають в тому, що за допомогою ПЛР-аналізу можливо виявити мутацію на генному рівні тварини у будь-якому віці (в тому числі у новонароджених), при цьому матеріалом для аналізу можуть слугувати невеликі кількості будь-яких тканин та можливим є масові обстеження тварин. Використовуючи молекулярно-генетичні методи визначають відмінності між тваринами за багатьма ділянками (сайтами) генома. Їх справедливо розглядати як локуси генів-маркерів. Самі по собі вони, ймовірно, не являються QTL, але можуть бути зчепленими з QTL. Тим самим стає можливим картувати QTL, генотипувати тварин і відбирати їх безпосередньо за генотипами.

ДНК-маркери – це поліморфні ділянки ДНК з невідомими функціями, але з відомою локалізацією на хромосомі. Їх перевага в тому, що зміни в послідовності ДНК є першопричиною усіх подальших процесів в організмі. Крім того, вони забезпечують можливість аналізу будь-яких послідовностей геному, отримання інформації щодо еволюційних взаємозв'язків (побудови філогенетичних дерев) і встановлення географічних областей схрещувань між популяціями, що мають різне генетичне походження. Крім того, ДНК-маркери грають важливу роль при встановленні батьківства, для характеристики генетичного (внутрішньо- та міжпородного) різноманіття і пошуку функціональних варіантів важливих генів – маркер-допоміжній селекції. Ця генетико-молекулярна характеристика може відігравати важливу роль в розкритті історії, оцінці різноманіття і популяційної структури породи. Вона також дозволяє допомогти уникнути надмірного інбридингу при генетичному управлінні невеликими популяціями, проводити в них ідентифікацію певних унікальних алелей або комбінацій алелей за адаптивними ознаками, що може беззаперечно посилити аргументацію щодо обґрунтування збереження та спрямованого використання порід та видів тварин.

Запропоновано об'єднати ДНК-маркери, створені на основі ПЛР, в два основні класи: маркери, створені на основі невеликих змін в нуклеотидній послідовності ДНК унікальних локусів, та маркери на основі зміни кількості повторів в тандемних послідовностях ДНК.

До маркерів I-го типу відносяться послідовності ДНК, що кодують первинну структуру біополімерів (пептидів та нуклеїнових кислот). Вони характеризуються відносно низьким генетичним поліморфізмом та певним високим еволюційним консерватизмом. Незважаючи на існування видових відмінностей у нуклеотидних послідовностях однойменних генів, кодований

ними продукт у різних видів виконує одну і ту ж функцію. Це дозволяє використати маркери I-го типу в різних еволюційних дослідженнях генома. Таким чином, маркери I-го типу – це, в загальному випадку, гени, що контролюють прояв тієї або іншої ознаки, поліморфізм якої виявляється або за фенотипічним проявом алелей, або шляхом молекулярно-генетичних чи інших спеціальних досліджень.

Маркери II-го типу – це мікросателіти (ди-, три-, тетрануклеотидні повтори в послідовності ДНК). При цьому, їх генетична функція невідома. Вони характеризуються дуже високим рівнем генетичної мінливості (можуть містити до 15-20 алельних варіантів). З іншого боку, вони мають дуже високу видоспецифічність (існування однакових маркерів можливе тільки у близькоспоріднених видів). Ці ділянки ДНК відомі, також, під декількома назвами: мікросателіти, STMS (Sequence Tagged Microsatellite Site), STR (Short Tandem Repeat), SSR (Simple Sequence Repeat). Для їх аналізу підбираються певні праймери до унікальних послідовностей ДНК, що фланкують ділянку з нуклеотидними повторами, а це вимагає попереднього знання їх нуклеотидної послідовності.

Мікросателіти складаються з ділянок ДНК завдовжки в 1-8 п.н. – тандемно повторених багато разів (наприклад, САСАСАСАСАСАСА – (СА)₈). Вони мають відносно невеликі розміри і можуть бути ампліфіковані при використанні ПЛР на ДНК, що екстрагується з різних джерел, наприклад, крові, коренів волосся, шкіри.

Згідно із загальноприйнятою точкою зору, поліморфізм мікросателітів зумовлений помилками (ефект «просковзування») в процесі реплікації або репарації ДНК. Середній темп мутації динуклеотидних повторів оцінюють приблизно в $6,9 \times 10^{-4}$, хоча ці оцінки можуть істотно розрізнятися.

Високий рівень поліморфізму мікросателітів, широка наявність і відносно рівномірний розподіл в еухроматиновій частині геному зробили їх надзвичайно популярними. Гіперваріабельні мікросателіти є універсальною системою генетичних маркерів для аналізу спадкових змін на рівні ядерної ДНК та широко використовуються в дослідженнях генетичного поліморфізму популяцій людини, рослин та тварин.

Незважаючи на високу популярність мікросателітів, вони мають і деякі недоліки. Нерівномірність швидкості мутації різних мікросателітів створює певні складнощі для популяційно-генетичного аналізу. Є і технічні проблеми, такі як артефакти при проведенні ПЛР (за рахунок ефекту «просковзування»), складнощі в розробці технологій для автоматичного скринінгу алелів мікросателітів. Крім того, незважаючи на високу щільність мікросателітних локусів в геномі, їх буває недостатньо для тонкого картування окремих областей геномів, створення маркерів для локусів кількісних ознак і рішення багатьох інших завдань.

В останній час мікросателіти все більше і більше використовуються для аналізу питань популяційної та еволюційної генетики, стають найбільш

поширеним типом маркерів, що використовуються для цих цілей. Вони застосовуються у вирішенні питань визначення міри спорідненості індивідумів або груп. Для зникаючих або рідкісних видів мікросателіти можуть служити інструментом для оцінки рівнів інбридингу, генетичної структури субпопуляцій та популяцій. Вони є корисними для визначення демографічної історії, оцінки ефективного розміру популяції та для встановлення величини і напряму потоку генів між популяціями.

Результати, отримані на підставі мікросателітів, також, широко використовуються для оцінки генетичних взаємовідносин між популяціями і індивідуумами шляхом оцінки генетичних відстаней. Найширше використовується міра генетичної відстані – стандартна генетична відстань М. Нея. Генетичні взаємовідносини між породами також можуть бути виявлені через реконструкцію їх філогенії, причому найчастіше використовується метод найближчих сусідів (neighbour-joining).

Ефективна чисельність популяції (N_e) є показником, на підставі якого оцінюється умовна кількість тварин в популяції, які беруть участь у відтворенні та вносять свої гени в наступне покоління. Оцінка N_e тісно пов'язана з рівнем інбридингу та генетичним дрейфом в популяції і, отже, є важливим показником популяції.

На сьогодні мікросателіти є найбільш популярними маркерами в дослідженнях генетичних характеристик свійських тварин. Їх висока швидкість мутації і кодомінантний характер успадкування дозволяють оцінювати внутрішньо- і міжпородну генетичну різноманітність і генетичну інтрогресію між породами, навіть якщо вони близько споріднені.

Незважаючи на тісне зчеплення мікросателітів з певними локусами, вони a-priori вважаються нейтральними в селекційному аспекті. В той же час, слід зазначити, що в літературних джерелах є ряд публікацій, в яких показано факти зчеплення, як припускають, нейтральних мікросателітів з генами-кандидатами локусів кількісних ознак.

Слід також зазначити, що важливу роль в широкому спектрі прикладного використання мікросателітів, разом з їх поліморфними властивостями, грає можливість одночасного дослідження декількох локусів за допомогою мультіплексної ПЛР та автоматизації процесу генотипування, що дозволяє досягти дуже високої продуктивності методу.

При аналізі даних мікросателітів певні складнощі пов'язані з вибором моделі їх мутації – IAM (необмежена поява алелей, що випадково відрізняються по довжині – кількості повторів) або SMM (послідовна зміна кількості повторів) модель. Для аналізу даних інтрогресії мікросателітів з різних популяцій використовуються методи багатовимірного аналізу або методи кластеризації, що базуються на теоремі Байеса.

Таким чином, аналіз генетичного різноманіття на підставі використання ДНК-маркерів потенційно дозволяє зробити висновки про те,

де може бути знайдена функціональна генетична мінливість виду, для якого існує лише обмежена кількість даних щодо їх фенотипової мінливості.

ТЕМА 2. ВИКОРИСТАННЯ QTL-ГЕНІВ

Впровадження в практику методів ДНК-аналізу безпосередньо пов'язане з ефективністю селекційної роботи, яка спрямована на підвищення якісних та технологічних показників сільськогосподарської продукції. Сучасні генетичні підходи вдосконалення порід сільськогосподарських видів базуються на детальній оцінці генотипу тварини, їх генетичного потенціалу, з використанням маркер-допоміжної селекції.

Застосування методів ДНК-технологій в європейських країнах, США дає можливість отримувати прибуток за рахунок скорочення часу генераційного інтервалу поголів'я в процесі відтворення та застосування MAS-селекції, тобто, проводити відбір і підбір батьківських пар певних генотипів та отримувати нащадків відповідного генетичного потенціалу щодо основних показників продуктивності.

Одним із основних напрямків у цій роботі – є пошук та використання ДНК-маркерів, що дозволяє маркірувати окремі господарсько-цінні ознаки. Дослідження тварин за генами кількісних ознак дає можливість визначити генотип тварин та передбачати ці їх ознаки на рівні алельних варіантів генів, незалежно від статі, віку та фізіологічного стану особин. Поряд з традиційним методом відбору тварин, селекція за маркерами сприяє швидкому введенню в популяцію тварин бажаного генотипу і, як наслідок, зниження економічних витрат на виробництво продукції. Ефективність селекції на покращення якісних показників тварин різного напрямку продуктивності можна підвищити шляхом використання методу полімеразної ланцюгової реакції з подальшим рестрикційним аналізом (ПЛР-ПДРФ). Виявлення особливостей генетичної структури стада за поліморфізмом QTL-генів дають змогу оцінити його продуктивний потенціал і розробити стратегію подальшої селекційної роботи зі стадом.

Серед QTL-генів, вплив яких на продуктивні ознаки вивчається в молочному та м'ясному скотарстві України та сусідніх країн, можна виділити наступні: ген гормону росту (*bGH*), лептину (*LEP*), гіпофіз-специфічного фактору транскрипції (*Pit-1*), міостатину (*MSTN*), калпаїну (*CAPN1*), тиреоглобуліну (*TG5*), С-рецептора ретиноевої кислоти (*RORC*) та стирол-СоА десатурази (*SCD*).

Ген гормону росту або соматотропін (*GH*) є потенційним маркером продуктивності сільськогосподарських тварин. Він відіграє ключову роль в стимулюванні синтезу білків, росту організму і диференціації клітин. Крім того, він проявляє лактогенну активність. Алельні варіанти L та V є результатом точкової мутації С→G в кодоні CTG, що призводить до амінокислотної заміни лейцин → валін в 127-му положенні поліпептидного

ланцюга. Показано, що наявність алеля L у генотипі забезпечує більш високу інтенсивність росту живої маси серед різних м'ясних порід ВРХ та зебу. У молочних порід генотип LL асоціюється з підвищеними надоями корів та їх кращою жирномолочністю.

Тож найчастіше можливість використання поліморфізму за геном гормону росту в маркер-допоміжній селекції вивчалася в молочному скотарстві, але можна відмітити низку робіт, що присвячена дослідженням його серед тварин м'ясних порід. Поліморфізм *bGH_ex5_C2141G* на теперішній час вже вивчено серед тварин волинської м'ясної породи, абердин-ангуської, південної м'ясної та поліської м'ясної порід, сірої української породи, казахської та російської білоголової, калмицької порід та зебувидних гібридів.

