

## **ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСКУССТВЕННОГО ОСЕМЕНЕНИЯ КОБЫЛ**

У статье представлены результаты искусственного осеменения кобыл охлажденной и де-консервированной спермой жеребцов-производителей в зависимости от наличия санации препуциальной полости и спермы. Оценку эффективности искусственного осеменения кобыл предлагается проводить по истинной и общей оплодотворяемости. Под общей оплодотворяемостью понимается выход жеребят от кобыл, которых планировали осеменять. Под истинной оплодотворяемостью, понимается выход жеребят от кобыл, которые осеменялись и имели физиологически нормальный половой цикл. Показано, что при применении разработанной схемы санации препуциальной полости и спермы жеребцов истинная оплодотворяемость охлажденной спермы составила 75,0 %, оттаянной – 66,7 %. Без проведения санации истинная оплодотворяемость охлажденной спермы составила 50,0 %, оттаянной – 35,7 %. Для повышения эффективности искусственного осеменения кобыл предлагается использовать разработанную схему санации препуциальной полости и спермы жеребцов-производителей.

**Ключевые слова:** санация, искусственное осеменение кобыл, жеребцы.

## **Tkachev A. V. INFLUENCE OF SANITATION OF THE STALLIONS CAVITY PREPUTSIALNY AND SPERM ON MARES ARTIFICIAL INSEMINATION EFFICIENCY**

This article highlights the experimental research results of the comparative analysis of mares artificial insemination efficiency by the sanitation and non sanitation cooled and thawing stallions sperm. The assessment of mares artificial insemination efficiency is offered to be carried out on a true and general exit of foals. The general exit of foals is understood as an exit of foals from mares planned to inseminate. The true exit of foals, is understood as an exit of foals from inseminated mares and who had physiologically normal sexual cycle. It is shown that at application of the developed scheme of sanitation of stallions cavity preput-sialny and sperm of the true exit of foals of the cooled sperm made 75,0%, thawed – 66,7%. Without sanitation the true exit of foals of the cooled sperm made 50,0%, thawed – 35,7%. For increase of mares artificial insemination efficiency it is offered to use the developed scheme of sanitation of a stallions cavity preput-sialny and sperm.

**Key words:** sanitation, mares artificial insemination, stallions.

Дата надходження в редакцію: 14.12.2013 р.

Рецензент: доктор с.-г. наук, професор А. М. Салогуб

УДК 575.577.636.1

## **МОНІТОРИНГ ГЕНЕТИЧНОГО ПОЛІМОРФІЗМУ ПОПУЛЯЦІЙ КОНЕЙ ЗА ВИКОРИСТАННЯ ISSR-МАРКЕРІВ**

**І. О. Супрун**, к.с.-г.н., доцент

**Ю. Ф. Куриленко**, аспірант

Національний університет біоресурсів і природокористування України

В даній науковій роботі проведено оцінку міжпородної диференціації 128 представників 5 популяцій коней (арабська порода, орловська рисиста, новоолександрівська ваговозна, чистокровна верхова, коні Пржевальського) за використання двох ISSR-маркерних систем на основі праймерів (AGC)<sub>6</sub>G та (ACC)<sub>6</sub>G. Отримані результати свідчать, що полілокусні спектри ISSR-PCR маркерів мають виражену породну специфічність, їх поліморфізм залежить від фрагмента мікросателітного локусу, що використовується в якості праймера і дозволяє виявити як специфічні особливості поліморфізму різних геномних ділянок, так і консервативні за довжиною фрагменти ДНК. Найбільш поліморфною за обома маркерними системами виявилася новоолександрівська ваговозна порода. Виявлено приватні алелі для коней чистокровної верхової, орловської рисистої, новоолександрівської ваговозної порід та коней Пржевальського, які можна вважати абсолютними маркерами при їх ідентифікації.

**Ключові слова:** популяція, порода коней, локус, ISSR-типсування, маркерна система, праймер, рівень поліморфізму, очікувана гетерозиготність, індекс гетерогенності Шеннона, ефективна кількість алелів, приватні алелі.

