

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова
Российской академии наук**

На правах рукописи

НЕСТЕРУК ЛЮБОВЬ ВИКТОРОВНА

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ РОМАНОВСКОЙ ПОРОДЫ ОВЕЦ

Специальность 03.02.07 – генетика

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
Столповский Юрий Анатольевич

МОСКВА - 2016

СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	7
1.1. Породное разнообразие и происхождение овец	7
1.1.1. Происхождение и одомашнивание овец	7
1.1.2. Породное разнообразие овец и их классификация	13
1.2. Романовская порода овец	17
1.2.1. Происхождение или история создания романовской породы овец	17
1.2.2. Характеристика овец романовской породы	20
1.2.3. Современное состояние, распространение, численность романовской породы овец	22
1.3. Генетические маркеры в изучении генетического разнообразия овец	24
1.3.1. Микросателлиты	26
1.3.2. Мультилокусные ДНК-маркеры (полиморфизм длин продуктов амплификации, AFLP-маркеры; межмикросателлитный полиморфизм, ISSR-маркеры)	28
1.3.3. Полиморфные маркеры, основанные на тестировании однонуклеотидных замен (SNPs)	30
1.3.4. Гены-кандидаты плодовитости сельскохозяйственных животных	33
2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	38
2.1. Объекты исследования	38
2.2. Выделение ДНК	40
2.3. Определение концентрации выделенной ДНК	40
2.4. Проведение ПЦР	40
2.5. Проведение ISSR-анализа	41
2.6. Секвенирование экзона 4 гена рецептора эстрогена <i>ESR1</i>	42
2.7. Анализ полиморфизма в экзоне 1 гена рецептора эстрогена <i>ESR1</i>	42
2.8. Статистическая обработка	44
3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	49
3.1. Генетический полиморфизм ISSR-фрагментов у романовской породы овец	49
3.1.1. Характеристика спектров AG- и GA-ISSR фрагментов у романовской породы овец	49
3.1.2. Оценка популяционной структуры романовской породы методом кластеризации на основании данных ISSR анализа	53
3.1.3. Оценка генетического разнообразия романовской породы овец с использованием ISSR-PCR маркеров	56

3.1.4. Коэффициент генетической оригинальности (КГО) как оценка генетического разнообразия романовской породы овец	62
3.1.5. Анализ ассоциаций между хозяйственно-полезными признаками романовских овец и ISSR-фрагментами	64
3.1.6. Сравнительный анализ генофондов романовской и других пород овец на основании оценок полиморфизма AG-ISSR-фрагментов	69
3.2. Полиморфизм гена эстрогенового рецептора <i>ESR1</i> (1 и 4 экзоны) у овец романовской породы	81
3.2.1. Полиморфизм гена эстрогенового рецептора по локусам <i>ESR-ex1</i> и <i>ESR-ex4</i> у овец романовской породы из разных выборок	83
3.2.2. Сравнение романовской породы овец с зарубежными породами полл дорсет и суффолк, разводимыми в России, по изменчивости <i>ESR-ex1</i> и <i>ESR-ex4</i> локусов гена эстрогенового рецептора	86
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	89
ВЫВОДЫ	93
ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ	95
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ	96
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	97
ПРИЛОЖЕНИЕ	115

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Глобальная информационная система генетических ресурсов животных в сфере продовольствия и сельского хозяйства (Food and Agricultural Organization — FAO) содержит информацию о 7616 породах домашнего скота. Среди них около 20% классифицированы как находящиеся в зоне риска исчезновения. По данным FAO ежемесячно погибает одна порода. Для 36% пород отсутствуют необходимые данные об оценке их состояния. Сохранение породного разнообразия одомашненных видов является важным для обеспечения устойчивого развития сельского хозяйства, решения глобальных проблем продовольственной безопасности, развития новых рынков, уменьшения экологических проблем, является защитой от неизвестных сегодня селекционных природных и прочих рисков (FAO, 2007). Особое значение для животноводства Российской Федерации имеют отечественные генофонды domesticiрованных видов животных, поскольку среди 35 одомашненных видов - 198 пород представлено породами российской селекции, что составляет около 2.5% мирового породного разнообразия (Столповский, 2010). Ярким примером, подтверждающим актуальность идеологии сохранения генофондов сельскохозяйственных животных в глобальном мире для настоящей и будущей селекции, является разведение романовской породы овец, которая прошла периоды расцвета, забвения, но главное сохранила свое место в современном животноводстве.

Романовские овцы – это уникальная отечественная порода, которая обладает великолепными шубными качествами, самой высокой плодовитостью, полиэстричностью, скороспелостью и хорошими мясными качествами. Романовская порода является одной из древнейших пород овец в Центральной и Северо-Западной России. Первые сведения в литературе о разведении романовских овец относятся к 1802 году (Смирнов, 1961; Воробьев, 1966; Ерохин и др, 2005). Она была создана с помощью методов народной селекции из местных северных короткохвостых овец путем отбора по плодовитости и качеству овчин. Свое название порода получила по первоначальному месту ее распространения, бывшему Романово-Борисоглебскому уезду (в настоящее время Тутаевский район Ярославской области Российской Федерации).

К романовской породе на протяжении большого количества времени проявляют значительный интерес многие овцеводы мира. Благодаря универсальной продуктивности романовские овцы активно используется для улучшения различных пород во многих странах с развитым овцеводством. В связи с полиэстричностью и многоплодием разведение их как в «чистоте», так и при скрещивании с другими породами является экономически выгодным делом. Романовских овец широко используют для повышения плодовитости как в

двухпородных, так и трехпородных скрещиваниях с самыми различными породами, как в нашей стране, так и за рубежом (Жиряков, 1976; Мороз, 1978; Ковнерев, 1978; Ricordeau et al., 1990; Покатилова, 1992; Ерохин и др., 2005; Глазко и др., 2012). Это одна из немногих пород российского происхождения, которая имеет по классификации пород ФАО трансграничный статус. По сведениям собранным комиссией по генетическим ресурсам в сфере продовольствия и сельского хозяйства романовские овцы фигурируют в докладах более десятка стран (Состояние всемирных..., 2010).

К сожалению, несмотря на упомянутые выше факты, в России, численность овец этой породы за последние десятилетия постоянно снижалась (Ерохин, 2001; Столповский и др., 2008). Попытки «улучшения породы» и резкое сокращение численности в конце XX века поставили породу на грань исчезновения. Основное сокращение численности произошло в период экономических преобразований в России (90-е годы XX века): в 1990 году романовских овец насчитывалось 317 174 головы, а к 1999 году – уже меньше 23 тысяч голов (Эрнст и др., 1994, Моисеева и др., 2006). С начала XXI века появилась положительная динамика, так по данным ВНИИплем на 01.01.2014 г. поголовье романовских овец составило 64.9 тыс. голов во всех категориях хозяйств (Ежегодник по племенной работе... (2013), 2014; Фураева и др., 2015).

Усилия селекционеров, государственная и частная поддержка позволили породе сохраниться. Однако резкое сокращение поголовья негативно сказалось на жизнеспособности и продуктивности романовских овец. Для сохранения породы и нивелирования неблагоприятных последствий сокращения численности необходимо использовать современные подходы для оценки и поддержания внутripородного генетического разнообразия. Одними из наиболее доступных и эффективных для популяционно-генетических исследований являются мультилокусные ДНК маркеры, которые позволяют одновременно изучать большое число локусов. Это в свою очередь предоставляет возможность определить генетические разнообразие, структуру, филогенетические отношения и т.п. Важная тема - выяснение генетической детерминации плодовитости романовских овец, что позволило бы вести отбор на улучшение данного признака при чистопородном разведении и учитывать степень влияния многоплодия данной породы в различных типах скрещивания с другими породами. Однако информация об изменчивости большинства из генов-кандидатов плодовитости у отечественной многоплодной романовской породы овец в научной литературе отсутствует.

С учетом современного состояния генофонда романовской овцы, ее уникальных качеств и относительно небольшой численности разработка генетико-селекционных программ, комплексная оценка генетического потенциала и внедрение новых методологий селекционной работы по сохранению и совершенствованию изучаемой породы остается весьма актуальной задачей.

Цель и задачи исследования

Основная цель работы заключалась в исследовании генетического разнообразия романовских овец на основе мультилокусного межмикросателлитного анализа ДНК и типирования полиморфизма гена эстрогенового рецептора.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Оценить генетическое разнообразие, внутри и межпопуляционную изменчивость с помощью AG- и GA-ISSR-PCR маркеров в генофондных хозяйствах романовской породы овец;
2. Провести анализ популяционной структуры романовской породы овец методом кластеризации в программе STRUCTURE с использованием данных межмикросателлитного анализа;
3. Изучить внутривидовое генетическое разнообразие романовской породы овец с использованием коэффициента генетической оригинальности (КГО) на основании данных ISSR-PCR анализа;
4. Провести анализ влияния выявленной генетической структуры (AG- и GA-ISSR-фрагменты) на изменчивость хозяйственно-полезных признаков романовских овец и оценить взаимосвязи анализируемых признаков продуктивности овец романовской породы;
5. Провести сравнительный анализ ISSR-полиморфизма романовской породы с тувинской, эдильбаевской и другими породами овец, определить «протогенофонд» исследуемых овец и их генеалогические связи;
6. Изучить полиморфизм гена эстрогенового рецептора, оценить частоты аллелей и генотипов у романовской породы овец.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Породное разнообразие и происхождение овец

1.1.1. Происхождение и одомашнивание овец

Доместикация (от лат. *domesticus* – домашний) – это все виды приручения, одомашнивания диких животных, которые сопровождаются возникновением и развитием у них новых признаков при содержании их в условиях, создаваемых и контролируемых человеком (БСЭ Т. 8, 1972; БРЭ Т. 9, 2007). Процесс доместикации включает в себя приручение животных и искусственный отбор. На ранних этапах доместикации происходил бессознательный отбор организмов, наиболее соответствующих потребностям человека. Для одомашнивания подходили лишь те животные, которые обладали особым типом высшей нервной деятельности. Из числа содержащихся в неволе отбирались особи не слишком агрессивные и не слишком трусливые, наиболее способные контактировать с человеком, подчиняться ему, жить и размножаться в условиях, создаваемых человеком (Беляев, 1972; БРЭ Т. 9, 2007).

Один из основоположников зоотехнии в России Е. А. Богданов писал, что «первоисточником домашних животных послужило то, что было под рукой – различные дикие представители местной фауны, которые не только не были неспособными к продолжению своего свободного существования, но нередко существуют и сейчас в неприрученном состоянии наряду с культурной, иногда даже сильно вырожденной и неспособной к одичанию формой, как например, овцой» (Богданов, 1937). Человек, по его мнению, не знал заранее, что выйдет из его опытов приручения, и что случайность играла здесь гораздо большую роль, чем можно было бы думать. В своей работе Богданов для подтверждения участия «случая» в образовании домашних животных приводит рассказ немецкого зоолога и палеонтолога А. Неринга, где он выражает глубокую уверенность в том, что сначала для людей приручение животных было забавой без определенной цели, и только потом постепенно они начали представлять себе пользу и выгоду, которые оно могло принести (Богданов, 1937).

По современным представлениям отличие доместицированных видов от диких заключается в специфических особенностях давления отбора, который включает необходимость их взаимодействия с человеком (нейроэндокринный фактор), адаптации к широкому спектру пищевых источников и патогенов, а также особенностях эколого-географических факторов (Глазко и др., 2012; Glazko et al. 2014). Генетик-эволюционист

академик Д. К. Беляев ключевую роль в эволюционных преобразованиях домашних животных отводил отбору по поведению и нейроспецифическим регуляторным генам, которые затрагиваются этим отбором. Данные гены ответственны за вариацию свойств поведения, которые способствуют адаптации животных к человеку и антропогенной среде (Беляев, 1981; Трут, 2007). В начале 60-х годов прошлого столетия в эксперименте по одомашниванию серебристо-черных лисиц, начатом Д. К. Беляевым и продолженным Л.Н. Трут, показано, что в условиях отбора на одомашнивание происходит ослабление активности ключевой регуляторной системы организменного уровня – гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой (Трут, 2007). Ускоренная эволюция нейроспецифических генов, отражающая экстремальное селекционное давление на эти гены, иллюстрирует не только на уровне фенотипов, но также на уровне экспрессии генов творческую роль отбора (Трут, 2007; Glazko et al. 2014).

Существуют разные предположения о том, каковы были мотивы, побудившие к одомашниванию диких животных и возникновению животноводства. Уже в начале 20 века оформилось несколько подходов к объяснению этих причин. Боголюбский писал об этом так: «По одним исследователям это был бессознательный процесс, совершившийся из любви к животным, приручение которых было для человека забавой. Другие думают, что большую роль в этом деле играл культ, связанный с разными формами животных. Третьи полагают, что уменьшение дичи и рост населения вызвали сознательную потребность в воспроизводстве животных. Вероятно, в разные периоды каждый из указанных мотивов имел известное значение» (Боголюбский, 1940; Данкверт и др., 2010).

Человек в течение весьма длительного времени находился в постоянном общении с животными. Первоначальные контакты первобытных людей выражались лишь в охоте на диких животных. Профессор С.Н. Боголюбский отмечал, что «весьма скудные данные свидетельствуют о том, что процесс превращения диких форм в домашние происходил быстро. В связи с этим можно предположить, что понадобился весьма длительный подготовительный срок для того, чтобы от случайной поимки животных и их кратковременного содержания сознательно перейти к кормлению и воспроизводству по воле человека, в созданной им среде» (Боголюбский, 1940).

Исторические данные о предках овец и коз скудны, но найденные останки древних животных дают нам возможность реконструировать определенную картину происхождения овец. Подсемейство *Caprinae*, к которому принадлежат роды *Capra* и *Ovis*, восходит, также как и все *Bovinae*, к нижнемиоценовому роду эотрагус, общему древнему предку. Род *Oioceros*, представитель овечьих уже в верхнем миоцене, распадается в плиоцене на много видов и широко распространяется по Евразии. Первые истинные представители рода *Ovis* найдены в

плиоценовых слоях Франции и в нихованских отложениях Китая, переходных между плиоценом и плейстоценом (Герре, 1963).

В настоящее время исторические сроки и центры доместикиции устанавливаются по данным археологии. Так раскопки поселений первобытного человека свидетельствуют о том, что раньше других – в эпоху мезолита (или конце палеолита), около 15-12 тыс. лет назад – была одомашнена собака (Clutton-Brock, 1999; Diamond, 2002). В начале неолита (10-7 тыс. лет назад) доместикиция приняла широкий характер в связи с переходом человека к производящему хозяйству. В это время в Старом Свете были одомашнены овцы, козы, свиньи и крупный рогатый скот. Таким образом, можно утверждать, что овца была одним из первых животных, которых человек приручил и одомашнил. Это событие произошло 10-9 тыс. лет назад в Передней Азии (Clutton-Brock, 1999; БСЭ Т.8, 1972; БРЭ Т. 9, 2007).

При рассмотрении вопроса происхождения домашних овец от диких необходимо иметь представление о систематике последних. Современная систематика диких овец разрабатывалась многими учеными, но и до настоящего времени не является совершенной. Последняя систематическая ревизия диких овец принадлежит В.И. Цалкину (1951) и В. Гржимеку (1973). Все дикие овцы были разделены лишь на два вида: 1) горный баран, муфлон (*Ovis ammon*) и 2) снежный баран, толсторог (*Ovis canadensis*) (Цалкин, 1951; Боголюбский, 1959; Данкверт и др., 2010).

Определенный интерес представляет систематика разновидностей диких овец, переработанная К.Д. Кеспером. По его данным, все дикие овцы Европы и Центральной Азии должны быть объединены в один вид *Ovis ammon*, а дикие овцы северо-востока Азии и Северной Америки отнесены к виду *Ovis nivicola* (*O. nivicola* (камчатский) традиционно считается одной из рас вида *O. canadensis* (канадский) – диких баранов-толсторогов). По своему значению для истории домашней овцы на первый план выдвигаются внутривидовые расы *Ovis ammon*. Эти расы Кеспер объединил в три группы: 1-я группа *O. musimon*, в которой основой является европейский муфлон *Ovis ammon musimon*; 2-я группа *O. orientalis* с семнадцатью разновидностями; 3-я группа *O. ammon* (аргалиобразные) с разновидностями *polii*, *carelini*, *ammon*, *hodgsoni* (Kesper, 1953; Герре, 1963). Ареалы распространения этих групп даны на рисунке 1.

По данным различных авторов известно от 24 до 36 подвидов дикого барана (*Ovis ammon*) (Боголюбский, 1959). По одним из последних данных диким предком домашних овец считается азиатский муфлон (*O. orientalis*) (БРЭ Т. 9, 2007; Zeder, 2008).

В результате цитогенетических исследований, проведенных отечественными и зарубежными учеными, установлены различия хромосомных наборов диких баранов. Диплоидный набор у уриалов представлен 58, у архаров 56, у муфлонов, баранов Далля и

канадских баранов-толсторогов 54, у снежных баранов 52 хромосомами (Минасян, 1986; Clutton-Brock, 1999; Марзанов и др., 2012a). Данные, полученные при изучении хромосомных наборов у пород домашних овец Европы и Азии, свидетельствуют о полной идентичности кариотипу муфлона. Кроме количественного равенства хромосом ($2n=54$) у муфлона и домашней овцы отмечено и полное совпадение количества акроцентрических и метацентрических хромосом. Все это подтверждает, что родоначальниками домашних овец были муфлоны – формы, распространенные как раз в очагах древних цивилизаций, Средиземноморья и Малой Азии (Минасян, 1986; Ерохин, Ерохин, 2004).

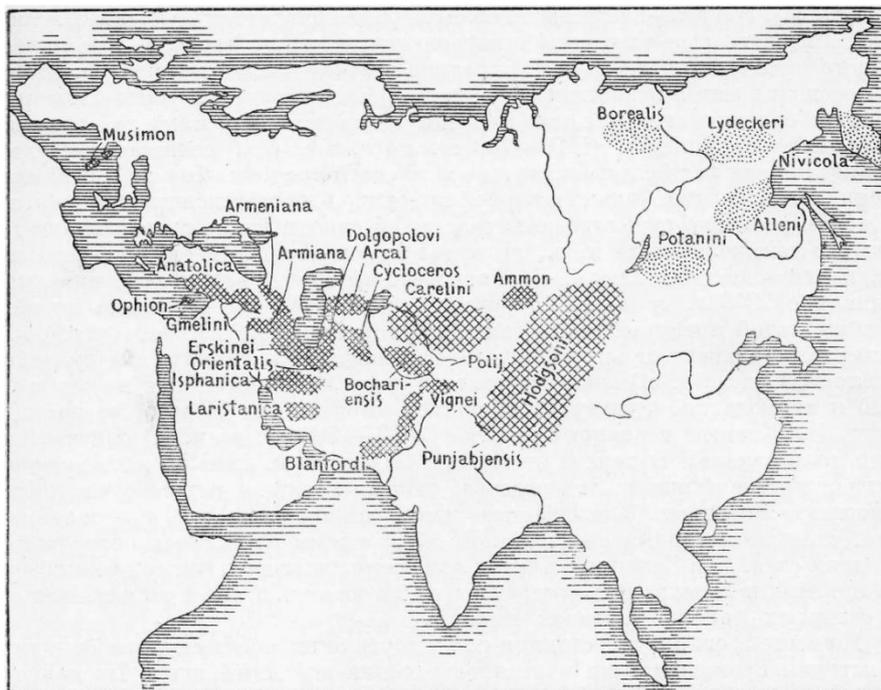


Рисунок 1. Распространение диких овец в Евразии (из Герре, 1963)

Последние исследования митохондриальной ДНК также подтверждают, что предком домашних овец является муфлон *O. orientalis* (Hiendleder et al., 1998, 2002; Pedrosa et al., 2005; Tarjo et al., 2006; Meadows et al., 2007; Марзанов и др., 2012a). В настоящее время у домашних овец зарегистрированы пять филогенетически расходящихся гаплогрупп мтДНК, из которых одна или две могут быть связаны с событиями одомашнивания, а остальные – с последующей интрогрессией с дикими видами.

Следует отметить, что еще в начале 20 века Богданов писал: «большое значение имела та ветвь, которая ведет свое происхождение от муфлонообразных баранов, но центров образования овец даже одной этой группы было несколько – по крайней мере, два; кроме же муфлонов имели несомненно большое значение и другие виды» (Богданов, 1937). Так, несмотря на то, что между архарами, аргали, уриалами, азиатскими муфлоны и европейскими муфлоны

есть не только внешние, но и кариологические отличия, все они способны скрещиваться между собой и давать плодовитое потомство. Поэтому статус разных горных баранов этой группы окончательно не определен и иногда их всех, включая и *O. aries*, относят к одному виду с несколькими хромосомными расами. Также вероятно логично предположить, что другой вид азиатских горных баранов – снежный (*O. nivicola*), обитающий в Северо-Восточной Сибири и близкий к американскому (*O. canadensis*), просто не был известен тем, кто приручал овец и создавал первые породы. Л. Г. Минасян, также подтверждая происхождение домашних овец от муфлона, высказывает предположение о возможном влиянии генофонда архаров и уриалов на характер наследования некоторых признаков, таких как величина и окраска волосяного покрова современных пород овец. Автор не исключает, что «на первых этапах одомашнивания и переселения людей, когда на горных пастбищах диких баранов было много, а домашние овцы еще мало отличались от них, довольно часто дикие бараны попадали в стада домашних овец, и происходила гибридизация» (Минасян, 1986).

В ходе исследований вопроса, касающегося диких предков домашних овец, всегда было много неясностей. Так в ходе развития науки и в процессе накопления данных взгляды по вопросу определения диких предков овец, в том числе и их количества, а также центров их одомашнивания были различны. Боголюбский писал, что «для одомашнивания наибольшее значение, вероятно, имели расы, близкие к древнейшим культурным очагам, то есть обитавшие на юге Средней Азии, в Иране, в Закавказье» (Боголюбский, 1959). В более ранней своей работе Боголюбский отмечал: «весьма вероятно, что в первоначальных очагах приручения одомашнилось несколько диких разновидностей одного вида – в одном месте одни, в другом – другие. А так как этих очагов с одинаковой стадией культуры было несколько и в них находились разные формы, то при неизбежных скрещиваниях изменчивость первичных стад сильно повышалась. Поэтому, например, в Средней и Малой Азии и на островах Средиземного моря могли одновременно одомашниваться несколько разновидностей или даже подвидов баранов» (Боголюбский, 1940). Герре также говорил о том, что «есть предположения о трех центрах доместикации овцы: переднеазиатском, южно-европейском и среднеазиатском. Однако доказательства в пользу южно-европейского центра оказались недостаточно убедительными» (Герре, 1963). Одна из последних археологических экспертиз определяет два независимых очага одомашнивания овец в Турции: верхняя долина Евфрата в восточной Турции, и центральная Анатолия (Peters и др., 1999).

По мнению некоторых авторов, многократными различными событиями одомашнивания или интрогрессией между домашними и дикими видами, может быть обусловлено существование нескольких линий мтДНК и их смешивание в пределах пород (Pedrosa et al., 2005; Tapio et al., 2006; Meadows et al., 2007). Определенные у домашних овец пять

филогенетически расходящихся гаплогрупп мтДНК возможно происходят от нескольких популяций *O. orientalis* (Meadows et al., 2007).

В середине 20 века было установлено, что овца уже с 7 тысячелетия до н.э. была домашним животным в Иерихоне. Герре высказывал предположение, «есть все основания полагать, что по времени приручения она (овца) является более древним животным, чем собака» (Герре, 1963). Овцы сопровождали людей в их массовых миграциях на протяжении всей мировой истории, смешиваясь по дороге с местными стадами или становясь первым домашним скотом, попадавшим на осваиваемые территории. Их высоко ценили, помимо прочего, за способность питаться самым разнообразным подножным кормом. В Китае овца появляется в начале второго тысячелетия до н.э. В Сибири доказано существование домашней овцы в конце третьего тысячелетия до н.э. как источника не только мяса, но и шерсти. В Восточной Европе овца встречается в 3000 г. до н.э. В Западной Европе она принадлежит к числу древнейших домашних животных, в третьем тысячелетии до н.э. проникая вплоть до северных районов (Боголюбский, 1959; Данкверт и др., 2010).

Человек облегчает животным борьбу за существование, изменяет условия кормления, строит для них помещения и даже вмешивается в процессы размножения. Таким образом, возникают возможности активного воздействия на их физиологию в одомашненном состоянии (Герре, 1963). Герре писал: «В одомашненном состоянии могут изменяться все органы, и взаимодействие их также не остается неизменным» (Herre, Siewing, 1954). Богданов отмечал: «Особенно поразительны те изменения, которым подвергаются темперамент и половые функции» (Богданов, 1937). В результате одомашнивания и дальнейшего разведения животных в направлении определенной специализации продуктивности у них происходят существенные изменения в конституции и соотношении отдельных частей тела, органов и тканей. У домашних овец не осталось ни одного органа, который бы в неизменном состоянии продолжал существовать от диких форм до современных домашних (Боголюбский, 1959; Борисенко, 1967; Красота, 1983).

В процессе одомашнивания в пределах вида могут создаваться крайние формы, различия между которыми могут быть сравнимы с различиями между дикими видами и даже родами (Герре, 1963; Беляев, 1972). Различия между породами домашних овец, распространенных по земному шару, более ярки, чем различия между подвидами диких (Боголюбский, 1959)

В завершение приведем слова Боголюбского: «...не всюду изменчивость была одинакова и не всюду человек ею одинаково пользовался. Во многих местах он оценил появившиеся новые качества в шерсти овец, используемой в домашнем обиходе, и сумел применением искусственного отбора направить изменения в желательную сторону. Когда польза шерсти была вполне осознана, человек начал в своих интересах видоизменять овец, как производителей

шерсти. Так, в разных местах образовались породы овец, различавшиеся по свойствам своего руна, как о том свидетельствуют дошедшие до нас древнейшие памятники изобразительного искусства многих пород древности». «Влияние изменявшейся среды и производимый человеком искусственный отбор, естественно, привели к большому разнообразию форм одомашненных животных. Когда-то относительно однообразные группы диких видов после одомашнения становились все более и более разнообразными» (Боголюбский, 1940).

1.1.2. Породное разнообразие овец и их классификация

В настоящее время в мире разводят около 1 млрд. голов овец и зарегистрировано 1229 пород (Состояние всемирных..., 2010). Среди видов домашних животных, входящих в класс млекопитающих, овцы занимают первое место по численности всех пород. В Российской Федерации по данным информационной системы разнообразия домашних животных ФАО (DAD-IS (<http://dad.fao.org/>)) 107 пород овец.

По определению В.Ф. Красота и др. порода – это целостная группа животных одного вида, созданная трудом человека в определенных социально-экономических условиях, отличающаяся от других пород характерными признаками продуктивности, типом телосложения и стойко передающая свои качества потомству (Красота, Джапаридзе, 1999).

Н.С. Марзанов и др. определяют породу как совокупность животных, созданных человеком, которые формируют отдельный подвид, обладают одинаковыми, стойко наследуемыми, морфофизиологическими признаками в поколениях и имеют определенный ареал для своей жизнедеятельности (Марзанов и др., 2012а).

Породы овец по современной международной классификации делятся на местные и трансграничные. Местные породы составляют преобладающую часть поголовья овец во всех регионах. Наибольшее количество местных пород сконцентрировано в Европе и Азии (Состояние всемирных ... , 2010; Данкверт и др., 2010).

Породное многообразие является следствием интенсивного породообразовательного процесса, который длится на протяжении весьма продолжительного времени. Богатый мировой генофонд постоянно изменяется в количественном и качественном соотношении.

Для классификации пород овец используют два основных метода – морфологический и хозяйственный. Иными словами, в зависимости от конкретных задач породы классифицируют по одной из двух систем: зоологической или производственной.

Зоологическая классификация. Зоологическую классификацию овец разработал и предложил в начале XIX века русский естествоиспытатель академик П.С. Паллас. В основу деления на группы по этой классификации положено строение хвоста овец. У других сельскохозяйственных животных, например, *Bos Taurus*, зоологическая классификация

построена по признакам различий черепа, что в гораздо меньшей степени применимо для овец, так как по размеру и форме хвоста между группами овец наблюдаются более значительные различия, чем по строению черепа. Согласно данной классификации длина хвоста учитывается не в абсолютных линейных величинах, а по тому, достигает ли кончик хвоста скакательных суставов или опускается ниже. Форма хвоста характеризуется степенью развития жировых отложений вдоль хвостовых позвонков и внешним видом этих отложений (Ерохин, Ерохин, 2004).

Академик П.С. Паллас делил всех овец на пять групп: короткохвостые, длиннохвостые, курдючные, жирнохвостые и африканские гривистые. Впоследствии в его классификацию внесли некоторые изменения немецкий ученый Г. Натузиус и русские ученые Н.П. Чирвинский и М.Ф. Иванов.

В настоящее время по длине и форме хвоста все породы овец распределяются на следующие пять групп:

1) Короткохвостые. Для овец характерен короткий хвост, не достигающий концом скакательных суставов, без видимых снаружи отложений жира. Число хвостовых позвонков 10-12. К этой группе принадлежат романовские, опаринские, нолинские, северные короткохвостые овцы и др.

2) Длиннохвостые. Овцы имеют длинный, опускающийся ниже скакательного сустава тощий хвост, без видимых снаружи отложений жира. Число хвостовых позвонков 22-24. К этой группе относятся все тонкорунные и полутонкорунные породы, все скороспелые мясные, михновская, черкасская, неуплученные длиннохвостые грубошерстные овцы.

3) Короткожирнохвостые. Хвост у них короткий, не достигает скакательных суставов. Жировые отложения у корня хвоста в виде небольшой подушки. Число хвостовых позвонков 10-12. К данной группе относятся бурятская, тувинская, теленгинская, кулундинская и другие грубошерстные овцы Сибири.

4) Длинножирнохвостые. Овцы имеют длинный хвост, с хорошо выраженными жировыми отложениями, обычно достигающий скакательных суставов или опускающийся ниже. Жировые отложения в виде округлого образования или сужающегося книзу клина. Нижняя часть хвоста лишена жировых отложений. Число позвонков 22-24. В эту группу входят породы: каракульская, кучугуровская, большинство горных грубошерстных пород Северного Кавказа и Закавказья.