Зв'язок генотипу за геном гормону росту та показниками живої маси молодняку показано для тварин костромської породи – особини із генотипом LL у віці 18 міс. переважали своїх ровесниць генотипу LV за живою масою.

Ген лептину (*LEP*) розташований на ВТА4. Його структура представлена промоторною ділянкою, 3 екзонами, 2 інтронами та 3-'UTR ділянкою. Згідно бази даних BovMap database, для гену лептину вже описано поліморфізм за майже 60 SNP (<http://locus.jouy.inra.fr>).

Синтезований в адіпоцитах лептин є гормоном, який відповідає за регуляцію маси тіла тварини, жирові відкладення та споживання корму. Крім того, на рівень жирових відкладень впливає і ген рецептору лептину. Тому обидва ці гени та їх продукти стали предметом численних досліджень, спрямованих на пошук маркерів господарсько-цінних ознак у сільськогосподарських тварин, особливо в молочному скотарстві.

Встановлено, що поліморфізм за нуклеотидною заміною С→Т у другому екзоні цього гену має вплив на молочну продуктивність, особливо на початку лактації. Так, генотип ТТ був асоційованим зі збільшенням надою на 1,5 кг у день порівняно з генотипом СС.

Крім того показано, що ген лептину зумовлює термін господарського використання корів та, відповідно, рівень їх рентабельності.

Гіпофіз-специфічний фактор транскрипції (*Pit-1*) бере участь в активації гормону росту, пролактину, β-генів у соматотропних, лактотропних та тиротропних клітинах. У шостому екзоні гена *Pit-1* було ідентифіковано точкову мутацію (А→G), яка спричиняє поліморфізм за сайтом рестрикції *HinfI*. Показано наявність зв'язку поліморфізму *Pit-1* з надоями молока та мінливістю його характеристик. Так, алельний варіант А пов'язаний з більшим виходом молока та білка в ньому, але при цьому меншим відсотком жиру.

Крім того, поліморфізм *Pit-1-HinfI* був пов'язаний із ростовими показниками худоби Canchim, хоча для тварин абердин-ангуської породи такий зв'язок виявлено не було.

Встановлено, що для корів молочних порід поліморфізм за геном гіпофіз-специфічного фактору *Pit-1-HinfI* зумовлює позитивний вплив алеля В на рівень надоїв молока, а алеля А – на підвищену жирність молока. Але, при використанні цього маркера в селекційних програмах, спрямованих на підвищення рівня молочної продуктивності, більш доцільно враховувати негативну роль генотипу *Pit-1-HinfI^{AA}*, ніж позитивну генотипу *Pit-1-HinfI^{BB}*.

Серед мутацій ВРХ особливу увагу приділяють мутації, що забезпечує аномальний розвиток м'язової маси – міостатин-*mh*. Вона є рецесивною та пов'язана з проявом дії гену міостатину (*MSTN*). Фізіологічна дія мутації міостатин-*mh* полягає в подоланні генетичного контролю за гіпертрофованим ростом м'язової маси, що робить можливим запровадження цієї мутації у систему розведення порід ВРХ, особливо, м'ясного напрямку.

На жаль, моніторингові дослідження не виявили цієї мутації серед тварин абердин-ангуської, південної м'ясної породи, порід лімузин та симентал, сірої української та голштинської породи, хоча у симентальській худоби окремими дослідниками ця аномалія була стійко встановлена.

До показників м'ясної продуктивності, які широко використовуються у Світі для оцінки якості м'яса, належать його ніжність та мрамуровість. Кількісною характеристикою ніжності м'яса є поперечна пружність м'язового волокна, яку пов'язують з дією кальцій-залежних протеїназ, що кодуються генами калпаїну (*CAPN*) і калпастатину (*CAST*). Калпаїн-системи вельми чутливі до коливань рівня іонів кальцію, температури, рН, які змінюються одразу після забою тварини.

Ген калпаїну (*CAPN1*) складається із 22 екзонів та має розмір біля 30 000 п.н. У його кодуючій частині було виявлено дві заміни, що призводили до зміни в амінокислотній послідовності у положеннях 316 (гліцин на аланін) та 530 (валін на ізолейцин). У нуклеотидній послідовності це заміни С→G та А→G, відповідно. Бажаними алелями, що забезпечують отримання м'яса підвищеної ніжності, є алелі С₃₁₆ та G₅₃₀, а тварини, які гомозиготні за цими алелями, мають найбільший інтерес для дослідження.

У роботі М. Л. Добрянської із співавторами показано, що за маркером *CAPN1* частота бажаного алеля G₅₃₀ була на рівні 0,350 для тварин симентальської породи, але 0,728 – південної м'ясної породи та 0,880 – для абердин-ангусів. У той час як тварини сірої української породи були повністю гомозиготними за цим алелем.

За поліморфізмом *CAPN1_C316G* було досліджено тварин калмицької та казахської білоголової породи. Частота бажаного алеля С₃₁₆ складала для них 0,270 та 0,115, відповідно.

Тиреоглобулін – глікопротеїновий гормон, що синтезується у фолікулярних клітинах щитовидної залози та є попередником трийодтироніну (Т3) та тетраіодтироніну (Т4), які відіграють важливу роль у рості адипоцита, диференціації й гомеостазі жирових відкладень. Ген

тиреоглобуліну (TG5) розташований на ВТА14 та впливає на товщину жирового прошарку між волокнами м'язової тканини у ВРХ – мармуровість м'яса.

Крім того, показано його зв'язок із вмістом жиру в молоці – тварини з генотипом СС за цим геном характеризувалися вірогідно більшим рівнем вмісту жиру в молоці у порівнянні із тваринами генотипу СТ.

За результатами дослідження поголів'я худоби м'ясного напрямку продуктивності за ДНК-маркерами, пов'язаними з ознаками м'ясної продуктивності, визначено частоту комерційно бажаного алелю Т (маркеру TG5) в породах на рівні: 0,238 для абердин-ангуса, 0,257 – у південній м'ясній та 0,400 – у симентальській. Проте як серед тварин молочного напрямку (на прикладі голштинської худоби) його частота була набагато нижче – 0,100.

Для гену С-рецептора ретиноєвої кислоти (*RORC*) відомі дві одонуклеотидні заміни (SNP) – це заміна А→G у шостому інтроні (локус *RORC-G*) та заміна G→A у першому екзоні (локус *RORC-A*). Показано, що генотипи *RORC-G^{AA}* та *RORC-A^{GG}* асоційовані із підвищеною мармуровістю м'яса.

Встановлено, що перший із них дуже широко представлений серед тварин таких м'ясних порід, як російська та казахська білоголова худоба, а небажаний алель А локусу *RORC-A* встановлений лише у тварин калмицької породи.

У гені стирол-СоА десатурази (*SCD*) описано заміну Т→С, що призводить до заміни амінокислоти валін на аланін. При цьому, кращі смакові якості притаманні м'ясу ВРХ із генотипом СС, що містить олеїнову кислоту із більш низькою температурою плавлення, що робить внутрішньом'язовий жир більш м'яким.

Даний алель було виявлено серед тварин ВРХ як м'ясного, так й молочного напрямку продуктивності.

ТЕМА 3. ПРИНЦИПИ ВИКОРИСТАННЯ МІКРОСАТЕЛІТІВ ДНК

Згідно з базою даних INRA (French National Institute for Agricultural research; institut.inra.fr), вже на початку 2010-х років на всіх 30 парах хромосом ВРХ було виявлено 2402 локуси мікросателітів ДНК, з яких 2244 є картованими. В цей же час, мікросателітний аналіз набуває широкого використання й при вивченні генетичного поліморфізму ВРХ молочного та м'ясного напрямку в Україні та сусідніх країнах СНД.

Серед різноманітних напрямів використання мікросателітів у скотарстві можна виділити основні:

- контроль походження (встановлення батьківства) та паспортизація тварин;

- оцінка рівня генетичної різноманітності (алельний спектр, гетерозиготність, наявність/відсутність генетичної рівноваги) на породному та внутрішньопородному рівні;
- оцінка рівня міжпородної генетичної диференціації та встановлення філогенетичних зв'язків;
- ступінь інтрогресії геномів при створенні нових порід (особливо, при використанні міжвидової гібридизації для тварин роду *Bos L.*, 1758);
- пошук зв'язків з показниками продуктивності та оцінка можливого використання цих зв'язків у маркер-допоміжній селекції;
- оцінювання негативних наслідків популяційно-генетичних процесів, особливо для малочисельних та автохтонних порід.

Контроль походження (встановлення батьківства) і паспортизація тварин. Висока інформативність мікросателітів робить їх зручним інструментом для вирішення практичних завдань, таких як встановлення батьківства і материнства. При вирішенні такого роду питань вірогідність висновків залежить від інформативності досліджуваних поліморфних локусів, що можна оцінити на основі даних популяційного аналізу.

У ВНДІ тваринництва імені академіка Л. К. Ернста була розроблена тест-система на основі мікросателітів (локуси TGLA126, TGLA122, TGLA227, INRA023, ILST005, ILST006, ETH185, ETH10, ETH225, BM1818, BM1824, BM2113, SPS115, сформованих у дві мультиплексні панелі), для проведення ДНК-експертизи великої рогатої худоби. Її результативність була дуже високою – імовірність ідентичності генотипів особин залежно від породи за 13 мікросателітами була практично виключеною і становила від $6,8 \times 10^{-14}$ до $2,1 \times 10^{-11}$ для неспоріднених тварин та від $8,2 \times 10^{-6}$ до $1,1 \times 10^{-5}$ для напівсибсів. Крім того, були встановлені високі рівні вірогідності результатів підтвердження ($P > 0,99$) і винятки помилки ($P > 0,9999$) батьківства.

Аналогічно, в Республіці Білорусь була розроблена імпортозамінна система застосування STR-локусів в оцінці вірогідності походження нащадків великої рогатої худоби чорно-рябої породи з використанням вітчизняних реактивів. При цьому, ефективність контролю походження за п'ятьма STR-локусами складає 0,99019. А використання 11-ти локусів дозволяє досягти рівня вірогідності походження високоцінних племінних тварин з точністю 99,999%.

Оцінка рівня генетичної різноманітності на породному та внутрішньопородному рівні. Оцінка всього спектру різноманіття, створення генетичних паспортів порід потребує вивчення якомога більшої кількості географічно віддалених популяцій. Істотний внесок у характеристику алельного різноманіття порід вносять регіональні популяції, формування алелофонду яких у більшості випадків відбувалося в умовах відносної географічної ізоляції на основі місцевої худоби з власним унікальним алелофондом. Крім того, на генетичну мінливість регіональних популяцій певний вплив чинять специфічні для кожного з регіонів абіотичні фактори.

Аналіз генетичного поліморфізму за мікросателітними локусами було вже проведено для низки порід молочного та м'ясного напрямку – чорно-рябої худоби, якутської, холмогорської, симентальської, герефордської, голштинської, казахської білоголової, галовейської, швіцької, сичівської, суксунської, істобенської, ярославської, шароле та ін.

В Україні з 2007 року проводиться цілеспрямована робота по вивченню стану генетичного різноманіття тварин сірої української породи. Крім того, розпочато роботу з вивчення дуже рідкісних порід, наприклад, липованської червоної острівної худоби, що розповсюджена лише на островах в Дунайсько-Чорноморських плавнях.

