



УДК 575.577.636.1

ОЦІНКА ГЕНЕТИЧНИХ ДИСТАНЦІЙ МІЖ ПОПУЛЯЦІЯМИ КОНЕЙ ЗА ВИКОРИСТАННЯ ISSR-МАРКЕРІВ

Куриленко Ю. Ф., аспірант,
Супрун І. О., к. с.-г. н., доцент

Національний університет біоресурсів і природокористування України

У цій науковій роботі проведено оцінку генетичного різноманіття 128 представників 5-и популяцій коней (арабська порода, орловська рисиста, новоолександрівська ваговозна, чистокровна верхова, коні Пржевальського) за використання двох ISSR-маркерних систем на основі праймерів (AGC)6G та (ACC)6G. Проведено визначення філогенетичної дистанції між вказаними породами та кінськими Пржевальського. Установлено, що зазначені маркерні системи можуть бути використані для визначення генетичної відстані між породами й пошуку філогенетичних зв'язків. Використання цих маркерів також дасть змогу розширити та накопичувати інформацію про генетичну варіацію серед порід коней.

Ключові слова: порода коней, походження, кластер, ISSR-типсування, рівень поліморфізму, генетична дистанція.

Породи сільськогосподарських тварин сформувалися протягом тривалого періоду людської праці та природного добору. Різні напрями продуктивності та численні породи певного напрямку є результатом соціально-економічних чинників, оскільки були створені, щоб відповідати людським потребам та природно-кліматичним чинникам, як наслідок – пристосування у процесі еволюції. Наявність генетичної різноманітності серед порід свійських тварин, сформована в еволюційному процесі у відповідь на хвороби, зміни в довкіллі чи ринкові умови, дають змогу розвивати нове використання молекулярних маркерів для її оцінки.

До того ж, втрата генетичної різноманітності серед порід свійських тварин є втратою історії цивілізації. Упродовж останніх років завдяки низки науковців у всьому світі було зроблено важливий вклад у вивчення генетичної дистанції між породами окремих видів сільськогосподарських тварин.

Характеристика генетичної структури популяції може стати першим кроком у напрямі збереження породи і її відновлення, і сприяє здійсненню програм розведення [24]. Її оцінка особливо важлива в країнах (в Україні) де ідентифікація коней завдяки генетичним дослідженням не вирішена на законодавчому рівні. Хоча відповідно до вимог Міжнародного комітету з племінних книг (ISBC), ISAG/FAO генотипування чистокровних верхових коней на підтвердження походження та ідентифікацію необхідно проводити за STR-маркерами. Фенотипічні чи морфологічні відмінності між породами добре описані, проте генофондні відмінності досі залишаються мало дослідженими [6].

Генетичні маркери забезпечують інформацію про поліморфізм певних локусів. Використання молекулярних маркерів для вивчення генетичного різноманіття дає нам інформацію як про спорідненість між породами та їх походження, так і процес одомашнення видів у цілому.

Головним чином дослідження генетичної різноманітності, генетичної відстані між породами та філогенетичного зв'язку між ними проводилися за використання мікросателітних маркерів. Оскільки поліморфні мікросателітні повтори зустрічаються в еукаріотичному геномі, вони є важливими маркерами для порівняння генетичної варіації, ідентифікації походження, і дрейфу генів [14, 20, 21,



39] і донедавна були найбільш уживаними маркерами для аналізу структури популяції диких і одомашнених видів [16, 28, 35].

Попередниками використання мікросателітних маркерів для визначення генетичної різноманітності порід та встановлення походження і породної належності були поліморфізм білків, групи крові [12]. Удосконалення ДНК-технологій дозволило застосовувати передові методи ідентифікації.

Мікросателітні маркери широко застосовувалися для картування локусів кількісних ознак, що пов'язані з продуктивними чи функціональними особливостями тварин [22, 30]. Детальні наукові результати використання молекулярних маркерів для оцінки генетичного різноманіття та ідентифікації економічно важливих ознак у тваринництві представлені на даний час для різних сільськогосподарських видів [7, 16, 30].

Аналіз спектрів продуктів ампліфікації, що знаходяться між мікросателітними повторами було використано для ідентифікації міжвидових та міжпородних відмінностей великої рогатої худоби, яків, овець, оленів [6, 11, 29].