5) Курдючные. Для них характерны очень короткий и сильно недоразвитый хвост, состоящий из 5-6 позвонков, и большие жировые отложения (курдюк) у корня хвоста и на ягодицах. К этой группе принадлежат породы: гиссарская, джайдара, эдильбаевская,

сараджинская, а также некоторые курдючные породы Средней Азии и Казахстана (Ерохин, Ерохин, 2004).

В данную классификацию не вписывается бесхвостая порода овец, выведенная в США, вследствие чего, видимо, требуются новые дополнения в зоологическую классификацию (Ерохин, Ерохин, 2004).

Следует отметить, что вследствие большой изменчивости числа хвостовых позвонков, формы и размеров жировых отложений на хвосте, особенно в процессе породообразования с применением скрещиваний отдельных пород, по зоологической классификации не всегда можно достаточно четко установить разницу между овцами разных пород, а тем более между различными помесями. Однако зоологическая классификация имеет научное значение, потому что она позволяет судить о степени биологического сходства или различия между овцами разных пород, что необходимо учитывать в практике использования пород, при районировании их и выборе для скрещиваний. В одной и той же зоологической группе овец нередко оказываются породы, весьма различные по направлению продуктивности. Поэтому для производственных целей одной зоологической классификации недостаточно. Ее дополняет производственная классификация.

Производственная классификация. Производственная (хозяйственная) классификация овец была предложена советским ученым-зоотехником М.Ф. Ивановым. Она отражает направление продуктивности овец, то есть в ее основу положены вид, качество и количество продукции (шерсти, мяса, молока), для получения которой разводят ту или иную породу (Ерохин, Ерохин, 2004; Эрнст и др., 1994). Предлагая данную классификацию как более удобную для производства, академик Иванов в то же время отмечал ее некоторую условность. Это объясняется тем, что бывают случаи, когда овец одной породы в различных местностях разводят для разных целей. Так, например, овец цыгайской породы в Молдавии и особенно в странах Балканского полуострова используют как молочно-шерстных животных, так как молочная продукция этих овец играет там немаловажную роль в питании населения. В Ростовской области, в Нижнем Поволжье, в большинстве районов Украины и в Казахстане этих овец разводят только с целью получения шерсти, мяса, а молоко их не имеет товарного значения и, как правило, не используется как пищевой продукт.

Однако у большинства пород основное направление продуктивности выражено достаточно четко. В настоящее время производственная классификация успешно применяется и с вносимыми в нее дополнениями и изменениями соответственно развитию овцеводства, созданию новых и совершенствованию имеющихся пород. Данная классификация основана на главной продукции, которую дают овцы той или иной породы, на степени выраженности

наиболее важных хозяйственно-полезных признаков. Таким образом, с учетом продуктивно-биологических особенностей породы овец делят на следующие группы (таблица 1).

Тонкорунные породы характеризуются следующими продуктивно-биологическими особенностями: тонина шерсти 60 - 80-го качества (14-25 мкм); длина шерсти 7-9 см; ясно выраженная извитость (около 6-8 извитков на 1 см длины волокна). Основой деления тонкорунных пород на типы являются заметные различия между ними по уровню как шерстной, так и мясной продуктивности, по телосложению и величине животных (Ерохин, Ерохин, 2004; Полный каталог..., 2001).

Полутонкорунные породы овец в подавляющем большинстве сочетают высокую мясную и шерстную продуктивность. Тонина шерсти от 58-го до 36-го качества, длина – 6-20 см и более. Высокая мясная продуктивность полутонкорунных овец проявляется в хорошо выраженных мясных формах, скороспелости, высокой оплате корма продукцией.

Таблица 1

Производственная классификация овец

Породы овец	
по типу шерстного покрова	по направлению продуктивности
Тонкорунные	Шерстные
	Шерстно-мясные
	Мясошерстные
Полутонкорунные	Шерстно-мясные
	Мясошерстные длинношерстные
	Мясошерстные короткошерстные
Грубошерстные	Мясо-шубные
	Смушковые
	Мясо-сальные
	Мясошерстные
	Мясошерстно-молочные
Полугрубошерстные	Мясо-сально-шерстный

Грубошерстные породы имеют важное значение в современных условиях, так как являются источником продуктов питания – мяса, сала, молока, а также ценного сырья для промышленности – грубой шерсти, овчин, смушковых (Ерохин, Ерохин, 2004; Полный каталог..., 2001).

Полугрубошерстные породы. Овцы этого направления характеризуются наличием полугрубой шерсти в основном белого цвета, которая пригодна для выработки ковров высокого качества, искусственного меха и т.д. (Глазко, 2014).

В экономически развитых странах разводят в основном овец культурных пород, главная продукция которых – тонкая и полутонкая шерсть. В других странах разводят преимущественно грубошерстные породы овец (Ерохин, Ерохин, 2004). Разводимые в

настоящее время овцы весьма различаются по степени их использования в пороодообразовательном процессе. Интенсивное развитие тонкорунного и полутонкорунного овцеводства, в том числе и в нашей стране, вызванное социально-экономическими условиями, так же как и работа по созданию новых пород путем скрещивания с улучшающими тонкорунными и полутонкорунными породами, которая проводилась на базе местных грубошерстных овец, привели к значительному сокращению численности грубошерстных овец. Таким образом, некоторые местные породы грубошерстных овец (волошские, черкасские, кулундинские, решетиловские, и другие) или их отродья находятся на грани исчезновения или уже потеряны (Эрнст и др., 1994; Мороз, 2006; Эрнст, Зиновьева, 2008).

Весьма актуальным и необходимым считается сохранение и восстановление местных ценных аборигенных пород, отличающихся высокой приспособленностью, обладающих крепкой конституцией и прекрасной резистентностью по отношению ко многим заболеваниям. При этом важно сохранить не только внешний вид и биологические особенности животных, а в особенности уникальные гены и их комбинации (FAO/UNEP, 1984, Столповский, 1997; FAO, 2007; Глазко, 2014).

По данным FAO (FAO, 2007; Состояние всемирных..., 2010) в мировом породном разнообразии местные (локальные) породы представляют более 80 % (995 пород) от общего числа ныне существующих. Среди исчезнувших 180 пород овец также основную долю составляют локальные породы, и более сотни пород находятся в состояниях различной степени риска.

Общепризнанно, что с потерей или вытеснением локальных пород происходит снижение внутривидового генетического разнообразия domesticiрованных видов животных (Моисеева и др., 2006; Состояние всемирных..., 2010), так как исчезают адаптированные к определенным условиям ценные генофонды, необходимые для пороодообразовательного процесса в настоящем и будущем. Сохранение породного разнообразия домашних животных необходимо при решении задач, связанных с возможными изменениями условий среды, угрозами болезней, новыми знаниями и потребностями людей.

Наиболее эффективным способом сохранения внутривидового и породного разнообразия сельскохозяйственных животных является сохранение имеющихся генетических ресурсов и разработка селекционных стратегий разведения, которые помогут сократить генетическую эрозию.

1.2. Романовская порода овец

1.2.1. Происхождение или история создания романовской породы овец

Романовская порода является одной из старейших пород овец в Центральной и Северо-Западной России. Она была создана методами, так называемой народной селекцией. Исходным селекционным материалом послужили северные короткохвостые овцы, среди которых в течение длительного времени проводился отбор по плодовитости и качеству овчин. Свое название порода получила по первоначальному месту ее распространения, бывшему Романово-Борисоглебскому уезду Ярославской области (в настоящее время Тутаевский район Ярославской области).

Профессор зоотехнии И.Н. Чернопятков, исследователь скотоводства в северных и средних губерниях России, в 1872 году выделил романовских овец как одно из отродий среди северных короткохвостых овец наряду с другими: валдайское, костромское, зубцовское, палехское и другие (Курчан, Ястремский, 1980; Ерохин и др., 2005). Северные короткохвостые овцы являлись одной из древнейших групп домашних овец и были широко распространены по всему северу Европы (Есаулов, 1972). Отдельные разновидности, различающиеся в основном по масти, стали выделяться среди северных короткохвостых овец с течением времени под влиянием природно-климатических и хозяйственно-экономических условий (Смирнов, 1961; Ерохин и др., 2005). Профессор А.О. Дмитриев в 1901 г., а затем П.В. Медведев в 1923 г. и Л.Ф. Смирнов в 1961 г. высказывали мнение, что романовские овцы являются улучшенным отродьем северной короткохвостой овцы и образовались из местных овец в условиях пастбищного содержания, лучшего кормления, ухода и содержания, при отборе на племя лучших животных (Смирнов, 1961; Курчан, Ястремский, 1980; Ерохин и др., 2005).

Первые сведения в литературе о разведении романовских овец относятся к 1802 году, когда А. Плахов в своем письме «Примечание о прокормлении и усовершенствовании овец», опубликованном в трудах Вольного экономического общества, описал такие характерные породные признаки романовских овец, как высокое многоплодие и ценные шубные качества (Смирнов, 1961; Воробьев, 1966). Значительно позже (в 1848 году) было издано первое систематическое и довольно подробное «Наставление о разведении романовских овец». Написал его агроном Б. Михельсон на основе опыта разведения романовских овец в хозяйстве Григорецкой земледельческой школы. В 1855, 1859 гг. известный овцевод Д.В. Гаврилов писал о расширении района разведения романовских овец: в течение трех лет (1856-1859) он продал в 16 губерний (Московскую, Тульскую, Тамбовскую, Рязанскую, Орловскую, Пензенскую, Сибирскую, Эстляндскую, Костромскую, Нижегородскую и др.) 868 романовских овец, что составило почти половину вывезенных за это время из Романовского уезда овец (Гаврилов, 1859; Смирнов, 1961; Воробьев, 1966).

О происхождении романовских овец, согласно дошедшим до нас литературным источникам, существовало несколько мнений. Помимо доминирующей гипотезы, что

романовская порода получена с помощью многовековой селекцией северных короткохвостых овец в благоприятных условиях Приволжья, существовали и существуют и иные предположения. А именно, что романовская овца является результатом скрещивания местных северных короткохвостых овец с силезскими или с голландскими, или даже с ордынскими овцами (Лазовский, 1982; Ерохин и др., 2005). В тоже время существует гипотеза о том, что предки романовских овец появились на территорию древней Руси вместе с монголо-татарами и затем разводились «в себе» на территории Центральной России (Марзанов, Магомадов, 1997; Озеров и др., 2003). Мнения, что романовские овцы произошли от смешения местных овец с силезскими баранами, которые были выписаны в Ярославскую губернию еще в царствование Петра I из Силезии, придерживался Д.В. Гаврилов. Однако при тщательной проверке документов того времени оказалось, что тогда из Силезии были выписаны не бараны, а овчары, и двое из них действительно были поселены в Ярославскую губернию для обучения местных крестьян овчарному делу (Ерохин и др., 2005). А. Соколов высказывал мнение, что романовские овцы появились в начале второй половины XVIII века от скрещивания местных овец с голландскими баранами, которые были куплены князем Юсуповым. В дальнейшем он высказывал предположение, что романовские овцы произошли от помесей местных овец с ордынскими овцами, завезенными в Романово-Борисоглебской уезд мурзами и татарами ногайской орды, и от дальнейшего скрещивания с голландскими баранами (Смирнов, 1961). Многие из подобных гипотез основаны лишь на преданиях или предположениях, так как нет точных фактических материалов, подтверждающих или опровергающих вышеизложенное.

Русские классики зоотехнической науки считали, что романовские овцы являются местной культурной породой и в их создании не участвовали другие породы (Чирвинский, Елагин, 1916; Лазовский, 1983; Ерохин и др., 2005). Н.П. Чирвинский, В.Б. Елагин в 1916 году провели краниологические исследования и отметили, что по форме черепа романовские овцы принадлежат к типичным представителям своей группы, ведущей свое начало от европейского муфлона. Иными словами, их ближайшими предками являются северные короткохвостые овцы. Аналогичного мнения придерживались П.Н. Кулешов, М.Ф. Иванов, П.В. Медведев, Л.Ф. Смирнов, А.И. Панин, Г.И. Селянин и др.

В своей работе по изучению наследственных полиморфных систем крови А.А. Лазовский установил генетическое сходство между муфлоном и романовской породой, тем самым было подтверждено мнение о том, что романовская порода выведена без прилития крови других пород (Лазовский, 1982, 1983).

Покровская В.А. отмечала, что развитие породы определяли экономические стимулы, побуждавшие крестьян Нечерноземья к улучшению романовских овец. Д.Д. Арсеньев и Т.В. Арсеньева утверждали, что в основе создания романовской породы овец лежало два основных

фактора: 1) социально-экономический - крестьянин, не имевший возможности содержать корову, стремился получить от овцы и пищу, и одежду, 2) природно-климатический (Арсеньев, Арсеньева, 1985; Ерохин и др., 2005).

Таким образом, подводя итог гипотез о происхождении романовских овец можно сделать вывод о том, что романовская порода является местной породой, выведенной путем отбора и подбора по многоплодию и качеству овчин. Выведению породы способствовали следующие факторы: экономическая заинтересованность крестьянского населения, благоприятные естественно-исторические условия, улучшенное кормление, уход и содержание.

1.2.2. Характеристика овец романовской породы

Романовская порода овец – это уникальная отечественная порода короткошестехвостых овец, которая относится к грубошерстным породам мясо-шубного направления продуктивности.

Впервые обще породный стандарт романовских овец нормального типа был разработан в 1908 г. П.Н. Кулешовым. Согласно этому стандарту экстерьер овец характеризовался следующими данными: рост до 70 см; туловище бочкообразное, с круглым ребром, с прямой широкой спиной; голова небольшая, сухая, с заметной горбоносостью (причем у барана она выражена резче, чем у овцы); голова у барана шире; уши подвижные, глаза большие; хвост длиной до 13 см; животные комолые и рогатые. Комолые овцы предпочтительнее рогатых (Смирнов, 1961; Арсеньев, Арсеньева, 1985)

В дальнейшем характеристика телосложения в процессе размножения племенных романовских овец была уточнена Н.П. Чирвинским и В.Б. Елагиным в 1914 г., Л.Ф. Смирновым в 1950 г., Г.И. Селяниным и А.В. Заморышевым в 1967 г., Д.Д. Арсеньевым и Т.В. Арсеньевой в 1985 г. (Хататаев, 1990).

Романовские овцы желательного типа имеют крепкую конституцию, средний рост, хорошо развитый прочный костяк, развитую мускулатуру, крепкие прямые широко расставленные ноги, округлое бочкообразное туловище, широкую и глубокую грудь, небольшую сухую продолговатую горбоносую голову, короткий хвост (8–10 см). Бараны крупнее маток, они имеют более грубый и мощный костяк, широко поставленные ноги и выраженную горбоносость головы. Несколько грубее у баранов и кожно-шерстный покров, с 8-9 месячного возраста у них развивается грива, резко отграниченная от остальной части руна и состоящая из грубых остевых волокон. Самцы и самки бывают рогатые и комолые. Масса баранов – 65 – 75 (до 100) кг, маток – 45 – 55 (до 90) кг (Смирнов, 1961; Арсеньев, Арсеньева, 1985; Сельскохозяйственный энциклопедический словарь, 1989; Справочник пород..., 2013)

Важной продукцией романовских овец являются шубные овчины. Они считаются лучшими в мире по теплоизоляционным свойствам, лёгкости, нарядности и износоустойчивости. Наиболее ценными считаются пояровые овчины, получаемые от 6–8-месячных ягнят. Высокие шубные свойства романовских овчин обусловлены особенностями их шерстного покрова и кожной ткани: удачным соотношением ости и пуха по длине и количеству, красивой серой и голубой окраской шерстного покрова, лёгкостью и прочностью мездры (Сельскохозяйственный энциклопедический словарь, 1989; Ерохин и др., 2005; Глазко и др., 2012).

Шерсть романовских овец состоит только из черной ости и белого пуха, который по длине перерастает ость, образуя косицы с красивыми мелкими кольцевидными завитками в верхнем ярусе. Короткая ость (2,5-3,5 см) является опорой пуху (4-6 см), который должен быть длиннее ости на 1-3 см, чтобы не происходило свойлачивания. Толщина шерстных волокон также имеет важное значение (тонина ости – 60–90 мкм, пуха – 20-27 мкм). При оптимальной тонине ости (около 70 мкм) обеспечивается требуемая стойкость шерстного покрова против свойлачивания и минимизируется сминаемость. Густота шерсти – 2600-2800 волокон на 1 см² площади кожи (Сельскохозяйственный энциклопедический словарь, 1989; Справочник пород..., 2013).

Разные соотношения ости и пуха дают разный цвет руна – от светло-серого (когда много пуха) до черного (когда много ости). Высокосортные овчины характеризуются соотношением ости и пуха 1:4 – 1:10 (на одно волокно ости приходится 4-10 волокон пуха). Наиболее желательно более узкое соотношение (1:4-7), при котором овчины имеют голубовато-серый цвет. При рождении волосяной покров у ягнят чёрный, так как черная ость (1,9-2,0 см) длиннее светло-серого пуха (0,9-1,0 см). К 3-4 месяцам пух перерастает ость, и ягнята начинают светлеть. Стригут романовских овец три раза в год (примерно в марте, июне-июле и сентябре-октябре). Годовой настриг с баранов-производителей - 2,3-2,8 кг, с маток — 1,5-1,7 кг. Шерсть используется в основном для выработки валяной обуви, войлока, грубых волокон (Ерохин и др., 2005).

Овец романовской породы по развитию костяка, показателям кожно-шерстного покрова и экстерьера разделяют на три типа конституции: крепкий (оптимальное сочетание плодовитости и жизнеспособности, крепкий костяк, лучшая шерсть), грубый (тяжелый костяк, тёмная грубая тяжёлая овчина, много переходного волокна), нежный (недоразвитый костяк, низкокачественная светлая овчина, плохое здоровье и плодовитость).

Ценные биологические особенности романовских овец, по которым они отличаются от большинства других пород овец мира - высокая плодовитость и полиэстричность (способность самок проявлять половую охоту, оплодотворяться и приносить приплод в любое время года). Этими биологическими особенностями обусловлен высокий уровень продуктивности, прежде

всего мясной и возможность относительно равномерного в течение года поступления продукции. Плодовитость овцематок достигает 250-300% (Справочник пород..., 2013). Полиэстричность имеет важное хозяйственное значение, так как овцематки способны ягниться дважды в год или 3 раза в два года. Половая зрелость наступает рано, но использовать ярок в воспроизводстве желательно с 10-11-месячного возраста. Период плодоношения (беременности) составляет 140-153 дня. За окот овцематки приносят обычно 2-3 ягненка: по одному ягнёнку - 6-8 % маток, по два - 38-40 %, по три - 44-46 %, по четыре и более - 8-10 % (Ерохин и др., 2005).

Плодовитость – это генетически обусловленный признак. Об этом свидетельствует большая изменчивость многоплодия у овец разных пород, подверженная в то же время существенным изменениям под влиянием различных паратипических факторов (Ерохин и др., 2005; Xiao-Dan et al., 2005; Fabre et al., 2006; Ozmen et al., 2012). Многими авторами изучалось влияние факторов селекции (например, отбора по типу рождения и др.) на многоплодие и продуктивность романовских овец (Ерохин, 1977; Цюкша, Волгаева, 1982; Арсеньев, Арсеньева, 1985; Ерохин, Джанчаров, 1989). И.Д. Деревенщиковым (1974) было установлено, что многоплодие романовских овцематок коррелирует со средней пожизненной многоплодностью их матерей, а не с величиной приплода, в котором они родились. Для дальнейшей селекции на увеличение многоплодия важно количество ягнят, полученных при первом и втором ягнении (Ерохин, 1977; Цюкша, Волгаева, 1982).

1.2.3. Современное состояние, распространение, численность романовской породы овец

Романовская порода считается гордостью российского животноводства. Она разводится во многих странах мира, где, благодаря своей универсальной продуктивности, сохраняется в чистоте и активно используется для улучшения местных пород овец. По данным ФАО романовская порода входит в восьмерку широко распространенных трансграничных пород (рисунок 2) (FAO, 2007; Состояние всемирных..., 2010).

Однако, несмотря на то, что романовская порода овец одна из немногих российских пород, которая имеет статус международной породы и пользуется широкой популярностью в основных овцеводческих странах, в России, численность овец этой породы за последние десятилетия постоянно снижалась (Ерохин, 2001; Столповский и др., 2008). К концу XX века в России численность породы упала до критических размеров: в 1999 году романовских овец насчитывалось меньше 23 тысяч голов, из них овцематок и ярок старше одного года менее половины (Эрнст и др., 1994, Моисеева и др., 2006).

В последние годы в численности романовских овец появилась положительная динамика (Москаленко и др., 2014). На 01.01.2014 г. по данным ВНИИплем поголовье романовских овец составила 64,9 тыс. голов во всех категориях хозяйств (Ежегодник по племенной работе... (2013), 2014; Фураева и др., 2015).

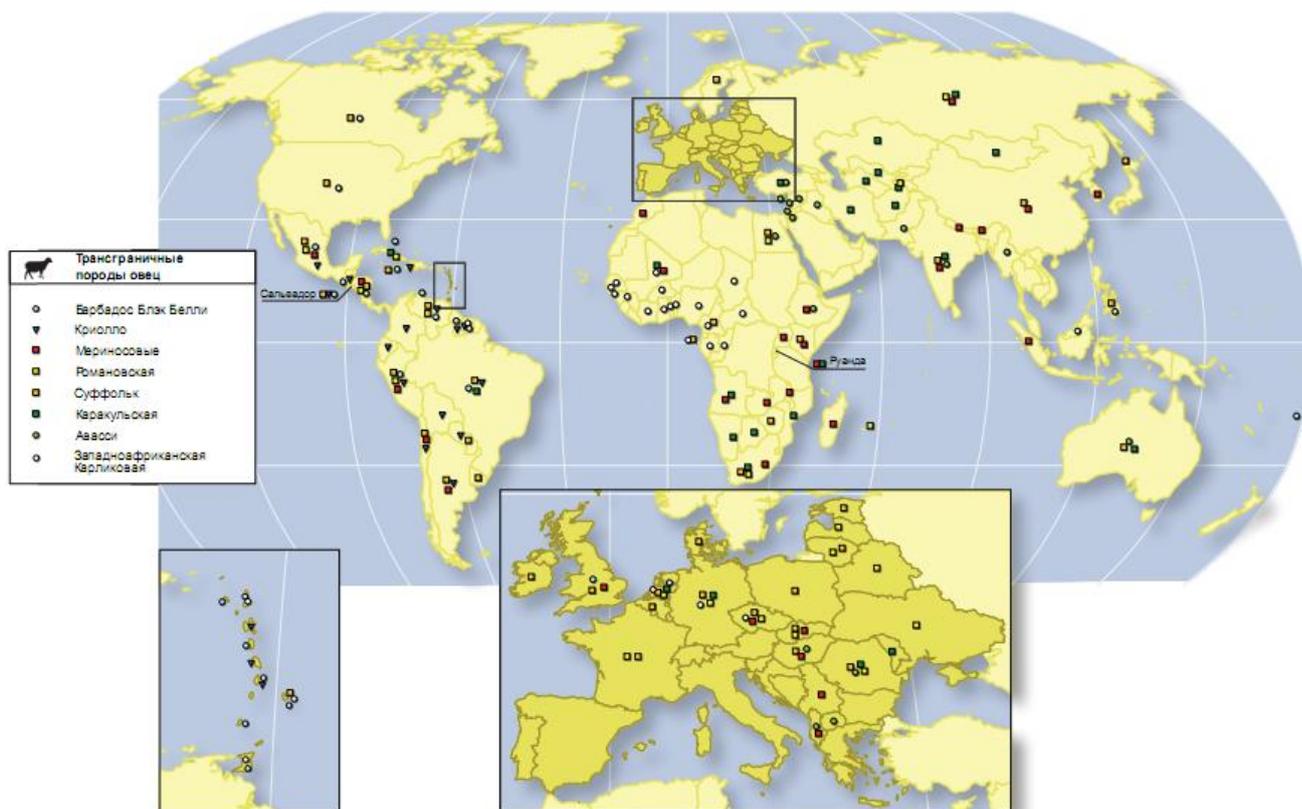


Рисунок 2. Распределение трансграничных пород овец (из Состояние всемирных..., 2010).

Значительно расширился и ареал разведения породы. Если в конце XX в. основными областями, где разводились романовские овцы, были Ярославская, Костромская, Ивановская, Калининская и Московская, то в настоящее время это 33 региона России – от Камчатки и Пермского края до Твери и от Архангельска до Краснодарского края (Ежегодник по племенной работе (2013), 2014; Лобков и др., 2012; Фураева и др., 2015). Наибольшая численность романовских овец имеется в хозяйствах Рязанской (12,0 тыс. гол.), Ярославской (8,7 тыс. гол.), Тверской (6,6 тыс. гол.) Пензенской (3,0 тыс. гол.) и Ивановской (2,8 тыс. гол.) областей (Ежегодник по племенной работе (2013), 2014). Племенное поголовье сосредоточено в 28 хозяйствах трех республик, двух краев и восьми областей (2 племзавода, 17 племенных репродукторов и 9 генофондных хозяйств) (Фураева и др., 2015).

К романовской породе на протяжении большого количества времени проявляют большой интерес многие овцеводы. Продуктивно-биологические особенности романовских овец широко используют во многих странах мира с развитым овцеводством. В связи с полиэстричностью и

многоплодием разведение их как в «чистоте», так и при скрещивании с другими породами является экономически выгодным делом. Романовских овец широко используют для повышения плодовитости как в двухпородных, так и трехпородных скрещиваниях с самыми различными породами как в нашей стране, так и за рубежом. В настоящее время в сельскохозяйственном холдинге «АгриВолга» Угличского района Ярославской области несколько лет активно используют романовскую породу в трехпородном скрещивании с овцами мясных пород (дорсет и суффолк) для получения гибридов, сохраняющих многоплодие романовской породы и обладающих улучшенными мясными характеристиками (Макарова и др., 2012). Во Франции, Югославии, США, Польше, Болгарии, Венгрии, Румынии, Израиле, Монголии и ряде других стран романовских овец используют в промышленном скрещивании, а также для создания новых многоплодных типов и пород овец (Жиряков, 1976; Мороз, 1978; Ковнерев, 1978; Покатилова, 1992; Ерохин и др., 2005).

Во Францию впервые романовские овцы были завезены в 1963 году (Ricoardeau et al., 1990; Глазко и др., 2012). Под руководством Национального института сельскохозяйственных исследований (INRA) велись работы по изучению биологических и физиологических особенностей романовских овец, различных схем скрещивания с местными породами (берришон-дюшер, иль-де-франс и др.) (Жиряков, 1976; Покатилова, 1992). Из Франции овцы романовской породы были завезены в 1981 г. в Канаду, где наряду с репродуктивными качествами изучались условия содержания (Покатилова, 1992).

С целью увеличения производства ягнатины или повышения мясной продуктивности овец в Испании с романовскими баранами скрещивали маток арагонской породы, в Португалии – маток португальского меринуса. В Италии применяли чистопородное разведение завезенных романовских овец и скрещивание с апеннинской породой (Покатилова, 1992; Ерохин и др., 2005).

В связи с тем, что спрос на романовских овец как внутри страны, так и за рубежом не только не снижается, а возрастает, можно с полным основанием утверждать, что романовская порода остается востребованной среди овцеводов и является ценнейшей частью мирового генофонда овец.

1.3. Генетические маркеры в изучении генетического разнообразия овец

В качестве генетических маркеров первоначально использовались морфологические (фенотипические) признаки. Так в 20-х годах XX века А.С. Серебровским было сделано теоретическое обоснование применения в селекции генетических маркеров, на примере данных полученных по изучению фенотипов кур Дагестана (Серебровский, 1926). У овец хорошо изучены такие морфологические маркеры, как рогатость и комолость, крипторхизм, окраска

шерсти. Однако морфологические моногенно наследуемые признаки оказались недостаточно эффективными для решения практических задач, так как количество информативных маркеров данного типа ограничено. К тому же они могут иметь сложный характер наследования и часто зависят от условий внешней среды (Mohan et al., 1997). Так у многих пород овец изучены изменчивость и наследуемость показателей продуктивности и экстерьерных характеристик. Значения коэффициентов наследуемости основных селекционируемых признаков у различных пород овец варьируют в широких пределах: наиболее высокие характерны для признаков шерстной продуктивности (от 0.10-0.60 до 0.52-0.80), наименьшие – для признака плодовитости (0.04-0.25) (Ерохин, Ерохин, 2004, Ерохин и др., 2005). Подобные большие различия являются результатом не только тесной связи с породой, а также с условиями внешней среды – содержанием, кормлением и т.д.

С развитием молекулярных методов исследований стал возможен анализ генетического полиморфизма на уровне продуктов генов (белковый или биохимический полиморфизм) и генетического материала клетки (полиморфизм ДНК).

Первые молекулярные маркеры, созданные на основе анализа белкового полиморфизма, были открыты К. Маркертом с соавторами, чьи работы стали классическими в генетике полиморфных белков (Глазко, Созинов, 1993). В дальнейшем использование нескольких сотен биохимических маркеров позволило оценить уровень генетического полиморфизма для более 2000 биологических видов (от микроорганизмов до человека) и разработать основные теоретические положения популяционной генетики (Ayala, 1976, 1983; Nei, 1987; Алтухов, 2003).