Високий рівень гетерозиготності, що часто спостерігається, є наслідком високого поліморфізму досліджуваних мікросателітних маркерів і свідчить про доцільність їх використання для оцінки генетичного різноманіття. Таким чином, для одночасної підтримки в популяціях продуктивності та життєздатності при постійному вдосконаленні племінних якостей худоби, необхідно вивчення його генетичного статусу за декількома локусами, що дозволить консолідувати спадкову стійкість тварин, з одного боку, шляхом збільшення кількості нащадків, а також контролювати і підтримувати гетерозиготність на рівні, що забезпечує достатню мінливість та пластичність популяцій з іншого.

В цілому, у досліджених популяціях виявлений високий «резерв» генетичного різноманіття за мікросателітними локусами.

Необхідність застосування методів аналізу генетичної мінливості, заснованих на вивченні ДНК, диктується тим, що білкові системи, які раніше широко використовувалися для цієї мети, не можуть повною мірою адекватно відображати генетичну подібність у групах тварин. Справа в тому, що відмінності між синонімічними кодонами не змінюють закодованих амінокислот, а це означає, що процес накопичення мутацій не реєструється аналізом синтезованих організмом білків. Аналіз ДНК використовується не тільки на окремих особинах, а й на цілих популяціях тварин.

Оцінка рівня міжпородної генетичної диференціації та встановлення філогенетичних зв'язків. Складні філогенетичні зв'язки між породами ВРХ можуть бути, також, проаналізовані з використанням локусів мікросателітної ДНК. Так, в роботі Ю. Гузеєва було проведено філогенетичний аналіз між 22-ма породами худоби, що розводяться в Україні та РФ за панеллю із 13-ти мікросателітних локусів (TGLA126, TGLA122, INRA023, ILST005, ETH185, ILST006, VM1818, VM1824, VM2113, ETH10, ETH225, SPS115, TGLA227). Ним було встановлено, що генезис окремих популяцій і порід худоби може бути простежений на підставі побудованої дендрограми філогенетичного споріднення великої рогатої худоби різних порід. Сіра українська худоба має унікальну генетичну цінність і у майбутньому буде використана при створенні нових спеціалізованих і комбінованих порід.

Ще більш детальний аналіз міжпородних взаємовідносин було проведено К. В. Копиловою із співавторами. В їх дослідженнях проаналізовано дані щодо 25-ти порід (молочні і молочно-м'ясні породи – голштинська, українська чорно-ряба молочна, українська червоно-ряба молочна, українська червона молочна, червона степова, англєрська, симентальська, монбельярдська, лебєдинська, пінцгау, швіцька, джерсейська, бура карпатська, білоголова українська; м'ясні породи – українська м'ясна, волинська м'ясна, південна м'ясна, знам'янський тип поліської м'ясної, сіра українська, лімузин, шароле, світла аквітанська, кіан, мен-анжу, гаскон) великої рогатої худоби за локусами QTL (*k-Cn*, *βLG*, *GH*, *TG*, *CAPN1* 530), ISSR-маркерами з використанням в якості праймерів фрагментів динуклеотидних та тринуклеотидних мікросателітних локусів (ACC)₆G, (GAG)₆C, (AG)₉C, (GA)₉C, та мікросателітними маркерами, які входять до переліку рекомендованих ISAG (BM1824, BM2113, INRA023, SPS115, TGLA122, TGLA126, TGLA227, ETH10, ETH225 та ETH3). У відношенні локусів мікросателітів ними було встановлено рівень алельного різноманіття та виявлено породо-специфічні алелі мікросателітів.

У цілому, застосування молекулярно-генетичних маркерів є невід'ємним елементом системи збереження в Україні генофонду тварин, шляхом визначення найбільш цінних генотипів та створює реальні передумови для їх спрямованого використання в програмах із охорони біорізноманіття у популяціях великої рогатої худоби України.

Ступінь інтрогресії геномів при створенні нових порід (особливо, при використанні міжвидової гібридизації для тварин роду Bos L., 1758. Використання мікросателітного аналізу дозволило оцінити ступінь генетичної подібності між породами *Bos taurus* L., 1758 та іншими представниками цього роду, наприклад, свійським яком. З іншого боку, оцінити ступінь інтрогресії генів свійського яка при створенні гібридів *B. taurus* × *Poephagus grunniens* (L., 1766).

Відмічають, також, суттєві зміни в геномі при міжпородному схрещуванні, навіть вже серед тварин F₁. Так, аналіз рівня генетичної мінливості тварин чорно-рябої породи та їх помісей із абєрдин-ангуською породою дозволив встановити вірогідні відмінності за частотою алелей для більшості локусів мікросателітів між чистопородними та помісними тваринами.

При аналізі алелофонду тварин симентальської, герєфордської порід та їх помісей F₁ було встановлено, що масив симентал-герєфордських помісей F₁, сформований в рамках створення нового типу м'ясної худоби, характеризується високим генетичним розмаїттям, відрізняється високою консолідованістю і, хоча генетично і близький до порід, що були використані при його створенні, має унікальний алелофонд, який відображає інтрогресію алелофонду вихідних порід.

Пошук зв'язків з показниками продуктивності та оцінка можливого використання цих зв'язків в маркер-допоміжній селекції. Сукупність отриманих даних вказує на доцільність використання ДНК-маркерів у пошуку асоціацій з локусами господарсько-цінних ознак. Так, проведений кореляційний аналіз показав наявність вірогідних залежностей, асоційованих з молочною продуктивністю тварин Баймакського типу симентальської породи за вісьмома локусами мікросателітної ДНК. При цьому, кореляції можуть мати як позитивний, так і від'ємний характер.

Аналогічно, для корів чорно-рябої породи встановлені вірогідні кореляції між певними алелями за локусами мікросателітів та показниками їх молочної продуктивності. При цьому продемонстровано породо- і популяційно-залежний характер виявлених кореляцій.

Крім того, встановлено, що у бугай-відтворних корів білоруської чорно-рябої породи виявлено деяку своєрідність за частотою окремих алелів STR-локусів, тому рекомендується при відборі тварин надавати перевагу особинам з наявністю в геномі алельних варіантів, що частіше зустрічаються в групі худоби з високим рівнем молочної продуктивності.

Поліморфізм мікросателітних маркерів використовується в селекційній роботі і з породами ВРХ м'ясного напрямку. Випускаються комерційні набори (ДНК-тести) для виявлення тварин з кращими показниками ніжності і м'якості м'яса (www.bovigen.com, www.idenity.com, www.nbcec.org).

Оцінювання негативних наслідків популяційно-генетичних процесів для малочисельних та автохтонних порід. Широко використовуються мікросателіти і як інструмент для вивчення питань еволюційної генетики, особливо, для малочисельних та автохтонних порід. Наслідком популяційно-генетичних процесів (насамперед, ефекту «засновника» чи ефекту «пляшкового горлечка») може бути або зниження алельного спектру, або зниження фактичної гетерозиготності. Особливу небезпеку варто очікувати навіть не для окремих порід, а для внутрішньопородних типів.

Так, встановлено істотно більш низьку кількість ефективних алелів на мікросателітний локус у якутської худоби та у тварин внутрішньопородного типу «Вазуський» сичівської породи, зниження рівня гетерозиготності для тварин породи шароле. У всіх випадках отримані результати пояснювалися наслідками використання обмеженої кількості бугаїв-плідників з метою закріплення бажаних ознак продуктивності та специфічними умовами утримання худоби (розведення «в собі» через відсутність «прилиття крові»).

З іншого боку, наслідками популяційно-генетичних процесів можуть бути випадки прояву нерівноваги за зчепленням для мікросателітних маркерів, як, наприклад, це було встановлено при аналізі шести порід великої рогатої худоби (суксунської, істобенської, ярославської, сірої української, холмогорської порід та печорського типу холмогорської худоби). Під час цього дослідження було виявлено вірогідну нерівновагу за зчепленням для мікросателітів INRA037 і CSRM60 у популяції сірої української худоби.

ТЕМА 4. НАПРЯМКИ ВИКОРИСТАННЯ МІКРОСАТЕЛІТІВ ДНК В СКОТАРСТВІ ТА СВИНАРСТВІ

Згідно з базою даних INRA (French National Institute for Agricultural research; institut.inra.fr), вже на початку 2010-х років на всіх 30 парах хромосом ВРХ було виявлено 2402 локуси мікросателітів ДНК (МС-ДНК), з яких 2244 є картованими (Киселева та ін., 2010). В цей же час, мікросателітний аналіз набуває широкого використання й при вивченні генетичного поліморфізму ВРХ молочного та м'ясного напрямку в Україні та країнах СНД (Шкавро та ін., 2010; Гладирь та ін., 2011; 2011а; 2011б; Копилова та ін., 2013; Глинская, 2013; 2013а; Глинская та ін., 2013).

У 86-му випуску бази даних генетичних варіацій Ensembl (https://www.ensembl.org/Sus_scrofa/Info/Index) для геному свині (*Sus scrofa*) наведено ~55 млн. SNP та ~4,8 млн. варіантів InDel.

Використовуючи програму Tandem Repeats Finder, китайськими вченими у 2017 році було виявлено 1620469 локусів МС-ДНК, в тому числі 395943 динуклеотидних, 209971 тринуклеотидних, 507867 тетрануклеотидних, 281380 пентануклеотидних та 225308 гексануклеотидних повторів у 18 аутосомних хромосом, а також Х і Y хромосомах свині. Таким чином, загалом ~ 1,28% еталонного геному свині зайнято мікросателітами ДНК (Liu et al., 2017).

Серед різноманітних напрямів використання МС-ДНК можна виділити основні:

контроль походження (встановлення батьківства) та паспортизація тварин;

оцінка рівня генетичної різноманітності (алельний спектр, гетерозиготність, наявність/відсутність генетичної рівноваги) на породному та внутрішньопородному рівні (внутрішньопородна стратифікація);

оцінка рівня міжпородної генетичної диференціації та встановлення філогенетичних зв'язків;

пошук зв'язків з показниками продуктивності та оцінка можливого використання цих зв'язків у маркер-допоміжній селекції, в т.ч. оцінювання кореляції між гетерозиготністю за мікросателітами ДНК та ознаками продуктивності (HFCs);

оцінювання негативних наслідків популяційно-генетичних процесів, особливо для малочисельних та автохтонних порід.

Крім того, для ВРХ МС-ДНК можуть бути також використані для оцінки ступеня інтрогресії геномів при створенні нових порід (особливо, при використанні міжвидової гібридизації для тварин роду *Bos L.*, 1758), а в свинарстві – при оцінці відповідності якості готових м'ясних продуктів породному походженню сировини (traceability).

Контроль походження (встановлення батьківства) та паспортизація тварин

Аналіз походження (в тому числі, встановлення батьківства) є перспективним методом при проведенні еволюційних, екологічних та досліджень із збереження біологічного різноманіття. Крім того, перевірка батьківства має вирішальне значення при розробці селекційних програм в тваринництві. Традиційно, записи спорідненості були основою програм розведення.

Було показано, що молекулярні маркери (і, насамперед, МС-ДНК) можуть бути використані для підтвердження із дуже високою (близькою до 100%) імовірністю предків (та/або нащадків) в племінному тваринництві.