**Постановка проблеми.** Важливим аспектом збереження та відтворення різних сільськогосподарських видів, в тому числі і коней, є моніторинг генетичного поліморфізму популяцій. На даний час такий аналіз здійснюють за допомогою ДНК-технологій, що базуються на використанні різних

типів ДНК-маркерів. Одним із варіантів є ампліфікація міжмікросателітних фрагментів ДНК, які розташовані між двома інвертованими SSR-локусами геному – ISSR-PCR [1, 4]. ISSR-типсування базується на використанні праймерів комплементарних обраному мікросателітному

мотиву [5, 9]. Порівняно з іншими методами мультилокусного профілювання він характеризується кращою відтворюваністю і ефективно використовується для виявлення внутрішньовидової та міжвидової генетичної мінливості, ідентифікації видів та популяцій [10, 11].

**Мета і завдання досліджень.** Метою наших наукових досліджень є оцінка та аналіз міжпородного генетичного поліморфізму коней за використання ISSR-маркерів. Згідно даної мети було поставлено завдання оцінити ефективність застосування ISSR-маркерів для аналізу міжпородної диференціації коней та їхньої придатності для ідентифікації коней.

**Матеріал та методи досліджень.** Для проведення досліджень було відібрано зразки біологічного матеріалу у 128 представників 5 популяцій коней (арабська порода, орловська рисиста, новоолександрівська ваговозна, чистокровна верхова, коні Пржевальського). Геномну ДНК виділяли із крові та волосяних фолікулів коней з власними модифікаціями [2] за допомогою комплекту реактивів «ДНК-сорб В» (АмпліСенс, Росія).

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

Ампліфікацію проводили на ампліфікаторі «Терцик» (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 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,01 % Tween-20, 0,2 мМ дНТФ, 1,0 од. Таг-полімерази, 40-80 нг ДНК, 1,5-1,8 мМ MgCl<sub>2</sub> і 0,4-0,5 мкМ праймера. Оптимальну концентрацію кожного з компонентів реакції підбирали експериментально.

Електрофоретичне розділення продуктів ампліфікації проводили у 1,5 %-му агарозному гелі за використання 0,5 × TBE-буферу за постійної напруги 100В протягом 80 хвилин. 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).

**Результати досліджень та їх обговорення.** Міжпородну диференціацію за обраними маркерними системами S1 та S2 для ISSR-типування проводили за чотирма породами коней (2 верхових, 1 рисиста, 1 ваговозна) та кінями Пржевальського.

Використання двох ISSR-систем за використання праймерів (AGC)<sub>6</sub>G та (ACC)<sub>6</sub>G дозволило отримати генетико-популяційні характеристики 5 популяцій коней і оцінити ступінь їх генетичної диференціації.

Кількість виявлених локусів за даною маркерною системою варіює від 16 у коней вагзової породи, 50% з яких виявилися поліморфними, до 11 – у рисаків з рівнем поліморфізму 27,27%. Найменш поліморфною популяцією серед досліджених виявилися коні Пржевальського: відсоток поліморфних локусів 23,08, очікувана гетерозиготність на рівні 0,046, індекс гетерогенності Шеннона 0,069.

Для новоолександрівської вагзової породи був характерний найвищий рівень гетерозиготності (0,152) і значення показника генетичного біорізноманіття (I=0,221), відповідно. Дана порода є менш консолідованою порівняно з іншими дослідженими популяціями, що може бути обумовлено меншою інтенсивністю штучного відбору порівняно з породами спортивного напрямку використання (верховими і рисистими).