С открытия антигенных различий человеческой крови и законов генетического контроля АВО системы начались активные иммуногенетические исследования, в том числе и групп крови домашних животных. Так Стормант и его ученики с помощью алло- и ксеноиммунизации с применением реакции гемолиза обнаружили большое количество антигенов групп крови у овец (Rasmusen, 1958, Rasmusen et al., 1960). К настоящему времени у овец известно 8 генетических систем групп крови (Nguyen, 1979; Марзанов и др., 2012б). Первые работы на территории бывшего СССР по изучению антигенов групп крови проводились Лабунским В.М., а по полиморфным системам белков – Егоровым Е.А. (Марзанов и др., 2012а). Одна из первых отечественных работ по изучению использования групп крови в селекционной работе в овцеводстве – публикация Марзанова Н.С. и Люцканова П.И. (1991). Бороздиным Э.К. с соавторами в 1992 году по эритроцитарным антигенам групп крови была изучена генетическая структура овец романовской породы, в 1997 году Марзанов и Магомадов анализировали группы крови романовских овец по семи системам (А, В, С, D, R, М., I). В последующие годы продолжалось сравнительное изучение различных пород и внутривидовых групп овец.

Большое количество работ по исследованию биохимического полиморфизма выявило ряд ограничений в использовании данного типа маркеров, в частности, возможность анализа только белок-кодирующих последовательностей и только у экспрессирующихся генов, низкий уровень белкового полиморфизма в популяциях домашних животных, птиц, культурных растений, ограничения в выборе биологического материала и времени его сбора (Сулимова, 2004, Моисеева и др., 2006).

Более эффективным оказалось тестирование генетического полиморфизма не на уровне продуктов генов (белкового полиморфизма), а непосредственно на уровне генов, то есть было предложено использовать в качестве маркерных систем полиморфизма нуклеотидные последовательности ДНК. ДНК-маркеры позволяют решить проблему по насыщению генома маркерами и маркировать практически любые участки ДНК, в том числе некодирующие области. Кроме этого, данный тип маркеров возможно исследовать в любых тканях и органах, вне зависимости от стадии развития организма (Моисеева и др., 2006).

Большую роль в становлении и развитии нового типа ДНК-маркеров сыграло изобретение Кэри Мюллисом в 1983 г. метода амплификации *in vitro* определенных участков ДНК в процессе повторяющихся температурных циклов полимеразной реакции (ПЦР - полимеразная цепная реакция, англ. PCR - Polymerase Chain Reaction). Широкое распространение метода ПЦР началось с момента публикации в 1988 году основополагающей работы Саики с соав. (Saiki et al., 1988), в которой были использованы термофильные ДНК-полимеразы и рассмотрены теоретические основы метода. За изобретение метода ПЦР в 1993 году Кэри Мюллису была присвоена Нобелевская премия. Благодаря методу ПЦР возможно быстро и с небольшими затратами материальных ресурсов и времени получить более 10 миллионов копий определенной последовательности ДНК, которая первоначально представлена одной или несколькими молекулами. Различные модификации метода ПЦР легли в основу создания разнообразных типов ДНК-маркеров, которые широко используются в настоящее время в различных областях биологии, медицины и сельского хозяйства.

1.3.1. Микросателлиты

Микросателлиты – одни из наиболее широко распространенных монолокусных ДНК-маркеров, впервые описанные в 1989 г. (Litt, Luty, 1989). Это первые, полученные с использованием ПЦР, высокополиморфные маркеры для индивидуальных локусов. Микросателлиты представляют собой диспергированные тандемно-повторяющиеся последовательности (ди-, три- и тетра-нуклеотиды), общий размер повторяющейся области которых, как правило, не более 100 п.н. (Litt, Luty, 1989; Tautz, 1989; Weber, May, 1989). Данные

ДНК-маркеры имеют несколько названий: микросателлиты, STMS (Sequence Tagged Microsatellite Site), STR (short tandem repeat), SSR (simple sequence repeat). Для того чтобы создать STR подбираются праймеры к уникальным последовательностям ДНК, фланкирующим микросателлитный повтор, что требует предварительного знания их нуклеотидной последовательности. Полиморфизм STR определяется разной копийностью мономерных единиц в кластере, что и приводит к существованию множественных аллельных вариантов. Согласно Джин с соав. возникновение аллелей микросателлитов обусловлено рекомбинацией и ошибками в процессе репликации или репарации ДНК (Jin et al., 1996).

Высокий уровень полиморфизма (гетерозиготность часто более 75%) микросателлитов, относительно равномерное их распределение в эухроматиновой части и широкая представленность в геноме сделали их чрезвычайно популярными среди исследователей. Микросателлиты широко распространены в эукариотических геномах растений и животных. Так, например, в геноме человека динуклеотидные повторы встречаются в среднем каждые 2 т.п.н. (Глик, Пастернак, 2002; Моисеева и др., 2006).

Микросателлиты широко используются для создания генетических карт, в исследованиях генетического полиморфизма популяций человека, растений и животных. Микросателлитные маркеры Y-хромосомы позволяют изучать «отцовскую линию», роль различных гаплотипов Y-хромосомы и используются в филогенетических исследованиях (Сулимова, 2004; Kantanen et al., 2009). Они эффективны для анализа эволюционных связей между различными породами сельскохозяйственных животных и определения времени появления пород, применяются для паспортизации пород и индивидуальной идентификации животных. Показана применимость данного типа маркеров для определения породной принадлежности и высокая информативность микросателлитов для характеристики генетического разнообразия свиней (Зиновьева и др., 2008, 2009). С помощью микросателлитов изучаются породы крупного рогатого скота и родственных ему видов (Зиновьева и др., 2009, Эрнст и др., 2009, Meng-Hua Li et al., 2007, 2010; Гладырь, 2011). Контроль родословных крупного рогатого скота, лошадей, свиней и собак по панелям локусов микросателлитных ДНК стандартизованными сравнительными тестами при содействии Международного Общества Генетики Животных (the International Society for Animal Genetics, ISAG), уже вошел в общепринятую практику во многих странах мира.

С использованием микросателлитов проводятся исследования отечественных и зарубежных пород овец. По микросателлитам возможно установить генетический профиль и оценить степень дифференциации различных пород овец (Озеров и др., 2003; Марзанов и др., 2012а, б; Гладырь и др., 2013), определить достоверность происхождения потомства овец, принадлежность к той или иной породе (Achmann, Brem, 1998; Озеров и др., 2007). К

настоящему времени установлены эволюционно-генетические связи между различными породами овец России и сопредельных стран (Гладырь и др., 2004; Озеров и др., 2006; Бурабаев и др., 2009), между шестью популяциями мериносовых овец Испании, Португалии и Новой Зеландии с помощью 20 микросателлитных локусов (Diez-Tascon et al., 2000).

1.3.2. Мультилокусные ДНК-маркеры (полиморфизм длин продуктов амплификации, AFLP-маркеры; межмикросателлитный полиморфизм, ISSR-маркеры)

Для оценки уровня полиморфизма генома в целом и разработки экспресс-методов дифференциации пород сельскохозяйственных животных наилучшим образом подходят мультилокусные ДНК-маркеры. Это особый класс ДНК-маркеров, полученных на основе ПЦР с праймерами, имеющими множественную локализацию в геноме. Мультилокусные ДНК-маркеры могут быть получены при использовании одного короткого праймера с произвольной последовательностью (RAPD - Randomly amplified polymorphic DNA и ее аналогов), праймеров с искусственно добавленными последовательностями (адаптерами) (AFLP - Amplified fragment length polymorphism) или праймеров, комплементарных к повторяющимся элементам генома, таким как микросателлиты (ISSR - Inter-simple-sequence-repeats) или транспозоны (IRAP - Inter-retransposon amplified polymorphism) (Моисеева и др., 2006; Боронникова, 2013).

Для создания данных типов маркеров не требуется предварительного знания нуклеотидных последовательностей генома исследуемых организмов. Однако для RAPD-анализа наряду с остальными перечисленными методами отмечается такой недостаток как низкая воспроизводимость результатов, обусловленная повышенной чувствительностью к условиям реакции.

Полиморфизм длин продуктов амплификации (AFLP-маркеры)

Метод анализа AFLP используется для исследования варибельности генома в целом. Особенности этого подхода - использование в качестве матрицы рестрицированных фрагментов ДНК, лигированных со специфическими олигонуклеотидными адаптерами, и проведение избирательной амплификации со специально сконструированными праймерами. Праймеры состоят из фиксированной части, которая содержит последовательность, комплементарную адаптеру и сайту рестрикции использованной эндонуклеазы (~ 15 нуклеотидов), и короткого фрагмента (на 3'-конце) с произвольной последовательностью нуклеотидов (2-4 нуклеотида) (Mueller, Wolfenbarger, 1999; Vos et al., 1995). Эта фиксированная часть придает праймеру стабильность и, следовательно, хорошую воспроизводимость метода, а короткая последовательность со случайным набором нуклеотидов позволяет определять и контролировать пропорцию лигированных фрагментов, которые могут быть амплифицированы.

С каждой парой праймеров амплифицируются 75-100 фрагментов (AFLP-фингерпринтинг), которые разделяют в агарозном или полиакриламидном геле. Количество локусов, анализируемых одновременно с каждой комбинацией праймеров, гораздо больше, чем при любой другой технике анализа полиморфизма ДНК, поскольку каждый фрагмент представляет собой уникальный сайт. AFLP-маркеры характеризуются доминантным типом наследования, они успешно используются для геномного картирования (Thomas et al., 1995; Menz et al., 2002) и в популяционных и филогенетических исследованиях, (Buntjer et al., 2002; Ajmone-Marsan et al., 2002; Negrini et al., 2006; De Marchi, 2006; SanCristobal, 2006), в том числе и пород овец (Hoda et al., 2010; Mirhoseini et al., 2012). В последние годы AFLP-маркеры получают все более широкое распространение для исследования мало изученных таксономических групп животных и растений.

Межмикросателлитный полиморфизм (ISSR-маркеры)

Для создания ISSR-маркеров используют праймеры, которые комплементарны микросателлитным повторам (4-12 единицам повтора) и несут на 3'-конце последовательность из 1-3 произвольных нуклеотидов (так называемый "якорь"). Данные праймеры позволяют амплифицировать фрагменты ДНК, которые находятся между двумя достаточно близко расположенными инвертированными микросателлитными последовательностями. В результате амплификации получается большое число фрагментов, представленных на электрофореграмме дискретными полосами (ISSR-фингерпринтинг). Данный метод не требует предварительного знания нуклеотидной последовательности исследуемой ДНК. Преимуществом ISSR-анализа по отношению к RAPD-методу является высокая воспроизводимость спектра благодаря большей длине праймера и его комплементарности микросателлитному району и точной температуре плавления (Abbot, 2001; Кочиева и др., 2002). ISSR-маркеры - маркеры доминантного типа наследования, полиморфизм которых, тестируется по наличию/отсутствию полосы. Полученные паттерны ПЦР-продуктов видоспецифичны, с их помощью возможно дифференцировать виды животных и растений (Zietkiewicz et al., 1994; Gupta et al., 1994; Кочиева и др., 2002).

ISSR-фингерпринтинг может с успехом использоваться для выявления меж- и внутривидовой генетической изменчивости, идентификации видов, популяций, линий, а в отдельных случаях и для индивидуального генотипирования (Шаброва и др., 2003; Сулимова, 2004; Столповский и др., 2009а, 2009б, 2010, 2011).

Метод ISSR-анализа широко используется в генетике растений (Глазко и др., 1999; Raina et al., 2001; Кочиева и др., 2002; Tanyolac, 2003; Zhang et al., 2007), и все более широко начинает применяться для изучения популяций животных. Применение метода ISSR-PCR позволяет

получать мультилокусные спектры, полиморфизм которых отражает специфику генофонда животных определенной породы, например пород крупного рогатого скота (Глазко и др., 1999; Городная и др., 2003; Сулимова, Ахани Азари, 2006; Столповский и др., 2010, 2011), лошадей (Феофилов и др., 2011; Воронкова, 2012), свиней (Денискова, 2012). Анализ ISSR-PCR спектров использовался также для изучения разнообразия оленей (Кол, Лазебный, 2006), яков (Столповский и др., 2014), кроликов (Шевченко, Копылов, 2011) и выявления межвидовых различий морских животных (моллюски) (Varela et al., 2007).

С применением ISSR-PCR маркеров были анализированы генофонды отдельных пород овец (Столповский и др., 2009б; Феофилов и др., 2013), в том числе и несколько популяций овец романовской породы (Столповский и др., 2008; Столповский, 2010).

1.3.3. Полиморфные маркеры, основанные на тестировании однонуклеотидных замен (SNPs)

Полиморфные маркеры, основанные на тестировании однонуклеотидных замен (SNP, Single Nucleotide Polymorphism) имеют в настоящее время широкое распространение и применяются в различных областях науки, медицины и сельского хозяйства. Согласно принятому определению SNPs представляют собой однонуклеотидные позиции в геномной ДНК, для которых в популяции имеются различные варианты последовательностей (аллели), причем частота редкого аллеля не менее 1% (Brookes, 1999). В базы данных SNPs часто включают также небольшие инсерции/делеции (indels) и изменения нескольких нуклеотидов, хотя они и не подходят под формальное определение SNPs. Обычно встречаются двуаллельные SNPs, а трехаллельные на практике чрезвычайно редки (например, ~0.1 % всех SNPs человека) (Lai, 2001).

Достоинством SNPs является возможность одновременно тестировать большое число аллелей с помощью автоматических методов их детекции, например, с помощью ДНК-микрочипов (microarrays, ДНК-микрочип) и др.

SNPs - тип ДНК-маркеров, объединивший под общим названием все маркеры, обусловленные одиночными нуклеотидными заменами в последовательности ДНК, вне зависимости от способа их тестирования. Так самыми первыми ДНК-маркерами, относящимися к этому типу, являются ПДРФ-маркеры (Southern, 1975; Arber, 1979).

ПЦР-ПДРФ (PCR-RFLP, PCR-restriction fragment length polymorphism) – это ферментативный метод анализа SNPs. Он аналогичен методу ПДРФ, но в его основе лежит использование ПЦР. Определение полиморфного сайта методом ПЦР-ПДРФ включает ПЦР-амплификацию интересующего фрагмента и его последующее расщепление соответствующей

рестриктазой. Ограничение метода в том, что с его помощью можно тестировать только известные мутации, которые затрагивают сайты рестрикции.

Аллель-специфичная ПЦР (AS-PCR) – это также ферментативный метод анализа известных аллелей. Различие аллельных вариантов осуществляется за счет того, что 3'-концевой нуклеотид одного из праймеров гибридизуется непосредственно с варибельным нуклеотидом (позиция SNP), что и обуславливает наличие или отсутствие ПЦР (Kwok et al., 1990). При необходимости возможно повысить специфичность реакции вводя дополнительный, не спаренный нуклеотид во второй или третьей позиции с 3'-конца этого же праймера или используя конкурирующую ПЦР в той же пробирке (Zhu, Clark, 1996; Sasvari-Szekely et al., 2000).

Секвенирование интересующего участка генома - самый точный метод детекции SNP. Но при массовом анализе образцов это дорогой и трудоемкий метод. Предложено несколько модификаций реакции, которые снижают её стоимость, например, секвенирование обеих цепей в одной реакции с использованием двух различно меченых праймеров (Plaschke et al., 1998), совмещение ПЦР и секвенирования в одной пробирке сразу для нескольких локусов (Kilger, Raabo, 1997) и другие.

Практический интерес к использованию SNPs в качестве генетических маркеров обусловлен их чрезвычайно широким распространением, как в геноме человека, так и в геномах других организмов. Внедряя в практику животноводства ДНК-маркеры данного типа, можно проводить точную идентификацию генотипов животных, несущих желательные фенотипические особенности, и на их основе вести селекцию. Таким образом, возможно более рационально использовать генетический потенциал сельскохозяйственных животных и вести селекцию на уровне генома.

В последние годы с помощью существующих методов детекции SNPs (PCR-RFLP, AS-PCR, SSCP и других) все больше исследуются самые различные показатели продуктивности сельскохозяйственных животных. Большинство известных на сегодня молекулярно-генетических маркеров продуктивности выявлено у КРС. Многие из них связаны с показателями молочной продуктивности (Юдин, Воевода, 2015).

С помощью ПЦР-ПДРФ, наиболее распространенного благодаря своей простоте и надежности метода типирования SNPs, анализируется полиморфизм генов каппа-казеина (*CSN3*), пролактина (*PRL*), соматотропина (*GH*), бета-лактоглобулина (*BLG*), диацилглицерин О-ацилтрансферазы (*DGAT1*), гена рилизинг фактора (гипоталамического фактора транскрипции (*PIT-1*)) и других у различных пород крупного рогатого скота. Так в Польше подобные работы проводились на черно-пестрой и джерсейской породах (Dybus et al., 2005; Komisarek, Dorynek, 2006; Komisarek et al., 2011), в Германии - на немецкой голштинской

породе КРС (Kaupе et al., 2007), в Италии – на нескольких итальянских породах (Di Stasio et al., 2005; Fontanesi et al., 2007; Gill et al., 2009). Гены молочной продуктивности исследуются и совместными усилиями европейских стран (Viitala et al., 2006; Hradecka et al., 2008). В России изучается связь полиморфизма генов гормона роста и пролактина с содержанием жира в молоке (Alipanah et al., 2007; Лазебная и др., 2011; Долматова, 2011), а также аллельный полиморфизм гена *CSN3* (Горячева, 2011; Sulimova et al., 2007; Селионова, 2011). В Индии проводились работы по генотипированию местного скота по генам *DGAT1* и *ABCG2* (Tantia et al., 2006). *Bos indicus* исследовали и в Бразилии по генам *DGAT1* и *LEP* (Souza et al., 2010). Также работы по генотипированию различных пород проводятся учеными других стран: Бельгии (Grisart et al., 2004), Словацкой республики (Moravčiková et al., 2012), Ирана (Mohammadabadi et al., 2010; Rahbar et al., 2010), Турции (Akis Akad et al., 2012), Иордании (Jawasreh et al., 2009).

На различных породах овец ведутся работы по определению генов, связанных с показателями молочной продуктивности (Vincent, Rothschild, 1997; Barillet et al., 2005; Gutierrez-Gil et al., 2009; Ramos et al., 2009; Orford et al., 2010; Staiger et al., 2010; Orford et al., 2012).

С помощью данного типа маркеров ведутся исследования широкого распространенного заболевания КРС – комплексного порока позвоночника (CVM), проявление которого связано с миссенс-мутацией в гене *SLC35A3* КРС, и BLAD-синдрома КРС, проявляющегося при наличии точечной мутации в кодирующей части аутосомного гена *CD 18* (Kanae1 et al., 2005; Thomsen et al., 2006; Кийко и др., 2008; Logar et al., 2008; Chu et al., 2008).

Ген лептина изучается также в связи с его влиянием на мясную продуктивность и репродуктивные показатели (Lusk, 2007; Shin, Chung, 2007; Schenkel et al., 2009; Giblin et al., 2010; Chebel, Santos, 2011; Sharifzadeh, Doosti, 2012; Moravčiková et al., 2012; da Silva et al., 2012). Также в связи с ассоциацией с показателями качества мяса у различных сельскохозяйственных животных изучаются гены *RORC*, *SCD*, *GH*, *TG* (Ward et al., 1998; Barendse et al., 2007, Barendse et al., 2010; Matsushashi et al., 2011; Тюлькин и др., 2012).

Полиморфизм ДНК-маркеров данного типа и его влияние на показатели мясной и откормочной продуктивности исследовались у свиней различных пород. Изучены гены гамма-субъединицы протеинкиназы А (*PRKAG3*), гипофизарного транскрипционного фактора (*POUIF1*), рецептора меланокортина 4 (*MC4R*), инсулиноподобного фактора роста 2, гены наследственных заболеваний (*Ryr1* и *KPL2*), (Song et al, 2005, Houston et al., 2004, Kim et al, 2004; Левитченков, 2009; Сизарева, 2010). У иранских овец двух пород обнаружена взаимосвязь полиморфизма гена *POUIF1* с весом при отлучении (Jalil-Sarghale et al., 2014).

Значимым показателем также является репродуктивные качества сельскохозяйственных животных, которые оцениваются генотипированием по гену *ESR*, *FSHR*, *FSHB* и др. (Szreder,

Zwierzchowski, 2004; Xiao-Dan et al., 2005; Santana et al., 2006; Muñoz et al., 2007; Костенко, Сидоренко, 2011; Chu et al., 2012).

С помощью другого метода детекции SNP - SSCP, эффективного в частности для поиска новых однонуклеотидных замен в ДНК, изучался ген лептина у овец и азиатского буйвола (Barzehkar et al., 2009; Kale et al., 2013), ген α -лактоглобулина у китайских молочных коз (Ma et al., 2012), а также ген пролактина у крупного рогатого скота (Brym et al., 2005) и овец (Chu et al., 2009).

Для генотипирования также применяются ДНК-микрочипы, которые продолжают совершенствоваться в разных направлениях (Bauer et al., 2011; Шарипов, 2011; Liu et al., 2013). Так с использованием ДНК-микрочипа (EquineSNP50 BeadChip) был проведен анализ 14 пород лошадей и 18 эволюционно родственных видов, было выявлено более 54,000 полиморфных SNP (McCue et al., 2012). Австралийские мериносовые овцы были генотипированы с помощью ДНК-микрочипа Illumina ovine SNP chip на 54 977 SNPs. Этот микрочип 54K SNP был разработан в рамках Международного Консорциума геномики овец (ISGC, www.sheepmap.org; Kijas et al., 2009). У овец был выявлен однонуклеотидный полиморфизм на 10 хромосоме, коррелирующий с комолым фенотипом (Dominik et al., 2012). В настоящее время создаются более выгодные с точки зрения экономики интерпретации данных ДНК-микрочипы с низкой плотностью SNP (Boichard et al., 2012; Volormaa et al., 2015).

1.3.4. Гены-кандидаты плодовитости сельскохозяйственных животных

Плодовитость является важнейшим хозяйственно-полезным признаком сельскохозяйственных животных. От плодовитости зависят мясная, а в овцеводстве и шерстная продуктивность. Селекция на плодовитость по фенотипу у сельскохозяйственных животных является низкоэффективной, так как, с одной стороны, на проявление данного признака большое влияние оказывают негенетические факторы, а с другой, признак имеет ограниченное полом проявление и низкую наследуемость, например, коэффициент наследуемости у свиней около 0.1 (Эрнст, Зиновьева, 2008), у овец - 0.04-0.25 (Ерохин, Ерохин, 2004). Репродуктивные признаки, как и большинство хозяйственно-полезных признаков животных, являются количественными, т.е. имеют полигенную природу наследования. Генетические локусы, связанные с количественными признаками обозначают термином локусы количественных признаков (QTL, Quatitative Trait Loci). Отдельные ключевые гены, детерминирующие проявление признака, определяются как гены-кандидаты.

В настоящее время открыт целый ряд генов-кандидатов и продолжают исследования по идентификации генов в большей или меньшей степени оказывающих влияние на многоплодие самок сельскохозяйственных животных.

В 80-е годы XX века впервые было показано существование главных генов плодовитости овец у мериносов породы Борола (Piper, Bindon, 1982) и овец породы Инвердейл. Высокая плодовитость овец Борола является результатом мутации (*FecB*) в гене рецептора морфогенетического костного белка 1В (*BMPR-1B*) (Wilson et al., 2001; Mulsant et al., 2001; Souza et al., 2001), а высокая плодовитость овец Инвердейл является следствием мутации (*FecX¹*) в гене костного морфогенетического белка 15 (*BMP15*) (Galloway et al., 2000). В дальнейшем было открыто целое семейство генов, которые регулируют признаки продуктивности и получили название *Fec*-генов (Эрнст, Зиновьева, 2008; Demars et al., 2013; Martin et al., 2014). Действие этих генов для гетерозиготных овцематок заключается в увеличении скорости овуляции, следствием которого является увеличение приплода, а гомозиготные носители большинства мутаций характеризуются проявлением бесплодия в той или иной степени.

Ген *BMP15*, расположенный на X хромосоме, является членом семейства трансформирующих факторов роста β (*TGF β*). *BMP15* - морфогенетический сигнальный белок, организующий построение тканей в теле, который также специфически экспрессируется в ооцитах. *BMPR-1B* – член семейства рецепторов трансформирующего фактора роста β (*TGF β*), ген которого расположен на 6 хромосоме (Montgomery et al., 1994). Пониженная функциональность рецептора *BMPR-1B* приводит к дифференцировке гранулезных клеток и усиленному развитию фолликулов у овцематок, несущих мутацию (Эрнст, Зиновьева, 2008). Важную роль в поддержании нормального яичникового фолликулогенеза у самок играет дифференциальный фактор роста (*GDF9*), ген которого расположен на 5 хромосоме (Hanrahan et al., 2004).

Полиморфизм генов *BMPR-1B*, *BMP15* и *GDF9* хорошо изучен на многих породах овец (Hanrahan et al., 2004; Davis et al., 2006; Polley et al., 2009; Shafieiyan et al., 2013; Paz et al., 2014). Исследования полиморфизма вышеуказанных генов у романовской породы показали противоречивые результаты. Среди романовских овец не было отмечено носителей мутантных аллелей (Davis et al., 2006; Малюченко и др., 2011). Для романовских овец характерна генетическая регуляция процессов и показателей воспроизводства (степень овуляции, размер помета и т.д.), связанная с набором различных генов, каждый из которых оказывает незначительное влияние (Ricordeau et al., 1990; Fabre et al., 2006). Однако в одной из последних работ у овец романовской породы выявлено наличие мутантного аллеля в локусе *BMP15* с частотой встречаемости 0.4 (Марзанов и др., 2015).

Исследования взаимосвязи полиморфизма гена *BMP15* с плодовитостью проводятся также и на высоко плодовитых породах коз (Chu et al., 2007).

Одним из генов-кандидатов, которые влияют на многоплодие свиней, является ген β -субъединицы фолликулостимулирующего гормона (*FSHB*). Данный гормон играет важную роль в развитии ооцитов, обуславливая созревание и дифференцировку фолликулов яичника. Мутация в гене *FSHB* представляет собой инсерцию ретротранспозона на границе интрона 1 и экзона 2. Наличие ретротранспозона (аллель А) ассоциируется с пониженным размером гнезда, а его отсутствие (аллель В) во всех исследованиях показало положительное влияние и на число поросят при рождении, и на число живых поросят (Wang et al., 2006; Доцев и др., 2011).

Генами-кандидатами плодовитости у сельскохозяйственных животных также являются следующие гены: ген рецептора фолликулостимулирующего гормона (*FSHR*), ген ядерного коактиватора A1 (*NCOA1*), ген пролактина и его рецептора, ген ретинол-связывающего белка 4 (*RBP4*), ген рецептора эритропоэтина (*EPOR*) и ген рецептора эстрогена (*ESR*) (Rotschild et al., 2000; Vallet et al., 2005; Wang et al., 2006; Drogemuller et al., 2001; Chu et al., 2007, 2009; Эрнст, Зиновьева, 2008).

Ген *FSHR* у овец связан с количеством ягнят при рождении (Chu et al., 2012), у КРС ассоциирован с процентным выходом жизнеспособных эмбрионов и неоплодотворенных ооцитов после суперовуляции (Cory et al., 2013).

Эстрогены играют важную роль в половом развитии и воспроизводстве. Они представляют подкласс стероидных гормонов, действие которых опосредовано внутриклеточными рецепторами. В клетках-мишенях эстрогены образуют комплекс с эстрогеновыми рецепторами, после чего рецепторы действуют как факторы транскрипции. Существует два типа эстрогеновых рецепторов, *ER- α /ESR1* и *ER- β /ESR2*. Роль рецепторов эстрогена четко показана в экспериментах на мышах, где нокаутированные по *ER- α* особи демонстрировали полную маточную дисфункцию и невосприимчивость к эстрогену, в то время как у нокаутированных по *ER- β* подобного не наблюдалось (Hewitt, Korach, 2003).

Исследования полиморфизма гена эстрогенового рецептора у сельскохозяйственных животных проводились особенно активно в течение последних двух десятилетий. В большинстве работ изучаемыми регионами были экзон 1 и 5'-область в гене *ESR1* (Rotschild et al., 1996; Kaluz et al., 1997; Szreder, Zwierzchowski, 2004 а,б, 2007). В 90-ые годы Ротшильд и соав. выявили полиморфизм гена эстрогенового рецептора (*ESR1*) и предложили использовать его в качестве генетического маркера многоплодия у свиней (Rotschild et al., 1991, 1996). К настоящему времени уже многие породы свиней в мире, в том числе и в нашей стране, изучены на наличие желательного аллеля В (PvuII-полиморфизм), ассоциированного с увеличенным размером гнезда (Short et al., 1997; Chen et al., 2000; Kimec' et al., 2002; Зиновьева и др., 2005).

У китайско-европейской линии свиней в cDNA гена *ESR1* были идентифицированы 5 SNP: с.669 T>C (экзон 3), с.1227C>T (экзон 5), с.1452C>T (экзон 7), с.1665T>C и с.1755A>G

(экзон 8) (Munoz et al., 2007). Авторы обнаружили, что SNP в 3 и 8 экзонах достоверно ассоциированы с размером гнезда, а в аллель с.1227Т в 5 экзоне – с общим числом рожденных поросят.

У крупного рогатого скота обнаружен однонуклеотидный полиморфизм (SSCP) в кодирующей области гена *ESR1* (трансверсия А>С в позиции 503 экзона 1) (Szreder, Zwierzchowski, 2004a), а также впервые определен полиморфизм 5'-области этого гена (Szreder, Zwierzchowski, 2004b). В дальнейшем была показана достоверная ассоциация выявленного ранее полиморфизма в области промотора гена *ESR1* (173 G>A) с повышенной физической активностью коров в период эструса (Szreder, Zwierzchowski, 2007; Homer et al., 2013).

В геноме овец *ESR1* и *ESR2* кодируются отдельными генами, расположенными на 8 и 7 хромосомах, соответственно. С помощью метода PCR-SSCP обнаружен SNP в экзоне 1 гена *ESR1* как в породах овец как с высокой (короткохвостая порода Хан, Ху и немецкий мясной меринос), так и с низкой плодовитостью (дорсет, суффолк) (Xiao-Dan et al., 2005). У исследованных животных было обнаружено три генотипа (*AA*, *AB* and *BB*) во всех трех высокоплодовитых породах, при этом у овец с низкой плодовитостью присутствовали только два генотипа (*AA*, *AB*). Секвенирование показало наличие мутации С > G в позиции 363 экзона 1 гена *ESR1* в генотипе *BB* по сравнению с генотипом *AA*. Авторы показали, что овцематки короткохвостой породы Хан с генотипами *AB* и *BB* имели на 0.51 ($P < 0.05$) и 0.7 ($P < 0.05$) больше ягнят соответственно, чем овцематки с генотипом *AA*.