ВРХ: У ВНДІ тваринництва була розроблена тест-система на основі мікросателітів (локуси TGLA126, TGLA122, TGLA227, INRA023, ILST005, ILST006, ETH185, ETH10, ETH225, BM1818, BM1824, BM2113, SPS115, сформованих у дві мультиплексні панелі), для проведення ДНК-експертизи великої рогатої худоби. Її результативність була дуже високою – імовірність ідентичності генотипів особин залежно від породи за 13 мікросателітами була практично виключеною і становила від $6,8 \times 10^{-14}$ до $2,1 \times 10^{-11}$ для неспоріднених тварин та від $8,2 \times 10^{-6}$ до $1,1 \times 10^{-5}$ для напівсибсів. Крім того, були встановлені високі рівні вірогідності результатів підтвердження ($P > 0,99$) і винятки помилки ($P > 0,9999$) батьківства (Гладирь та ін., 2011).

Аналогічно, в Республіці Білорусь була розроблена імпортозамінна система застосування МС-ДНК в оцінці вірогідності походження нащадків великої рогатої худоби чорно-рябої породи з використанням вітчизняних реактивів. При цьому, ефективність контролю походження за 5-ти STR-локусами складає 0,99019. А використання 11 локусів дозволяє досягти рівня вірогідності походження високоцінних племінних тварин з точністю 99,999% (Глинская та ін., 2014; Танана та ін., 2014).

Свині: Одне з перших досліджень використання МС-ДНК при аналізі контролю батьківства було проведено на трьох найпоширеніших породах свиней Світу, що розводилися в Австрії (Nechtelberger et al., 2001). Авторами було встановлено, що у випадку, коли відомий лише один із батьків, оцінки комбінованої ймовірності виключення (combined exclusion probabilities – CEP) коливаються від 99,18% (ландрас), 99,74% (п'єтрен) до 99,76% (ВБП). У випадку, коли були відомі обидва батька, оцінки CEP при використанні 10-плексної ПЛР збільшувалася до 99,97% (ландрас) і 99,99% (п'єтрен та ВБП). Крім того, ними було розроблена автоматизована програма аналізу генотипу для свиней, що заощаджує витрати коштів та часу.

Аналогічно, дві панелі МС-ДНК по 10 локусів (панель А – власна, а панель В – та, що було використана у дослідженні Nechtelberger et al. (2001) було використано для аналізу вірогідності встановлення батьківства на прикладі трьох порід свиней, що розводилися у Чехії (Putnova et al., 2003).

В обох випадках, точність визначення батьківства (у випадку доступності неповної та/або неточної інформації щодо походження тварин) знаходилися у межах 94,61...99,99% при використанні панелі А, та 93,17...99,99% - при використанні панелі В МС-ДНК.

За наступні 10 років йшов пошук найбільш адекватної панелі локусів МС-ДНК, що надавала б найбільш точні оцінки при контролю походження та встановлення батьківства на прикладі комерційних порід свиней Японії (Yamaguchi et al., 2008), Республіки Кореї (Lim et al., 2009), Іспанії (Menéndez et al., 2015) та інших країн Світу.

Крім того, даний метод було перевірено й на дикому кабані (*Sus scrofa*), що розповсюджено у Європі (Delgado et al., 2008). Так, було встановлено (Costa et al., 2012), що набір з 14 мікросателітних маркерів був оптимізований та випробуваний у трьох популяціях дикого кабана з Угорщини, Португалії та Іспанії (загалом – 167 зразків). Результати показали дуже високі ймовірності виключення (0,99999), низьку ймовірність помилкової ідентифікації особин ($2,0 \times 10^{-13}$... $2,5 \times 10^{-9}$) та точність визначення батьківства на 100%.

У останні роки йшов пошук молекулярно-генетичних маркерів, що наряду з використанням мікросателітів, підвищував би точність ідентифікації особин. Так, при вивченні ступеня ефективності використання МС-ДНК та/або SNP (від 15 до 960 локусів) для визначення точності походження серед тварин Європейської дикої свині (Yu et al., , 2015) було встановлено, що у випадку використання набору із 15 локусів МС-ДНК, імовірність спорідненості серед п'яти особин, що мали спільне походження, складала від 0,9370 (була відома інформація лише про одного батька протилежної статі) до 0,9538 (відома інформація про одного потенційного батька). Приблизно на такому ж рівні знаходилися й відповідні оцінки, отримані на підставі використання 30 SNP-локусів. Але вже при використанні 120 локусів SNP, отримані імовірності спорідненості варіювали від 0,9999 до 1,0000.

Крім широко розповсюджених в використанні мікросателітів ДНК динуклеотидного типу, було також запропоновано використання й мікросателітів іншого типу. Так, при дослідженні ефективності використання 11 тетрануклеотидних локусів МС-ДНК для встановлення ступеня спорідненості та батьківства на прикладі чеської породи свиней (Prestice Black-Pied Pig) було встановлено (Vrtková et al., 2016), що імовірність ідентичності двох незалежних зразків (PI) з використанням усіх 11 локусів складала $4,037 \times 10^{-11}$, а ймовірність спорідненості двох особин (PISibs) – $8,315 \times 10^{-5}$. Оцінки вірогідності виключення для комбінацій локусів, коли були відомі обидва батьки (P1), коли був відомий лише один з батьків (P2), та у випадку, коли обидва батьки не відомі (P3), складали для свиней даної породи, відповідно, 0,9996, 0,9899 та 0,9999.

У випадку трьох індійських локальних порід свиней (Behl et al., 2017) загальні значення PE1 (у випадку двох батьків та одного нащадка, доступна

лише інформація про одного із батьків) з урахуванням 24 використаних локусів МС-ДНК варіювали від $1-2,07 \times 10^{-10}$ у Північно-індійських свиней до $1-3,95 \times 10^{-11}$ у свиней Ankamali. Загальні значення PE2 (у випадку двох батьків та одного нащадка, інформація про обох батьків відсутня) з урахуванням всіх 24 локусів варіювали від $1-4,57 \times 10^{-16}$ у свиней Assamese до $1-3,17 \times 10^{-18}$ у свиней Ankamali. Аналогічно, сукупні значення PE3 (у випадку одного батька та одного нащадка, інформація про батька відсутня) для всіх 24 локусів варіювали від 0,9999968 у свиней Assamese до 0,99999955 у свиней Ankamali. При цьому, авторами доведено, що набір із 15 локусів може бути використано для встановлення батьківства (любого з трьох типів варіантів) у індійських свиней з вірогідністю не менше, ніж 0,99985. В цілому, отримані авторами оцінки були значно вище, ніж загально прийняті уявлення, що такі ймовірності виключення повинні бути більше 0,9995 (Luikart et al., 1999).

Оцінка рівня генетичної різноманітності (алельний спектр, гетерозиготність, наявність/відсутність генетичної рівноваги) на породному та внутрішньопородному рівні (внутрішньопородна стратифікація)

Оцінка всього спектру різноманіття, створення генетичних паспортів порід потребує вивчення якомога більшої кількості географічно віддалених популяцій. Істотний внесок у характеристику алельного різноманіття порід вносять регіональні популяції, формування алелофонду яких у більшості випадків відбувалося в умовах відносної географічної ізоляції на основі місцевої худоби з власним унікальним алелофондом. Крім того, на генетичну мінливість регіональних популяцій певний вплив чинять специфічні для кожного з регіонів абіотичні фактори.

ВРХ: Аналіз генетичного поліморфізму за мікросателітними локусами було вже проведено для низки порід молочного та м'ясного напрямку – чорно-рябої худоби (Епишко, 2012; Глинская, 2013; 2013а; Лозовая, Аржанкова, 2010), якутської, холмогорської (Гладырь та ін., 2011а), симентальської, герефордської (Гладырь та ін., 2011б; Долматова та ін., 2012), голштинської (Хабибрахманова та ін., 2014), казахської білоголової, галовейської (Гладырь та ін., 2013), швіцької, сичівської, суксунської, істобенської, ярославської (Киселева та ін. 2010; Кольцов та ін., 2012), шароле (Шкавро та ін., 2010) та ін.

В Україні з 2007 року проводиться цілеспрямована робота по вивченню стану генетичного різноманіття тварин сірої української породи (Шкавро та ін., 2010; Киселева та ін. 2010; Гузеев та ін., 2011). Крім того, розпочато роботу з вивчення дуже рідкісних порід, наприклад, липованської червоної острівної худоби, що розповсюджена лише на островах в Дунайсько-Чорноморських плавнях (Гузеев та ін., 2013).

Високий рівень гетерозиготності, що часто спостерігається, є наслідком високого поліморфізму досліджуваних мікросателітних маркерів і свідчить про доцільність їх використання для оцінки генетичного різноманіття. Таким чином, для одночасної підтримки в популяціях продуктивності та життєздатності при постійному вдосконаленні племінних якостей худоби, необхідно вивчення його генетичного статусу за декількома локусами, що дозволить консолідувати спадкову стійкість тварин, з одного боку, шляхом збільшення кількості нащадків, а також контролювати і підтримувати гетерозиготність на рівні, що забезпечує достатню мінливість та пластичність популяцій з іншого (Епишко, 2012). В цілому, у досліджених популяціях виявлений високий «резерв» генетичного різноманіття за мікросателітними локусами.

Свині: Після того, як була розроблена сучасна номенклатура мікросателітів ДНК (Tautz et al., 1993) вони почали активно використовуватися для оцінки рівня генетичної різноманітності свиней різних порід – як широко розповсюджених, так й локальних – в різних країнах Світу. Одним з перших таких досліджень була робота, в якій розглянуто рівень генетичного поліморфізму свиней чотирьох порід Бельгії з використанням сімох локусів мікросателітів (Zeveren et al., 1995).

В 2000 році з'являється робота G.Laval із співавторами, в якій наведено результати дослідження вже 11 порід свиней (у тому числі, й дикого кабана), що розводяться у 6 країнах Європи (всього було досліджено 483 ДНК-проби), з використанням 18 локусів МС-ДНК. В цьому ж році виходять дві роботи, в яких наведено результати аналізу рівня поліморфізму за локусами МС-ДНК для порід свиней, що розводяться в Китаї – як інтернаціональних (ландрас, дюрорк та велика біла порода), так й чотирьох локальних порід Китаю (Li et al., 2000; Li et al., 2000a). В них показано, що генетичне різноманіття китайських корінних порід свиней (indigenous pig breeds) значно вище, ніж серед інтродукованих.

В наступні роки продовжувався детальний аналіз генетичного поліморфізму автохтонних порід свиней Китаю. В роботі (Li et al., 2004) було досліджено 10 порід, використовуючи 26 локусів МС-ДНК, що рекомендовано ISAG. Майже разом з нею було опубліковано дослідження (Yang et al., 2003), в якому наводяться результати вже для 18 локальних китайських порід. На підставі аналізу рівня їх генетичної мінливості авторами було зроблено висновок, що ці 18 китайських автохтонних порід можуть мати одного спільного предка і це допомагає краще зрозуміти відносну відмінність генетичних ресурсів свиней та може допомогти у розробці національного плану збереження та використання китайських корінних порід свиней.

В 2001 році виходить робота (Kaul et al., 2001), в якій розглядається рівень генетичної мінливості серед місцевих порід свиней Індії на підставі 13 локусів МС-ДНК, а в 2002 році виходять дві статті, які присвячені аналізу як

місцевих, так й інтродукованих порід свиней Тайланду (Chaiwatanasin et al., 2002; Chaiwatanasin et al., 2002f). Чотирнадцять мікросателітних локусів було проаналізовано у 79 випадкових особин свиней локальної тайської породи (TN), великої білої (LW), плямистої великої білої (SLW) та породи п'єстрен (PT) для характеристики їх генетичної мінливості.