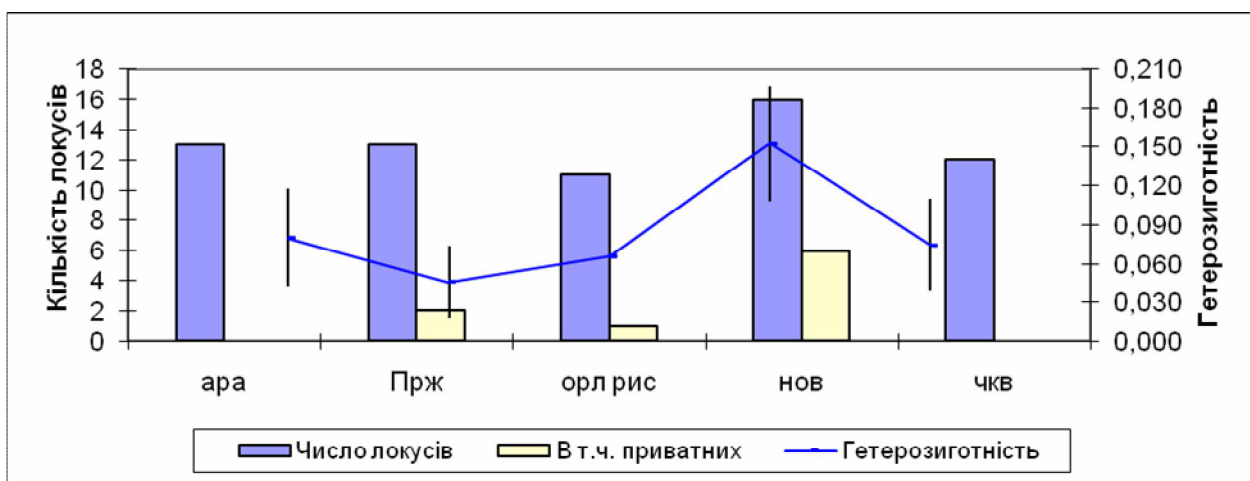


Рис. 1. Кількість виявлених локусів (в т.ч. приватних) та рівень очікуваної гетерозиготності за маркерною системою S2

Нумерація виявлених ампліконів проводилася від найважчих за молекулярною масою до

найлегших. Константними зонами ампліфікації за даною маркерною системою, наявними у всіх

тварин, незалежно від породи, є локуси розмірами 1270, 970, 920, 670 і 420 п.н. (частота склала 1.000). Поряд із спільними для досліджених порід ПЛР-продуктами в полілокусних спектрах фрагментів ДНК виявлені і породоспецифічні особливості. Так, фрагменти розміром 1070, 820, 760, 650, 620 і 530 п.н. були характерними лише для коней новоолександрівської ваговозної породи і зустрічалися із частотами 0,375, 0,500, 0,500, 0,625, 0,750 і 1,000 відповідно. Найдовший приватний алель розміром 1400 п.н. виявлений лише у орловських рисаків із частотою 0,625, тоді як для коней Пржевальського були характерні два приватні алелі розмірами 1360 і 850 п.н. з частотою 0,625 і 0,125 відповідно. Три ПЛР-бенди довжиною 360, 900 і 1010 п.н. зустрічалися у всіх досліджених популяціях у більшості тварин з частотою вище середньої. Два фрагменти розміром 580 і 560 п.н. спостерігалися у всіх досліджених популяціях (1,000), окрім коней новоолександрівської ваговозної породи. Амплікон розміром 380 п.н. був відмічений у верхових порід коней і коней Пржевальського і зовсім не зустрічався у рисаків і ваговозів.

Таким чином, на основі різних поєднань вищезазначених фрагментів можна зробити висновок, що кожна порода має свій специфічний ДНК-патерн. Столповським Ю. А. [Ошибка! Источник ссылки не найден.] для визначення

породоспецифічного патерну у domestikованих видів було запропоновано використовувати лише фрагменти, які зустрічаються з частотою 0,4 і вище. Для новоолександрівської ваговозної породи виявлено 5 породоспецифічних локусів і по 1 локусу для орловських рисаків та коней Пржевальського.

Популяційно-генетичні показники досліджених популяцій коней за використання маркерної системи S10 на основі тринуклеотидного мотиву ACC показані на рис 2.

При ISSR-типуванні за маркерною системою S10 виявлено достовірно вищі показники генетичної мінливості у коней новоолександрівської ваговозної породи ( $H_e=0,190$ ,  $I=0,276$ , рівень поліморфізму 55%). Значно вищий відсоток поліморфних локусів, порівняно з S2, спостерігався в орловській рисистій породі. Популяція коней Пржевальського за даною маркерною системою виявилася найменш мінливою в генетичному плані (очікувана гетерозиготність на рівні 0,072, індекс Шеннона 0,109), що може бути пояснено помірним інбридингом і заниженою ефективною чисельністю популяції використаних у дослідженні. Для інших досліджених популяцій значення показників популяційно-генетичної мінливості варіювали в незначних межах (0,099-0,104 для гетерозиготності та 0,148-0,152 для індекса Шеннона).