Мікросателітні ДНК-маркери були успішно застосовані для ідентифікації походження коней [17, 38]. Коні багатьох порід в усьому світі були прогенотиповані за мікросателітами з метою вивчення генетичного різноманіття та встановлення філогенетичних зв'язків популяцій коней користуючись цим типом маркерів, у тому числі коні Пржевальського [23, 26], Іспанської Кельтської породи [10, 18], Норвезької породи [14] і різних Європейських і Азіатських порід [20, 24, 27, 39, 41].

Використання маркерів, у межах вивчення різноманітності, дає змогу поглиблення знань про походження й розвиток видів тварин та породотворні процеси [23].

Проте, мікросателітні маркерні системи можуть не бути ефективними для аналізу аборигенних порід через недостатність вивчення їх геномів відносно нуклеотидної послідовності мікросателітних алелів та їх частот. Висока вартість обладнання та стандартних наборів маркерів також робить їх використання проблематичним для масового застосування.

Поряд із широко застосовуваними мікросателітними маркерами для досліджень генетичної різноманітності використовують і такі унікальні, як AFLP, mtDNA та маркери Y-хромосоми.

Аналіз мітохондріальної ДНК та AFLP-фінгерпринт також допомагає пояснити процеси одомашнення сучасних свійських тварин [13, 31] та висвітлює деякий паралелізм у проблемах, пов'язаних зі спорідненістю та збереженням свійських і диких видів [37].

Завдяки цьому виду маркерів японськими вченими [23] було оцінено генетичну різноманітність порід коней та висвітлено філогенетичні зв'язки між азійськими породами коней, які дещо суперечать даним про географічну міграцію [33, 39].

Одним із варіантів є ампліфікація міжмікросателітних фрагментів ДНК, які розташовані між двома інвертованими SSR-локусами геному – ISSR-PCR [15, 42]. ISSR-типування (Inter – SimpleSequenceRepeat) базується на використанні праймерів комплементарних обраному мікросателітному мотиву [1, 3]. Порівняно з іншими методами мультилокусного профілювання, він характеризується кращою відтворюваністю і ефективно використовується для виявлення внутрішньовидової та міжвидової генетичної мінливості, ідентифікації видів та популяцій [5, 6].

У геномах рослин і тварин кількість повторів мікросателітів дуже велика, що робить ISSR-метод дуже ефективним і зручним у генетичному аналізі. Послі-



довності мікросателітів оточують багато генів і вони можуть бути використані як якірні послідовності до цих генів. Цей метод почав розвиватися в 1994 р., а до теперішнього часу отримав широке розповсюдження, особливо в дослідженнях генотипів різних видів рослин, для картування геномів і маркування агрономічно важливих ознак [2, 3, 15, 36].

Продукти ISSR ампліфікації утримують на флангах інвертовану мікросателітну послідовність праймеру. Порівняно з RAPD-методом збільшується точність відпалу і зменшується його “випадковість” або анонімність. Як і RAPD, ISSR не вимагає попереднього клонування і секвенування фрагментів для підбору праймерів. Метод відтворюваний в чітких умовах реакції. Послідовність ISSR-праймерів підбирається дуже ретельно, а в аналізі використовуються лише “яскраві” продукти ISSR ампліфікації.

Ця технологія більш придатна для вивчення унікальних порід, де послідовності нуклеотидів невідомі, і менш вартісна, ніж SSR-ПЛР-технологія. Метод ампліфікації інтермікросателітних фрагментів ДНК дає змогу оцінити мінливість геному між двома інвертованими SSR-локусами [1, 3, 4, 5, 9, 43]. ISSR-ПЛР характеризується високою відтворюваністю і може бути використаний для дослідження генетичної варіації у породах та між породами, дає можливість ідентифікацію видів та популяцій, порівняно з іншими методами полілокусного спрямування [1, 2, 4, 5, 6, 8, 9].

Як і у вівчарстві, скотарстві та свинарстві вивчення генетичної різноманітності порід коней здійснюється, як правило, у національному та регіональному масштабах без залучення дослідження генетичних ресурсів з інших регіонів. Для більш глибокого й узагальненого розуміння різноманітності різних видів свійських тварин необхідно залучення різних зразків генетичного матеріалу і застосування стандартного набору маркерів. Тоді стає можливим комбінування результатів, отриманих після аналізу в різних регіонах та у межах мета-аналізів.

Окрім цього, такий аналіз генетичного різноманіття та генетичної дистанції між породами, за використання різних типів маркерів, дає можливість розстановки пріоритетів при вирішенні проблеми збереження окремих порід.