На короткохвостой породе Хан начаты исследования экзона 4 гена *ESR1* (Jia et al, 2008). Авторы клонировали, секвенировали фрагмент экзона и оценивали гомологию нуклеотидной и аминокислотной последовательностей с известными последовательностями человека, крупного рогатого скота, свиньи, крысы и курицы. Выявлена высокая гомология, которая подтвердила высокую консервативность гена *ESR1*.

Озмен и др. на основе нуклеотидных последовательностей *ESR1* генов человека, крупного рогатого скота и коз из базы данных GenBank сконструировали праймеры для ПЦР, которые использовали для амплификации области четвертого экзона гена *ESR1*. В секвенированных ПЦР-продуктах четвертого экзона были обнаружены три нуклеотидные замены (g.43A > G, p.T43A; g.49C > T, p.L49F; g.178A > T, p.T178S), приводящие к заменам аминокислотных остатков, и три замены (g.18G > C, g.27C > T, g.96G > A), не вызывающие изменений аминокислотной последовательности белка. Данные секвенированные последовательности депонированы в базу данных GenBank под номерами JF262030–JF262035. Авторы обнаружили, что по изученным нуклеотидным последовательностям породы овец белый караман и авасси сходны друг с другом, а высокоплодовитая порода хиос (средний размер помета равен 2.3) отличается от них (Ozmen et al., 2012).

Таким образом, в настоящее время у сельскохозяйственных животных выявлено более десятка генов, связанных с процессом и показателями воспроизводства. Информация об изменчивости большинства из вышеуказанных генов у отечественной многоплодной романовской породы овец в научной литературе отсутствует.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Объекты исследования

Исходным материалом для проведения исследований послужили образцы крови или ДНК от 1840 животных 11 российских и зарубежных пород овец. В работе были изучены 35 выборок, среди них пять из генофондных хозяйств Ярославской области основного объекта исследования – романовской породы овец (рисунок 3, таблица 2).

Таблица 2

Исследованные популяции овец

Порода	Выборка	Объем выборки, гол.	Регион сбора образцов крови
Романовская	Авангард	80	Россия, Ярославская обл., Угличский р-н, ООО «Агрофирма Авангард»
Романовская	Земледелец	40	Россия, Ярославская обл., Угличский р-н, ООО «Агрофирма Земледелец»
Романовская	Дружба	40	Россия, Ярославская обл., Угличский р-н, ООО «Дружба»
Романовская	Заречье	100	Россия, Ярославская обл., Угличский р-н, ООО «Заречье»
Романовская	Красный Перекоп	40	Россия, Ярославская обл., Угличский р-н, ООО «Красный Перекоп»
Дагестанская горная	Дарада-Мурада	100	Россия, рес. Дагестан, ЗАО «Дарада-Мурада»
Монгольская	Южный Гоби	43	Монголия, Южный Гоби (Буган, Шаваг)
Монгольская	Холь	50	Монголия, Хубсугул
Монгольская	Дархат	33	Монголия, Хубсугул
Тексель	Александровское	40	Россия, Воронежская обл., Панинский р-н, ООО АПК «Александровское»
Эдильбаевская	Александровское	49	Россия, Воронежская обл., Панинский р-н, ООО АПК «Александровское»
Теленгитская	Алтай	50	Россия, рес. Алтай, Улаганский р-н, СПК «Чингиз»
Тувинская короткожирно-хвостая (ТКЖ)	Биче-Тей	60	Россия, рес. Тыва, Барун-Хемчикский кожуун, СПК «Биче-Тей»
ТКЖ	Амырлан	60	Россия, Рес. Тыва, Чеди-Хольский кожуун, СПК «Амырлан»
ТКЖ	Бай-Тал	60	Россия, Рес. Тыва, Бай-Тайгинский кожуун, ГУП «Бай-Тал»
ТКЖ	Бай-Хол	60	Россия, Рес. Тыва, Эрзинский кожуун, СПК «Бай-Хол»
ТКЖ	Белдир	60	Россия, Рес. Тыва, Тес-Хемский кожуун, СПК «Белдир»
ТКЖ	Амык	60	Россия, Рес. Тыва, Сут-Хольский кожуун, СПК «Амык»
ТКЖ	Иртиш	60	Россия, Рес. Тыва, Кызылский кожуун, СПК «Иртиш»
ТКЖ	Кошкарлыг	57	Россия, Рес. Тыва, СПК «Кошкарлыг»
ТКЖ	Кызыльская	29	Россия, Рес. Тыва, Кызылский кожуун, ООО МТС «Кызыльская»
ТКЖ	Малчын	60	Россия, Рес. Тыва, Монгун-Тайгинский кожуун, ГУП «Малчын»
ТКЖ	Моген-Бурен	60	Россия, Рес. Тыва, Монгун-Тайгинский кожуун, ГУП «Моген-Бурен»
ТКЖ	Хакасская МК	60	Россия, Рес. Тыва, ООО «Хакасская мясная компания»
ТКЖ	Саглы-Бажы	60	Россия, Рес. Тыва, Овюрский кожуун, СПК «Саглы-Бажы»
ТКЖ	Сай-Хонаш	33	Россия, Рес. Тыва, Барун-Хемчикский кожуун, МУП «Сай-Хонаш»
ТКЖ	Чаа-Суур	58	Россия, Рес. Тыва, Овюрский кожуун, СПК «Чаа-Суур»
ТКЖ	Чога-Суур	60	Россия, Рес. Тыва, Овюрский кожуун, СПК «Чога-Суур»
ТКЖ	Чодураа	60	Россия, Рес. Тыва, Тес-Хемский кожуун, ГУП «Чодураа»
ТКЖ	Ямаалык	58	Россия, Рес. Тыва, СПК «Ямаалык»
ТКЖ	Дуза	59	Россия, Рес. Тыва, Барун-Хемчикский кожуун, СПК «Дуза»
Калмыцкая курдючная	Калмыкия	30	Россия, Рес. Калмыкия, Юстинский р-н, КФХ ИП Церенова Цаган Очировна
Буубэй	Бурятия	29	Россия, Рес. Бурятия, Кижингинский р-н, ИП Биликтуев Мэргэн
Суффолк		22	Россия, Ярославская обл., Угличский р-н, ООО «Агрофирма Россия»
Полл дорсет		20	Россия, Ярославская обл., Угличский р-н, ООО «Агрофирма Россия»

При изучении ISSR-полиморфизма были использованы 9 пород овец (романовская, тувинская короткожирнохвостая, дагестанская горная, монгольская, тексель, эдильбаевская, теленгитская, калмыцкая курдючная, буубэй), для анализа полиморфизма гена эстрогенового рецептора - только 3 породы: романовская, полл дорсет, суффолк.

Образцы крови овец романовской породы, суффолк, полл дорсет были получены во время экспедиции в 2012 году в сельскохозяйственный агрохолдинг «АгриВолга» в Угличском районе Ярославской области в.н.с. лаборатории сравнительной генетики животных ИОГен РАН, д.б.н. Столповского Ю.А. и аспиранта Касенковой (Нестерук) Л.В. Места взятия проб романовской породы отмечены на карте (рисунок 3). Образцы ДНК монгольских, теленгитских, тувинских короткожирнохвостых, дагестанских горных, эдильбаевских, тексельских овец были взяты из банка ДНК лаборатории сравнительной генетики животных ИОГен РАН. Образцы крови калмыцких курдючных овец получены из крестьянского фермерского хозяйства ИП Церенова Юстинского района Республики Калмыкия. Образцы крови овец породы буубэй были любезно предоставлены Лхасарановым Б.Б.

Данные выборки являются репрезентативными, так как племенное ядро (около 10 баранов и 50 овцематок в зависимости от количества голов в отарах) исследовано практически полностью.

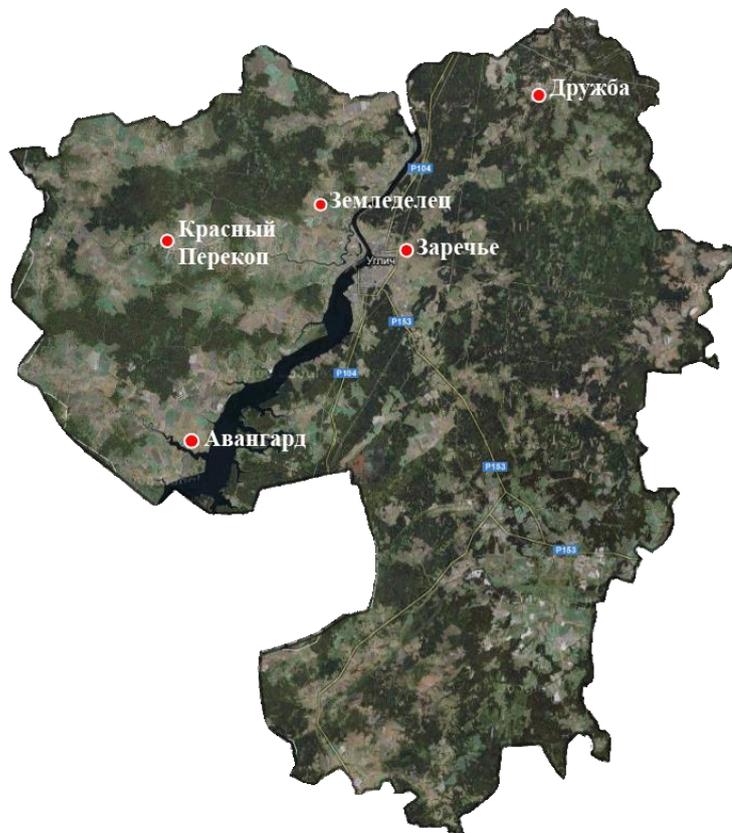


Рисунок 3. Места взятия проб исследуемых выборок романовской породы в Угличском районе Ярославской области.

2.2. Выделение ДНК

Геномную ДНК выделяли из образцов крови овец, используя наборы Diatom™ DNA Prep200 и Magna™ DNA Prep200 («Лаборатория Изоген», Москва) согласно инструкции изготовителя. Метод основан на использовании в качестве лизирующего реагента гуанидинтиоцианата. В присутствии лизирующего реагента ДНК активно сорбируется на сорбенте, затем легко отмывается от белков и солей спиртовым раствором. ДНК, элюируется из сорбента ЭкстраГеном ТМ. В наборе Diatom™ DNA Prep200 используется сорбент NucleoS - специально обработанные стеклянные шарики определенного размера, в наборе Magna™ DNA Prep200 в качестве сорбента для ДНК используются активированные стеклянные шарики размером от 1 до 25 мкм, с намагниченной сердцевинкой (Magnetic-сорбент). Выделение ДНК набором Magna™ DNA Prep200 проводили с использованием специальных магнитных штативов (фирма «Promega», США). В конце супернатант, содержащий ДНК, переносили в чистую пробирку и хранили при -20°C. Выход чистой ДНК из цельной крови (200 мкл) составляет 5-10 мкг. ДНК, выделенная таким образом из свежего биологического материала, является высокомолекулярной (40-50 тыс.п.н.) и чистой ($OD_{260/280 \text{ нм}}=1,6-2,0$).

Выделение ДНК проводилось в изолированной комнате под ламинаром с использованием отдельного набора пипеток для предотвращения контаминации образцов чужеродной ДНК.

2.3. Определение концентрации выделенной ДНК

Концентрацию ДНК оценивали визуально после электрофореза в 1% агарозном геле («Agarose, Biotechnology grade», «Helicon», Россия) в 1x трис-боратном (ТВЕ) буфере (89мМ Tris-ОН, 89мМ H_3BO_3 , 2 мМ EDTA) после окрашивания бромистым этидием при постоянном напряжении 120В. На гель наносили в качестве титра ДНК фага λ в количестве 25, 50 и 100 нг и аликвоты из раствора с неизвестной концентрацией. Для оценки концентрации и качества ДНК в качестве маркера также использовался коммерческий маркер GeneRuler™ 100 bp Plus DNA Ladder («Fermentas», Канада). По окончании электрофореза гель анализировали под ультрафиолетовыми лучами на трансиллюминаторе «UVT 1» («Биоком», Россия) и фотографировали с помощью гельдокументирующей системы Vitran v.1.0. Во избежание контаминации электрофорез проводили в отдельной комнате.

2.4. Проведение ПЦР

ПЦР проводили на амплификаторе Терцик («ДНК Технология», Россия) и термоциклере DNA Engine Dyed (BioRad, США) с применением набора для амплификации ДНК GenePak™ PCR Core («Лаборатория Изоген», Москва). Набор реагентов GenePak™ PCR Core представляет собой лиофилизованные сухие смеси. Сбор инкубационной смеси проводили в стерильных

условиях под ламинаром. Смесь содержала буфер для амплификации (67 мМ трис-НСl (рН 8,8), 16 мМ (NH₄)₂SO₄, 0,1% Tween 20), смесь dNTP (содержащую 2мМ каждого нуклеотида), 2-2,5 мМ MgCl₂, 50 нг геномной ДНК, 1 ед. активности Taq-полимеразы. Конечный объем реакционной смеси составил 20 мкл. При амплификации экзона 4 гена эстрогенового рецептора в реакционную смесь добавляли по 10 пМ каждого праймера, экзона 1 гена эстрогенового рецептора - по 10 пМ каждого из внешних праймеров и по 5 пМ внутренних, а при проведении ISSR-анализа - 20 пМ одиночного ISSR праймера. Праймеры были синтезированы в НПФ Литех. Характеристика использованных в работе праймеров представлена в таблице 3.

Таблица 3

Характеристика праймеров, использованных в работе

Название	Последовательность	Температура отжига
(AG) ₉ C	5'-AGAGAGAGAGAGAGAGAGAGC-3'	55 °С
(GA) ₉ C	5'-GAGAGAGAGAGAGAGAGAGAC-3'	55 °С
ESR-Ex4-F	5'-GAGGGAGAATGTTGAAGC-3'	62 °С
ESR-Ex4-R	5'-GCCCAGTTGATCATGTGTA-3'	62 °С
ESR-Ex1-F	5'-TGCACCAGATCCAAGCCAACGA-3'	66,5 °С
ESR-Ex1-R	5'-CGGGTACCTGTAGAAGGCCGGGAG-3'	66,5 °С
ESR-Ex1-F_A	5'-CACGGCCAACAGGTGCCCT-3'	67 °С
ESR-Ex1-R_B	5'-GGCTCGTTCTCCAGGTAATAC-3'	67 °С

2.5. Проведение ISSR-анализа

Исследование полиморфизма фрагментов ДНК, фланкированных инвертированными повторами микросателлитных локусов (ISSR-PCR маркеры), выполняли стандартным методом, разработанным Зьеткевичем и соавт. (Zietkiewicz et al., 1994). В качестве праймеров использовали олигонуклеотиды (AG)₉C и (GA)₉C, комплементарные к микросателлитным локусам (TC)_n, (GT)_n соответственно. Амплификацию проводили в следующих условиях: первоначальная денатурация 2 мин при 95°C; денатурация при 95°C – 30 сек, отжиг при 55°C – 30 сек, синтез при 72°C – 2 мин (37 циклов); завершающий синтез при 72°C – 7 мин. Фракционирование продуктов амплификации проводилось в 2 %-ом агарозном геле с напряжением 120В в течение 100-120 мин. Для оценки длины продуктов ПЦР амплификации использовали ДНК маркер GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder Plus (MBI Fermentas, Канада). Для электрофореза отбирали одинаковый объем (7мкл) ПЦР смеси каждой пробы и 5мкл маркера молекулярного веса. Документацию продуктов ПЦР амплификации проводили с помощью программы Vitran v.1.0 под коротковолновым ультрафиолетовым излучением на трансиллюминаторе после окрашивания гелей бромистым этидием. Размер и количество фрагментов в ISSR-спектрах определяли с использованием программ «Onedscan» и «GelPro» v3.1. Каждый ампликон рассматривался как один локус ДНК. С помощью программы «Excel»

были созданы бинарные матрицы, в которых наличие/отсутствие каждого фрагмента в спектре отмечалось цифрами 1 и 0 соответственно.

2.6. Секвенирование экзона 4 гена рецептора эстрогена *ESR1*

Для амплификации фрагмента 4 экзона эстрогенового рецептора использовали праймеры: ESR-Ex4-F: 5'-GAGGGAGAATGTTGAAGC-3' and ESR-Ex4-R: 5'-GCCCAGTTGATCATGTGTA-3' (Ozmen et al., 2012). Условия ПЦР были следующими: 94°C – 5 мин, далее 34 цикла: 94 °C – 1 мин, 62 °C – 1 мин, 72 °C – 1 мин, и дополнительно 10 мин при 72 °C.

Продукты ПЦР были очищены с использованием набора Zymoclean™ Gel DNA Recovery Kit (Epigenetics, США) согласно протоколу методике фирмы изготовителя. Качество очистки проверяли с помощью электрофореза в 1% агарозном геле. Для оценки длины фрагмента использовали маркеры молекулярных весов «M50» фирмы «Лаборатория Изоген» (Москва) и GeneRuler™ DNA Ladder, Ultra Low Range (MBI Fermentas, Канада). Определение нуклеотидной последовательности в исследуемом фрагменте проводили методом автоматического секвенирования на ДНК-анализаторе ABI Prism 3130xl (Applied Biosystems, США) с использованием набора Big Dye™ Terminator v.3.1 Cycle Sequencing (Applied Biosystem, США). Длина амплифицированного участка составляет 301 п.н. (в области 75550971-75551271 п.н. скаффолда 8 хромосомы Oar_v3.1 OAR8). Размер фрагментов, использовавшихся для анализа, составил 258 п.н. (в области 75551012-75551269 п.н.).

Поиск сходства между анализируемой последовательностью и последовательностями, представленными в базе данных GenBank, проводили посредством программы BLASTN (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>). Выравнивание нуклеотидных последовательностей осуществляли методом Clustal W (Larkin, 2007; <http://www.clustal.org/clustal2/>). В качестве образцов для сравнения использованы последовательности ДНК, депонированные в базе данных GenBank под номерами JF262030-JF262035.

2.7. Анализ полиморфизма в экзоне 1 гена рецептора эстрогена *ESR1*

Генотипирование по 1 экзону гена *ESR1* проводили с помощью двух методов: ПЦР-ПДФ и аллельспецифичная ПЦР.

Типирование А- и В-аллелей в экзоне 1 гена рецептора эстрогена методом ПЦР-ПДФ

На основании данных работы (Xiao-Dan et al., 2005) и в соответствии с зарегистрированной в базе данных GenBank последовательностью экзона 1 (X98010) нами была

подобрана эндонуклеаза рестрикции *Mh*I. Сайт узнавания данного фермента – последовательность GDGCH↓C.

Для оценки рестриционного полиморфизма гена *ESR1* амплифицировали фрагмент экзона 1 размером 419 п.н. Для этого использовали праймеры ESR-Ex1-F: 5'-TGCACCAGATCCAAGCCAACGA-3' и ESR-Ex1-R: 5'-CGGGTACCTGTAGAAGGCGGGAG-3' (Xiao-Dan et al., 2005). ПЦР осуществляли на термоциклере DNA Engine Dyed (BioRad, США) с применением набора сухих реагентов для ПЦР амплификации ДНК GenePak™ PCR Core («Лаборатория Изоген», Москва) в следующих условиях: первоначальная денатурация 4 мин при 95°C; денатурация при 94°C – 1 мин, отжиг при 66,5°C – 1 мин, синтез при 72°C – 1 мин (34 цикла); завершающий синтез при 72°C – 7 мин.

Полученные продукты амплификации обрабатывали эндонуклеазой рестрикции *Mh*I («СибЭнзим», Россия) в стандартных условиях (37°C в течение 16 часов). После инкубирования рестриционные фрагменты разделяли с помощью электрофореза в 2,5%-ом агарозном геле, окрашенном бромистым этидием, при постоянном напряжении 100В. Результаты электрофореза анализировали под ультрафиолетовыми лучами на трансиллюминаторе «UVT 1» («Биоком», Россия) и фотографировали с помощью гелъдокументирующей системы Vitran v.1.0. Для оценки длины фрагмента использовали маркеры молекулярных весов «M50» фирмы «Лаборатория Изоген» (Москва) и GeneRuler™ DNA Ladder, Ultra Low Range (MBI Fermentas, Канада). Обнаружение фрагментов рестрикции длиной 276, 73 и 70 п.н. соответствовало генотипу *AA*, 276, 143, 73 и 70 п.н. – генотипу *AB*, 276 и 143 п.н. – генотипу *BB*. Схема и электрофореграмма рестриционного анализа продуктов амплификации экзона 1 гена *ESR1* представлена на рисунке 4.

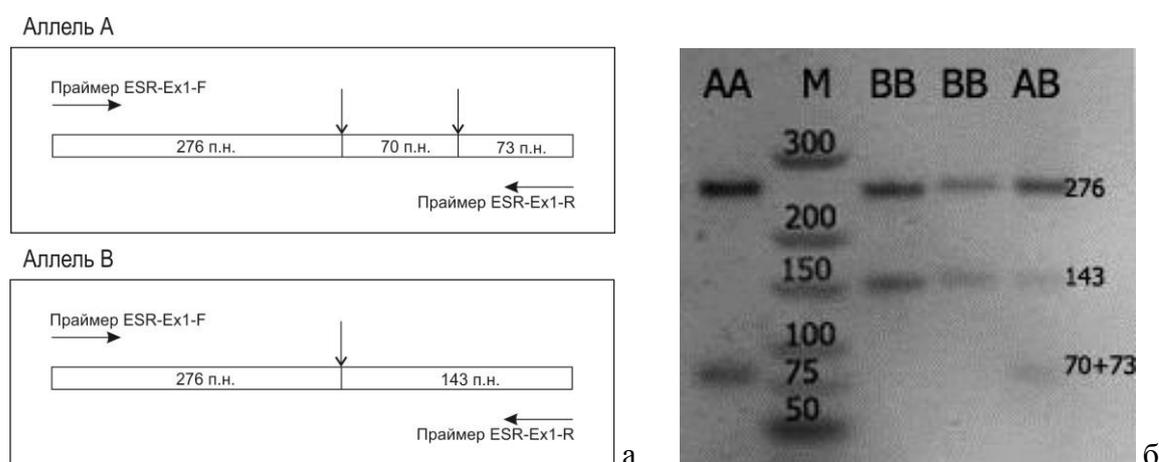


Рисунок 4. Схема (а) и электрофореграмма (б) рестриционного анализа продуктов амплификации экзона 1 гена *ESR1* эндонуклеазой рестрикции *Mh*I. Обозначения: М – маркер молекулярных весов «M50», *AA*, *AB*, *BB* – генотипы.

Секвенирование 1 экзона гена рецептора эстрогена *ESR1*

Для секвенирования были отобраны два образца продуктов амплификации фрагмента экзона 1 эстрогенового рецептора, полученных с использованием праймеров ESR-Ex1-F: 5'-TGCACCAGATCCAAGCCAACGA-3' и ESR-Ex1-R: 5'-CGGGTACCTGTAGAAGGCGGGAG-3' (Xiao-Dan et al., 2005) с гомозиготными генотипами *AA*, *BB*.

Очистку ПЦР-продуктов проводили, как описано в п. 2.6.

Последовательности, полученные в результате секвенирования продуктов амплификации экзона 1 гена *ESR1* были нами зарегистрированы в GenBank под номерами: KU043042, KU043043.

Типирование А- и В-аллелей в экзоне 1 гена рецептора эстрогена *ESR1* с помощью аллель-специфичной ПЦР

Для аллель-специфичной ПЦР использовали в качестве внешних праймеров праймеры из работы (Xiao-Dan et al., 2005). В соответствии с зарегистрированными в базе данных GenBank последовательностями X98010 и Z49257.1(mRNA) и на основании собственных полученных секвенированных последовательностей были подобраны аллель-специфичные праймеры. Прямой внутренний праймер (ESR-Ex1-F_A) 5'-CACGGCCAACAGGTGCCCT-3' определял аллель *A* (C), обратный внутренний праймер (ESR-Ex1-R_B) 5'-GGCTCGTTCTCCAGGTAATAC-3' определял аллель *B* (G). С помощью олигокалькулятора оптимизировали условия амплификации. Условия ПЦР: 4 мин при 95 °С; 94 °С – 1 мин, отжиг при 67 °С – 1 мин, 72 °С – 1 мин (34 циклов); 72 °С – 7 мин. Фракционирование продуктов амплификации проводили в 2,5%-ом агарозном геле, как описано выше. Продукт длиной 90 п.н. соответствовал аллелю *A*, длиной 367 п.н. – аллелю *B*.

2.8. Статистическая обработка

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью стандартных компьютерных программ Statistica 8.0, PopGene 1.32, GENEPOP 4.2.1 и Microsoft Excel.

Дендрограммы построены методами UPMGA, BIONJ (Gascuel, 1997) в программах Statistica 8.0, SplitsTree4 V4.13.1. по матрице несмещенных генетических расстояний Нея (Nei, 1978), а также в программе STRUCTURE v2.3.4.

Для анализа популяционной структуры романовской породы овец применен метод кластеризации в программе STRUCTURE v2.3.4.

Вычисления частот фрагментов, доли полиморфных локусов, индексов генетического разнообразия, генетических расстояний проводили в программе PopGene 1.32. Стандартную ошибку рассчитывали по формуле:

$$se = \sigma/\sqrt{n}, \quad (1)$$

где σ – стандартное отклонение, n – объем выборки.

Расчеты показателей внутривидового разнообразия среднее число морф/аллелей (μ) и доля редких морф/аллелей (h_μ) и их статистические ошибки проводили с использованием программы Microsoft Excel по следующим формулам (Животовский, 1980, 1991):

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

$$h_\mu = 1 - \frac{\mu}{m}, \quad (3)$$

где $p_1, p_2 \dots p_m$ – частоты встречаемости морф/аллелей (в сумме равны единице); m – наибольшее число морф/аллелей в популяции;

$$S_\mu = \sqrt{\frac{\mu(m-\mu)}{N}}; \quad S_h = \sqrt{\frac{h_\mu(1-h_\mu)}{N}}, \quad (4), (5)$$

где N – объем выборки.

При неравномерном распределении числа морф/аллелей $\mu < m$. При мономорфном распределении $\mu = 1$. Доля редких фенотипов h оценивает структуру разнообразия популяции.

Выравнивание последовательностей ДНК экзонов 1 и 4 гена эстрогенового рецептора (*ESR1*) осуществляли при помощи программы ClustalW и обрабатывали вручную с использованием программы ChromasPro. Поиск сходства между секвенированными последовательностями и последовательностями, представленными в базе данных GenBank, проводили посредством программы BLASTN (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Популяционно-статистический анализ данных по полиморфизму гена эстрогенового рецептора проведен с использованием программы GENEPOP 4.2.1, в которой рассчитывали частоту генотипов и аллелей гена *ESR1* по локусам *ESR-ex1* и *ESR-ex4*, тест на соответствие равновесному распределению частот генотипов (закон Харди-Вайнберга), G-тест (тест на гомогенность выборочных распределений частот генотипов), коэффициенты Райта F_{ST} , F_{IS} . Для множественных сравнений использовали поправку Бенжамини-Хочберга (Benjamini, Hochberg, 1995). Стандартную ошибку частоты генотипов рассчитывали по формуле:

$$sp = \sqrt{p(1-p)/N}, \quad (6)$$

где p – частота генотипа, N – общее число особей.

Стандартную ошибку частоты аллелей рассчитывали по формуле:

$$sp = \sqrt{p(1-p)/2N}, \quad (7)$$

где p – частота аллеля, N – общее число особей.

Статистическую обработку данных для подсчета коэффициента генетической оригинальности (КГО) и анализа ассоциаций осуществляли с помощью программы Microsoft Excel и специально разработанных программ в среде R (<http://www.R-project.org/>).

Метод классификации внутривидового разнообразия по результатам молекулярного маркирования, представленный ранее Потокиной Е.К. и Александровой Т.Г. основан на принципе Смирнова по «взвешиванию» признаков в зависимости от частоты их встречаемости. Индекс, который получен в результате усреднения «весов» всех полиморфных в данной выборке фрагментов, был назван Потокиной Е.К. и Александровой Т.Г. коэффициентом генетической оригинальности (КГО) (Потокина, Александрова, 2008а; Смирнов, 1960, 1969).

На основании данных по частотам ISSR-маркеров, полученных с использованием обоих праймеров ((AG)₉C и (GA)₉C), были вычислены значения коэффициента генетической оригинальности (КГО) (Приложение 2). Для каждого полиморфного ISSR-фрагмента был рассчитан «вес» его присутствия (1) и отсутствия (0) у каждого образца на основании частот встречаемости фрагмента в изучаемой выборке. Затем исходная матрица присутствия-отсутствия фрагментов замещалась матрицей соответствующих «взвешенных» значений. Далее «веса» всех ISSR-фрагментов суммировались для каждой особи, и сумма делилась на число проанализированных полиморфных ISSR-PCR фрагментов.

Полученная выборка значений КГО имеет смешанный тип, поскольку включает в себя значения КГО животных из разных хозяйств. Для того чтобы распределение выборки можно было аппроксимировать смесью нормальных распределений, значения КГО были логарифмированы по основанию 2 и обозначены далее как x . Анализ распределения выборки при использовании двухстороннего критерия Колмогорова-Смирнова показал, что выборка x может быть описана смесью двух нормальных распределений (P -value = 0.9):

$$f(x) = 0.63f_1(x) + 0.37f_2(x),$$

где $f_1(x)$ и $f_2(x)$ – функции нормального распределения с параметрами распределения ($\mu_1 = -0.92$, $\sigma_1 = 0.64$) и ($\mu_2 = 0.36$, $\sigma_2 = 1.06$), соответственно.

На рисунке 5 (а, б и г) представлены: гистограмма, функция плотности распределения $f(x)$ с компонентами $f_1(x)$ и $f_2(x)$, а также диаграмма «boxplot», показывающая медиану, 25%-ый и 75%-ый квантили, минимальное и максимальное значения выборки и выбросы.