В роботі (Fan et al., 2005) наведено результати аналізу генетичної мінливості популяції напівдиких свиней, що існує на Оклендському острові біля Нової Зеландії. Авторами було встановлено, що свині Оклендського острова мають низький рівень генетичної мінливості у порівнянні з європейськими, азіатськими, центрально-американськими автохтонними та комерційними породами свиней, як і можна було очікувати для не чисельної популяції, що була ізольована останні майже 200 років. Також дуже низький рівень генетичного різноманіття було встановлено для автохтонної хорватської породи свиней Turpolje (Harcet et al., 2006). У тварин цієї рідкісної породи було зафіксовано лише 1...3 алеля для 10 мікросателітних локусів, що було використано в аналізі.

Вивченню генетичного різноманіття ще однієї локальної європейської породи свиней – чорної словонської (Black Slavonian pig) – присвячено стаття (Bradić et al., 2007). Автори приходять до висновку, що невелика кількість виявлених алельних варіантів, а також значне відхилення від рівноваги, викликане дефіцитом гетерозигот, можна вважати одним із показників зниженого генетичного різноманіття даної локальної породи.

В роботі (Manea et al., 2009) наведено результати дослідження румунської локальної породи свиней мангаліца (Mangalitsa). Авторами показано, що рівень генетичного різноманіття цієї породи оказується значно нижче у порівнянні із тваринами розповсюдженої у Світі великою білою породою (як за числом алелів, так й за рівнем фактичної гетерозиготності). З іншого боку, для свиней локальної породи Nero Siciliano (о-в Сицилія), навпаки, було відмічено дуже високий рівень генетичного різноманіття (Guastella et al., 2010).

Подальші дослідження включали як можна більше порід та використовували як можна більш широку панель локусів мікросателітів ДНК. Так, в роботі (SanCristobal et al., 2006) було задіяне 28 порід свиней, що розводяться на всьому Європейському континенті, для рівня генетичного поліморфізму яких було використано 50 локусів мікросателітів. Авторами була встановлена суттєва внутрішньопородна мінливість, при цьому, середня очікувана гетерозиготність і число алелей на локус становили 0,560 (з розмахом 0,430...0,680) та 4,5, відповідно. Розподіл частот генотипів вірогідно відхилялися від стану генетичної рівноваги Гарді-Вайнберга у 15 європейських популяціях, причому у 12 з них було виявлено дефіцит гетерозигот.

А в 2009 було опубліковано огляд (Ollivier, 2009), в якому розглянуто рівень генетичного різноманіття для більш, ніж 70 європейських порід та

ліній. Було встановлено, що генетична різноманітність для локальних порід та комерційних ліній є значно нижчою у порівнянні з міжнародними породами.

У цьому ж році вийшла робота (Sollero et al., 2009), яка присвячена дослідженню генетичного різноманіття трьох натуралізованих порід Бразилії у порівнянні з породою ландрас та комерційною лінією MS60 з використанням 28 мікросателітних маркерів. А через два роки її доповнила робота (Silva et al., 2011), в якій число досліджених локальних порід Бразилії було вже дев'ять.

В роботі (Swart et al., 2010) досліджено три локальні породи свиней Південної Африки. Для цих корінних порід найвищий рівень гетерозиготності було виявлено в популяціях з Мозамбіка та Південної Африки (0,692 та 0,634, відповідно), а найменше значення (0,531) – у свиней з Намібії.

Нарешті, 2011 році з'являється перша оглядова стаття (Nidup & Moran, 2011), в якій узагальнено результати аналізу генетичного різноманіття різних порід та популяцій домашньої свині з використанням МС-ДНК, отримані за попередні 15 років. Цей огляд дає уявлення про використання мікросателітних маркерів для аналізу походження, генетичної структури та різноманітності всередині та між різними породами свиней у всьому Світі.

В останній час продовжується вивчення локальних порід свиней різних регіонів Світу та розглядається їх роль у збереженні генетичного різноманіття свиней на прикладі локальних порід Балканського п-ву (Druml et al., 2012), Чехії (Vrtková et al., 2012), Уругваю (Montenegro et al., 2015). та ін.

Формування складної внутрішньопородної популяційної структури не можна розглядати як виняткове явище для деяких порід і така стратифікація найчастіше пояснювалася відмінностями географії походження окремих внутрішньопородних груп, різними критеріями селекційної роботи, або їх спільним впливом (Chang et al., 2009).

Хоча деякі автори вважають прояв внутрішньопородної стратифікації (intra-breed stratification) рідкісним явищем для сільськогосподарських тварин (Wilkinson et al., 2012), раніше її вже було відмічено для коней (Glowatzki-Mullis et al., 2006), ВРХ (Lazebnaya et al., 2020), свиней (Wilkinson et al., 2011), кіз (Martínez et al., 2015), курей (Wilkinson et al., 2012), собак (Chang et al., 2009; Wiener et al., 2017), кролів (Jochová et al., 2017). При цьому існування внутрішньопородної генетичної гетерогенності не слід розглядати виключно як негативне явище, а лише як суттєвий елемент історії їх створення (European..., 2006).

Наявний рівень внутрішньопородної різноманітності може бути пояснено різною генетичною основою засновників внутрішньопородних генеалогічних груп (ліній та родин), географічною ізоляцією, природним відбором, а також використовуваними селекційними методами та підходами,

в т.ч. обміном тварин між окремими стадами (Dumasy et., 2012). У роботі Martínez et al. (2015) географічну ізоляцію було зазначено як основний фактор, що визначав формування генетичної внутрішньопородної стратифікації локальних порід кіз Іспанії та Португалії.

Генетична дивергенція литовської породи білоспинної худоби (Lithuanian White-Backed cattle) була результатом спільної дії селекції, географічного походження, а також присутності домішок інших порід у період становлення та формування породи (Šveistienė & Jatkauskienė, 2008).

Високий рівень внутрішньопородної стратифікації може бути пов'язаний з напрямом продуктивності сільськогосподарських тварин; у порід зі змішаним напрямком продуктивності (the dual-purpose breeds) оцінка внутрішньопородної диференціації була вищою (Lazebnaya et al., 2020).

У роботі Wiener та ін. (2017) було відмічено високий рівень генетичної внутрішньопородної диференціації у собак породи лабрадор-ретривер, що було результатом різного напрямку селекційної роботи на використання тварин (робочі якості, домашній улюбленець або участь у шоу) (working/pet/show) та різне забарвлення вовни (чорне, жовте, коричневе). Björnerfeldt et al. (2008) виявили значну генетичну диференціацію у породі пудель, пов'язану як із розмірами, так і забарвленням вовни.

Для курей порід леггорн та сусекс прояв внутрішньопородної стратифікації був пов'язаний з морфологічними відмінностями внутрішньопородних груп, тоді як для інших порід свійської птиці вона була пов'язана з менеджментом, насамперед, з різними постачальниками племінного матеріалу, внаслідок чого всі особини певного стада були генетично віддалені від решти курей тієї ж породи (Wilkinson et al., 2012).

Відмічена у ряді досліджень внутрішньопородна стратифікація може бути наслідком використання у практиці селекційної роботи інбридингу разом із ізоляцією, що може перешкоджати потоку генів та забезпечувати генетичну диференціацію навіть серед особин однієї породи (Alves et al., 2015). Раніше подібні спостереження були описані для собак (Chang et al., 2009) та овець (Kijas et al., 2009).

Крім того, на прикладі порід кроликів було показано (Alves et al., 2015), що постійно діючий штучний відбір разом із сучасними методами розведення, які підтримують породи у формі закритих генетичних пулів, можуть перетворити генетичну однаковість на набір сильно диференційованих генетичних внутрішньопородних угруповань. При цьому, для порід кроликів така внутрішньопородна стратифікація супроводжувалася суттєвим відхиленням розподілу частот генотипів від рівноваги Харді-Вайнберга, а також високими позитивними оцінками Fis (Jochová et al., 2017).

Одним із наслідків внутрішньопородної стратифікації є підвищення рівня міжстадного розмаїття (який виявляється не нижчим від рівня міжпородного розмаїття) при одночасному зниженні мінливості всередині окремих стад.

Оцінка рівня міжпородної генетичної диференціації та встановлення філогенетичних зв'язків

ВРХ: Складні філогенетичні зв'язки між породами ВРХ можуть бути, також, проаналізовані з використанням локусів МС-ДНК. Так, в роботі Ю.Гузєєва (2012) було проведено філогенетичний аналіз між 22 породами худоби, що розводяться в Україні та Росії за панеллю із 13 мікросателітних локусів (TGLA126, TGLA122, INRA023, ILST005, ETH185, ILST006, BM1818, BM1824, BM2113, ETH10, ETH225, SPS115, TGLA227). Ним було встановлено, що генезис окремих популяцій і порід худоби може бути простежений на підставі побудованої дендрограми філогенетичного споріднення великої рогатої худоби різних порід. Сіра українська худоба має унікальну генетичну цінність і у майбутньому буде використана при створенні нових спеціалізованих і комбінованих порід (Гузєєв, 2012).

Ще більш детальний аналіз міжпородних взаємовідносин було проведено К.В. Копиловою із співавторами (2013). В їх дослідженнях проаналізовано дані щодо 25 порід (молочні і молочно-м'ясні породи – голштинська, українська чорно-ряба молочна, українська червоно-ряба молочна, українська червона молочна, червона степова, англєрська, симентальська, монбельярдська, лебединська, пінцгау, швіцька, джерсейська, бура карпатська, білоголова українська; м'ясні породи – українська м'ясна, волинська м'ясна, південна м'ясна, знам'янський тип поліської м'ясної, сіра українська, лімузин, шароле, світла аквітанська, кіан, мен-анжу, гаскон) великої рогатої худоби за локусами QTL, ISSR-маркерами з використанням в якості праймерів фрагментів динуклеотидних та тринуклеотидних мікросателітних локусів та мікросателітними маркерами, які входять до переліку рекомендованих ISAG (BM1824, BM2113, INRA023, SPS115, TGLA122, TGLA126, TGLA227, ETH10, ETH225 та ETH3). У відношенні локусів мікросателітів ними було встановлено рівень алельного різноманіття та виявлено породно-специфічні алелі мікросателітів.

Свині: В роботі G.Laval із співавторами (2000) наведено перші результати аналізу ступеня міжпородної генетичної диференціації серед 11 порід свиней Європи. Ними встановлено дуже високий рівень генетичної диференціації ($F_{st} = 0,27$). Генетичні дистанції між породами, отримані на підставі локусів МС-ДНК, вперше було використана для побудови філогенетичного дерева. Отримані авторами дерева могли пояснити суттєву дивергенцію двох германських порід від решти порід свиней Європи.

В 2003 році вийшла робота (Yang et al., 2003), в якій було проаналізовано взаємовідношення між 18 локальними породами свиней Китаю. Середня оцінка міжпородної диференціації становило $F_{st} = 0,077$ із розмахом від 0,019 до 0,170 для різних локусів МС-ДНК. Унікальність порід локальних порід свиней підтверджується високим рівнем подібності тварин в середині окремих порід – в цілому, 92,14% особин були вірно віднесені до

власної породи на підставі їх мультилокусних генотипів за локусами МС-ДНК.