Отже, визначення генетичного поліморфізму у межах популяцій є важливою складовою підтримки породи і репродуктивних програм багатьох сільськогосподарських видів, у тому числі коней.

Метою наших наукових досліджень була оцінка та аналіз міжпородного генетичного поліморфізму коней за використання ISSR-маркерів, генетичної дистанції між породами свійських коней, свійськими і дикими кінями та визначення філогенетичних зв'язків між ними. Згідно даної мети було поставлено завдання оцінити ефективність застосування ISSR-маркерів для аналізу міжпородної диференціації коней, їхньої придатності для ідентифікації коней та визначення філогенетичних зв'язків між породами коней.

Матеріали та методи досліджень. Для проведення досліджень було відібрано зразки біологічного матеріалу від 128 представників 5-и популяцій коней (арабська порода ($n = 16$), орловська рисиста ($n = 32$), новоолександрівська вагозна ($n = 32$), чистокровна верхова ($n = 32$), коні Пржевальського ($n = 16$). Геному ДНК виділяли із крові та волосяних фолікулів коней з власними модифікаціями за допомогою комплексу реактивів «ДНК-сорб В» (Ампупі Сенс, Росія) [19].

Концентрацію ДНК і ступінь її чистоти визначали за допомогою приладу NanoDrop (ThermoFisherScientific, Німеччина). Усі проби доводили до робочої концентрації 20 нг/мкл.

Ампліфікацію проводили на ампліфікаторі “ThermalCycle” (Росія) за таким



температурним режимом: початкова денатурація – 4 хв за температури 94°C; 32 цикли: 30 с за 94°C, 30 с за 58°C, 2 хв за 72°C; термінальна елонгація – 5 хв за 72°C.

Реакційна суміш об'ємом 20 мкл містила: 67 мМ Tris-HCl (рН 8,8), 17 мМ (NH₄)₂SO₄, 0,01 % Tween-20, 0,2 мМдНТФ, 1,0 одн. Таг-полімерази, 40-80 нг ДНК, 1,5-1,8 мМMgCl₂ і 0,4-0,5 мкМпраймера. Оптимальну концентрацію кожного з компонентів реакції підбирали експериментально.

Електрофоретичне розділення продуктів ампліфікації проводили у 1,5% агарозному гелі за використання 0,5 × TBE-буферу за постійної напруги 100В протягом 80 хв. Після закінчення електрофорезу гель обробляли бромистим етидієм (0,5 мкг/мл), візуалізували під УФ-променями і фотографували цифровою камерою Panasonic DMC-FS42. Для визначання молекулярної маси використовували маркер GeneRuler 100 bp ("Fermentas", Литва). QuantityOne (Bio-Rad Laboratories, США) програмне забезпечення було використані для ідентифікації фрагментів, визначення їх кількості та розмірів.

Результати електрофоретичного розподілу продуктів ПЛР було переведено у бінарний вигляд: 1 - присутність, 0 - відсутність локусу (фрагмент) у належному місці на треку. Враховувались лише фрагменти, які були чітко представлені в щонайменше двох різних експериментах у тому ж розташуванні, такі вважались ідентичними. Отримані матриці були використані для подальшого аналізу в програмі GenAlEx 6 [34]. У цій програмі було розраховано загальну кількість отриманих локусів (n_{loc}), кількість поліморфних локусів (n_p), відсоток поліморфних локусів, загальну та ефективну кількість алелів, очікувану гетерозиготність та індекс гетерогенності Шеннона.

Аналіз генетичних взаємовідносин між дослідженими тваринами проводили за використання індексів генетичної схожості і генетичних відстаней. Наочно оцінити генетичні взаємозв'язки, які існують між порівнюваними популяціями дав можливість провести кластерний аналіз методом UPGMA із наступною побудовою графіка-дендрограми. Для побудови дендрограми нами застосовано матрицю індексів генетичної схожості між популяціями тварин, розрахованих на основі частот алелей за системами ISSR-S2, S10, яка була основою для комп'ютерної обробки у програмі "Treecon1.3b". За допомогою цієї програми на основі складених матриць розраховується матриця генетичних відмінностей.

На підставі отриманої матриці за ISSR-спектрами незваженим парногруповим методом (UPGMA) або методом найближчого зв'язування (NJ) будували дендрограму, яка відображає ступінь спорідненості досліджуваних популяцій. Для побудови дендрограми використовували комп'ютерну програму "Treecon 1.3 b" зі застосуванням 100 реплік Bootstrap [32, 40].