Разделение особей на группы в соответствии с их КГО проходило с использованием пятибалльной шкалы классификации, которая соответствует интервалам между минимальным, максимальным значениями выборки x и 5%-ым, 25%-ым, 75%-ым и 95%-ым квантилями полученного распределения (рисунок 5в).

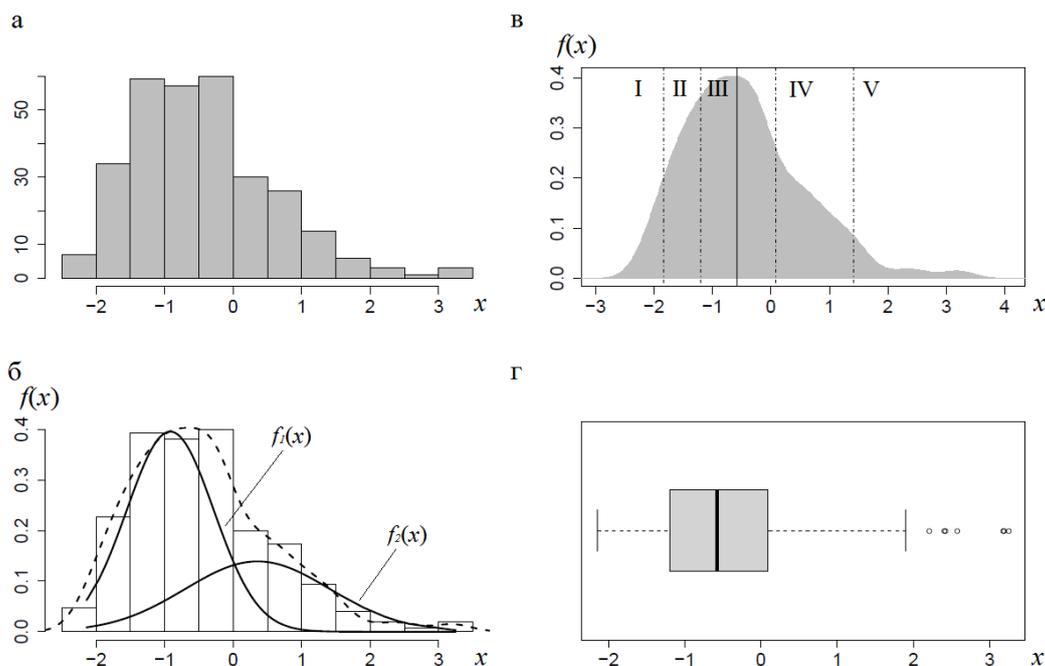


Рисунок 5. Распределение выборки из 300 значений КГО, логарифмированных по основанию 2: а) гистограмма распределения; б) функция плотности распределения $f(x)$, аппроксимированная смесью двух нормальных распределений $f_1(x)$ и $f_2(x)$; в) функция плотности распределения $f(x)$ с разделением на области с помощью 5%-ого, 25%-ого, 50%-ого, 75%-ого и 95%-ого квантилей; г) диаграмма «boxplot», показывающая медиану, 25% и 75%-ый квантили, минимальное и максимальное значения и выбросы.

Для обнаружения ассоциаций между хозяйственно-полезными признаками овец романовской породы и ISSR-PCR маркерами использовали критерий Фишера, основанный на F-статистике. Для проверки значимости устанавливали нулевую гипотезу ($H_0: \gamma=0$, эффект генотипов равен 0) против альтернативной ($H_1: \gamma \neq 0$). Для отклонения или принятия гипотез вычисленные p -значения сравнивали с номинальным значением 0.05. Все анализируемые показатели были условно разделены на основные признаки и ковариаты. В качестве основных признаков были взяты 11 хозяйственно-полезных признаков: «живая масса» (кг), «настриг шерсти» (кг/год), «уравненность шерсти», «густота шерсти», «соотношение ости и пуха (по количеству)», «оброслость брюха», «комплексный класс», «соотношение ости и пуха (по длине)», «средняя плодовитость», «максимальное число ягнят (за один окот)» и «наличие мертворожденных (м/р) ягнят», а в качестве ковариат – показатели, неменяющиеся во времени: «пол», «популяционная принадлежность», «заводская линия» и «тип рождения». Все основные признаки были поправлены на ковариаты.

В качестве модели наследования каждого изучаемого признака использовали регрессионную линейную модель фиксированных эффектов, с помощью которой осуществляется поиск ассоциаций между i -ым признаком и j -ым локусом:

$$y_i = X\alpha + G_j\beta + g_j\gamma + e, \quad (8)$$

где y_i – $(n \times 1)$ вектор значений i -ого признака; n – число особей ($n=268$); X – $(n \times c)$ матрица ковариат; c – число ковариат ($c=4$); α – $(c \times 1)$ вектор регрессионных коэффициентов, показывающий эффект c ковариат; G_j – $(n \times (m-1))$ матрица генотипов $m-1$ локусов ($m=76$), исключая j -ый локус; β – $(m \times 1)$ вектор регрессионных коэффициентов, показывающий эффект генотипов $m-1$ локусов; g_j – $(n \times 1)$ вектор генотипов j -ого локуса, γ – эффект генотипов j -ого локуса; e – $(n \times 1)$ вектор случайных эффектов, обусловленных внешней средой.

Предполагается, что каждый анализируемый признак y_i распределен мультинормально с вектором математических ожиданий и ковариационной матрицей соответственно:

$$E(y_i) = X\alpha + G_j\beta + g_j\gamma, \quad (9)$$

$$\text{Cov}(y_i) = \sigma^2 I, \quad (10)$$

где I – единичная матрица (диагональные элементы равны 1, а недиагональные - 0) и σ^2 – общая дисперсия признака.

Корреляционную связь между пятнадцатью анализируемыми признаками вычисляли параметрическим методом Пирсона. Для оценки достоверности отличия коэффициента корреляции от нуля вычисляли p -значения теста корреляции Пирсона. Для анализируемых показателей «пол», «популяционная принадлежность», «заводская линия» в силу их категориальных значений не оценивалось направление корреляционной связи.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Генетический полиморфизм ISSR-фрагментов у романовской породы овец

В настоящее время в популяционной генетике используются разнообразные ДНК-маркеры для решения генетико-селекционных задач, связанных с исследованием геномов и генетического разнообразия domestцированных видов. В нашем исследовании мы использовали межмикросателлитные мультилокусные ДНК-маркеры – ISSR-PCR маркеры. Данные маркеры широко применяются в популяционно-генетических исследованиях различных биологических объектов, их специфичность и информативность показана в ряде работ (Кочиева и др., 2002; Шаброва и др., 2003; Городная, Глазко, 2003; Vijayan, Chatterjee, 2003; Глазко и др., 2009; Столповский, 2010а, б; Столповский и др., 2011). Ранее генофонды отдельных пород овец (Столповский и др., 2009б; Феофилов, 2012; Феофилов и др., 2013), в том числе и нескольких популяций овец романовской породы (Столповский и др., 2008; Столповский, 2010) были анализированы с применением ISSR-PCR маркеров.

3.1.1. Характеристика спектров AG- и GA-ISSR фрагментов у романовской породы овец

В нашей работе с использованием двух динуклеотидных ISSR-праймеров ((AG)₉C и (GA)₉C) мы исследовали внутрипородный полиморфизм на пяти выборках овец романовской породы, полученных из пяти генофондных хозяйств Угличского района Ярославской области: ООО «Агрофирма Авангард» (n=80), ООО «Агрофирма Земледелец» (40), ООО «Дружба» (40), ООО «Заречье» (100), ООО «Красный Перекоп» (40).

В лаборатории сравнительной генетики животных для мониторинга генофондов различных видов сельскохозяйственных животных с использованием ISSR-PCR маркеров была разработана универсальная шкала на основании градации фрагментов амплификации ДНК по молекулярным массам (Столповский и др., 2010а, б; 2011). Шкала состоит из 38 зон с фиксированным интервалом и определенным шагом от 10 до 200 п.н. в зависимости от зоны («тяжелые», «средние» и «легкие» фрагменты). Таким образом, для каждой исследуемой популяции романовских овец с помощью праймеров (AG)₉C и (GA)₉C были определены специфические спектры фрагментов ДНК в диапазоне от 2500 до 160 п.н. (рисунок 6, таблицы 4, 5). Всего по двум праймерам было выявлено 43 фрагмента ДНК (25 фрагментов по (AG)₉C, 18 – по (GA)₉C).

Частоты встречаемости ISSR-фрагментов варьировали у популяций романовских овец. Многие фрагменты с высокой частотой обнаружены у всех исследованных популяций, отдельные встречаются только у одной или двух выборок.

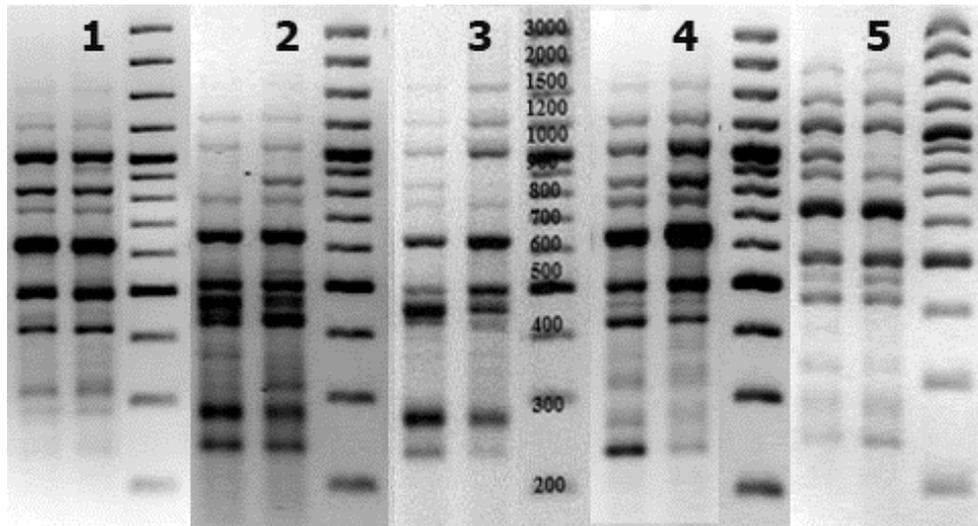


Рисунок 6. Спектры фрагментов амплификации ДНК романовских овец, полученных методом ISSR-PCR при использовании праймера (AG)₉C. Обозначения: 1 – «Авангард»; 2 – «Земледелец»; 3 – «Заречье»; 4 – «Дружба»; 5 – «Красный Перекоп».

При сравнении частот встречаемости AG-ISSR ампликонов были выявлены пять фрагментов (A10=1230-1180 п.н., A13=1050-1000 п.н., A18=750-720 п.н., A22=590-560 п.н. и A27=430-410 п.н.), встречающиеся у всех особей среди изученных популяций, а также четыре фрагмента (A6=1550-1500 п.н., A21=630-600 п.н., A25=490-470 п.н., A26=460-440 п.н., A32=310-300 п.н., A36=230-220 п.н.), встречающиеся во всех популяциях у большинства особей (таблица 4). С помощью праймера (GA)₉C у всех особей были обнаружены три фрагмента (G23=550-530 п.н., G25=490-470 п.н. и G34=270-260 п.н.), а также три фрагмента (G7=1450-1400 п.н., G18=750-720 п.н. и G21=630-600 п.н.) встречаются во всех изученных популяциях со значительной частотой (0.725-1.000) (таблица 5). Присутствие в ISSR-спектрах данных ампликонов свидетельствует о консервативности микросателлитных последовательностей, фланкирующих их, в геноме романовской породы овец.

Изученные группы животных романовской породы имели также различия по наличию/отсутствию и по частоте встречаемости определенных фрагментов в спектрах амплификации. Достоверность этих различий оценивалась по критерию значимости χ^2 . Так, например, значительной частотой встречаемости (0.563 – 0.650) ампликона A9=1290-1240 п.н. отары из «Авангарда» и «Земледельца» достоверно отличаются ($p<0.001$) как от популяции «Дружба» с незначительной частотой (0.125) данного ампликона, так и от популяций «Заречье» и «Красный перекоп», в которых у всех особей этот фрагмент отсутствует. Также популяции «Авангард» и «Земледелец» отличаются от остальных исследованных популяций романовских овец по фрагментам A12 и A24 с высоким уровнем значимости ($p<0.001$). А популяции «Дружба» и «Красный перекоп» достоверно отличаются ($p<0.01$) от других изученных групп животных романовской породы отсутствием фрагмента A31 в спектрах амплификации. В

нашем исследовании также выявлены значимые отличия отдельных романовских популяций от остальных. Так, по частоте встречаемости фрагмента A14 достоверно отличается от всех романовских популяций выборка из хозяйства «Земледелец» ($p < 0.001$), по A23 – «Заречье» ($p < 0.05$), а по A29 и A33 – «Красный Перекоп» ($p < 0.001$).

Таблица 4
Частоты встречаемости фрагментов, полученных с помощью праймеров (AG)₉C, у романовской породы овец

Фрагменты	ИРФ	Авангард	Земледелец	Дружба	Заречье	Красный Перекоп	Всего	Среднее по породе
		n=80	40	40	100	40		
A1	2500-2300							
A2	2100-2000							
A3	1900-1800							
A4	1750-1700							
A5	1650-1600							
A6	1550-1500	0.925	1.000	0.950	0.930	1.000	0.950	0.961
A7	1450-1400							
A8	1350-1300							
A9	1290-1240	0.563	0.650	0.125			0.253	0.268
A10	1230-1180	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
A11	1170-1120							
A12	1110-1060	0.350	0.550	0.050	0.040		0.187	0.198
A13	1050-1000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
A14	990-940	0.475	0.950	0.400	0.230		0.383	0.411
A15	930-880							
A16	870-820	0.825	0.650	0.525	0.600	0.850	0.690	0.690
A17	810-760							
A18	750-720	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
A19	710-680	0.013			0.010		0.007	0.005
A20	670-640							
A21	630-600	0.988	1.000	1.000	0.950	1.000	0.980	0.988
A22	590-560	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
A23	550-530				0.130		0.043	0.026
A24	520-500	0.613	0.800	0.175	0.170	0.100	0.363	0.372
A25	490-470	1.000	1.000	1.000	0.970	1.000	0.990	0.994
A26	460-440	0.850	0.975	0.975	0.960	0.725	0.903	0.897
A27	430-410	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
A28	400-380	0.025	0.050		0.020		0.020	0.019
A29	370-360	0.875	1.000	0.700	0.650	0.150	0.697	0.675
A30	350-340		0.025				0.003	0.005
A31	330-320	0.413	0.200		0.270		0.227	0.177
A32	310-300	0.975	0.975	0.950	0.820	1.000	0.923	0.944
A33	290-280	1.000	1.000		0.060	0.425	0.477	0.497
A34	270-260			0.825	0.960	0.275	0.467	0.412
A35	250-240	0.225	0.100				0.073	0.065
A36	230-220	0.638	0.925	1.000	0.700	0.800	0.767	0.813
A37	210-200							
A38	180-160							

Частоты встречаемости фрагментов, полученные с помощью праймера (GA)₉C, у романовской породы овец

Фрагменты	ИРФ	Авангард	Земледелец	Дружба	Заречье	Красный Перекоп	Всего	Среднее по породе
		n=80	40	40	100	40		
G1	2500-2300							
G2	2100-2000							
G3	1900-1800	0.263	1.000	0.875	0.970	1.000	0.777	0.822
G4	1750-1700							
G5	1650-1600					0.175	0.023	0.035
G6	1550-1500							
G7	1450-1400	0.738	1.000	0.950	0.970	1.000	0.913	0.932
G8	1350-1300	0.075					0.020	0.015
G9	1290-1240							
G10	1230-1180							
G11	1170-1120	0.438	0.900	0.800	0.850	1.000	0.760	0.798
G12	1110-1060	0.563	1.000	0.650	0.660	0.975	0.720	0.770
G13	1050-1000	0.050			0.010		0.017	0.012
G14	990-940							
G15	930-880							
G16	870-820							
G17	810-760							
G18	750-720	0.725	1.000	0.850	0.750	1.000	0.823	0.865
G19	710-680							
G20	670-640							
G21	630-600	0.988	1.000	1.000	1.000	1.000	0.997	0.998
G22	590-560							
G23	550-530	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
G24	520-500							
G25	490-470	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
G26	460-440							
G27	430-410	0.225	0.225	0.025	0.000	0.175	0.117	0.130
G28	400-380	0.938	0.575	0.925	0.940	1.000	0.897	0.876
G29	370-360	0.013		0.075		0.075	0.023	0.033
G30	350-340	0.750	0.575	0.750	0.860	0.725	0.760	0.732
G31	330-320							
G32	310-300	0.100					0.027	0.020
G33	290-280							
G34	270-260	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
G35	250-240							
G36	230-220	0.575	1.000	1.000	0.630	1.000	0.763	0.841
G37	210-200							
G38	180-160							

Различия по частотам встречаемости фрагментов ДНК между исследованными популяциями романовской овцы обнаружены и при использовании праймера (GA)₉C. С более высокой частотой (0.975-1.000) фрагменты G12 ($p<0.01$) и G18 ($p<0.05$) встречаются у

популяций «Земледелец» и «Красный Перекоп» по сравнению с тремя другими популяциями. Романовские овцы генофондного хозяйства «Авангард» выделяются из всех изученных популяций по частотам встречаемости фрагментов G3 ($p < 0.001$), G7 ($p < 0.01$) и G11 ($p < 0.001$), «Земледелец» - по G28 ($p < 0.001$). Фрагмент G5 обнаружен только в популяции «Красный Перекоп» ($p < 0.05$), в других исследованных группах данный фрагмент отсутствует у всех особей.

Выявленные достоверные различия по частоте встречаемости того или иного фрагмента среди пяти групп животных могут быть использованы при сохранении внутривидового генетического разнообразия, разработке селекционно-племенного плана по разведению романовской породы овец, в частности при подборе и отборе, ротации и обмене овец между хозяйствами Ярославской области.

3.1.2. Оценка популяционной структуры романовской породы методом кластеризации на основании данных ISSR анализа

С целью анализа популяционной структуры романовской породы овец и оценки внутривидовых групп был применен метод кластеризации, реализованный в программе STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard et al., 2000) на основе данных ISSR-фингерпринтинга.

Программа STRUCTURE анализирует и демонстрирует структуру популяции, используя мультилокусные данные генотипов, состоящие из несцепленных между собой генетических маркеров. Использование данной программы позволяет определить количество отдельных популяций-кластеров, распределение особей по популяциям-кластерам, изучить гибридные зоны (гибридные особи/смешанные индивиды), идентифицировать мигрировавших или чужеродных особей. Каждый из кластеров характеризуется рядом частот аллелей определенных локусов. Индивиды исследуемой выборки приписываются (вероятностно) к кластеру, или одновременно к двум и более кластерам, если их генотипы указывают на то, что они смешаны. В рамках кластера, как предполагается, локусы находятся в равновесии согласно закону Харди-Вайнберга. Алгоритм кластеризации не предполагает влияние мутационного процесса на популяционные структуры.

Анализ популяционной структуры с помощью Байесовского метода, реализованного в пакете STRUCTURE, проводился с 5000 итерациями, при первоначальном тестировании (*burnin*) в 50000 итераций.

В программе STRUCTURE существует несколько моделей для определения происхождения индивидов. Для анализа данных по AG- и GA-ISSR-PCR маркерам с помощью популяционно-статистической обработки в программе STRUCTURE использовалась смешанная модель (*admixture model*) при предположении того, что аллельные частоты могут коррелировать

(*correlated allele frequencies*). При такой модели индивид может иметь смешанное происхождение, то есть некоторая доля его генома может быть унаследована от предков каждой из K популяций. В нашем случае параметр K варьировали от 1 до 5. При предварительном анализе тестировалось K от 1 до 10, но, начиная с $K=6$, добавочные кластеры поглощали очень незначительную долю генетической изменчивости и далее не рассматривались.

На рисунке 7 представлены несколько вариантов смешанной модели кластеризации популяций романовской породы овец Угличского района Ярославской области при K равном от 2 до 5. По оси абсцисс отдельным столбиком на гистограммах представлено каждое животное, по оси ординат представлена величина вклада каждого из кластеров в генотип особи (вероятность того, что особь принадлежит к тому или иному кластеру).

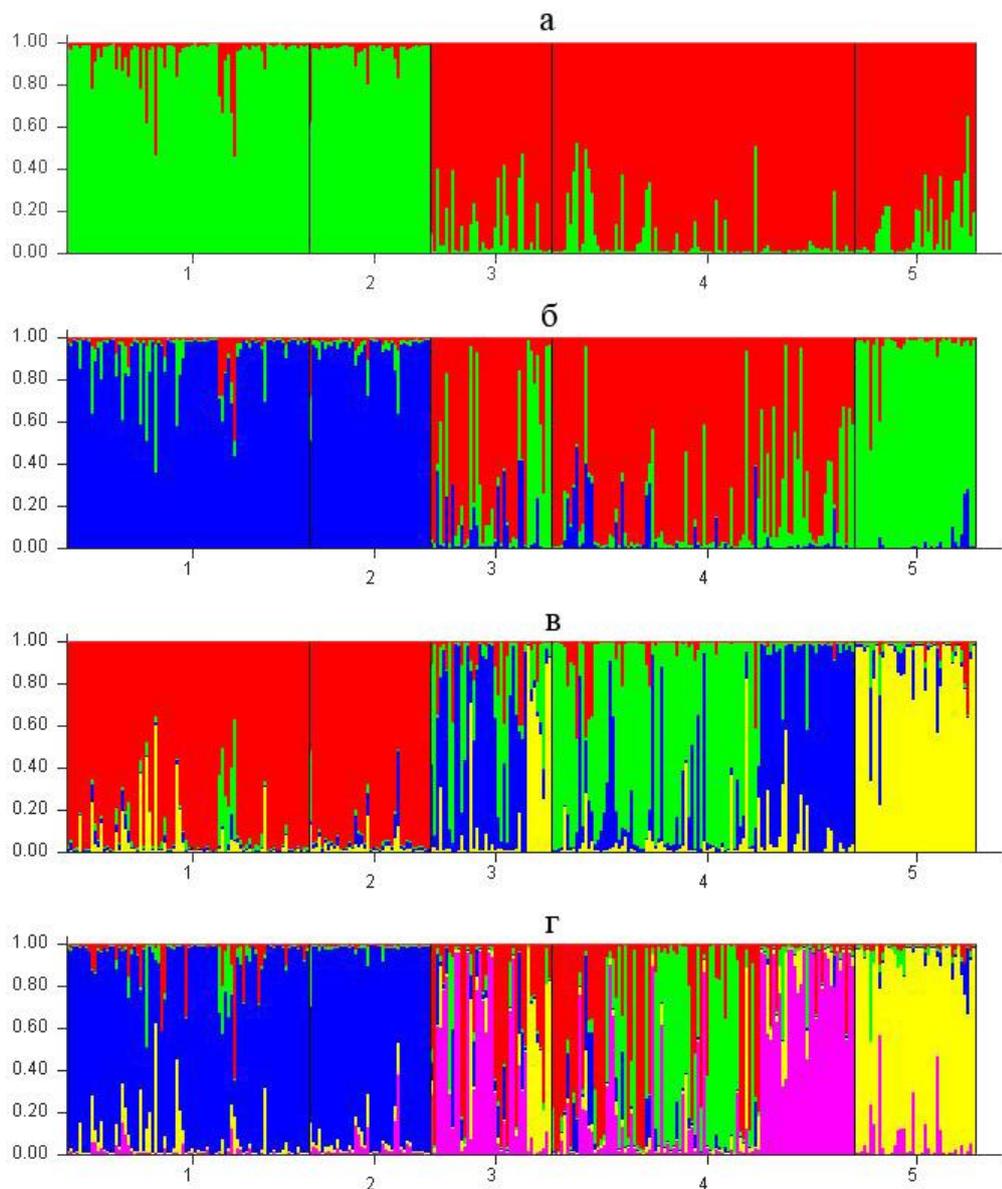


Рисунок 7. Кластеризация популяций романовской породы овец на основе популяционно-статистической обработки данных ISSR-фингерпринтинга с использованием программы STRUCTURE 2.3.4 при следующих значениях K : а – $K=2$; б - $K=3$; в – $K=4$; г – $K=5$. 1 – Авангард, 2 – Земледелец, 3 – Дружба, 4 – Заречье, 50 – Красный Перекоп.

Эванно с соавт. показали, что реальное число групп (самый верхний иерархический уровень структуры) лучше всего обнаруживается при подходе, использующем величину дельта (Delta) K, рассчитываемую на основе производной второго порядка функции правдоподобия (Evanno et al., 2005). В нашем исследовании график параметра дельта K (рисунок 8) и данные обработки полученных результатов методом Эванно, представленные в таблице 6, свидетельствуют о том, что наиболее оптимальным/вероятным числом кластеров в исследованной группе романовских овец из пяти хозяйств является K=2.

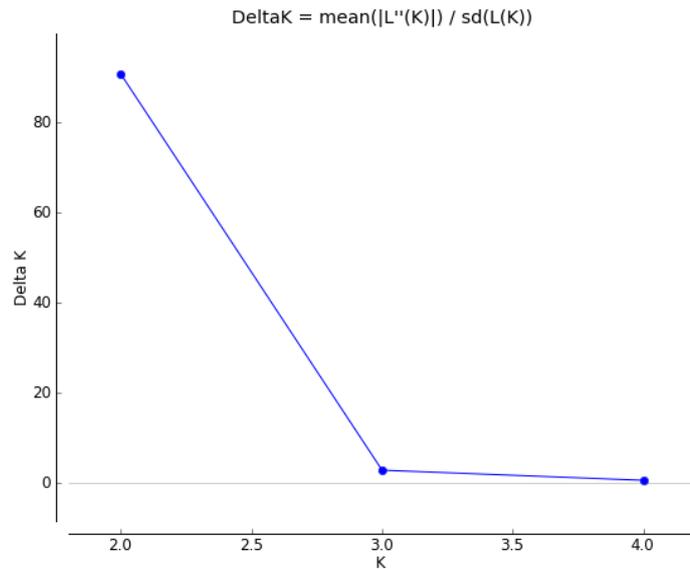


Рисунок 8. График параметра дельта K в зависимости от числа кластеров

Таблица 6

Значения параметров, полученных с помощью метода Эванно (Evanno et al., 2005)

K	L(K)	sd L(K)	L'(K)	L''(K)	Delta K
1	-7454.9055	0.1691	—	—	—
2	-6219.8297	8.8175	1235.0757	799.9269	90.7202
3	-5784.6809	40.2886	435.1488	116.7170	2.8970
4	-5466.2491	125.4855	318.4318	81.8631	0.6524
5	-5229.6804	147.3181	236.5687	—	—

Обозначения: K – число кластеров, L – функция правдоподобия, sd – стандартное отклонение, L', L'' – первая и вторая производные функции правдоподобия.

Таким образом, результаты кластеризации (рисунок 7а) на внутривидовом уровне указывают на то, что в формировании романовской породы (общей исследованной выборки) принимали участие две исходные прародительские популяции, одна из которых внесла наибольший вклад в генофонды отар «Авангарда» и «Земледельца», вторая – «Дружбы», «Заречья» и «Красного Перекопа». Основываясь на представленных выше данных в романовской породе можно выделить соответственно две внутривидовые группы.

Наличие во всех отарах смешанных/помесных особей, несущих в своем генотипе долю, унаследованную от предков обеих прародительских популяций, свидетельствует о периодическом обмене

животными между хозяйствами. Определяя из совокупности особей, процент/долю таких смешанных или интродуцированных генотипов на уровне популяции, можно сделать заключение о чистоте и консолидации популяционной структуры романовских овец. В нашем исследовании наиболее консолидированное и генетически однородное стадо обнаружено в хозяйстве «Земледелец».

В связи с этим можно сделать вывод о том, что метод кластеризации возможно применять для наглядной демонстрации популяционной структуры породы, определения отличий в генофонде, в частности принадлежности индивидов к тем или иным популяциям, а также осуществлять идентификацию «мигрантов» и смешанных индивидов.

3.1.3. Оценка генетического разнообразия романовской породы овец с использованием ISSR-PCR маркеров

ISSR-анализ использовался с целью оценки генетического разнообразия и степени родства исследуемых популяций романовских овец. С использованием данных AG- и GA-ISSR анализа в программах PopGene v.1.32. и Microsoft Excel были рассчитаны частоты фрагментов, доли полиморфных локусов, индексы генетического разнообразия для изученных популяций. Праймер (AG)₉C позволил выявить большее число фрагментов (25), в том числе полиморфных (20), чем праймер (GA)₉C (18 и 15 соответственно).

В таблицах 7 и 8 представлены оценки генетического разнообразия у исследованных популяций романовской породы овец. Анализируя полученные данные видно, что наибольшее генетическое разнообразие по Нею и Шеннону по праймерам (AG)₉C и (GA)₉C выявлено у популяции «Авангард» (0.143 ± 0.022 и 0.213 ± 0.032 ; 0.224 ± 0.023 и 0.341 ± 0.031 , соответственно). Наименьшие значения этих индексов генного разнообразия по обоим праймерам зафиксировано у отары овец из «Красного Перекопа».

Ранее при изучении ISSR-полиморфизма у романовских и тувинских овец было показано, что параметры генетического разнообразия могут сигнализировать о селекционном состоянии той или иной группы животных. В частности, такие показатели, как процент полиморфных локусов в отдельных популяциях овец менее 30%, среднее на локус генное разнообразие по Нею (H_T) менее 0.044, индекс информации Шеннона (I) менее 0.063 – могут косвенно свидетельствовать об инбредной депрессии в популяции или ее жесткой изоляции (Столповский и др., 2010). Исходя из вычисленных значений параметров генетического разнообразия по данным ISSR-PCR маркеров исследованных генофондных хозяйств романовской породы овец (таблицы 7 и 8) все пять можно признать относительно благополучными по выявленному внутривидовому генетическому разнообразию, за

исключением значения параметра доля полиморфных локусов в популяциях «Красный Перекоп», «Земледелец» и «Дружба».