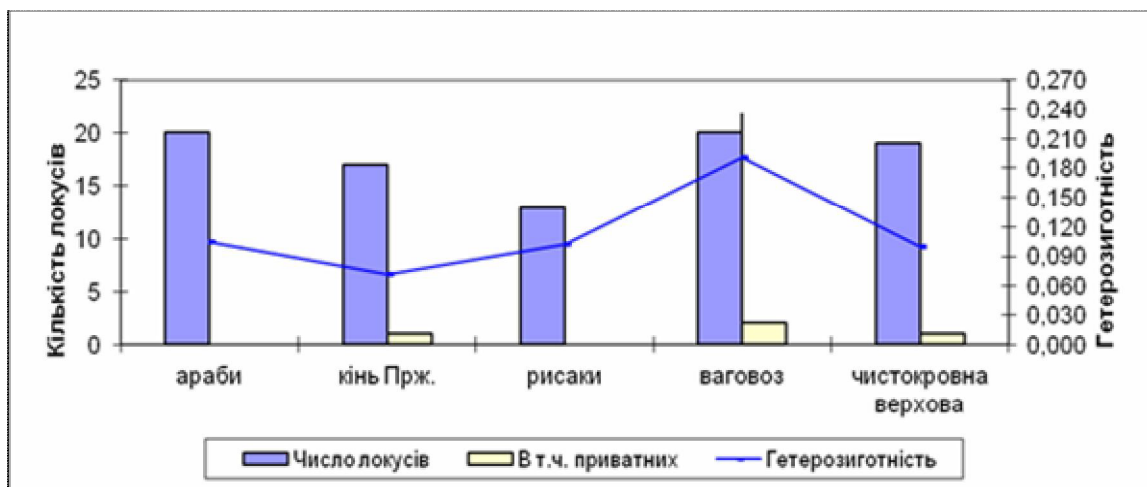


Рис. 2 Кількість виявлених локусів (в т.ч. приватних) та рівень очікуваної гетерозиготності за маркерною системою S10

Чотири ПЛР-локуси розмірами 960, 900, 720 і 300 п.н. зустрічалися у всіх коней досліджуваних порід і коней Пржевальського (1,000). Локуси розмірами 1350, 1150 і 400 п.н. також були відмічені у всіх популяціях з частотою вище середньої і в той же час не спостерігалися у рисаків.

За генетичною системою ISSR- S10 було виявлено унікальний ДНК – фрагмент розміром 850 п.н., притаманний лише коням Пржевальського (100%) (табл. 3) та амплікон розміром 1050 п.н.,

що зустрічався лише у особин чистокровної верхової породи (0,250).

Досить унікальними в генетичному відношенні виявилися тварини новоолександрівської ваговозної породи. Рідкісними алелями для них є 800 і 370 п.н. (0,750 і 0,375 проти 100% наявності у представників інших досліджених груп). Два фрагменти величиною 670 і 320 п.н. зустрічалися лише у тварин арабської і ваговозної порід. Три ПЛР-бенди довжиною 1020, 680 і 500 п.н. зустрічалися у всіх досліджених популяціях у

більшості тварин з частотою вище середньої або абсолютною. Найважчий фрагмент спектру (1400) зареєстрований у всіх групах з частотою широкого діапазону: від 0,250 у коней Пржевальського до 1,000 у арабської породи. Локус розміром 1190 п.н. зустрічався у верхових порід коней (араби 0,500, чистокровна верхова 0,125) та коней Пржевальського (1,000).

Фрагмент розміром 1280 п.н. було синтезовано як у коней орловської рисистої породи (0,875), так і у особин чистокровної верхової (0,875), що може бути свідченням спільної предкової форми – арабської породи (1,000) що використовувалась на початкових етапах створення цих порід.