Результати досліджень. Використання двох ISSR-систем за використання праймерів (AGC)6G та (ACC)6G дало змогу отримати генетико-популяційні характеристики 5-и популяцій коней та оцінити ступінь їх генетичної диференціації.

Структуру дендрограми складають два кластери: перший сформований кінськими верхового та запряжного типів і другий представниками ваговозного напрямку продуктивності. Таким чином, до одного кластеру увійшли представники верхових та легкозапряжних порід.

За результатами кластерного аналізу, окрему кластерну гілку сформували представники новоолександрівської ваговозної породи. До іншого окремого підкластеру увійшли арабська та чистокровна верхова порода. Таке формування підкластерів та їх відгалужень може виступати на користь розробленої маркерної системи, котра дає можливість отримати картину генетичних відносин між популяці-



ями, яка не відрізняється від історії створення порід та їх генеалогічними й історичними зв'язками. У даному випадку, коні-представники порід одного напрямку продуктивності, виведені за спільною участю окремих порід, згідно з кластерним аналізом, виявилися більш наближеними до представників цієї породи-поліпшувача, а окремий кластер сформували коні вагвозного напрямку продуктивності, створення й подальше становлення яких відбувалося без участі жодної іншої з представлених в аналізі порід. Таким чином, об'єднувальним чинником виступають генетичні детермінанти, що пов'язані з подібними адаптивними характеристиками цих тварин.

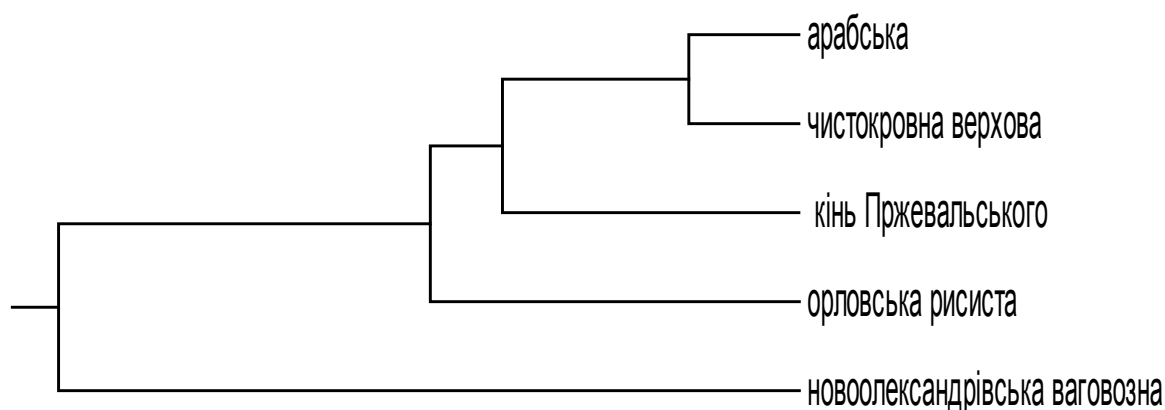


Рис. 1. Дендродіаграма генетичних дистанцій між дослідженими популяціями коней, побудована за поліморфізмом ISSR-маркерів.

Значну зацікавленість викликає той факт, що до підкластеру з верховими породами увійшли коні Пржевальського. Ми припускаємо, що особливості генетичної структури диких коней, що є закритою популяцією, збереглися на тому еволюційному рівні, коли формувалася найдавніша у світі арабська порода, яка теж тривалий період зберігається в чистоті. Саме тому між популяціями коней Пржевальського та арабської порід збереглася тісна генетична схожість, що підтверджується й розрахованими індексами генетичної схожості (0,847).

Розрахунок рівня генетичної схожості продемонстрував (табл.), що найбільш подібними в генетичному відношенні є коні чистокровної верхової та арабської порід, що належать до одного напрямку використання (0,948), а мінімальний рівень схожості зафіксовано між кіньми вагвозного напрямку продуктивності та кіньми Пржевальського (0,682).