Таблица 7

Параметры генетического разнообразия популяций романовской породы овец с использованием AG-ISSR-PCR маркеров

	Выборка, n	Полиморфных локусов, N	Полиморфных локусов, %	Среднее на локус генное разнообразие, H_T (Nei, 1987) ($\pm se$)	Средний на локус индекс информации Шеннона, I (Lewontin, 1972) ($\pm se$)	Среднее число аллелей μ (Животовский, 1991) ($\pm s_\mu$)	Доля редких аллелей h_r (Животовский, 1991) ($\pm s_h$)
Авангард	80	15	42.86	0.143 \pm 0.022	0.213 \pm 0.032	1.332 \pm 0.105	0.334 \pm 0.053
Земледелец	40	12	34.29	0.101 \pm 0.027	0.154 \pm 0.040	1.248 \pm 0.153	0.376 \pm 0.077
Дружба	40	10	28.57	0.087 \pm 0.025	0.134 \pm 0.037	1.215 \pm 0.154	0.393 \pm 0.077
Заречье	100	17	48.57	0.128 \pm 0.018	0.198 \pm 0.026	1.326 \pm 0.095	0.337 \pm 0.047
Красный Перекоп	40	7	20.00	0.067 \pm 0.024	0.100 \pm 0.035	1.158 \pm 0.156	0.421 \pm 0.078
Романовская	300	20	57.14	0.153 \pm 0.011	0.234 \pm 0.016	1.381 \pm 0.053	0.309 \pm 0.027

Обозначения: se – стандартная ошибка; s_μ – ошибка среднего числа аллелей; s_h – ошибка доли редких аллелей.

Таблица 8

Параметры генетического разнообразия популяций романовской породы овец с использованием GA-ISSR-PCR маркеров

	Выборка, n	Полиморфных локусов, N	Полиморфных локусов, %	Среднее на локус генное разнообразие, H_T (Nei, 1987) ($\pm se$)	Средний на локус индекс информации Шеннона, I (Lewontin, 1972) ($\pm se$)	Среднее число аллелей μ (Животовский, 1991) ($\pm s_\mu$)	Доля редких аллелей h_r (Животовский, 1991) ($\pm s_h$)
Авангард	80	14	77.78	0.224 \pm 0.023	0.341 \pm 0.031	1.550 \pm 0.093	0.225 \pm 0.047
Земледелец	40	4	22.22	0.086 \pm 0.027	0.127 \pm 0.040	1.194 \pm 0.155	0.403 \pm 0.078
Дружба	40	9	50.00	0.181 \pm 0.036	0.262 \pm 0.050	1.402 \pm 0.145	0.299 \pm 0.072
Заречье	100	9	50.00	0.187 \pm 0.022	0.271 \pm 0.031	1.412 \pm 0.091	0.294 \pm 0.046
Красный Перекоп	40	5	27.78	0.065 \pm 0.021	0.106 \pm 0.032	1.181 \pm 0.155	0.409 \pm 0.078
Романовская	300	15	83.33	0.216 \pm 0.013	0.323 \pm 0.017	1.545 \pm 0.048	0.227 \pm 0.024

Обозначения: se – стандартная ошибка; s_μ – ошибка среднего числа аллелей; s_h – ошибка доли редких аллелей.

Внутрипопуляционное разнообразие проанализировано также с помощью параметров среднее число морф/аллелей μ и доля редких морф/аллелей h_r (Животовский, 1980, 1991). Их преимуществом по сравнению с некоторыми другими показателями является способность оценивать более тонкие различия между популяциями по разнообразию, особенно когда редкие аллели варьируют от популяции к популяции. Среднее число морф/аллелей μ оценивает степень разнообразия. При неравномерном распределении числа морф/аллелей $\mu < m$

(наибольшего числа морф/аллелей). При мономорфном распределении $\mu=1$. Доля редких аллелей h_{μ} оценивает структуру разнообразия популяции: высокие значения h_{μ} говорят о значительной неравномерности распределения частот аллелей.

Среди исследованных популяций романовской породы минимальные значения среднего числа аллелей μ по AG-ISSR-PCR маркеру отмечены у овец хозяйства «Красный Перекоп» ($\mu=1.158\pm 0.156$). Это подтверждается также и высокими значениями показателя h_{μ} (0.421 ± 0.078) в данной популяции. В наибольшей степени равномерное распределение частот аллелей AG-ISSR-фрагментов отмечено у популяции «Авангард», так как она имеет самые высокие значения среднего числа аллелей $\mu=1.332\pm 0.105$ и наименьшую долю редких аллелей $h_{\mu}=0.334\pm 0.053$.

Среди изученных популяций по GA-ISSR-PCR маркеру неравномерное распределение частот аллелей свойственно выборке «Красный Перекоп» ($\mu=1.181\pm 0.155$; $h_{\mu}=0.409\pm 0.078$) и «Земледелец» ($\mu=1.194\pm 0.155$; $h_{\mu}=0.403\pm 0.078$), а наиболее равномерное – выборке «Авангард» ($\mu=1.550\pm 0.093$; $h_{\mu}=0.225\pm 0.047$). Полученные результаты по показателям генетического разнообразия свидетельствуют о том, что из всех обследованных популяций романовской породы овец, наиболее разнообразное, с точки зрения генетики сохраняется в хозяйстве ООО «Агрофирма Авангард», где проводится планомерная селекционно-племенная работа по поддержанию селекционного разнообразия. В настоящее время именно это хозяйство должно стать донором для других хозяйств или центром для племенного разведения и сохранения романовской породы овец.

С целью установления генетических взаимоотношений между популяциями романовских овец на основании данных по частотам ISSR-PCR маркеров были рассчитаны попарные генетические расстояния (таблица 9). Матрицы расстояний между популяциями были визуализированы методом кластерного анализа в программе Statistica 8.0 (рисунки 9а и 10а).

Наиболее близкие генетические взаимоотношения как по AG-, так и по GA-ISSR-PCR маркерам отмечены между отарами из хозяйств «Дружба» и «Заречье» ($D_N=0.0155$ и 0.0284 , соответственно). Аналогичная картина между вышеуказанными хозяйствами, сохраняется и для совокупности всех маркеров (по $(AG)_9C$ и $(GA)_9C$) ($D_N=0.0196$) (рисунок 11), что, по всей видимости, обусловлено тесными селекционными связями между этими хозяйствами (таблица 9). Практически то же самое, можно сказать о генофондах романовских овец агрофирм «Авангард» и «Земледелец» на основании данных AG-ISSR анализа ($D_N=0.0225$). Однако по GA-ISSR-PCR маркерам выборка «Авангард» наиболее удалена как от выборки «Земледелец» ($D_N=0.1769$), так и от выборки «Красный Перекоп» ($D_N=0.1798$). Последние удалены друг от друга на незначительное расстояние ($D_N=0.0342$).

Полученные показатели генетического расстояния среди пяти хозяйств говорят о том, что генофонд романовской породы достаточно консолидирован.

Таблица 9

Генетические расстояния (Nei, 1978) между популяциями романовской породы овец по данным ISSR-PCR маркеров

Популяции	Авангард	Земледелец	Дружба	Заречье	Красный Перекоп
по (AG)₉C					
Авангард	****				
Земледелец	0.0225	****			
Дружба	0.0700	0.0814	****		
Заречье	0.0714	0.1057	0.0155	****	
Красный Перекоп	0.0465	0.0908	0.0293	0.0349	****
по (GA)₉C					
Авангард	****				
Земледелец	0.1769	****			
Дружба	0.0628	0.0540	****		
Заречье	0.0538	0.0832	0.0284	****	
Красный Перекоп	0.1798	0.0342	0.0482	0.0698	****
по (AG)₉C и (GA)₉C					
Авангард	****				
Земледелец	0.0713	****			
Дружба	0.0677	0.0727	****		
Заречье	0.0657	0.0984	0.0196	****	
Красный Перекоп	0.0886	0.0712	0.0358	0.0463	****

Данные различия в генетических расстояниях по AG- и GA-ISSR-PCR маркерам отражаются в отличиях топологии деревьев, которые были построены в программе Statistica 8.0 (рисунки 9а и 10а). Топология на дендрограмме для совокупности всех маркеров (по (AG)₉C и (GA)₉C) совпадает с таковой по данным AG-ISSR анализа, но расстояния дивергенции ветвей отличаются, по-видимому, свой вклад в общую картину вносят GA-ISSR-фрагменты. Однако стоит отметить, что полиморфизм, выявленный с помощью праймера (AG)₉C, обладает большей информативностью. В связи с этим для определения генетических взаимоотношений между выборками может быть достаточно данных только по AG-ISSR-PCR маркеру.

С помощью программы STRUCTURE v2.3.4 были построены дендрограммы генетического сходства на основе популяционно-статистической обработки данных по встречаемости AG- и GA-ISSR-фрагментов (рисунки 9б и 10б). Полученные картины генетических взаимоотношений между популяциями, аналогичны полученным в программе Statistica 8.0. Например, на дендрограммах по данным AG-ISSR анализа (рисунок 9а, б) исследованные популяции романовских овец разбиваются на две родственные группы: первую образуют овцы хозяйств «Авангард» и «Земледелец», вторую – «Красный Перекоп», «Дружба» и «Заречье». Выборка из хозяйства «Красный Перекоп» занимает промежуточное положение в

исследуемом поголовье романовских овец. Наиболее отдаленными друг от друга являются овцы из хозяйств «Земледелец» и «Заречье», что соответствует наибольшему генетическому расстоянию, выявленному между ними по AG-ISSR-PCR маркерам ($D_N=0.1057$).

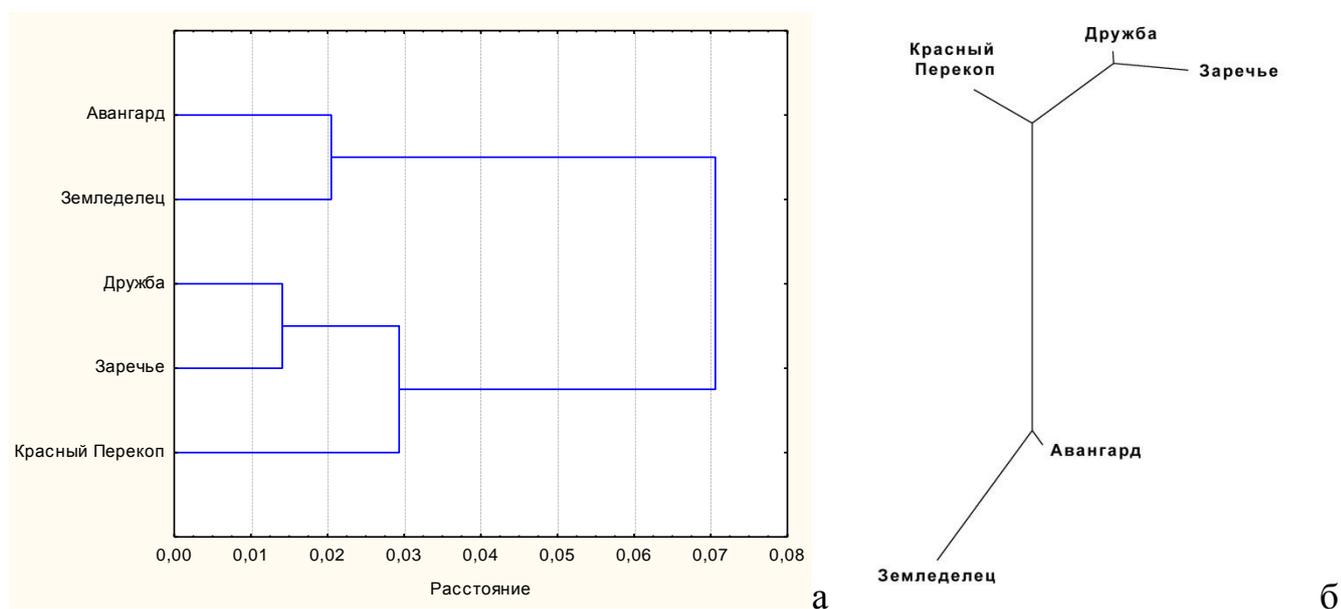


Рисунок 9. Дендрограмма филогенетического сходства пяти популяций романовской породы овец на основании данных AG-ISSR анализа: а – построена с использованием программы Statistica 8.0 (Метод построения UPMGA); б - построена с использованием программы STRUCTURE v2.3.4.

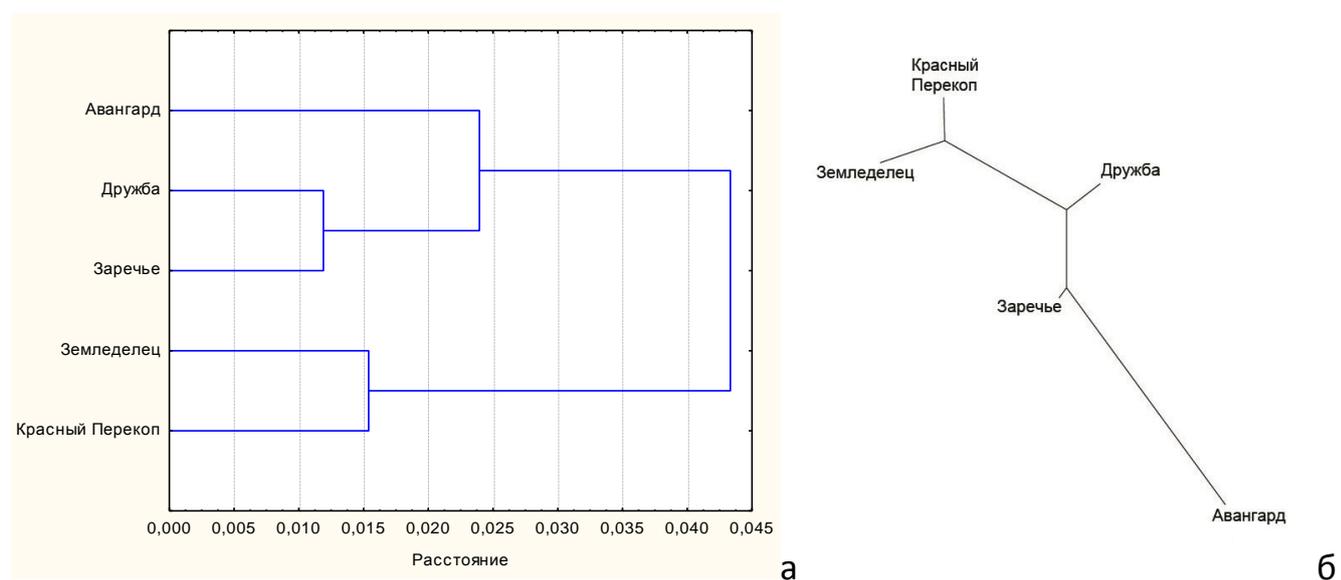


Рисунок 10. Дендрограмма филогенетического сходства пяти популяций романовской породы овец на основании данных GA-ISSR анализа: а – построена с использованием программы Statistica 8.0 (Метод построения UPMGA); б - построена с использованием программы STRUCTURE v2.3.4.

С учетом сходства или равноценности представления генетических взаимоотношений популяций двумя разными способами (в программе Statistica 8.0 и программе STRUCTURE

v2.3.4), для совокупности всех маркеров (по $(AG)_9C$ и $(GA)_9C$) представлена только дендрограмма, построенная методом UPGMA в программе Statistica 8.0. Она полностью совпадает по топологии с дендрограммой по данным AG-ISSR анализа: популяции романовских овец разбиваются на две группы: первая представлена выборками из хозяйств «Авангард» и «Земледелец», вторая – «Красный Перекоп», «Дружба» и «Заречье».

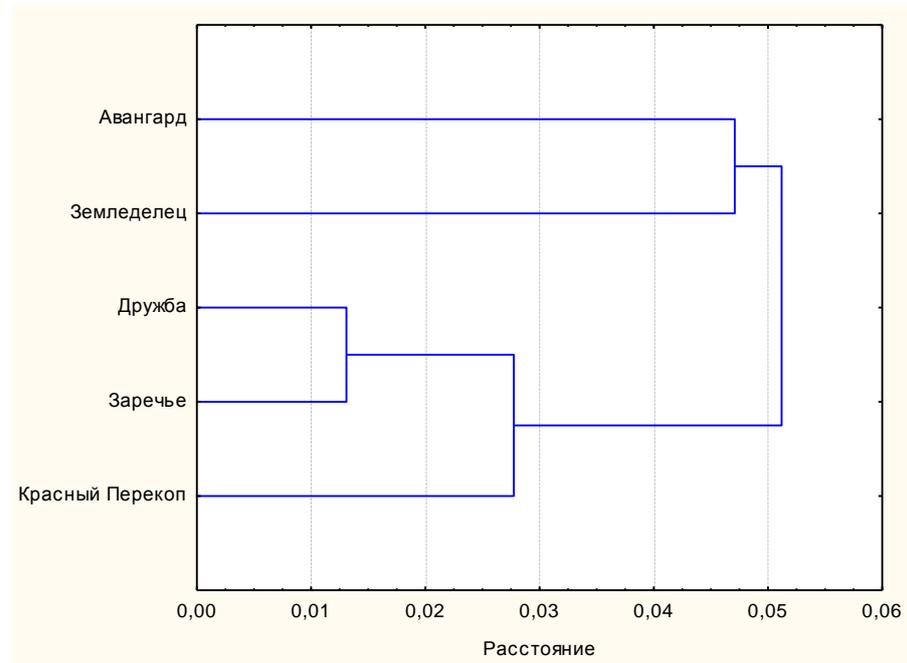


Рисунок 11. Дендрограмма филогенетического сходства пяти популяций романовской породы овец на основании данных AG- и GA-ISSR анализа, построенная с использованием программы Statistica 8.0 (Метод построения UPGMA)

На основании данных по генетическим взаимоотношениям, параметрам разнообразия, можно сделать определенные выводы, которые могут быть использованы при разработке селекционной стратегии для разведения романовских овец в Угличском районе Ярославской области.

С целью повышения эффективности селекционной работы с поголовьем романовских овец в исследованных хозяйствах, а именно для сохранения внутривидового разнообразия романовской породы овец следует активно использовать овцематок и баранов производителей из агрофирмы «Авангард» - хозяйства лидера по выявленному генетическому разнообразию. Исключение составляет хозяйство «Земледелец», где разводятся по данным AG-ISSR анализа близкородственные ($D_N=0.0225$) с животными «Авангарда» овцы. Для поддержания генетического разнообразия и уменьшения негативного влияния инбридинга в исследованных отарах романовских овец следует предусмотреть обмен животными между хозяйствами «Земледелец» и «Заречье», а также между «Авангардом» и «Заречье». С генетико-селекционной точки зрения, для того чтобы избежать инбредной депрессии, прежде всего, в хозяйствах «Красный перекоп», «Дружба» и «Земледелец» необходимо прилитие свежей крови,

использование гетеро-экологического подбора, а в целом по пяти хозяйствам применение индивидуального и группового отбора с учетом данных полученных по генетическому разнообразию.

В современной и будущей селекционной работе с романовской овцой одним из критериев по отбору баранов производителей может стать его характеристика (генетический паспорт) по ISSR-маркерам.

Генотипирование животных с использованием мультилокусного межмикросателлитного анализа (ISSR-PCR) позволило оценить параметры генетического разнообразия, популяционную структуру, сходство и различие генофондов пяти генофондных хозяйств романовской породы овец. Полученные молекулярно-генетические данные предоставляют новую информацию о внутривидовом генетическом разнообразии, что позволит оптимизировать селекционно-племенную работу с романовской породой овец с целью сохранения и использования ее уникального генофонда для настоящей и будущей селекции.

3.1.4. Коэффициент генетической оригинальности (КГО) как оценка генетического разнообразия романовской породы овец

В нашей работе для изучения генофонда романовских овец мы использовали метод классификации внутривидового разнообразия по результатам молекулярного маркирования, представленный ранее Потокиной Е.К. и Александровой Т.Г. для бобовых растений (Потокина, Александрова, 2008 а, б). Этот метод также был успешно использован для оценки состояния генофондов растений при анализе спектров фрагментов ДНК, полученных методами ISSR (Inter-Simple Sequence Repeats) и IRAP (Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism) (Боронникова, 2013). Данный метод основан на принципе Смирнова по «взвешиванию» признаков в зависимости от частоты их встречаемости. Индекс, который получен в результате усреднения «весов» всех полиморфных в выборке фрагментов, был назван Потокиной Е.К. и Александровой Т.Г. коэффициентом генетической оригинальности (КГО) (Потокина, Александрова, 2008а; Смирнов, 1960, 1969).

Нами данный метод был применен для изучения генетического разнообразия генофонда романовской породы овец. Полученные данные по ISSR-полиморфизму для 300 овец романовской породы из пяти ведущих генофондных хозяйств Ярославской области стали основой для решения задачи по определению наиболее типичных и оригинальных особей с точки зрения разнообразия и их соответствия породе.

Разделение особей на группы в соответствии с их КГО проходило с использованием пятибалльной шкалы классификации, которая соответствует интервалам между минимальным,

максимальным значениями выборки x и 5%-ым, 25%-ым, 75%-ым и 95%-ым квантилями полученного распределения (рисунок 5в).

Нами были выделены наиболее типичные и оригинальные особи романовской породы в общей популяции исследованных животных и в каждой популяции отдельно. Наиболее типичными являются животные, имеющие наименьшие значения КГО, которые попали в первый интервал (I класс). Доли животных I класса, включающих наиболее типичных особей, и крайнего интервала (V класс), включающих наиболее оригинальных особей, в общей выборке являются одинаковыми (5%). Доли II, III и IV классов в общей выборке исследованных романовских овец составляют 20%, 50% и 20%, соответственно. Овцы V класса имеют максимальные значения КГО, то есть наибольшее число редких аллелей в генотипе. Эти животные представляют интерес для селекционеров как резерв генетической изменчивости. Овцы I класса могут составлять основу для создания племенного ядра, как наиболее соответствующие породе.

На основании выделенных классов по коэффициенту генетической оригинальности в общей выборке исследованных животных отдельные хозяйства были охарактеризованы по представленности особей разных классовых групп в своем составе. Нами было определено соотношение числа особей выделенных пяти классов в каждом хозяйстве (рисунок 12).

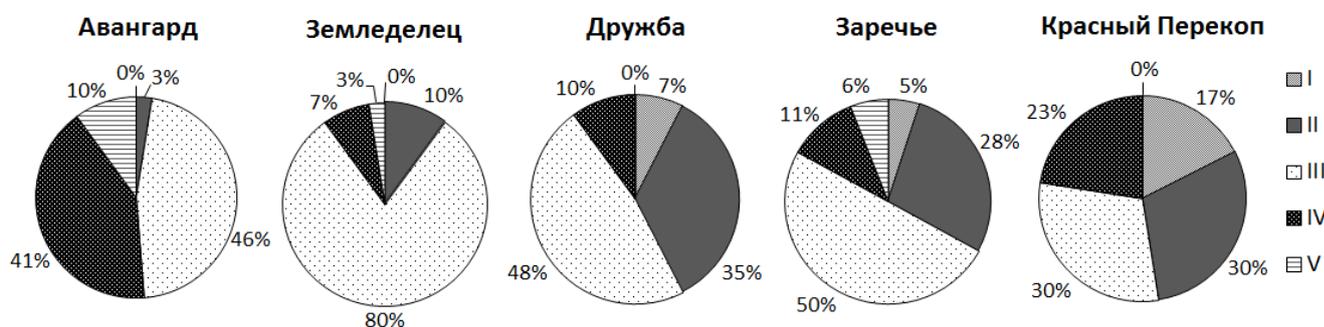


Рисунок 12. Соотношение представителей пяти классов в структуре исследуемых популяций романовской породы овец: I-первый класс, II-второй класс, III-третий класс, IV-четвертый класс, V-пятый класс.

Полученные данные по КГО для популяций в целом позволили выделить базовые и специфические генофонды романовских овец. Максимальные значения КГО (IV, V классы по предложенной шкале) с наибольшей частотой среди исследуемых популяций (41% и 10% соответственно) отмечались у овец выборки «Авангард», что указывает на использование в данном хозяйстве различных селекционных методов при отборе и подборе животных, направленных на нивелирование отрицательных последствий инбридинга. Данная популяция содержит наибольшее число редких для романовской породы аллелей, то есть обладает наибольшим потенциалом генетической изменчивости среди всех исследованных популяций. Наш вывод подтверждает следующий факт: в популяции «Авангард» обнаружено

незначительное количество особей с наиболее характерными для общей исследуемой выборки генотипами (I класс – 0%, II класс – 3%). Практически всех особей «Земледеца» можно отнести к средне-типичным для романовской породы (III класс – 80%). Данный факт говорит о том, что в хозяйстве использовалось небольшое количество типичных для породы баранов-производителей и проводилась селекция по закреплению определенного хозяйственно-полезного признака. В выборках из хозяйств «Дружба» и «Заречье» также преобладают особи III класса (48% и 50% соответственно), при этом в значительном количестве представлены особи с I и II классами значений КГО, соответственно 7% и 35% для «Дружбы» и 5% и 28% для «Заречья». Овцы хозяйства «Красный Перекоп» представлены самым большим количеством особей I и II классов (17% и 30%). В хозяйстве «Красный Перекоп» исследованные животные практически не имеют редких аллелей и являются наиболее типичными для исследуемого генофонда романовской породы овец.

Таким образом, используя данные по КГО из пяти исследованных генофондных хозяйств романовской породы, мы обнаружили хозяйства, где сосредоточены наибольшее количество типичных для породы генотипов по ISSR-PCR маркерам – это хозяйства «Красный Перекоп» (47% - I и II классы) и «Дружба» (42 % - I и II классы). Другими словами в вышеуказанных хозяйствах сохранился базовый генофонд романовских овец. Наиболее оригинальный генофонд романовской породы содержится в популяции «Авангард» (51% - IV и V классы), что, по-видимому, является следствием частой смены или использования различных баранов-производителей, и создания основного маточного поголовья из различных генофондов, где использовались приемы межлинейного разведения. Данные результаты согласуются с полученными ранее параметрами генетического разнообразия.

В своей работе мы выявили, оценили и использовали полученные данные по полиморфизму ДНК для дальнейшей классификации особей в соответствии с их коэффициентом генетической оригинальности. Предложенная классификация внутривидового разнообразия может быть использована как в селекционно-племенной работе (при отборе-подборе пар для скрещивания, обмене животными между хозяйствами) так и при сохранении генофонда породы, в частности для сохранения всего спектра редких (оригинальных) и типичных (базовых) генотипов – внутри породного разнообразия популяций, породы в целом. Полученные данные по генетической оригинальности можно использовать на практике для оптимизации различных селекционных задач для большинства автохтонных пород domesticированных видов животных.

3.1.5. Анализ ассоциаций между хозяйственно-полезными признаками романовских овец и ISSR-фрагментами

Стремления повысить продуктивность сельскохозяйственных животных существовали всегда. Селекционно-племенная работа направлена на отбор фенотипических признаков, характеризующих продуктивность, жизнеспособность и экстерьер. В дополнение к традиционной селекционной работе по количественным признакам необходимо познание наследственной основы их продуктивности. В последние десятилетия произошло стремительное развитие молекулярно-генетических методов по выявлению и оценки ДНК полиморфизма. Использование ДНК-маркеров в селекционном процессе позволяет успешно решать ряд задач, связанных с отбором и подбором, воспроизводством необходимых генотипов, выявлением хозяйственно-ценных и породоспецифических ассоциаций генов, сохранением генофондов животных и т.д. Информация на молекулярном уровне поможет оценить потенциальную продуктивность животных и повысить точность селекции, а, следовательно, и селективный ответ (Ерохин, Ерохин, 2004; Абонеев и др., 2006; Марзанов и др., 2012б; Глазко и др., 2014; Rupp et al., 2016). Поиск данных маркеров и построение на их основе генных карт уже привели к существенным положительным результатам по некоторым видам сельскохозяйственных животных. Так, например, для крупного рогатого скота и свиньи достигнуто значительное насыщение генных карт маркерными локусами (Глазко, Глазко, 2001; Юдин, Воевода, 2015). Однако генная карта овцы исследована в меньшей степени и требует дальнейших насыщения, доработок и изучения взаимосвязи «фенотип-генотип». В настоящее время по программе международного консорциума секвенированы геномы двух особей породы тексель, но продолжается работа по улучшению текущей сборки и ее аннотации (Jiang et al., 2014; ISGC, <http://www.sheepmap.org/>).

В многочисленных работах отечественных ученых, в том числе и по романовской породе, изучалось влияние различных факторов на фенотип и генотип животных, исследовалась взаимосвязь этих признаков между собой, в результате чего установлено, что изменчивость одного из селекционных признаков зависит от изменчивости других признаков (Васин, Попова, 1929; Васин, 1944; Стакан, 1959, 1966, 1976; Стакан, Соскин, 1962, 1965; Арсеньев, Арсеньева, 1976; Арсеньев, 1989; Ерохин, 2000; Ерохин и др., 2005; Эрнст, Зиновьева, 2008; Канева и др., 2013). Таким образом, чтобы разрабатывать эффективные методы селекции, необходимы знания о взаимосвязи между хозяйственно-полезными признаками, то есть умелое использование закона соотносительной (коррелятивной) изменчивости.

Цель данной работы – анализ влияния выявленной генетической структуры (AG- и GA-ISSR-PCR маркеры) на изменчивость хозяйственно-полезных признаков романовских овец и оценка взаимосвязи анализируемых признаков продуктивности овец романовской породы.

Исследование выполняли на объединенной выборке романовских овец из 5 ведущих генофондных хозяйств Угличского района Ярославской области. Материалом послужили

данные индивидуальных карточек, бонитировок и продуктивности, предоставленные из компьютерных баз данных хозяйств. В анализ вошли данные по 268 особям, которые были оценены по всем исследуемым фенотипическим признакам.