За системою ISSR-S10 виявлено меншу загальну кількість приватних алелей, зокрема для тварин новоолександрівської ваговозної породи – 2 (1100 і 450 п.н з частотами 0,250 і 0,500 відповідно), чистокровної верхової – 1 (1050 п.н., частота 0,250) і коней Пржевальського (850 п.н, наявний у всіх). Тобто, до породоспецифічних алелів за даною маркерною системою для коней новоолександрівської ваговозної породи можна віднести локус довжиною 450 п.н., оскільки у них він зустрічався з частотою вище 0,4.

За даними проведеної популяційно-генетичної оцінки коней, в групах досліджених тварин виявляється від 11 до 20 ампліконів-смуг, молекулярна маса яких знаходиться в межах від

300 до 1400 п.н.

Найвищі показники популяційно-генетичної мінливості ( $H_e=0,172$ , відсоток поліморфних локусів 52,78,  $I=0,250$ ) було відмічено у коней новоолександрівської ваговозної породи (табл.1.), що вказує на нівелювання впливу штучного відбору при чистопородному розведенні або присутності ознак синтетичної популяції. Значення даних показників для арабської, орловської рисистої та чистокровної верхової порід суттєво (достовірно) не відрізнялися між собою. Найнижчі показники популяційно-генетичної мінливості (очікувана гетерозиготність 0,059, індекс Шеннона 0,090, відсоток поліморфних локусів 26,67) отримано для панміктичної популяції коней Пржевальського, що може опосередковано свідчити про інбредну депресію в популяції або її жорстку ізоляцію.

Для чотирьох досліджених популяцій (окрім арабської породи) виявлено окремі приватні алелі (табл. 2-3). Так, наявність ДНК-фрагментів розміром 820, 760, 650, 620 і 530 п.н., які зустрічалися з частотою відповідно 0,500, 0,500, 0,625, 0,750 і 1,000, отриманих за маркерною системою S2 у коней новоолександрівської ваговозної породи може виступати надійним критерієм їх ідентифікації, оскільки зазначені амплікони взагалі не зустрічаються в інших досліджуваних популяціях (різниця вірогідна,  $p>0,001$ ).

Таблиця 1.

Популяційно-генетична характеристика коней за двома системами ISSR-маркерів (S2+S10)

Популяції	n	Кількість виявлених-локусів	% поліморфних локусів	$H_e$	$N_a$	I	Кількість приватних алелей
A	16	33	30,30	0,093	0,935	0,134	-
П	16	30	26,67	0,059	0,826	0,090	3
Р	32	24	37,50	0,085	0,717	0,122	1
Н	32	36	52,78	0,172	1,196	0,250	8
Ч	32	31	35,48	0,088	0,913	0,129	1

Примітка:  $H_e$  – очікувана гетерозиготність,  $N_a$  – середня кількість алелів на локус, I – індекс гетерогенності Шеннона. А – арабська порода, П – кінь Пржевальського, Р – орловський рисак, Н – новоолександрівський ваговоз, Ч – чистокровна верхова порода

Для коней Пржевальського видоспецифічними виявилися фрагменти розмірами 1360 п.н. (за використання маркерної системи S2) (табл. 2) та 850 п.н. (S10) з частотами 0,625 і 1,000 відповідно (табл. 3).

Очевидно, що встановлений фрагмент генетичного локусу розміром 1400 п.н., обмежений мікросателітною послідовністю з коровим тринуклеотидним мотивом (AGC)<sub>6</sub>G, використаним в якості праймера є унікальною послідовністю, характерною для тварин саме орловської рисистої породи.

Наявність фрагменту розміром 1280 п.н., який є відносним маркером для арабської, орловської рисистої та чистокровної верхової порід можна пояснити історичним процесом формування зазначених порід, оскільки вихідною поро-

дою при створенні орловської рисистої та чистокровної верхової порід була арабська.

На останок слід відмітити, що спектри продуктів ампліфікації ISSR-PCR суттєво відрізнялися в залежності від корового мотиву мікросателіту, який використовувався в якості праймера, що відображає особливості їх геномного розподілу у досліджених груп коней. Отримання таких спектрів дозволяє зробити припущення про породну специфічність спектрів продуктів ампліфікації ділянок ДНК, фланкованих інвертованими повторами фрагментів мікросателітів, що в подальшому може бути використано для виявлення генофондних відмінностей у різних порід коней і, відповідно, для оцінки імовірності породної приналежності тварин невідомого походження.