Подальші дослідження було спрямовано на розширення кількості включених в аналіз порід. Крім того, в роботах (Megens et al., 2008; Li et al., 2014) наведено результати взаємовідносин між породами свиней, що походять з Європи та Китаю. При аналізі 52 європейських та 46 китайських популяцій свиней було встановлено, що європейські породи формують один кластер та демонструють незначну структурованість, хоча свині південної Європи та Англії мають тенденцію групуватися разом. Популяції свиней інтернаціональних порід формують власний кластер. Китайські породи також групуються разом та між ними практично відсутній значний рівень диференціації. При цьому, північно-китайські породи свиней більш подібні до європейських. Крім того, авторами було встановлено, що Китай та Європа представляють два різних центра доместикації свиней.

Паралельно з цим проводилися дослідження взаємовідносин між породами (насамперед, локальними) різних регіонів або країн, наприклад Франції та Іспанії (Boitard et al., 2010), Великої Британії (Wilkinson et al., 2011), Польщі (Szmatoła et al., 2016), Румунії (Manea et al., 2009), балканських країн – Австрії, Хорватії, Сербії та Боснії-Герцеговіни (Druml et al., 2012), Бразилії (Silva et al., 2011), Індії (Nihar Ranjan Sahoo et al., 2016) і т.ін.

Відомо декілька досліджень, в яких наведено результати аналізу рівня генетичного поліморфізму за локусами МС-ДНК для свиней однієї породи, що утримувалися на різних фермах. Так, в роботі (Herrero-Medrano et al., 2013) було досліджено свині локальної породи Chato Murciano (регіон Мурсія, південно-східна Іспанія) в межах 8 різних ферм. В цілому встановлено, що 11,4% загальної генетичної мінливості свиней даної породи обумовлювалося відношенням тварини до певної ферми (тобто, $F_{st} = 0,114$). Крім того, було встановлено, що важливу роль у підтриманні генетичного різноманіття має розмір фермського господарства, його власник, а також наявність тварин інших порід на фермі. Отримані в цьому дослідженні результати показують, що виявлення особливостей у відношенні характеру менеджменту для окремих ферм на основі племінних запасів може допомогти у розробці програми сталого розведення для представників рідкісних та локальних порід свиней.

В статті (Michailidou et al., 2014) було проведено дослідження генетичного різноманіття грецьких чорних свиней (Greek black pig) в межах 12 ферм на підставі 11 локусів мікросателітів. Встановлено наявність суттєвої мінливості між окремими фермами у відношенні середнього числа алелів на локус, ефективного кількості алелів, фактичної гетерозиготності та за рівнем інбридингу. Автори прийшли до висновку, що грецька чорна свиня, незважаючи на низький розмір популяції, має високий ступінь генетичної мінливості, що може бути корисним для розробки програм її розведення.

Ступінь інтрогресії геномів при створенні нових порід (особливо, при використанні міжвидової гібридизації для тварин роду *Bos L.*, 1758

Використання мікросателітного аналізу дозволило оцінити ступінь генетичної подібності між породами *Bos taurus L.*, 1758 та іншими представниками цього роду, наприклад, свійським яком (Ернст та ін., 2009). З іншого боку, оцінити ступінь інтрогресії генів свійського яка при створенні гібридів *B. taurus* × *Roephagus grunniens (L., 1766)* (Аль-Кейси та ін., 2011).

Відмічають, також, суттєві зміни в геномі при міжпородному схрещуванні, навіть вже серед тварин F1. Так, аналіз рівня генетичної мінливості тварин чорно-рябої породи та їх помісей із абердин-ангуською породою дозволив встановити вірогідні відмінності за частотою алелей для більшості локусів мікросателітів між чистопородними та помісними тваринами (Аржанкова та ін., 2015).

При аналізі алелофонду тварин симентальської, герефордської порід та їх помісей F1 було встановлено, що масив симентал-геррефордських помісей F1, сформований в рамках створення нового типу м'ясної худоби, характеризується високим генетичним розмаїттям, відрізняється високою консолідованістю і, хоча генетично і близький до порід, що були використані при його створенні, має унікальний алелофонд, який відображає інтрогресію алелофонду вихідних порід (Гладирь та ін., 2011).

Пошук зв'язків з показниками продуктивності та оцінка можливого використання цих зв'язків у маркер-допоміжній селекції, в т.ч. оцінювання кореляції між гетерозиготністю за мікросателітами ДНК та ознаками продуктивності (HFCs).

МС-ДНК зазвичай розглядаються як нейтральні молекулярно-генетичні маркери, проте, в останні роки з'явилося багато повідомлень, в яких наведені емпіричні дані про можливий зв'язок між наявністю/відсутністю певних алелей (або генотипів) МС-ДНК і продуктивними якостями сільськогосподарських тварин. Так, відзначено зв'язок поліморфізму МС-ДНК з надоем і якісними показниками молока ВРХ (Mekrawy et al., 2012; Zabolewicz et al., 2011), с живою масою і яєчної продуктивністю курей (Chatterjee et al., 2010; Rudresh et al., 2016), з рівнем розвитку репродуктивних якостей овець (Geldermann et al., 2006; Petroli et al., 2014) та кіз (Wang et al., 2013). Для дикого кабана була виявлена алель-специфічна асоціація МС-ДНК з ймовірністю розвитку туберкульозної інфекції (Amos & Acevedo-Whitehouse, 2009).

ВРХ: На початку 2000-х років дуже актуальним був напрямок, що пов'язаний із аналізом у геномі сільськогосподарських тварин (в тому числі й ВРХ м'ясного напрямку) ділянок, що пов'язані із кількісними ознаками. Так, на другій хромосомі (ВТА2) тварин порід Hereford та помісей Angus × Brahman було знайдено ділянку, що впливає на ознаку «жива маса при

народженні». Характерно, що в межах цього QTL були розташовані мікросателіти BM2113 та OarFCB11 (Crosz, MacNeil, 2001; Kim et al., 2003).

Більш того, різними вченими досліджено наявність позитивної (або негативної) кореляції між окремими алелями (або генотипами) мікросателітів та показниками молочної, м'ясної та ін. продуктивності.

Так, алелі BM1500136 є маркерами найвищого надою, а алелі BM1500136-138 пов'язані із підвищеним вмістом жиру в молоці (Fitzsimmons et al., 1998; Lali, Bindu, 2011). Аналогічно, тварини голштинської породи із генотипом BM6438268/268 характеризувалися найвищим надоєм, проте як худоба із генотипами BM6438256/258 та BM6438258/268 – навпаки, мали найнижчі показники молочної продуктивності (Zabolewicz et al., 2011).

Заслуговує на увагу і те (Ali et al., 2013), що худоба зебу із певними генотипами за локусами ILSTS005, ILSTS006, TGLA227, INRA035, BM2113, CSSM66 є найбільш резистентною до туберкульозу.

Деякі забійні та м'ясні якості, також, пов'язані із певними локусами мікросателітів. Так, наявність алеля BM2113142 забезпечує більший вихід чистого м'яса, а алель BM2113171 позитивно зв'язана із товщиною філейної частини туші у помісних тварин Grassland Red Cattle × Limousine (Yang et al., 2012). Тварини із генотипом ETH10220/222 мали кращі характеристики мрамуровості м'яса та більшу забійну масу (Kim et al., 2003).

Низка локусів мікросателітів пов'язана і з екстер'єрними характеристикам будови тіла тварин. Позитивний зв'язок з основними промірами ВРХ (насамперед, висотою в холці, глибиною та шириною грудей, косою довжиною тулуба) встановлено для локусів BM2113, ETH131, IDVGA46, INRA5 та INRA64).

Під суттєвим контролем з боку локусів мікросателітів знаходяться й показники росту та розвитку. Як і в нашому дослідженні, в роботі de Atley et al. (2011) було показано, що локус ETH10 був тісно пов'язаний із живою масою при народженні (для помісних тварин Angus × Brahman) та при відлученні (для тварин породи Angus). У випадку дослідженої нами популяції південної м'ясної породи було встановлено позитивну асоціацію із алелем ETH10221, проте як для результатів по породі Angus та їх помісям, найкращими показниками живої маси характеризувалися тварини із генотипом ETH10217/219 (de Atley et al., 2011).

Худоба породи герефорд із генотипом CSFM50180/184 мала найвищу живу масу при відлученні, а присутність в їх генотипі алеля CSFM50176, навпаки, призводила до значного падіння за цим показника цієї ознаки (Bressel et al., 2003). Наявність алеля довжиною в 225 п.н. за локусом мікросателіта в межах гену IGF1 позитивно корелювала із живою масою при народженні та відлученні помісних тварин *V. indicus* × *V. taurus*, у той час як наявність алеля довжиною 231 п.н., навпаки, маркірувала тварин із самими низькими значеннями цих ознак (Andrade et al., 2008).

**Мікросателіти, що пов'язані із показниками продуктивності серед
різних порід ВРХ та зебу**

Локус	Порода (або вид)	Показник	Джерело
<i>BM1500</i>	Angus, Charolais, Hereford, Simmental	вміст жиру в молоці	Fitzsimmons et al., 1998
<i>BM1500</i>	<i>B. indicus</i>	надій і вміст жиру в молоці	Lali, Bindu, 2011
<i>BM1818</i>	<i>B. taurus</i>	товщина шпику	Li et al., 2004
<i>BM1824</i>	Grassland Red Cattle × Limousine	товщина філейної частини туші	Yang et al., 2012
<i>BM2113</i>	Dutch Holstein-Frisian	ширина грудної клітки	Schrooten et al., 2000
<i>BM2113</i>	Grassland Red Cattle × Limousine	вихід чистого м'яса	Yang et al., 2012
<i>BM6438</i>	Polish Holstein-Frisian	надій	Zabolewicz et al., 2011
<i>bGHR-(TG)_n</i>	<i>B. taurus</i>	жива маса при відлученні; вага туші	Hale et al., 2000
<i>BMS1248</i>	Bali cattle	жива маса	Puja et al., 2013
<i>CSFM50</i>	Hereford	жива маса при відлученні	Bressel et al., 2003
<i>ETH10</i>	Angus	жива маса при відлученні	de Atley et al., 2011
<i>ETH10</i>	Brahman × Angus	жива маса при народженні	de Atley et al., 2011
<i>ETH10</i>	<i>B. taurus</i>	мармуровість м'яса	Kim et al., 2003a
<i>ETH10</i>	<i>B. taurus</i>	забійна маса	Kim et al., 2003a
<i>ETH10</i>	Hereford	жива маса при народженні	Rogberg-Munoz et al., 2011
<i>ETH10</i>	<i>B. taurus</i>	товщина шпику	Li et al., 2004
<i>ETH131</i>	Piemontese	проміри тіла; прирости живої маси	Ciampolini et al., 2002
<i>IDVGA46</i>	Piemontese × Chiniana	висота в холці, ширина і глибина грудей	Napolitano et al., 1996
<i>ILSTS005, ILSTS006, TGLA227, INRA035, BM2113, CSSM66</i>	<i>B. indicus</i>	стійкість до туберкульозу	Ali et al., 2013
<i>IGF1</i>	<i>B. indicus</i> × <i>B. taurus</i>	жива маса при народженні і при відлученні	Andrade et al., 2008
<i>INRA5</i>	Piemontese	жива маса в 250 та 350 днів; проміри тіла	Ciampolini et al., 2002
<i>INRA11</i>	Piemontese	прирости живої маси	Ciampolini et al., 2002
<i>INRA64</i>	Piemontese	проміри тіла; жива маса в 150 та 350 днів	Ciampolini et al., 2002
<i>SPS115</i>	Angus × Brahman	співвідношення ваги жиру до ваги туші	Kim et al., 2003b
<i>5'UTR-GHSR1</i>	Japanese Black	приріст живої маси за період експерименту	Komatsu et al., 2011

Відомі й приклади позитивного впливу наявності певних алелів за локусами мікросателітів на показники приросту. Так, тварини породи Japanese Black cattle, що мали алель (TG)19 на ділянці 5'UTR гену GHSR1, характеризувалися найвищими приростами протягом періоду експерименту (Komatsu et al., 2011).