Выявленный ранее полиморфизм по AG- и GA-ISSR-фрагментам рассматривается как фактор влияния генетической структуры на продуктивные качества овец романовской породы. Для 268 животных выполнен поиск возможных ассоциаций данных по генетическому полиморфизму с результатами бонитировок из баз данных исследуемых хозяйств. Анализ был осуществлен с помощью построения модели наследования признака как регрессионной линейной модели (формула (8)) и применения критерия Фишера.

Достоверная взаимосвязь с генетическими маркерами определена для 9 признаков продуктивности (таблица 10). Данные признаки представлены в основном показателями, характеризующими шубные качества романовских овец и плодовитость. Шесть признаков связаны с двумя и более ISSR-PCR маркерами. Например, с признаками «настриг шерсти» и «число мертворожденных ягнят» достоверно ассоциированы по пять ISSR-PCR маркеров (таблица 10).

Таблица 10

Достоверные ассоциации между признаками продуктивности романовских овец и генетическими локусами (значения $p < 0.05$)

Признак	ISSR-PCR маркеры (p -значения)
Настриг шерсти	A12 (0.0029), A29 (0.0156), A32 (0.0047), G12 (0.0177), G28 (0.0300)
Уравненность шерсти	A34 (0.0283×10^{-5}), G29 (0.0397)
Густота шерсти	A34 (0.0073), A36 (0.0392), G36 (0.0034)
Соотношение ости и пуха	A12 (0.0264), G3 (0.0385), G8 (0.0319), G28 (0.0363)
Оброслость брюха	A23 (0.0214)
Комплексный класс	A24 (0.0225), A31 (0.0307)
Средняя плодовитость	A6 (0.0329)
Максимальное число ягнят	A12 (0.0462)
Наличие мертворожденных ягнят	A6 (0.0057), A21 (0.0049), A30 (0.0470), G27 (0.0292), G36 (0.0005)

Примечание. В скобках указаны вычисленные p -значения.

Для некоторых ISSR-PCR маркеров установлена связь с несколькими фенотипическими признаками. Так, например, для фрагмента A6 определена достоверная взаимосвязь с показателями воспроизводства (средняя плодовитость и наличие мертворожденных ягнят), для фрагмента G28 - с признаками шерстной продуктивности (настриг шерсти и соотношение ости и пуха (по количеству)), а фрагмент A12 достоверно ассоциирован наряду с признаками шерстной продуктивности (настриг шерсти и соотношение ости и пуха (по количеству)) с показателем «максимальное число ягнят», также как и G36 наряду с признаком «густота

шерсти» связан с показателем воспроизводства «наличие мертворожденных ягнят». Объяснить данные факты можно, предположив существование плейотропного эффекта или ассоциаций генов, влияющих на фенотипическое проявление данных признаков. При плейотропном действии имеет место полная коррелятивная связь признаков между собой. (В нашем случае мы наблюдаем данную связь только между признаками, связанными с фрагментами A6 и G36. Однако, если «ген одновременно вызывает и полезные и вредные для особи признаки, перед селекционерами, желающими использовать данный полезный признак и ликвидировать вредный, встают очень трудные задачи» (Дубинин, 1986). В нашей работе ассоциации фрагмента G36 являются подобным примером. Но «полезный» признак (густота шерсти) и «вредный» признак (наличие мертворожденных ягнят) имеют слабую отрицательную корреляцию (см. таблица 11). Таким образом, знание направления корреляционной связи, вероятно, облегчит селекционную работу по данному комплексу признаков, предоставив возможность в полной мере использовать «полезный» признак, одновременно уменьшая действие «вредного».

Полученные данные являются результатом одного из первых этапов настоящего исследования генетической природы изменчивости хозяйственно-полезных признаков романовских овец. Следующим этапом работы является локализация в геноме ISSR-фрагментов, для которых была установлена достоверная ассоциация с признаками продуктивности, а также дальнейшие исследования по изучению природы влияния отдельных ISSR-фрагментов на хозяйственно-полезные признаки романовских овец. Полиморфизм ассоциированных генетических структур может маркировать изменчивость конкретных структурных генов, связанных напрямую с фенотипическим проявлением признака, или локусов, тесно сцепленных с ними. Таким образом, возможно выявление новых генов-кандидатов, в дальнейшем определение способности полиморфных вариантов ДНК в этих генах влиять на интересующий селекционеров фенотип.

В данной работе нами была изучена взаимосвязь между 15 анализируемыми признаками романовских овец с помощью параметрического метода Пирсона. Для анализируемых показателей «пол», «популяционная принадлежность», «заводская линия» в силу их категориальных значений не оценивалось направление корреляционной связи.

Коэффициенты корреляции Пирсона r и вычисленные p -значения для теста корреляции Пирсона представлены в таблице 11. Наглядно взаимосвязь признаков представлена на рисунке 13 в виде теплокарты, где степень насыщенности цвета соответствует степени их сопряженности.

Для всех 15 признаков романовских овец отмечены достоверные ($p < 0.05$) корреляции разной направленности и степени с одним или несколькими анализируемыми признаками.

Большинство выявленных взаимосвязей подтвердили ранее известные селекционерам зависимости, например положительная корреляция живой массы с большинством хозяйственно-полезных признаков (Арсеньев, Арсеньева, 1976; Ерохин и др., 2005; Москаленко, Филинская, 2014) или положительные корреляции между показателями шубной продуктивности (настриг шерсти, густота шерсти, уравниность шерсти, соотношение ости и пуха (по количеству), соотношение ости и пуха (по длине)), а также между показателями воспроизводства (средняя плодовитость, максимальное число ягнят, наличие мертворожденных ягнят). Упомянутая выше слабая отрицательная корреляция между «густотой шерсти» и «наличием мертворожденных ягнят» выглядит довольно интересной на фоне остальных приведенных корреляций, которые можно объяснить с точки зрения физиологии или экологии вида *O. aries*. Во всех выше перечисленных примерах результаты статистически значимы (таблица 11).

На признаки «настриг шерсти» (0.616) и «живая масса» (0.481) овец значительно влияет пол. Данный факт является закономерным с учетом биологии (полового диморфизма) вида *Ovis aries*. Связь признака принадлежности к популяции/хозяйству с живой массой и густотой шерсти можно предопределить как паратипический фактор (влияние внешних условий в хозяйстве) на продуктивные качества овец.

Таблица 11
Корреляционные коэффициенты Пирсона между признаками (над диагональю) и их *p*-значения (под диагональю)

Признак	1. Пол	2. Популяция	3. Заводская линия	4. Тип рождения	5. Комплексный класс	6. Живая масса	7. Настриг шерсти	8. Уравниность шерсти	9. Густота шерсти	10. Соотношение ости и пуха (по количеству)	11. Оброслость брюха	12. Соотношение ости и пуха (по длине)	13. Средняя плодовитость	14. Максимальное число ягнят	15. Наличие м/р ягнят
1.		0.103	0.116	0.033	0.184	0.481	0.616	0.185	0.130	0.072	0.044	0.129	0.000	0.000	0.000
2.	0.094		0.068	0.070	0.060	0.292	0.112	0.143	0.236	0.055	0.017	0.024	0.084	0.067	0.126
3.	0.058	0.268		0.047	0.097	0.013	0.113	0.027	0.137	0.014	0.060	0.052	0.051	0.047	0.035
4.	0.591	0.256	0.448		0.107	-0.022	-0.039	-0.009	-0.178	-0.020	-0.106	-0.003	0.003	0.007	0.092
5.	0.002	0.328	0.114	0.081		0.053	0.138	0.192	-0.004	0.111	0.141	0.089	-0.121	-0.052	-0.032
6.	0.000	0.000	0.838	0.724	0.390		0.600	0.032	0.223	-0.007	0.044	0.025	0.080	0.088	0.026
7.	0.000	0.067	0.066	0.526	0.023	0.000		0.226	0.292	0.093	0.055	0.066	-0.020	0.001	0.005
8.	0.002	0.019	0.658	0.887	0.002	0.603	0.000		-0.078	0.329	-0.051	0.152	0.039	-0.051	0.055
9.	0.033	0.000	0.025	0.003	0.946	0.000	0.000	0.204		-0.043	0.048	-0.013	-0.066	-0.138	-0.238
10.	0.237	0.366	0.823	0.748	0.069	0.907	0.128	0.000	0.479		-0.044	0.253	-0.050	-0.085	0.059
11.	0.472	0.776	0.327	0.083	0.021	0.472	0.366	0.406	0.437	0.473		0.063	-0.010	-0.037	-0.053
12.	0.035	0.701	0.392	0.960	0.147	0.682	0.282	0.013	0.828	0.000	0.302		-0.067	-0.127	-0.133
13.	1.000	0.172	0.406	0.956	0.047	0.194	0.740	0.530	0.284	0.414	0.870	0.273		0.675	0.269
14.	1.000	0.271	0.440	0.907	0.399	0.152	0.981	0.401	0.024	0.165	0.549	0.038	0.000		0.326
15.	1.000	0.039	0.570	0.132	0.606	0.669	0.932	0.370	0.000	0.335	0.386	0.029	0.000	0.000	



Рисунок 13. Корреляционные связи между признаками романовских овец.

Таким образом, с помощью корреляционных коэффициентов Пирсона были выявлены достоверные взаимосвязи между анализируемыми фенотипическими признаками. Знание направления и степени корреляции между селекционируемыми хозяйственно-полезными признаками поможет решать вопросы о методах отбора и подбора родительских пар при селекции по комплексу признаков.

3.1.5. Сравнительный анализ генофондов романовской и других пород овец на основании оценок полиморфизма AG-ISSR-фрагментов

В работе методом мультилокусного межмикросателлитного анализа с использованием праймера $(AG)_9C$ была изучена генетическая структура девяти пород овец (*Ovis aries*), разводимых на территориях России и Монголии. Был выполнен анализ распределения и полиморфизма анонимных последовательностей ДНК, фланкированных инвертированными повторами микросателлитных локусов. Целью данной работы были выделение породоспецифичных уникальных фрагментов, оценка генетического разнообразия, выявление меж- и внутривидового сходства/различия, определение филогенетических связей пород и их «протогенофонда».

В настоящей работе выполнен сравнительный анализ спектров фрагментов ДНК, полученных с использованием в качестве праймера последовательности $(AG)_9C$, комплементарной микросателлитному локусу $(TC)_n$, у 33-х популяций девяти пород овец

(романовская, тувинская короткожирнохвостая, дагестанская горная, монгольская, тексель, эдильбаевская, теленгитская, калмыцкая, буубэй).

Анализ спектров продуктов амплификации участков ДНК между инвертированными повторами микросателлитных локусов показал, что изученные породы овец различаются по наличию/отсутствию отдельных фрагментов и по частоте их встречаемости. Всего было выявлено 35 фрагментов ДНК. Для каждой исследуемой породы определены специфические спектры фрагментов ДНК в диапазоне от 2500 до 160 п.н. (рисунок 14, таблица 12).

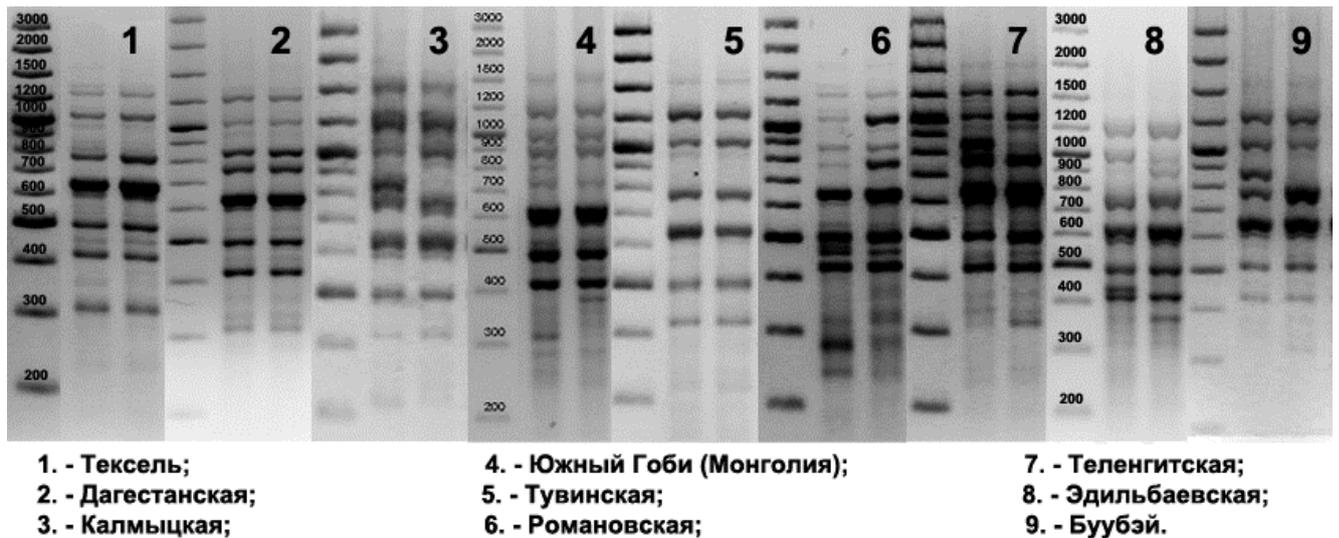


Рисунок 14. Спектры фрагментов амплификации ДНК исследованных пород овец с праймером (AG)₉C в 2% агарозном геле. Размеры фрагментов маркера молекулярного веса 100kb DNA Ladder Plus указаны над ними.

При сравнении частоты встречаемости ампликонов были выявлены пять фрагментов, которые с очень высокой частотой (не обнаружены у одного-двух животных) встречаются в спектрах амплификации у всех пород. Это ампликоны A10 размером в 1230-1180 п.н. (с частотой встречаемости 0.967–1.000), A18=750-720 п.н. (0.983–1.000), A21=630-600 п.н. (0.988–1.000), A25=490-470 п.н. (0.994–1.000) и A27=430-410 п.н. (0.998–1.000). Данные фрагменты можно считать характерными или видоспецифичными для пород овец. Со значительной частотой в породах встречаются пять ампликонов: A6 (0.688–1.000), A13 (0.869–1.000), A22 (0.889–1.000), A29 (0.675–1.000) и A32 (0.448–1.000).

В процессе анализа специфических спектров по ISSR-PCR маркерам помимо консервативных фрагментов обнаружены породные различия. Достоверность этих различий оценивалась по критерию значимости χ^2 . Так, например, по фрагменту A9=1290-1240 п.н. романовская и тувинская породы достоверно отличаются ($p < 0.001$) как от пород, у которых этот фрагмент отсутствует (буубэй и калмыцкая), так и от остальных пяти исследованных пород со значительной частотой встречаемости фрагмента (0.681–1.000). Иная ситуация складывается по фрагменту A28=400-380

п.н., который обнаружен у всех особей в породе тексель, отсутствует у эдильбаевских и калмыцких овец, а в остальных породах имеет незначительные частоты встречаемости (0.019–0.175). Для вышеуказанных различий по частоте встречаемости между изученными породами овец отмечается высокий уровень значимости ($p < 0.001$). Таким образом, фрагмент A28 может считаться породоспецифичным для овец породы тексель.

Таблица 12

Частота встречаемости фрагментов, полученных с помощью праймера (AG)₉C, в девяти породах овец

Фрагменты	ИРФ	Романовская*	Дагестанская	Монгольская *	Тексель	Эдильбаевская	Теленгитская	Тувинская*	Калмыцкая	Буубэй	Протогенофонд
A1	2500-2300										
A2	2100-2000			0.155							0.017
A3	1900-1800			0.121							0.013
A4	1750-1700										
A5	1650-1600			0.081				0.069			0.017
A6	1550-1500	0.961	1.000	0.982	1.000	0.980	1.000	0.688	1.000	1.000	0.957
A7	1450-1400			0.051							0.006
A8	1350-1300										
A9	1290-1240	0.268	1.000	0.681	0.850	0.837	1.000	0.298			0.548
A10	1230-1180	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.967	1.000	1.000	0.996
A11	1170-1120		1.000		0.175			0.051	0.633	0.138	0.222
A12	1110-1060	0.198	1.000	0.424		0.041		0.206			0.208
A13	1050-1000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.869	1.000	1.000	0.985
A14	990-940	0.411	1.000	0.913	1.000	1.000	1.000	0.731	1.000	0.448	0.834
A15	930-880			0.033				0.003			0.004
A16	870-820	0.690	1.000	0.516	0.525	0.469	0.520	0.531	0.567	0.310	0.570
A17	810-760			0.047	0.125			0.046			0.024
A18	750-720	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.983	1.000	1.000	0.998
A19	710-680	0.005		0.037		0.041		0.046			0.014
A20	670-640			0.020				0.002			0.002
A21	630-600	0.988	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.999
A22	590-560	1.000	1.000	0.889	1.000	1.000	1.000	0.984	1.000	1.000	0.986
A23	550-530	0.026	1.000	0.100	0.125		0.320	0.024		0.034	0.181
A24	520-500	0.372	0.020	0.443	0.575	0.122	0.240	0.262		0.207	0.249
A25	490-470	0.994	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.998	1.000	1.000	0.999
A26	460-440	0.897	1.000	0.629	0.925	0.939	0.740	0.654	0.467	0.448	0.744
A27	430-410	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.998	1.000	1.000	1.000
A28	400-380	0.019	0.090	0.148	1.000		0.100	0.175		0.103	0.182
A29	370-360	0.675	1.000	0.987	1.000	1.000	1.000	0.957	0.967	1.000	0.954
A30	350-340	0.005		0.040		0.020		0.012			0.009
A31	330-320	0.177	1.000	0.591	0.725	0.245	1.000	0.695	0.600	0.828	0.651
A32	310-300	0.944	1.000	0.885	1.000	0.878	1.000	0.858	0.900	0.448	0.879
A33	290-280	0.497		0.969	0.650	0.367	0.060	0.689		0.345	0.397
A34	270-260	0.412	1.000	0.309	0.125	0.102	0.100	0.386			0.270
A35	250-240	0.065		0.462		0.224	0.520	0.225		0.207	0.189
A36	230-220	0.813	1.000	0.354	0.475		0.040	0.371			0.339
A37	210-200							0.062		0.034	0.011
A38	180-160			0.140				0.017			0.017

Примечание. ИРФ – индивидуальный размер фрагмента (в п.н.); в колонках, отмеченных ‘*’ приведены усредненные частоты встречаемости фрагментов по всем популяциям данной породы.

Достоверные различия наблюдаются и по частотам встречаемости ампликонов A11, A12, A16, A23, A34 и A36. Данные фрагменты выявлены у всех овец дагестанской горной породы, в то время как в других изучаемых породах они либо отсутствуют, либо встречаются с гораздо меньшей частотой. По-видимому, полученный спектр ISSR-PCR маркеров является породоспецифической особенностью дагестанских овец и маркирует их специфическую генетическую структуру. Монгольская овца достоверно отличается от всех исследуемых пород наличием ампликонов A2=2100-2000 п.н. (частота встречаемости – 0.155), A3=1900-1800 п.н. (0.121). Описанные фрагменты характерны для генофонда монгольских овец и маркируют его своеобразие. Романовская порода выделяется из всех исследованных пород по частотам встречаемости фрагментов A29 и A36 ($p<0.001$).

В нашем исследовании выявлено сходство между монгольскими и тувинскими овцами по частоте встречаемости ампликонов A5, A15, A20 и A38, которые обнаружены только в этих породах. Среди тувинских овец каждый из четырех вышеуказанных фрагментов был выявлен только у двух-трех популяций из 19 представленных в исследовании (см. Приложение 1). На примере популяций тувинской породы овец, представленной наибольшим числом исследованных выборок, можно более конкретно проследить внутривидовые различия по спектру ISSR-PCR маркеров. Овцы из трех хозяйств «Кошкарлыг», «Чаа-Суур», «Ямаалык» республики Тыва достоверно отличаются от всех тувинских популяций по частоте встречаемости фрагмента A5 ($p<0.001$) (см. Приложение 1). Также выделяется группа хозяйств («Амык», «Амырлан», «Кызыльская», «Моген-Бурен», «Чодураа», «Дуза»), в которых у всех особей отсутствуют «тяжелые» фрагменты (A5, A6 и A9). В свою очередь, эти фрагменты присутствуют у остальных исследованных популяций тувинской породы. Среди всех изученных нами тувинских популяций овец высокой частотой встречаемости фрагмента A12 (0.717–0.950) выделяются пять хозяйств: «Бай-Тал», «Бай-Хол», «Белдир», «Биче-Тей» и «Иртиш» ($p<0.001$). Также достоверно отличаются отдельные тувинские популяции от остальных. Например, «Кызыльская» отличается по фрагментам A17 ($p<0.05$), A18 ($p<0.01$), «Дуза» – A19 ($p<0.05$), «Чодураа» – A22 ($p<0.001$), A36 ($p<0.05$). Данные факты могут свидетельствовать о существовании подразделенности и возможной географической изолированности популяций тувинских овец друг от друга.

Высокими межпопуляционными различиями характеризуются и монгольские овцы. Например, выборка овец «Дархат» достоверно отличается от выборок «Холь» и «Южный Гоби» по частоте встречаемости следующих фрагментов: A3, A5, A12, A22, A26, A31 и A36 ($p<0.001$).

Среди овец романовской породы из Ярославской области по сравнению с тувинскими и монгольскими овцами выявлено меньше различий по частотам встречаемости фрагментов между исследованными популяциями (См. раздел 3.1.1.). С нашей точки зрения, это может

свидетельствовать как о консолидированности породы и единой селекционной стратегии разведения, так и достаточно близком родстве исследованных особей.

На основании частот фрагментов амплификации в каждой популяции и породах в целом были определены основные показатели генетической изменчивости, охарактеризовано межпородное и внутривидовое генетическое разнообразие генофондов 9 пород овец. Значения этих показателей варьируют в разных популяциях и породах (суммарных выборках) (таблица 13). Доля полиморфных локусов варьирует в широких пределах – от 5.71 до 88.57% у дагестанских и тувинских овец, соответственно. Среднее на локус генное разнообразие, или ожидаемая гетерозиготность H_T (Nei, 1987), и средний на локус индекс информации Шеннона I (Lewontin, 1972) свидетельствуют о том, что дагестанские овцы имеют пониженные показатели генетического разнообразия ($H_T=0.003$, $I=0.007$) по сравнению с другими породами. Наибольшие значения H_T и I отмечены у тувинских ($H_T=0.185$, $I=0.293$) и монгольских овец ($H_T=0.184$, $I=0.290$). Среди популяций наибольшее генетическое разнообразие отмечено в монгольских выборках «Холь» ($H_T=0.153$, $I=0.233$) и «Дархат» ($H_T=0.141$, $I=0.226$) и у романовских овец из хозяйства «Авангард» ($H_T=0.143$, $I=0.213$). В романовской породе низкие значения ожидаемой гетерозиготности (H_T) и индекса разнообразия Шеннона (I) отмечены только в хозяйстве «Красный Перекоп» ($H_T=0.067$, $I=0.100$).

В данном исследовании проанализировано внутривидовое разнообразие, а именно определено среднее число морф/аллелей μ и доля редких морф/аллелей h_μ (Животовский, 1980, 1991). Среди исследованных пород и популяций минимальные значения среднего числа аллелей μ отмечены у дагестанских овец ($\mu=1.018$). Это свидетельствует о ситуации, близкой к мономорфизму, что подтверждается также и высокими значениями показателя h_μ (0.491) в данной популяции. Высокие значения h_μ говорят о значительной неравномерности распределения частот аллелей. В наибольшей степени равномерное распределение частот отмечено у тувинской породы овец, так как она имеет самые высокие значения среднего числа аллелей $\mu=1.519$ и наименьшую долю редких аллелей $h_\mu=0.240$. Среди изученных популяций аналогичные соотношения внутривидовых показателей представлены в выборках монгольских овец «Холь» и «Дархат», которые характеризуются также наибольшими значениями H_T и I . В популяциях романовской породы наиболее неравномерное распределение частот свойственно выборке «Красный Перекоп» ($\mu=1.157$; $h_\mu=0.421$), а наиболее равномерное – выборке «Авангард» ($\mu=1.332$; $h_\mu=0.334$), где проводится планомерная селекционно-племенная работа по поддержанию селекционного разнообразия.

Параметры генетического разнообразия в выборках от 9 пород овец по ISSR-PCR маркерам

<i>Порода:</i> популяции	Выборка, n	Полиморфных локусов, N	Полиморфных локусов, %	Среднее на локус генное разнообразие, H_T (Nei, 1987) ($\pm se$)	Средний на локус индекс информации Шеннона, I (Lewontin, 1972) ($\pm se$)	Среднее число аллелей μ (Животовский, 1991) ($\pm s_{\mu}$)	Доля редких аллелей H_r (Животовский, 1991) ($\pm s_H$)
Романовская	300	20	57,14	0,153 \pm 0,011	0,234 \pm 0,016	1,381 \pm 0,053	0,309 \pm 0,027
Авангард	80	15	42,86	0,143 \pm 0,022	0,213 \pm 0,032	1,332 \pm 0,105	0,334 \pm 0,053
Земледелец	40	12	34,29	0,101 \pm 0,027	0,154 \pm 0,040	1,248 \pm 0,153	0,376 \pm 0,077
Дружба	40	10	28,57	0,087 \pm 0,025	0,134 \pm 0,037	1,215 \pm 0,154	0,393 \pm 0,077
Заречье	100	17	48,57	0,128 \pm 0,018	0,198 \pm 0,026	1,326 \pm 0,095	0,337 \pm 0,047
Красный Перекоп	40	7	20,00	0,067 \pm 0,024	0,100 \pm 0,035	1,158 \pm 0,156	0,421 \pm 0,078
Дагестанская (Дарада-Мурада)	100	2	5,71	0,003 \pm 0,002	0,007 \pm 0,003	1,018 \pm 0,100	0,491 \pm 0,050
Монгольская	126	27	77,14	0,184 \pm 0,016	0,290 \pm 0,022	1,502 \pm 0,077	0,249 \pm 0,039
Южный Гоби	43	14	40,00	0,131 \pm 0,028	0,198 \pm 0,041	1,312 \pm 0,145	0,344 \pm 0,072
Холь	50	17	48,57	0,153 \pm 0,027	0,233 \pm 0,039	1,371 \pm 0,131	0,314 \pm 0,066
Дархат	33	20	57,14	0,141 \pm 0,029	0,226 \pm 0,043	1,382 \pm 0,161	0,309 \pm 0,080
Тексель (Александровское)	40	11	31,43	0,105 \pm 0,028	0,157 \pm 0,041	1,248 \pm 0,153	0,376 \pm 0,077
Эдильбаевская (Александровское)	49	13	37,14	0,087 \pm 0,021	0,138 \pm 0,032	1,235 \pm 0,139	0,383 \pm 0,069
Теленгитская (Алтай)	50	9	25,71	0,062 \pm 0,019	0,098 \pm 0,028	1,165 \pm 0,139	0,417 \pm 0,070
Тувинская	1074	31	88,57	0,185 \pm 0,006	0,293 \pm 0,008	1,535 \pm 0,026	0,232 \pm 0,013
Амык	60	9	25,71	0,083 \pm 0,020	0,126 \pm 0,030	1,198 \pm 0,127	0,401 \pm 0,063
Амырлан	60	12	34,29	0,101 \pm 0,023	0,151 \pm 0,033	1,242 \pm 0,125	0,379 \pm 0,063
Бай-Тал	60	16	45,71	0,124 \pm 0,024	0,191 \pm 0,034	1,312 \pm 0,123	0,344 \pm 0,061
Бай-Хол	60	16	45,71	0,100 \pm 0,020	0,160 \pm 0,030	1,275 \pm 0,124	0,362 \pm 0,062
Белдир	60	15	42,86	0,122 \pm 0,024	0,185 \pm 0,034	1,299 \pm 0,123	0,350 \pm 0,062
Биче-Тей	60	15	42,86	0,118 \pm 0,023	0,181 \pm 0,033	1,295 \pm 0,123	0,353 \pm 0,062
Иртиш	60	15	42,86	0,138 \pm 0,025	0,208 \pm 0,036	1,327 \pm 0,122	0,336 \pm 0,061
Кошкарлыг	57	8	22,86	0,069 \pm 0,019	0,106 \pm 0,029	1,171 \pm 0,131	0,415 \pm 0,065
Кызыльская	29	13	37,14	0,109 \pm 0,032	0,168 \pm 0,046	1,273 \pm 0,179	0,364 \pm 0,089
Малчын	60	18	51,43	0,115 \pm 0,020	0,185 \pm 0,030	1,318 \pm 0,122	0,341 \pm 0,061
Моген-Бурен	60	17	48,57	0,099 \pm 0,019	0,164 \pm 0,028	1,289 \pm 0,124	0,355 \pm 0,062
Хакасская МК	60	9	25,71	0,073 \pm 0,020	0,111 \pm 0,029	1,178 \pm 0,127	0,411 \pm 0,064
Саглы-Бажы	60	8	22,86	0,059 \pm 0,017	0,092 \pm 0,026	1,154 \pm 0,128	0,423 \pm 0,064
Сай-Хонаш	33	7	20,00	0,073 \pm 0,027	0,108 \pm 0,040	1,168 \pm 0,172	0,416 \pm 0,086
Чаа-Суур	58	14	40,00	0,098 \pm 0,021	0,153 \pm 0,031	1,256 \pm 0,127	0,372 \pm 0,063
Чога-Суур	60	16	45,71	0,121 \pm 0,023	0,187 \pm 0,033	1,308 \pm 0,123	0,346 \pm 0,061
Чодураа	60	17	48,57	0,114 \pm 0,020	0,185 \pm 0,030	1,316 \pm 0,122	0,342 \pm 0,061
Ямаалык	58	12	34,29	0,087 \pm 0,020	0,137 \pm 0,030	1,230 \pm 0,128	0,385 \pm 0,064
Дуза	59	16	45,71	0,116 \pm 0,021	0,185 \pm 0,031	1,310 \pm 0,124	0,345 \pm 0,062
Калмыцкая (Калмыкия)	30	6	17,14	0,072 \pm 0,030	0,104 \pm 0,043	1,157 \pm 0,180	0,422 \pm 0,090
Буубэй (Бурятия)	29	12	34,29	0,083 \pm 0,027	0,133 \pm 0,041	1,225 \pm 0,181	0,387 \pm 0,090

Обозначения: se – стандартная ошибка; s_{μ} – ошибка среднего числа аллелей; s_H – ошибка доли редких аллелей.