Таблиця 2

Маркерні ДНК-фрагменти, виявлені внаслідок типування 5 популяцій коней із застосуванням системи ISSR-S2

Маркерна система	Розмір маркерного ДНК-фрагмента	Популяція
ISSR-S2	1400 п.н. <sup>а.м.</sup>	Р
	1360 п.н. <sup>а.м.</sup>	П
	1070 п.н. <sup>а.м.</sup>	Н
	850 п.н. <sup>а.м.</sup>	П
	820 п.н. <sup>в.м.</sup>	Н
	760 п.н. <sup>а.м.</sup>	Н
	650 п.н. <sup>а.м.</sup>	Н
	620 п.н. <sup>а.м.</sup>	Н
	-580 п.н. <sup>а.м.</sup>	Н
	-560 п.н. <sup>а.м.</sup>	Н
	530 п.н. <sup>а.м.</sup>	Н
	510 п.н. <sup>в.м.</sup>	А, Н, Ч
	450 п.н. <sup>в.м.</sup>	А, Н
380 п.н. <sup>в.м.</sup>	А, П, Ч	

Примітка: а.м. – абсолютний маркер в межах протипованих популяцій, в.м. – відносний маркер, знак «мінус» перед позначенням розміру фрагмента означає його відсутність у тварин зазначених порід. А – арабська порода, П – кінь Пржевальського, Р – орловський рисак, Н – новоолександрівський ваговоз, Ч – чистокровна верхова порода

Таблиця 3

Маркерні ДНК-фрагменти, виявлені внаслідок типування 5 популяцій коней із застосуванням системи ISSR-S10

Маркерна система	Розмір маркерного ДНК-фрагмента	Популяція
ISSR-S10	-1350 п.н. <sup>а.м.</sup>	Р
	1280 п.н. <sup>в.м.</sup>	А, Р, Ч
	1240 п.н. <sup>в.м.</sup>	А, Н
	1190 п.н. <sup>в.м.</sup>	А, П
	-1150 п.н. <sup>а.м.</sup>	Р
	1100 п.н. <sup>а.м.</sup>	Н
	1050 п.н. <sup>а.м.</sup>	Ч
	850 п.н. <sup>а.м.</sup>	П
	670 п.н. <sup>в.м.</sup>	А, Н
	450 п.н. <sup>а.м.</sup>	Н
	-400 п.н. <sup>а.м.</sup>	Р

**Висновки.** Отримані результати порівняння генетичних структур порід коней і близькородного дикого виду (коня Пржевальського) свідчать про те, що полілокусні спектри ISSR-PCR маркерів мають виражену породну специфічність, їх поліморфізм залежить від фрагмента мікросателітного локусу, який використовується в якості праймера і дозволяє виявити не лише специфічні особливості поліморфізму різних геномних діля-

нок, а й консервативні за довжиною фрагменти ДНК. 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.

#### Список використаної літератури:

1. Bornet B. Highly informative nature of inter simple sequence repeat (ISSR) sequences amplified using triand tetra-nucleotide primers from DNA of cauliflower (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.) / B. Bornet, C. Muller, F. Paulus, M. Branchard // *Genome*. – 2002. – V. 45. – P. 890-896.
2. Carter M. J., Milton I. D. An inexpensive and simple Korbina M. Fruit plant germplasm characterisation using molecular markers generated in RAPD and ISSR-PCR / M. Korbina, A. Kuras, E. Żurawicz // *Cell. Mol. Biol. Lett.* – 2002. – V 1. – P. 785-794.
3. Kuhl D.P.A. Trinucleotide repeats and genome variation / D.P.A. Kuhl, C.T. Caskey // *Curr Opin Genet. Dev.* – 1993. – V. 3. – P. 404-407.
4. Zietkiewicz E. Genome finger-printing by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification / E. Zietkiewicz, A. Rafalski, D. Labuda // *Genomics*. – V.20. – 1994. – P. 176-

5. 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.