Таблиця

Індекси генетичних відстаней (під діагоналлю) та генетичної подібності (над діагоналлю) між тваринами різних порід, розраховані за даними ISSR-ПЛР аналізу

Порода	А	П	ОР	НВ	ЧВ
Арабська (А)	-	0,847	0,865	0,738	0,948
Коні Пржевальського (П)	0,166	-	0,815	0,682	0,907
Орловська рисиста (ОР)	0,146	0,205	-	0,713	0,871
Новоолександрівська ваговозна (НВ)	0,304	0,383	0,338	-	0,759
Чистокровна верхова (ЧВ)	0,053	0,097	0,138	0,276	-

Визначення генетичної відстані між різними породами із залученням додатково ще двох верхових порід теж свідчить на користь використаної маркерної системи. Оскільки отримана картина генетичних відносин популяцій (рис 2.) не розходиться з історією створення порід та їх генеалогічних зв'язків. Так, до одного з підкласерів увійшли представники орловської рисистої породи (легкозапряжні коні) та української верхової породи, що може бути пояснено значним впливом орловської рисистої породи на формування генетичної структури української верхової породи.

Логічним є об'єднання представників чистокровної верхової та арабської порід, а також тракєнєнської та української верхової порід у відокремлені підкластери. Оскільки чистокровну верхову виведено на основі арабської породи. І обидві популяції тривалий час є закритими, що селекціонуються в чистоті. Так само й українська верхова та орловська рисиста породи створено за участю напівкровних верхових порід, виведених на основі чистокровної верхової породи. Це також може свідчити про значний рівень впливу порід європейського походження на генетичні особливості коней вітчизняної селекції.

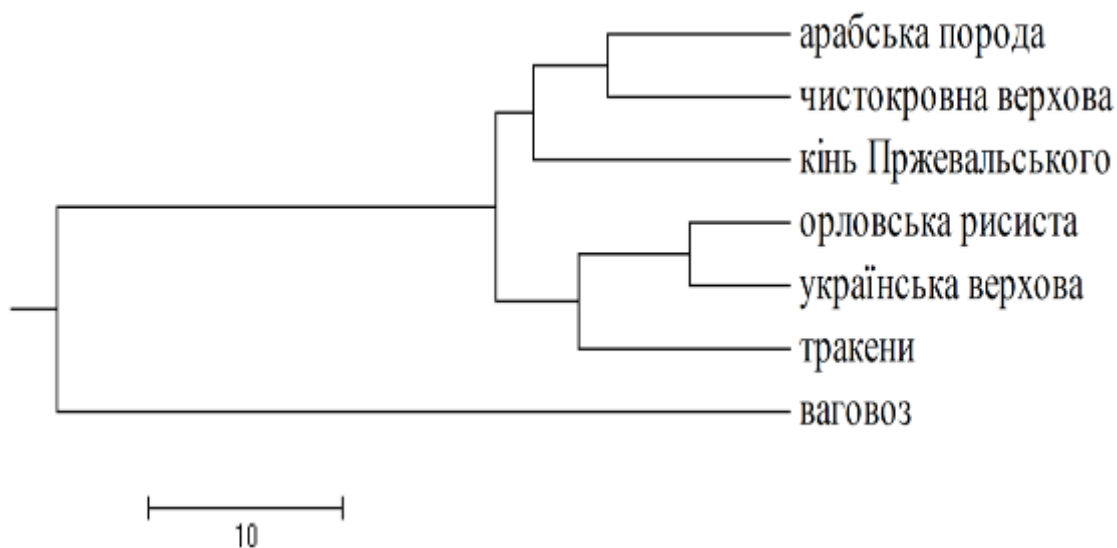


Рис. 2. Дендрограма генетичних дистанцій між дослідженими популяціями коней, побудована за поліморфізмом ISSR-маркерів.



Висновок. Таким чином, ISSR-типунання може бути зручним методом оцінки ступеня міжпородної диференціації та генетичної структури порід. Виявлені закономірності узгоджуються з історією створення піддослідних порід та особливостями селекційної роботи з ними.

ISSR-маркери ДНК були застосовані для визначення поліморфізму й генетичної різноманітності в рослинництві, але вони не настільки поширені у тваринництві. Цей вид маркерів придатний і достатньо інформативний з огляду на визначення поліморфізму і генетичної відстані між породами в конярстві.

Апробовані ISSR-маркерні системи виявили достатній рівень поліморфізму для вивчення внутрішньовидової мінливості коней, що може бути використано для виявлення генофондних відмінностей у різних порід коней і, відповідно, для оцінки ймовірності породної приналежності тварин невідомого походження та встановлення філогенетичних зв'язків між породами.