Також, аналогічну дію було встановлено для низки алелей локусів INRA11, INRA64 та ETH131 у тварин породи Piemontese (Ciampolini et al., 2002).

Свині: Раніше вже зазначалося наявність кореляції між присутністю/відсутністю певних алелей за локусами МС-ДНК і продуктивністю свиней (в тому числі і відтворювальними якостями свиноматок). Так, свиноматки, отримані в результаті схрещування порід великої білої та мейшан, демонстрували алель-специфічну асоціацію щодо МС-ДНК локусу, що фланкує ген FSHB. Особини з генотипом 118/118 вірогідно перевищували за показником числа поросят при відлученні свиноматок із генотипами 98/98 та 98/118, а також мали вірогідно більш високу масу гнізда і масу одного поросяти при відлученні, ніж особини з генотипом 98/98 (Li et al., 2008).

Також була виявлена вірогідна кореляція між генотипом МС-ДНК, присутнього в локусі IGF1, і репродуктивними якостями помісних свиноматок Злотницького плямистої і великої білої порід (Korwin-Kossakowska et al., 2004). Крім того, було встановлено вірогідну асоціацію між алелями МС-ДНК, присутнього в локусі IGF1, та відкладанням жиру, м'ясною продуктивністю та ознаками якості м'яса для італійських свиней порід велика біла та дюрок (Fontanesi et al., 2013).

Зазначені закономірності можуть бути породно- або навіть популяційно-специфічними. Так, у свиней великої білої породи була відзначений вірогідний зв'язок між товщиною шпику і присутністю в генотипі алелей 352 і 354 п.н. інтронного мікросателітного локусу гена LEPR, хоча у свиней породи ландрас аналогічна кореляція не відзначена. З іншого боку, у свиней породи ландрас була відзначена асоціація між присутністю алеля 251 п.н. інтронного мікросателітного локусу гена A-FABP і більш низькими оцінками товщини шпику, але більш високими оцінками змісту внутрішньом'язового жиру (Chmurzynska et al., 2004).

Крім того, в роботі (Kim et al., 2006) було показано, що для свиней породи Йоркшир 25 локусів МС-ДНК із 157 використаних в аналізі були асоційовані із середньодобовим приростом або товщиною шпику, причому 17 з них були пов'язані із обома ознаками одночасно.

Для польських свиней порід велика біла та ландрас було встановлено наявність трьох алелей за мікросателітним локусом, що присутній в гені CART – 251, 253 і 259 п.н. В усіх аналізованих популяціях свиней переважав алель 251 п.н., тоді як алель 253 п.н. зустрічався із найменшою частотою. За допомогою статистичного аналізу було виявлено значущі алельні адитивні

ефекти (для алеля 253 п.н.) у відношенні вмісту м'яса в туші та маси черевної порожнини у свиней ВБП та вмісту м'яса в туші та товщини товстої кишки у свиней породи ландрас (Stachowiak et al., 2009).

Було встановлено, що позитивний вплив на розвиток ознак, пов'язаних із загальною пристосованістю особин в популяціях диких тварин, має також рівень гетерозиготності як за окремими структурними генами і локусами МС-ДНК, так й індивідуальні оцінки мультилокусної гетерозиготності.

Прояв такого зв'язку набув визначення «кореляція між гетерозиготністю та пристосованістю» (heterozygosity-fitness correlation, HFC) і першою роботою, де було продемонстровано цей феномен є піонерське дослідження Singh & Zouros (1978) на устриці. Дві основні гіпотези було висунуто для пояснення цього феномену і обидві вони розглядають важливість таких типів міжалельної взаємодії, як домінування та наддомінування (гетерозис), а також нерівноважне зчеплення між алелями різних генів (Zouros, 1993). При цьому, оскільки було доведено, що кореляція має місце не лише із гетерозиготністю структурних генів, але й нейтральних МС-ДНК, більш обґрунтованою вважається гіпотеза «асоціативного наддомінування» (associative overdominance) (Jiang et al., 2005; Han et al., 2013).

Хоча негативні наслідки інбридингу та зниження гетерозиготності на відтворювальні якості та виживаність в популяціях диких тварин вже добре вивчено, відомо небагато досліджень щодо їх впливу на ознаки продуктивності у свійських та сільськогосподарських тварин.

Протягом останніх 20 років з'явилася низка публікацій, що розглядають вплив різних оцінок гетерозиготності (коефіцієнт інбридингу, гетерозиготність та міра d^2 як для окремих структурних генів та локусів МС-ДНК, так й їх мультилокусна оцінка) на ознаки тварин, що розводяться в штучних умовах – риб (Appleyard et al., 2001), хутрових звірів (Kashtanov et al., 2003), курей (Liu et al., 2006) та качок (Agatep, 2015), свиней (Wu et al., 2001; Liu et al., 2003; Jiang et al., 2005; Zhang et al., 2005; Iversen et al., 2019), кіз (Han et al., 2013), коней (Curik et al., 2003; Luís et al., 2007), домашніх овець (Smith et al., 2012; Valilou et al., 2016), яків (Jiang et al., 2004) та свійської худоби (Driscoll et al., 2011).

Було встановлено, що у свійських та сільськогосподарських тварин гетерозиготність вірогідно впливала на проміри тіла (Appleyard et al., 2001; Curik et al., 2003; Agatep, 2015), репродуктивні ознаки (Kashtanov et al., 2003), якість м'яса (Liu et al., 2003), вміст жиру в молоці (Jiang et al., 2004), стійкість до паразитів (Luikart et al., 2008) та хвороб (Driscoll et al., 2011; Smith et al., 2012; Valilou et al., 2016).

Але найчастіше було встановлено наявність певної асоціації між показниками гетерозиготності із живою масою та їх приростами (Wu et al., 2001; Zhang et al., 2005; Liu et al., 2006; Han et al., 2013; Iversen et al., 2019).

Наявність вірогідних зв'язків між ознаками та гетерозиготністю за окремими локусами МС-ДНК раніше було доведено для різних тварин. Так, гетерозиготність за локусом UNH146 впливала на довжину тіла та живу масу прісноводної тилапії (*Oreochromis spp.*), гетерозиготність за локусами INRA111 та BMS2847 була пов'язана із стійкістю свійської худоби до туберкульозу (Driscoll et al., 2011), а гетерозиготність за локусом BMC5221 – із стійкістю до копитної гнилі у овець (Smith et al., 2012; Valilou et al., 2016).

При цьому, цей зв'язок не завжди демонструє перевагу особин із гетерозиготним генотипом над гомозиготами, що можна було б очікувати, виходячи з теорії гетерозису. Перевагу гомозиготних особин над гетерозиготами було відмічено, наприклад, для довжини тіла тилапії (Appleyard et al., 2001). З іншого боку, вівці гомозиготні за локусом BMC5221 характеризувалися підвищеним ризиком захворіти на копитну гниль, а в групі тварин, де цю хворобу не було виявлено, навпаки, спостерігався дуже значний дефіцит гомозигот за цим локусом (Smith et al., 2012; Valilou et al., 2016).

Аналогічна ситуація мала місце і у відношенні зв'язку індивідуальних оцінок мультилокусної гетерозиготності (MLH) із ознаками продуктивності. Встановлено (Wu et al., 2001), що для свиней оцінки MLH, що були отримані для 56 локусів МС-ДНК, розташованих на 1-й, 2-й, 11-й, 13-й, 17-й та 18-й хромосомах (т.зв. геномна гетерозиготність, *genomic heterozygosity*), вірогідно та позитивно пов'язані із забійною масою та середньодобовими приростами живої маси тварин, хоча при цьому зв'язок із товщиною шпику був відсутній. Оцінки MLH, розраховані для 15 локусів МС-ДНК, були вірогідно та негативно пов'язані із кількістю легневих гельмінтів (*Protostrongylus spp.*) у диких баранів-товсторогів (Luikart et al., 2008). Також були відмічені вірогідні асоціації між індивідуальними оцінками мультилокусної гетерозиготності та живою масою, висотою у холці, довжиною тіла, обхватом грудей та обхватом п'ястка у кіз породи Tongshan Black-boned (Han et al., 2013).

В цілому, зв'язок геномної гетерозиготності із ознаками варіює від хромосоми до хромосоми, а асоціація між гетерозиготністю та продуктивністю носить скоріше нелінійний комплексний характер внаслідок складної взаємодій між окремими генами (Wu et al., 2001).

Вірогідний зв'язок також мав місце між середньою мультилокусною оцінкою міри d_2 та певними промірами тіла кобил породи Lipizzan (Curik et al., 2003). З іншого боку, вірогідної кореляції між оцінками міри d_2 та живою масою курей відмічено не було (Liu et al., 2006).

Існують також підтвердження гіпотези про те, що посилення паразитизму та чутливість до хвороб може бути наслідком зниженої гетерозиготності у популяціях диких та свійських тварин, а деякі окремі локуси можуть обумовлювати стійкість до паразитів та хвороб (Luikart et al., 2008; Driscoll et al., 2011; Smith et al., 2012). Також, індивідуальний рівень

гетерозиготності може бути використано у якості прогностичної ознаки при аналізі ростових процесів сільськогосподарських тварин (Han et al., 2013). Важливою перевагою цього підходу є те, що він може бути використаний вже на ранніх етапах онтогенезу (Agatep, 2015).

Таким чином, використання моделей, що включають оцінки гетерозиготності, призводить до більш точного відбору ремонтних тварин для селекційних цілей, що може збільшити генетичний приріст ознак продуктивності, ймовірно, внаслідок домінантної дії окремих генів (Iversen et al., 2019).

Оцінювання негативних наслідків популяційно-генетичних процесів для малочисельних та автохтонних порід

Широко використовуються мікросателіти і як інструмент для вивчення питань еволюційної генетики, особливо, для малочисельних та автохтонних порід. Наслідком популяційно-генетичних процесів (насамперед, ефекту «засновника» чи ефекту «пляшкового горлечка») може бути або зниження алельного спектру, або зниження фактичної гетерозиготності. Особливу небезпеку варто очікувати навіть не для окремих порід, а для внутрішньопородних типів. МС-ДНК також використовуються для визначення деяких популяційних показників, що пов'язані із генетико-демографічними процесами, насамперед, ефективної чисельності популяції (N_e).

ВРХ: Так, встановлено істотно більш низьку кількість ефективних алелів на мікросателітний локус у якутського худоби (Гладирь та ін., 2011) та у тварин внутрішньопородного типу «Вазуський» сичівської породи (Кольцов та ін., 2012), зниження рівня гетерозиготності для тварин породи шароле (Шкавро та ін., 2010). У всіх випадках отримані результати пояснювалися наслідками використання обмеженої кількості бугаїв-плідників з метою закріплення бажаних ознак продуктивності та специфічними умовами утримання худоби (розведення «в собі» через відсутність «прилиття крові»).