6. Березовская О.П. Внутри- и межвидовые различия в ISSR-PCR характеристике шмелей (HYMENOPTERA: BOMBINAE) / Березовская О.П., Мороз О.Ю., Сидоренко А.П. // Цитология и генетика. – 2002. – Т. 36, № 3. – С. 28-35.

7. Воронкова В. Н. Сравнительный анализ информативности ISSR-маркеров для оценки генетического разнообразия пород лошадей / В. Н. Воронкова, Цэндсүрэн Цэдэв, Г. Е. Сулимова // Генетика. – 2011. – Т.47 – № 8. – С. 1131 – 1134.

8. Глазко В.И. Введение в ДНК технологии и биоинформатику: [под ред. Т.Т. Глазко] / В.И. Глазко, Г.В. Глазко – К.: 2001. – 544с.

9. Метлицька О. І. Методологія ДНК-паспортизації генофондів сільськогосподарських тварин за гіперваріабельними локусами геному: дис. на здобуття наук. ступеня доктора с.-г. наук: 03.00.15 / Метлицька Олена Іванівна. – Полтава, 2012. – 382 с.

10. Применение межмикросателлитного анализа ДНК для оценки популяционной структуры, идентификации и сходства генофондов пород и видов domesticированных животных / Ю. А. Столповский, О. Е. Лазебный, К. Ю. Столповский [и др.] // Генетика. – 2010. – Т.46 – № 6. – С. 825 – 833.

11. 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.

#### **Супрун І.А., Куриленко Ю.Ф. МОНИТОРИНГ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА ПОПУЛЯЦИЙ ЛОШАДЕЙ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ISSR-МАРКЕРОВ**

*В данной научной работе проведена оценка межпородной дифференциации 128 представителей 5 популяций лошадей (арабская порода, орловская рысистая, новоолександровская тяжеловозная, чистокровная верховая, лошади Пржевальского) за использованием двух ISSR-маркерных систем на основе праймеров (AGC)<sub>6</sub>G и (ACC)<sub>6</sub>G. Полученные результаты свидетельствуют о том, что полилокусные спектры ISSR-PCR маркеров имеют выраженную породную специфичность, их полиморфизм зависит от фрагмента микросателлитного локуса, который используется в качестве праймера и позволяет выявить как специфические особенности полиморфизма разных генетических участков, так и консервативные по длине фрагменты ДНК. Наиболее полиморфной за обеими маркерными системами оказалась новоолександровская тяжеловозная порода. Выявлены приватные аллели для лошадей чистокровной верховой, орловской рыистой, новоолександровской тяжеловозной пород и лошадей Пржевальского, которые могут использоваться как абсолютные маркеры при их идентификации.*

**Ключевые слова:** популяция, порода лошадей, локус, ISSR-типирование, маркерная система, праймер, уровень полиморфизма, ожидаемая гетерозиготность, индекс гетерогенности Шеннона, эффективное число аллелей, приватные аллели.

#### **Suprun I. A. Kurylenko Y. F. MONITORING OF GENETIC POLYMORPHISM OF HORSE POPULATIONS BY ISSR-MARKERS USING**

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

*Novooleksandrivska draft breed is unique enough in a genetic relation. By the data of the horse population-genetic estimation, from 11 to 20 bands with molecular mass from 300 to 1400 b.p. were obtained in the groups of investigational animals.*

*Such results of genetic structures comparison of horse breeds and Przewalsky horse testify that polylocus spectrums of ISSR - PCR markers have the expressed specific and pedigree specificity. Their polymorphism depends on the fragment of microsatellites locus, which is used as primer and allows to obtain not only specific features of polymorphism of different genomic areas but also conservative after length fragments of DNA, flanked by the inverted repetitions of identical microsatellites. Applied markers of ISSR-PCR educed the sufficient polymorphism for the study of polymorphism of horse.*

**Key words:** population, breed, horse, ISSR- typing, marker systems, primer, level of polymorphism.

Дата надходження в редакцію: 04.11.2013 р.

Рецензент: доктор с.-г. наук, професор Л. М. Хмельничий