Бібліографічний список

1. Бардуков Н. В. Профили ДНК-маркеров (ISSR-PCR) у лошадей рысистых пород / Н. В. Бардуков, Г. К. Коновалова, В. И. Глазко // Изв. ТСХА. – 2010. – № 6. – С. 152–157.
2. Воронкова В. Н. Сравнительный анализ информативности ISSR-маркеров для оценки генетического разнообразия пород лошадей / В. Н. Воронкова, ЦэндсүрэнЦэдэв, Г.Е. Сулимова // Генетика. – 2011. – Т.47, № 8. – С. 1131 – 1134.
3. Глазко В. И. Введение в ДНК технологии и биоинформатику : [под ред. Т.Т. Глазко] / В. И. Глазко, Г. В. Глазко. – К.: 2001. – 544 с.
4. Дубін О. В. Генетична диференціація геномів за маркерами ISSR-PCR та RAPD-PCR : дис. ... к.с.-г. наук : 03.00.15 / Дубін Олексій Вікторович. – Чубинське, 2009. – 154 с.
5. Метлицька О. І. Методологія ДНК-паспортизації генофондів сільськогосподарських тварин за гіперваріабельними локусами геному : дис. ... д-ра с.-г. наук : 03.00.15 / Метлицька Олена Іванівна. – Полтава, 2012. – 382 с.
6. Применение межмикросателлитного анализа ДНК для оценки популяционной структуры, идентификации и сходства генофондов пород и видов домашних животных / Ю. А. Столповский, О. Е. Лазебный, К. Ю. Столповский [и др.] // Генетика. – 2010. – Т.46, № 6. – С. 825 – 833.
7. Сидоренко О. В. Поліморфізм генів рецепторів естрогену (ESR) і меланокортину-4 (MC4R) у свиней : дис. ... к.с.-г. наук : 03.00.15 / Сидоренко Олена Василівна. – Чубинське, 2011. – 125 с.
8. Феофилов А. В. Дифференциация генофондов алтайской и рысистых пород лошадей по ISSR-PCR маркерам / А. В. Феофилов, Н. В. Бардуков, В. И. Глазко // Генетика. – 2011. – Т.47, № 9. – С. 1230 – 1235.
9. Шостак Л. В. Генетичний поліморфізм російського осетра (*Acipenser gueldenstaedtii*): автореф. дис. на здобуття наук. ступеня к.с.-г. наук : 03.00.15 / Л. В. Шостак. – Київ: Чубинське, 2012. – 22.
10. Arranz J. J. Genetic relationships among Spanish sheep using microsatellites / J. J. Arranz, N. Y. Bayo, F. Sanprimitivo // Anim. Genet. – 1998: 29:435–440.
11. Azari M. InterMicrosatellite PCR Implication for Genetic Diversity Study of 12 Cattle and Yak Breeds / Azari M., Lazebnyi O.E., Sulimova G.E. // Otkrytoe Obrazovanie. – 2006. – 3:50-52.
12. Baumung, R. Genetic diversity studies in farm animals – a survey /, R. Baumung, H. Simianer, I. Hoffmann // J. Anim. Breed. And Genet. – 2004: 121, 361-



373.

13. The origin of European cattle: Evidence from modern and ancient DNA / Beja-Pereira A., Caramelli D., Lalueza-Fox C. [et all] // Proceedings of the National Academy of Science USA. – 2006: 103, 8113–8118.

14. Bjornstad G. E. Roed Genetic structure of Norwegian horse breeds / G. E. Bjornstad, K. H. Gunbyand // J. Anim. Breed. Genet. – 2000:117, 307–317.

15. Bornet B. Highly informative nature of inter simples equencerepe at (ISSR) sequence simplified using tri and tetra- nucleotide primers from DNA of cauliflower (*Brassicaoleraceavar. botrytis* L.) / B. Bornet, C. Muller, F. Paulus, M. Branchard // Genome. – 2002. – V. 45. – P. 890-896.

16. High resolution of human evolutionary trees with polymorphic microsatellites / Bowcock A. M., Ruiz-Linares A., Tomfohrde J. [et all] // Nature. – 1994: 368:455–457.

17. Bowling, A. T. Blood group and protein polymorphism gene frequencies for seven breeds of horses in the United States / Bowling, A. T.; Clark, R. S. // Anim. Blood Grps. Biochem. Genet. 1985:16:93–108.

18. The genetic structure of Spanish Celtic horse breeds inferred from microsatellite data / Canon J., Checa M. L.; Carleo S. C. [et all] // Anim. Genet. . – 2000: 31:39–48.