З іншого боку, наслідками популяційно-генетичних процесів можуть бути випадки прояву нерівноваги за зчепленням для мікросателітних маркерів, як, наприклад, це було встановлено при аналізі шести порід великої рогатої худоби (суксунської, істобенської, ярославської, сірої української, холмогорської порід та печорського типу холмогорської худоби). Під час цього дослідження було виявлено вірогідну нерівновагу за зчепленням для мікросателітів INRA037 та CSRM60 у популяції сірої української худоби (Киселева та ін. 2014).

Значне зниження рівня генетичного різноманіття локусів мікросателітів (насамперед, внаслідок дії ефекту «пляшкового горлечка») було відмічено в популяціях різних тварин роду *Bos*, але найчастіше статистично довести, що фактичний рівень генетичного різноманіття в дослідженій популяції

зумовлений негативними наслідками певних популяційно-генетичних процесів, що мали місце в минулому, все ж таки вдається не завжди.

**Випадки наявності/відсутності прояву ефекту «пляшкового горлечка» в
різноманітних популяціях тварин роду *Bos***

Порода	Вид	Країна	Джерело
<i>Ефект «пляшкового горлечка» встановлено</i>			
Japanese Black cattle	<i>B. taurus</i>	Японія	Sasazaki et al., 2004
Gangatiri cattle	<i>B. indicus</i>	Індія	Sarma et al., 2006
Nellore	<i>B. indicus</i>	Бразилія	Barbosa et al., 2012
Бантенг	<i>B. javanicus</i>	Австралія	Bradshaw et al., 2007
<i>Ефект «пляшкового горлечка» не встановлено</i>			
Sheko cattle	<i>B. taurus</i>	Ефіопія	Dadi et al., 2009
Icelandic cattle	<i>B. taurus</i>	Ісландія	Asbjarnardottir et al., 2010
Istrian cattle	<i>B. taurus</i>	Хорватія	Ivankovic et al., 2011
Anatolian Black, Anatolian Grey, South Anatolian Red, Native Southern Anatolian Yellow, East Anatolian Red, Zavot cattle	<i>B. taurus</i>	Турція	Ozsensoy, Kurar, 2014
Thaprarkar	<i>B. indicus</i>	Індія	Sodhi et al., 2006
Kenkatha	<i>B. indicus</i>	Індія	Pandey et al., 2006
Kherigarh	<i>B. indicus</i>	Індія	Pandey et al., 2006a
Grey cattle	<i>B. indicus</i>	Індія	Deepika, Salar, 2012
Umblachery	<i>B. indicus</i>	Індія	Thiagarajan, 2012
Pulikulam cattle	<i>B. indicus</i>	Індія	Barani et al., 2015
Mithun	<i>B. frontalis</i>	Китай	Qu et al., 2012

Поза межами вразливості (тобто, $N_e > 500$) знаходяться лише широко розповсюджені породи, такі як, шароле (Charolaise), лімузин (Limousine) та американський червоний ангус (American Red Angus). Навіть для такої поширеної в світі м'ясної породи, як герефорд (Hereford), оцінка ефективної чисельності складає лише 60-90 голів (Cleveland et al., 2005; McParland et al., 2007), а для абердин-ангусів в США – навіть 30 голів (Falleiro et al., 2014).

Майже на межі зникнення ($N_e < 50$) знаходиться низка м'ясних порід ВРХ, що мають дуже обмежене поширення; такі як, Alentejana та Mertolenga в Португалії, регіональні м'ясні породи Іспанії, японська Japanese Black порода.

Але мабуть найбільш загрозливе становище серед порід ВРХ має молочна порода Wagyu cattle (у США), оцінка ефективної чисельності для

якої складає лише 17 голів (із межами від 2 до 43 особин) (Scraggs et al., 2014).

Показники ефективної чисельності популяції (N_e) для різних популяцій м'ясних порід ВРХ та зебу, голів

Порода	Країна	N_e (min – max)	Джерело
Aberdeen Angus	США	30	Falleiro et al., 2014
Alentejana	Португалія	23	Carolino et al., 2007
American Red Angus	США	429 (369...459)	Marquez et al., 2009
Beef cattle breeds	Іспанія	58 (21...123)	Gutierrez et al., 2003
Beef cattle breeds	Італія	129 (20...256)	Torrecillas et al., 2002
Braunvieh	Австрія	109	Sölkner et al., 1998
Charolaise	Франція	501 (198...958)	Leroy et al., 2013
Charolaise	країни Європи	432 (244...558)	Bouquet et al., 2011
Grauvieh	Австрія	72	Sölkner et al., 1998
Hereford	США	85	Cleveland et al., 2005
Hereford	Ірландія	64	McParland et al., 2007
Japanese Black	Японія	30 (13...52)	Nomura et al., 2001
Limousine	Франція	376 (168...740)	Leroy et al., 2013
Limousine	країни Європи	1490 (345...2459)	Bouquet et al., 2011
Mertolenga	Португалія	25	Carolino et al., 2004
Nellore	Бразилія	200 (80..500)	Barbosa et al., 2012
Nellore	Бразилія	153 (101..245)	Brito et al., 2013
Pinzgauer	Австрія	232	Sölkner et al., 1998
Simmental	Австрія	258	Sölkner et al., 1998
Simmental	Ірландія	127	McParland et al., 2007
Південна м'ясна	Україна	131 (82...195)	Крамаренко, 2015

Свині: Було встановлено, що для найбільш поширеної в Світі комерційної великої білої породи оцінки ефективної чисельності популяції були відносно невеликі – для популяції з Литви $N_e = 20...38$ голів (Šveistienė et al., 2013), Чехії – $N_e = 50$ голів (Krupa et al., 2015), Бразилії – $N_e = 40$ голів (Zanella et al., 2016).

Приблизно такого ж рівня були отримані оцінки ефективної чисельності й для локальних порід свиней – бразильських свиней породи Moura $N_e = 30$ голів (Carneiro et al., 2014), свиней Cinta Senese з Італії $N_e = 40$ голів (Crovetto et al., 2013). Хоча для іберійських локальних порід свиней ці оцінки були трохи вище – $N_e = 46...151$ голів (Herrero-Medrano et al., 2013).

З іншого боку, оцінки ефективної чисельності, отримані для природних популяцій дикого кабана (*Sus scrofa* L., 1758), навпаки, свідчать про їх задовільний стан – для Іспанії / Португалії: $N_e = 180$ голів (Herrero-Medrano et al., 2013), а для Австралії: $N_e = 960...1477$ особин (Cowled et al., 2008).

Оцінка відповідності якості готових м'ясних продуктів породному походженню сировини (traceability)

Реальна інформація про джерело походження певного м'ясного продукту є важливим фактором забезпечення харчової безпеки. Основним способом вирішення цього питання зараз є аналіз за допомогою методів молекулярної генетики (найчастіше, на підставі 10...20 локусів МС-ДНК) зразків з живої тварини (певної породи) та зразків, відібраних з готового м'ясного продукту. Єдиним способом визначити походження м'яса та м'ясних продуктів є доведення ідентичності обох генотипів для кожного аналізованого мікросателітного локусу (Blasi et al., 2003).

Так, за існуючими іспанським законодавством свині, які використовуються в якості сировини для приготування національних м'ясних продуктів (наприклад, іберійської шинки), повинні мати специфічну генетичну структуру. Тільки порода дюрка дозволяється для схрещування з свинями іберійської породи, причому, максимум до 50% генома дюрка допускається у тварин, що використовуються для виготовлення цієї шинки. В статті (García et al., 2006) наведено описання набору статистичних процедур, що дозволяють визначити «породний» склад іберійської шинки на підставі мультилокусного аналізу шляхом ампліфікації з використанням 25 мікросателітних маркерів. Запропонована процедура дозволила виявити до 20% зразків шинки з генетичним «породним» складом, несумісним із чинним законодавством – або тому, що геном дюрка був присутній у відсотках, більших за дозволений, або через значну присутність (> 25%) геному свиней ВБП.

Аналогічні дослідження було проведено для визначення генетичної композиції м'ясної сировини у відношенні відповідності її походження від локальної чорної породи свиней Чеджу (Jeju black pig) з використанням 13 локусів МС-ДНК (Oh et al., 2014).

СПИСОК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Вдовиченко Ю., Жарук П. Генетичні ресурси овець в Україні. *Вісник аграрної науки*. 2019. Т. 97, № 5. С. 38-44.
2. Войтенко С., Сидоренко О. Збереження генофонду та підвищення продуктивності худоби білоголової української породи. *Вісник аграрної науки*. 2021. Т. 99, № 2. С. 41–51.
3. Войтенко С. Л., Порхун М. Г., Сидоренко О. В., Ільницька Т. Є. Генетичні ресурси сільськогосподарських тварин України на початку третього тисячоліття. *Розведення і генетика тварин*. 2019. Вип. 58. С. 110-119.
4. Гладій М. В., Полупан Ю. П., Ковтун С. І., Кузубний С. В., Вишневський Л. В., Копилов К. В., Щербак О. В. Наукові та організаційні аспекти розведення, генетики, біотехнології та збереження генофонду у тваринництві. *Розведення і генетика тварин*. 2018. Вип. 56. С. 5-14.
5. Дзіцюк В. В., Типило Х. Т., Гузеватий О. Є. *Цитогенетика сільськогосподарських і домашніх тварин* : монографія. Київ : Аграрна наука, 2021. 127 с.
6. Кругляк О. В. Генетичні ресурси молочного скотарства України. *Економіка АПК*. 2018. № 1. С. 33-39.
7. *Методологія оцінки генотипу тварин за молекулярно-генетичними маркерами у тваринництві України* : монографія / К. В. Копилов, О. М. Жукорський, К. В. Копилова та ін.; за наук. ред. акад. НААН М. В. Гладія. Київ : Аграрна наука, 2015. 208 с.
8. Почукалін А. Є., Прийма С. В., Різун В. Забезпеченість генетичними ресурсами скотарства України. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія «Тваринництво»*. 2022. № 1. С. 59-64.
9. *Селекційно-генетичний моніторинг у конярстві* / за ред. І. В. Ткачової. Київ : Аграрна наука, 2018. 204 с.
10. Сідашова С. О., Ковтун С. І. Генетичні ресурси племінних молочних стад: селекційний потенціал кращих корів та ефективність їх відтворення. *Розведення і генетика тварин*. 2018. Вип. 55. С. 209-219.
11. Супрун І. Генетичні ресурси рисистого конярства в Україні. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія «Тваринництво»*. 2020. № 3. С. 67-76.
12. Хмельничий Л. М., Павленко Ю. М. Генетичні маркери в селекції та збереженні генофонду бурої худоби Сумського регіону. *Вісник Сумського національного аграрного університету. Серія «Тваринництво»*. 2021. № 3. С. 3-6.
13. *The Genetics of the Pig* / Edited by M.Rothschild & A.Ruvinsky. CABI Publishing, 2011. 520 p.
14. *The Genetics of Cattle* / Edited by D.Garrick & A.Ruvinsky. CABI Publishing, 2014. 634 p.

Навчальне видання

Генетичні ресурси сільськогосподарських тварин

Методичні рекомендації

Укладач: **Крамаренко** Олександр Сергійович

Формат 60 × 84/16. Ум. друк. арк. 2,0.
Тираж 25 прим. Зам. №523.

Надруковано у видавничому відділі
Миколаївського національного аграрного університету
54020, м. Миколаїв, вул. Георгія Гонгадзе, 9

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4490 від 20.02.2013 р.