19. Carter, M. J. An inexpensive and simple method for DNA purifications on silica particles / Carter M. J., Milton I. D. // Nucleic Acids Res. – 1993. – Vol. 21: 1044-1046.

20. Cunningham E. P. Microsatellite diversity, pedigree relatedness and the contributions off ounder line ages to thorough bred horses / Cunningham E. P, Dooley J. J., Splan R.K. and Bradley D.G. // Anim Genet. – 2001. – 32:360–364.

21. Erhardt G. Use of molecular markers for evflution of genetic diversity in animfl production Arch. / Erhardt G., Weimann C. // Latinoam. Prod. Anim. . – 2007. – Vol. 15 (Supl. 1).

22. Interval mapping QTLs controlling some morphological traits in pea / Hiendleder S., Thomsen H. Reinsch N. [et all] // Cellular & Molecular Biology Letters. – 2002. – V. 7. – P. 417–422.

23. Mitochondrial DNA sequences of various species of the genus *Equus* with special reference to the phylogenetic relation ship between *Przewalskii's* wild horse and domestic horse / Ishida N., Oyunsuren T., Mashima S. [et all] // J. Mol. Evol . – 1995. – 41:180–188.

24. Genetic Structure and Phylogenetic Relationships of the Polish Heavy Horse / Iwanczyk E., Juras R., Cholewinski G. [et all] // J. Appl. Genet. – 2006. – Vol. 47, 4: 353–359.

25. Geographic distribution of haplotypes diversity at the bovine case in locus / Jann O.C., Ibeagha-Awemu E.M., Ozbeyaz C., [et all] // Genetic Selection and Evolution. – (2004): 36, 243–257.

26. Kavar T. Domestication of the horse: Genetic relationships between domestic and wild horses / Kavar T., Dovic P. // Livest Sci. – 2008:116(1–3);1–14.

27. Khanshour Anas M. and Ernest Gus Cothran Khanshour and Cothran Maternal phylogenetic relationships and genetic variation among Arabian horse populations using whole mitochondrial DNA D-loop sequencing BMC // Genetics . – 2013. – 14:83.

28. Phylogenetic relationships of Cheju horses to other horse breeds as determined by mtDNA D-loop sequence polymorphism / Kim K. I., Yang Y. H., Lee S. S.[et all] // AnimGenet. – 1999. –30(2):102–108.



29. Kol N.V. Polymorphism of ISSR–PCR Markers in Tuvian Population of Reindeer Rangifertarandus: Russ // Kol N.V., Lazebnyi O.E. // J. Genet. – 2006. – Vol. 42, 12: 1464–1466.
30. Quantitative trait loci mapping of functional trait sin the German Holstein cattle population / Kühn, C., Bennewitz, J., Reinsch, N., [et all] // J. Dairy Sci. – 2003. – 86: 360–368.
31. The European Cattle Genetic Diversity consortium Differentiation of European Cattle by AFLP fingerprinting / Negrini R., Nijmann I.J., Milanesi E. [et all] // Anim. Genet. – 2007: 38, 60-66.
32. Nei M. Mathematical model for studying genetic variation in terms restriction end nucleases / Nei M. and Li W.-H. // Proceedings the National Academy Sciences. – USA, 1979. – 76. – P. 5269–5273.
33. Phylogenetic relationships among Japanese native and alien horses estimated by protein polymorphisms / Nozawa K.; Shotake T.; Ito S. [et all] // J. Equine Sci. . – 9:53–69.
34. Peacall R. GENALEX 6: genetic analisys in Excel Population genetic software and research / Peacall, R., Smouse, P.E. // Molecula Ecology Notes, 2006. – 6: 288-295.
35. The ECONOGEN Consortium Geneticdiversityandsubdivisionof 57 Europeanand Middle-Eastern sheepbreeds / Peter, C., Bruford, M., Perez, T. [et all] // AnimalGenetics. – 2007: 38, 37–44.
36. RAPD and ISSR Fingerprints for Analysis of Genetic Diversity, Varietal Identification, and Phylogenetic Relationships in Peanut (Arachishypogaea) Cultivars and Wild Species / Raina S. N., Rani V., Kojima T. [et al.] // Genome. – 2001. – Vol. 44, 5:763–772.
37. Are cattle, sheep, and goats endangered species? / Taberlet P., Valentini A., Rezaei H.R., Naderi S., Pompanon F., Negrini R., Ajmone-Marsan P. // Molecular Ecology, in press. – (2007):
38. Takezaki N. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA / Takezaki N., Nei M., // Genetics. – 1996. – 144: 389–399.
39. Microsatellite Variation in Japanese and Asian Horses and Their Phylogenetic Relationship Using a European Horse Out-group T. / Tozaki, N.Takezaki, T.Hasegawa, [et all] // J. Heredity. – 2003. – V.94(5) . – P.374–380
40. Van de Peer Y. TREE CON for Windows: a software package for the construction and drawing evolutionary trees for the Microsoft Windows environment / Van de Peer Y. // Computer Application in the Biosciences. – 1994. – V. 10, № 5. – P. 569–570.
41. Widespread origins of domestic horse lineages / Vila C., Leonard J. A., Gotherstrom A.[et all] // J. Science . – 2001. – 291:474–477.
42. Zietkiewicz E. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification / Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. // Genomics. – 1994. – V. 20. – P. 176–183.

ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКИХ ДИСТАНЦИЙ МЕЖДУ ПОПУЛЯЦИЯМИ ЛОШАДЕЙ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ISSR -МАРКЕРОВ

Куриленко Ю. Ф., Супрун И. А., Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины

В данной научной работе проведена оценка генетического разнообразия 128 представителей 5 популяций лошадей (арабская порода, орловская рысистая, новоалександровская тяжеловозная, чистокровная верховая, кони Пржевальско-



20) при використанні двох ISSR -маркерних систем на основі праймерів (AGC)₆G і (ACC)₆G. Проведен аналіз філогенетических дистанцій між вказаними породами і лошадьми Пржевальського. Установлено, що дані маркерні системи можуть бути використані для визначення генетическої відстані між породами і пошуку філогенетических зв'язків між дикими і одомашненими видами. Використання цих маркерів також дозволить накопичувати інформацію про генетическу варіацію серед порід лошадей.

Ключеві слова: порода лошадей, походження, кластер, ISSR-типизація, рівень поліморфізму, генетическа дистанція.

AN ESTIMATION OF GENETIC DISTANCES BETWEEN POPULATIONS OF HORSE WITH ISSR-MARKERS

Kurylenko U., Suprun I., National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv

In this scientific work an estimation after interbreeding differentiation of 128 representatives of 5 populations of horse (Arabic breed, Orlov trotters, Novooleksandrivsky draft breed, Thoroughbred, Przewalsky horse) with using of two ISSR-systems on the basis of primers (AGC)₆G and (ACC)₆G is done.

Novooleksandrivsky draft breed is unique no ughin a genetic relation. Such results of genetic structures comparison of horse breeds and Przewalsky horse testify that poly locus spectrums of ISSR - PCR markers have the expressed specific and pedigree specificity. Applied markers of ISSR-PCR educed the sufficient polymorphism for the study of polymorphism of horse.

Determination of phyllogenetic distance is conducted between the breeds of horse. It is set that g the marker systems can be used for determination of genetic distance between breeds and searching of phyllogenetic connections. Using of these markers in the future will allow extending and accumulating information about genetic variation among the breeds of horse.

Keywords: horse breed, origin, cluster, ISSR-typing, polymorphism, genetic distance.

УДК 636.14.082:578.113.2

ГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ЖЕРЕБЦІВ НОВООЛЕКСАНДРІВСЬКОЇ ВАГОВОЗНОЇ ПОРОДИ У РОЗРІЗІ ГОСПОДАРСТВ УКРАЇНИ

Росоха В. І., к. с.-г. н., Бровко О. В., Алещенко О. О.,

Тур Г. М., к. с.-г. н.

Інститут тваринництва НААН

Дослідження за D-системою груп крові жеребців новоолександрівської вагозовної породи господарств України показали високу генну частоту алелів серед жеребців у середньому по породі: D^{dg} (0,200), D^{de} (0,1775), D^d (0,1667), D^{ad} (0,138), D^{cgm} (0,115), D^{cegsm} (0,134).

При порівняльній оцінці генофонду Новоолександрівського та Дібрівського кінних заводів не встановлено відмінностей для алелів, характерних для породи, які спостерігаються за розподілом генних частот поліморфної D-системи. Генна частота D^{dg} становить 0,200 у середньому по породі, що на 8 % вище серед дослідженого поголів'я жеребців Дібрівського кінного заводу та на 14,5 % вище се-