На основании данных по частотам ISSR-PCR маркеров были рассчитаны параметры генетической структуры и дифференциации популяций (H_T , H_S и G_{ST}) (Nei, 1987) (таблица 14).
Общее генное разнообразие H_T - средний на локус уровень гетерозиготности для

подразделенной популяции - можно разложить на три компоненты, соответствующие трем уровням популяционной структуры (популяции, породы и вид): H_C – генное разнообразие между особями внутри популяций, D_{CS} – между популяциями внутри породы и, наконец, D_{ST} – между породами внутри вида, т.е. $H_T = H_C + D_{CS} + D_{ST}$. Эти компоненты можно выразить в виде их доли в тотальном разнообразии. Таким образом, величина $G_{ST}=D_{ST}/H_T$ является аналогом Fst-статистики Райта и представляет собой долю межпородного разнообразия в общем, $G_{CS}=D_{CS}/H_S$ – долю внутривидового разнообразия внутри породы, а H_C/H_T – долю внутривидового разнообразия между особями внутри популяций.

Таблица 14

Параметры генетической структуры и дифференциации популяций

	Число популяций	H_T	H_S	G_{ST} , %
Романовская	5	0.1453	0.1054	27.63
Дагестанская	1	0.0031	0.0031	0
Монгольская	3	0.1825	0.1418	22.27
Тексель	1	0.1047	0.1047	0
Эдильбаевская	1	0.0866	0.0866	0
Теленгитская	1	0.0616	0.0616	0
Тувинская	19	0.1866	0.1009	45.94
Калмыцкая	1	0.0719	0.0719	0
Буубей	1	0.0832	0.0832	0
«Протогенофонд»	33	0.1882	0.1585	15.77

Примечание. H_T — общее генное разнообразие; H_S – внутривидовое генное разнообразие; G_{ST} – доля межпопуляционного разнообразия в общем разнообразии (Nei, 1987)

Трехуровневый анализ разнообразия для девяти пород овец и оценка долей этих трех компонент в общем разнообразии показали, что на изменчивость между породами приходится 15.8% ($D_{ST}=0.0297$), между популяциями внутри пород – 31.4% ($D_{CS}=0.0591$), на индивидуальное разнообразие внутри популяций – 52.8% ($H_C=0.0994$).

Необходимо отметить, что межпопуляционная изменчивость у тувинских овец оказалась практически равной внутривидовой, а у романовских и монгольских овец внутривидовая изменчивость значительно превышает межпопуляционную. Эти факты можно использовать для подбора и отбора при меж- и внутривидовых скрещиваниях животных, при разработке селекционных программ, направленных на сохранение генетического разнообразия овец.

На основании данных по частотам ISSR-PCR маркеров были рассчитаны попарные генетические расстояния между изученными породами и популяциями, а также проведена реконструкция «протогенофонда» овец. Для определения «протогенофонда» было использовано иерархическое усреднение частот по девяти изученным породам. Такой подход считается целесообразным, так как согласно работам по устойчивости популяционных систем

генетическое разнообразие современных популяций соответствует некоторой предковой «прапопуляции», генофонд которой и можно условно назвать «протогенофондом» (Алтухов, Рычков, 1970; Рычков, Ящук, 1980).

На рисунках 15 и 16 представлено графическое отображение генофондов в виде круговых полигонов частот ISSR-PCR маркеров с рассчитанными по Нею (Nei, 1972) стандартными генетическими расстояниями генофондов пород/популяций от «протогенофонда». Наибольшее сходство с «протогенофондом» среди изученных пород наблюдается у эдильбаевской ($D_N=0.0139$), тувинской ($D_N=0.0144$) и монгольской овцы ($D_N=0.0179$) (рисунок 15). Полученный результат соответствует известным историческим данным. Известно, что эдильбаевская порода имеет древнейшее происхождение и выведена методом народной селекции на территории нынешней Саратовской области в конце XIX в. Тувинская короткожирнохвостая порода создавалась веками племенами, обитавшими на территории республики Тыва. Монгольская овца также имеет древнее происхождение, хотя единого мнения относительно ее предков до сих пор не существует (Лус и др., 1936; Соколов, Куц, 1994; Породы племенных..., 2006; Чикалев, Юлдашбаев, 2015).

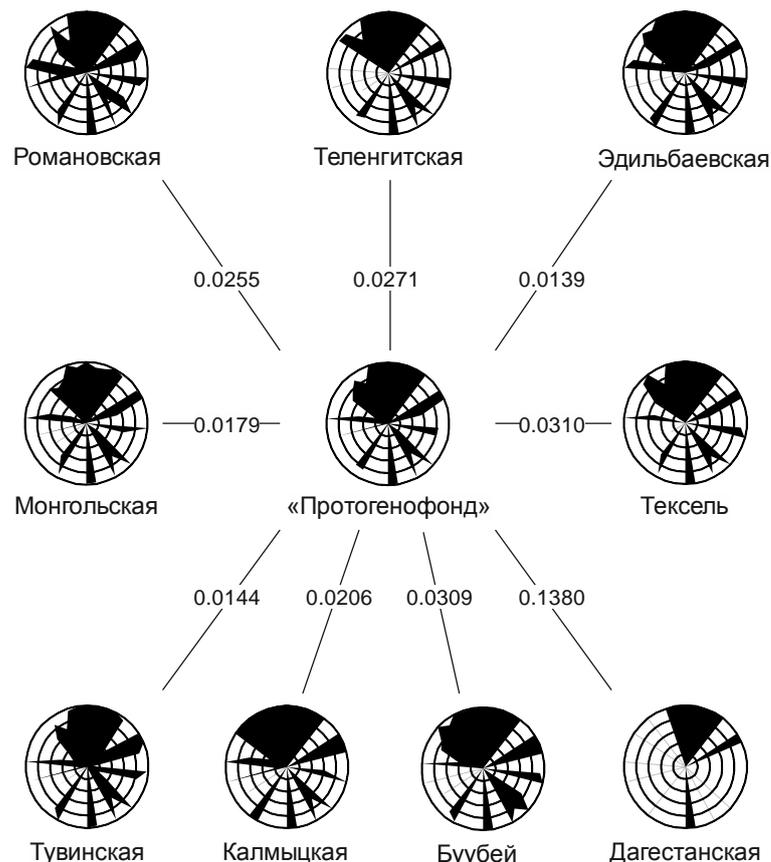


Рисунок 15. Полигоны, построенные на основании полиморфизма, выявленного по праймеру $(AG)_9C$ у 9 пород овец.

Из всех исследованных популяций наиболее близкими к «протогенофонду» оказались овцы из «Южного Гоби» ($D_N=0.0129$) (монгольская овца), эдильбаевская порода ($D_N=0.0139$), а

также тувинские короткожирнохвостые овцы из хозяйства «Бай-Тал» ($D_N=0.0152$) (рисунок 14). Для популяций романовских овец характерно генетическое расстояние от «протогенофонда» в пределах от 0.0354 до 0.0618.

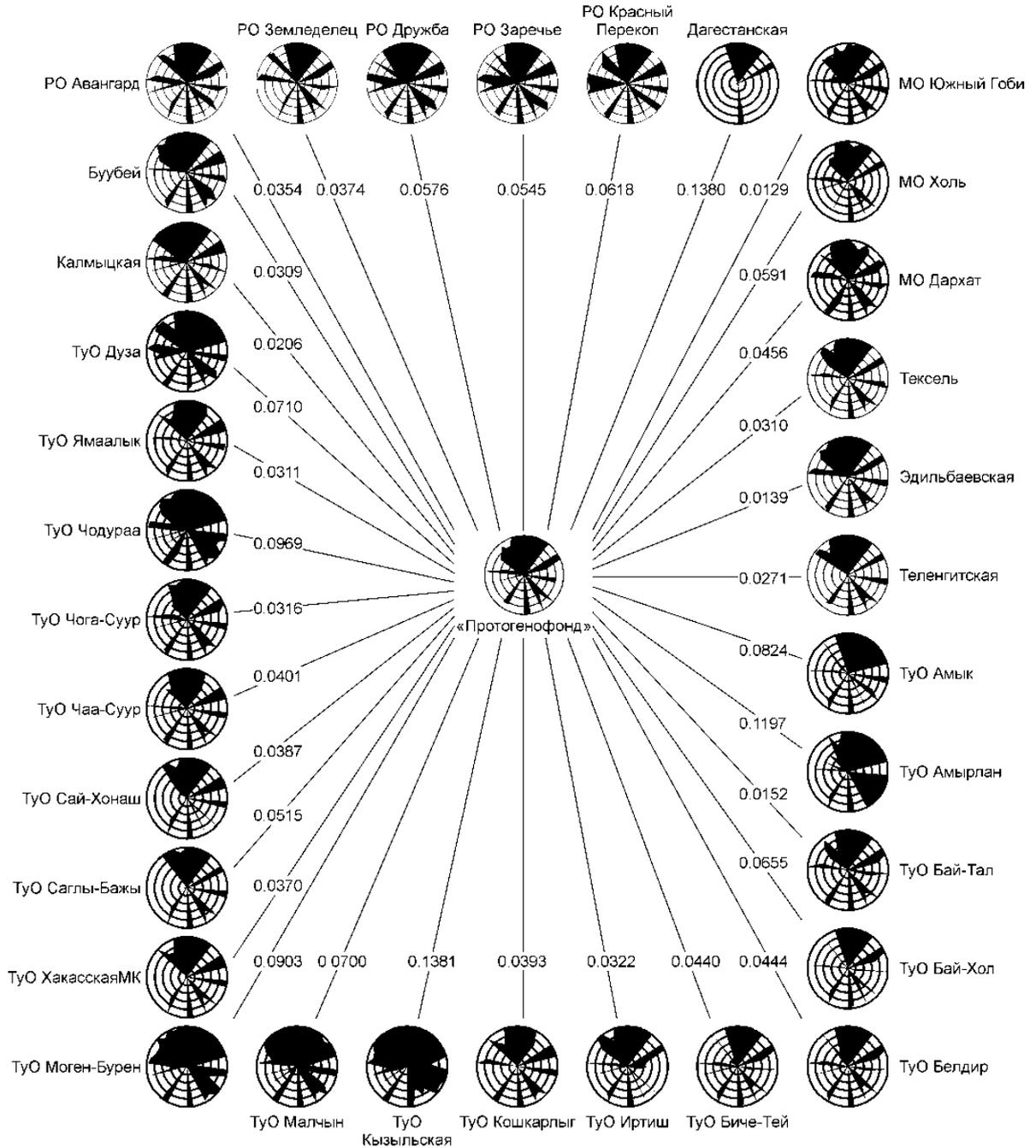


Рисунок 16. Полигоны, построенные на основании полиморфизма, выявленного по праймеру (AG)₉C у 33 популяций овец. Сокращенные обозначения пород: РО – романовская, ТуО – тувинская, МО – монгольская.

Генетические расстояния, рассчитанные между исследуемыми породами, представлены в таблице 15. При попарном сравнении наиболее близкими друг другу оказались монгольская и тувинская ($D_N=0.0166$), тувинская и романовская породы ($D_N=0.0231$), а также калмыцкая и эдильбаевская ($D_N=0.0255$), калмыцкая и буубэй ($D_N=0.0278$). Сходство монгольских и

тувинских овец, как и калмыцких с эдильбаевскими и буубэй подтверждается географической близостью их разведения и/или общим происхождением (Породы племенных..., 2006; Юлдашбаев и др., 2012; Чикалев, Юлдашбаев, 2015). Необычайно интересна генетическая близость тувинской и романовской пород овец.

Стоит отметить, что при всей уникальности (самая многоплодная), изученности и популярности (разводится во многих странах мира) романовских овец до сих пор остается открытым вопрос об их происхождении. Существует две гипотезы: 1. романовская порода является потомком местных северных короткохвостых овец, возможно скрещенных с голландскими баранами; 2. романовские овцы пришли с монголо-татарами и затем разводились «в себе» на территории Центральной России (Лазовский, 1982,1983; Марзанов, Магомадов, 1997).

Таким образом, близость романовской породы к тувинской может свидетельствовать в пользу гипотезы об азиатском происхождении романовских овец (их родстве) или об использовании романовских овец на территории Тывы.

Таблица 15

Генетические расстояния (Nei, 1978) между породами овец

	Дагестанская	Тексель	Эдильбаевская	Теленгитская	Калмыцкая	Буубэй	Романовская	Монгольская	Тувинская
Дагестанская	****								
Тексель	0.1888	****							
Эдильбаевская	0.1977	0.0429	****						
Теленгитская	0.1573	0.0501	0.0347	****					
Калмыцкая	0.2062	0.0636	0.0255	0.0534	****				
Буубэй	0.2603	0.0836	0.0443	0.0704	0.0278	****			
Романовская	0.2018	0.0696	0.0399	0.0882	0.0486	0.0440	****		
Монгольская	0.1927	0.0499	0.0314	0.0545	0.0523	0.0494	0.0368	****	
Тувинская	0.1901	0.0555	0.0347	0.0598	0.0358	0.0324	0.0231	0.0166	****
«Протогенофонд»	0.1380	0.0310	0.0139	0.0271	0.0206	0.0309	0.0255	0.0179	0.0144

Генеалогические взаимоотношения между породами овец были изучены с помощью метода кластерного анализа BIONJ (Gascuel, 1997) на основе матрицы генетических расстояний. Результаты этого анализа представлены в виде дерева на рисунке 17. С помощью этого метода была построена также дендрограмма филогенетического сходства (Приложение 4) всех исследованных популяция 9 пород овец по матрице несмещенных генетических расстояний Нея (Nei, 1978) (Приложение 3).

Наиболее генетически обособленной среди пород оказалась дагестанская горная овца, что еще раз подтверждает отсутствие ее родства с остальными исследуемыми породами. Романовская порода образовала единую ветвь с тувинской овцой и с общим подкластером, включающим породы калмыцкая и буубэй, что также может быть наглядным свидетельством в пользу гипотезы об азиатском происхождении первой или об их родстве.



Рисунок 17. Дендрограмма кластерного анализа изученных пород, построенная с использованием программы SplitsTree4 V4.13.1. Масштаб указывает генетические расстояния (Nei, 1978).

В данной работе мы установили наличие как общих, характерных для всех девяти пород овец, так и переменных ISSR-PCR маркеров, полученных с помощью праймера (AG)₉C, которые в свою очередь образуют породоспецифичные спектры. Впервые получена информация о разнообразии на геномном уровне для аборигенной породы Алтая – теленгитской, и для недавно созданной породы буубэй, которые ранее не были исследованы с помощью молекулярно-генетических методов.

Значения показателей генетической изменчивости и параметров генетической структуры исследованных пород и популяций варьируют в широких пределах, являясь объективными характеристиками различного уровня генетического разнообразия. Породы с низкими значениями показателей генетического разнообразия требуют мер по поддержанию и увеличению имеющегося уровня изменчивости.

Значения долей изменчивости компонент в трехуровневом анализе разнообразия могут быть использованы в стратегии подбора пар животных для различных типов скрещивания, учитывающей степень влияния каждой из компонент. Породу, обладающую широким диапазоном изменчивости на межпопуляционном уровне (у тувинской короткожирнохвостой породы $G_{ST}=45,94\%$), можно трактовать как подразделенную или находящуюся в процессе разделения на экотипы, что является следствием адаптации животных к различающимся условиям среды обитания. Преобладание внутривидовой изменчивости у романовских и

монгольских овец свидетельствует об отсутствии факторов, которые способствуют подразделенности породы, и о существовании значительной консолидированности генофонда породы, а также о значительной доле изменчивости на уровне индивидов (особей).

Использование методов реконструкции «протогенофонда» и кластерного анализа позволяют определять как наиболее древние породы овец, интересные для изучения их филогенеза, так и реликтовые популяции в этих породах, сохранившие близкий к исходному тип животных. В свою очередь это дает возможность вести селекцию на сохранение наиболее древнего типа особей, а также оценить изменения, происходящие в породе в пространстве и времени.

Полученные данные по ISSR-PCR маркерам и использованные способы оценок, предлагается применять для контроля и сохранения существующего генетического разнообразия отечественных пород овец.

3.2. Полиморфизм гена эстрогенового рецептора *ESR1* (1 и 4 экзоны) у овец романовской породы

Плодовитость овцематок является наследственным признаком, хотя в значительной степени этот показатель зависит от внешних факторов, степень влияния которых в настоящее время изучена довольно хорошо. Однако генетическая «природа» и доля генетической изменчивости в фенотипическом проявлении этого признака романовской породы точно не установлены (Ерохин и др., 2005).

Важную роль в половом развитии и воспроизводстве играют эстрогены, представляющие собой подкласс стероидных гормонов, действие которых опосредовано внутриклеточными рецепторами. Таким образом, благодаря многочисленным функциям, которые выполняют эстрогены у млекопитающих, гены рецепторов эстрогенов считаются кандидатами на маркеры продуктивных признаков у сельскохозяйственных животных (Xiao-Dan et al., 2005; Szreder, Zwierzchowski, 2007; Ozmen et al., 2012). Исследования полиморфизма гена эстрогенового рецептора у сельскохозяйственных животных проводились в течение последних двух десятилетий. В большинстве работ изучаемыми регионами были экзон 1 и 5'-область гена *ESR1* (Rotschild et al., 1996; Kaluz et al., 1997; Szreder, Zwierzchowski, 2004 а,б; 2007).

В работе (Xiao-Dan et al., 2005) авторы обнаружили SNP в экзоне 1 гена *ESR1* методом PCR-SSCP как в породах овец с высокой плодовитостью (короткохвостая порода Хан, Ху и немецкий мясной меринос), так и с низкой (дорсет, суффолк). Их результаты показали наличие трех генотипов (*AA*, *AB* и *BB*) во всех трех высоко плодовитых породах овец, но в низко плодовитых присутствовали только два генотипа (*AA*, *AB*). Секвенирование показало наличие мутации $C > G$ в позиции 363 экзона 1 гена *ESR1* (X98010), которая определяет аллели *A* и *B*, соответственно. Авторы обнаружили, что овцематки короткохвостой породы Хан с генотипом *AB* или *BB* имели на 0.51 ($P < 0.05$) и 0.7 ($P < 0.05$) больше ягнят, соответственно, чем овцематки с генотипом *AA*.

Озмен и др. (Ozmen et al., 2012) на основе нуклеотидных последовательностей генов *ESR1* человека, крупного рогатого скота и коз из базы данных GenBank сконструировали праймеры для ПЦР, которые использовали для амплификации области четвертого экзона гена *ESR1* овец. В секвенированных ПЦР-продуктах четвертого экзона были обнаружены три нуклеотидные замены (g.43A>G, p.T43A; g.49C>T, p.L49F; g.178A>T, p.T178S), приводящие к заменам аминокислотных остатков и три замены (g.18G>C, g.27C>T, g.96G>A), не вызывающие изменений аминокислотной последовательности белка. Данные секвенированные последовательности были депонированы в базу данных GenBank под номерами JF262030–JF262035. Авторы обнаружили, что по изученным нуклеотидным последовательностям

исследованные ими породы овец белый караман и авасси сходны друг с другом, а высоко плодовитая порода хиос (средний размер помета равен 2,3) отличается от них.

Информация об изменчивости гена *ESR1* у отечественной высоко плодовитой романовской породы овец в научной литературе отсутствует. Целью настоящего исследования является выявление изменчивости у овец романовской породы по экзонам 1 и 4 гена *ESR1* в сравнении с низко плодовитыми породами полл дорсет и суффолк.

В данной работе определены частоты аллелей и генотипов экзонов 1 и 4 гена эстрогенового рецептора (*ESR1*) у высоко плодовитой романовской и низко плодовитых (полл дорсет и суффолк) породах овец.

В результате анализа сходства между секвенированными в настоящей работе последовательностями фрагмента экзона 4 гена *ESR1* и последовательностями, представленными в базе данных GenBank (JF262030–JF262035), посредством программы BLASTN (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) и выравнивания нуклеотидных последовательностей методом Clustal W (Larkin, 2007; <http://www.clustal.org/clustal2/>) в наших образцах (49 особей романовской породы и по 10 особей пород полл дорсет и суффолк) обнаружена одна синонимичная замены (27C>T) (рисунок 18) из выявленных ранее (Ozmen et al., 2012). Полученные в результате секвенирования продукты амплификации экзона 4 гена *ESR1* у романовской породы овец последовательности с гомозиготными генотипами (*CC*, *TT*) в позиции 27 относительно референсной последовательности JF262030, соответствующие 2 гаплотипам (JF262030, JF262033) работы (Ozmen et al., 2012), были зарегистрированы в GenBank под номерами: KT962249, KT962250.

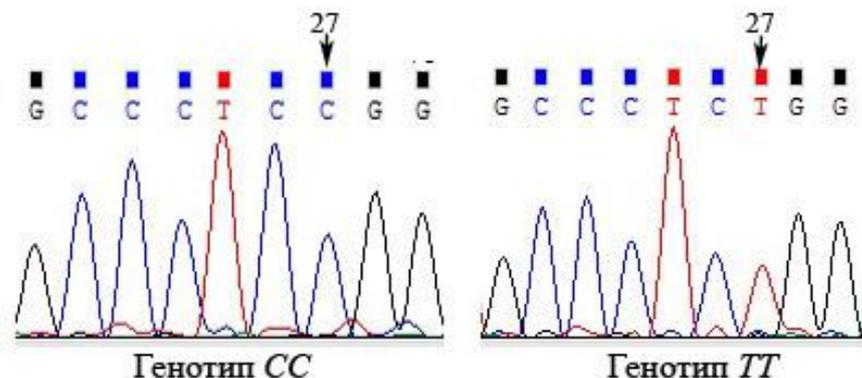


Рисунок 18. Сравнение последовательностей с генотипами *CC* и *TT* в позиции 27 экзона 4 гена *ESR1* у овец романовской породы

В определенных нами нуклеотидных последовательностях экзона 1 гена *ESR1* подтверждена локализация выявленной в работе (Xiao-Dan et al., 2005) синонимичной замены С на G в позиции 363 согласно референсной последовательности X98010. Согласно Xiao-Dan с

соавт. генотип *AA*, содержащий в позиции 363 нуклеотид *C* – дикий тип, а генотип *BB* (*GG*) – мутантный (Xiao-Dan et al., 2005).

Для повышения точности типирования аллели экзона 1 гена *ESR1* идентифицировали двумя независимыми методами: с помощью рестрикционного анализа продуктов амплификации эндонуклеазой *MhlI* и с помощью разработанного нами метода аллель-специфичной ПЦР с использованием собственных аллель-специфичных праймеров и внешних праймеров, предложенных в работе (Xiao-Dan et al., 2005).

3.2.1. Полиморфизм гена эстрогенового рецептора по локусам *ESR-ex1* и *ESR-ex4* у овец романовской породы из разных выборок

Частоты генотипов и аллелей гена *ESR1* в выборках овец романовской породы по анализируемым заменам в экзонах 1 и 4 представлены в таблице 16. В таблице 17 приведены параметры изменчивости данных локусов.

Таблица 16

Частоты генотипов и аллелей гена эстрогенового рецептора по локусам *ESR-ex1* и *ESR-ex4* у овец романовской породы из разных выборок

Выборки романовской породы (n=73)	Частота генотипов гена <i>ESR-ex1</i> (\pm sp)			Частота аллелей гена <i>ESR-ex1</i> (\pm sp)	
	<i>AA</i> (<i>CC</i>)	<i>AB</i> (<i>CG</i>)	<i>BB</i> (<i>GG</i>)	<i>B</i> (<i>G</i>)	<i>A</i> (<i>C</i>)
Авангард (22)	0.000 \pm 0.000	0.682 \pm 0.099	0.318 \pm 0.099	0.659 \pm 0.071	0.341 \pm 0.071
Дружба (7)	0.000 \pm 0.000	0.571 \pm 0.187	0.429 \pm 0.187	0.714 \pm 0.121	0.286 \pm 0.121
Заречье (22)	0.136 \pm 0.073	0.500 \pm 0.107	0.364 \pm 0.103	0.614 \pm 0.073	0.386 \pm 0.073
Земледелец (15)	0.067 \pm 0.064	0.467 \pm 0.129	0.467 \pm 0.129	0.700 \pm 0.084	0.300 \pm 0.084
Красный Перекоп (7)	0.000 \pm 0.000	0.714 \pm 0.171	0.286 \pm 0.171	0.643 \pm 0.128	0.357 \pm 0.128
Выборки романовской породы (n=49)	Частота генотипов гена <i>ESR-ex4</i> (\pm sp)			Частота аллелей гена <i>ESR-ex4</i> (\pm sp)	
	<i>CC</i>	<i>CT</i>	<i>TT</i>	<i>C</i>	<i>T</i>
Авангард (n=5)	0.200 \pm 0.179	0.800 \pm 0.179	0.000 \pm 0.000	0.600 \pm 0.155	0.400 \pm 0.155
Дружба (n=5)	0.400 \pm 0.219	0.600 \pm 0.219	0.000 \pm 0.000	0.700 \pm 0.145	0.300 \pm 0.145
Заречье(n=17)	0.647 \pm 0.116	0.353 \pm 0.116	0.000 \pm 0.000	0.824 \pm 0.065	0.176 \pm 0.065
Земледелец (n=17)	0.412 \pm 0.119	0.529 \pm 0.121	0.059 \pm 0.057	0.676 \pm 0.080	0.324 \pm 0.080
Красный Перекоп (n=5)	0.200 \pm 0.179	0.600 \pm 0.219	0.200 \pm 0.179	0.500 \pm 0.158	0.500 \pm 0.158

Обозначения: sp – стандартная ошибка частоты

Распределение частот генотипов гена *ESR1* по локусу *ESR-ex1* (*G*→*C* замена) свидетельствует о высокой частоте гетерозиготного генотипа в большинстве выборок, которая варьирует от 50% до 71% в ряду хозяйств: «Заречье», «Дружба», «Авангард», «Красный Перекоп». В этой же последовательности уменьшается частота гомозиготного генотипа *BB*

(GG). Только в выборке «Земледелец» содержание обоих генотипов одинаково и для каждого составляет 47%. Гомозиготы по *A*-аллелю выявлены только в двух выборках: «Земледелец» и «Заречье», с частотой 7% и 14%, соответственно. В нашем исследовании полиморфизма гена эстрогенового рецептора была выявлена общая для всех выборок овец романовской породы закономерность, а именно превышение не менее чем в два раза частоты аллеля *B*, при этом наибольшая его частота выявлена в выборке «Дружба» (71%), наименьшая – в выборке «Заречье» (61%). С учетом поправки на множественные сравнения (Benjamini, Hochberg, 1995) распределение частот генотипов во всех выборках соответствует распределению по Харди-Вайнбергу (таблица 17), а, следовательно, и приведенные значения коэффициента Райта, F_{IS} , несмотря на отрицательные значения, не свидетельствуют об избытке гетерозигот.

Таблица 17

Параметры генетической изменчивости исследованных локусов *ESR-ex1* и *ESR-ex4* гена эстрогенового рецептора у овец романовской породы из разных выборок.

Выборки романовской породы (n=73)	H_O	H_E	HWE (P)	F_{IS}
	<i>ESR-ex1</i>			
Авангард (22)	0.682	0.460	0.049	-0.500
Дружба (7)	0.571	0.440	1.000	-0.333
Заречье (22)	0.500	0.485	1.000	-0.031
Земледелец (15)	0.467	0.434	1.000	-0.077
Красный Перекоп (7)	0.714	0.495	0.441	-0.500
	<i>ESR-ex4</i>			
Авангард (n=5)	0.800	0.5333	0.427	-0.6
Дружба (n=5)	0.600	0.467	1.000	-0.333
Заречье (n=17)	0.353	0.300	1.000	-0.185
Земледелец (n=17)	0.529	0.451	0.609	-0.180
Красный Перекоп (n=5)	0.600	0.556	1.000	-0.091

Обозначения: H_O – наблюдаемая гетерозиготность, H_E – ожидаемая гетерозиготность, HWE (P) – достоверность отклонения выборочных распределений частот генотипов от распределения по Харди-Вайнбергу.

Исследованные выборки романовской породы овец не различаются по распределению частот генотипов *ESR-ex1* локуса гена *ESR* друг от друга (G-тест) и не дифференцируются на основе индекса фиксации, F_{ST} , что отражено в таблице 18.

По исследованному локусу *ESR-ex4* гена *ESR1* наблюдается сходная с локусом *ESR-ex1* картина распределения частот генотипов: частоты гетерозигот преобладают, однако в более широком интервале, с минимальным значением в выборке «Земледелец» (53%) и с максимальным – в выборке «Авангард» (80%) (таблица 16). Только в «Заречье» наблюдается смещение распределения частот генотипов в сторону генотипа *CC*, при отсутствии гомозигот по *T*-аллелю. Не выявлены гомозиготы *TT* еще в двух выборках, «Дружба» и «Авангард», тогда

как в выборке «Земледелец» его частота составляет 6%, а в выборке «Красный Перекоп» – 20%. Доминирующим по частоте является *C*-аллель с интервалом варьирования от 60% до 82%, кроме выборки «Красный Перекоп», в которой частоты аллелей совпадают. По локусу *ESR-ex4*, как и по локусу *ESR-ex1*, во всех выборках не наблюдается отклонение от распределения частот генотипов по Харди-Вайнбергу и избытка гетерозигот, F_{IS} (таблица 17). Исследованные выборки романовской породы овец не различаются по распределению частот генотипов друг от друга (*G*-тест, таблица 18), но отдельные пары выборок дифференцируются на основе значений F_{ST} : Заречье – Авангард (0.092), Заречье – Земледелец (0.033), Заречье – Красный Перекоп (0.196), Красный Перекоп – Земледелец (0.012).

Таблица 18

Уровень значимости попарных сравнений выборок овец романовской породы по распределению частот генотипов (*G*-тест) и их подразделенности (F_{ST}) по исследованным *ESR-ex1* и *ESR-ex4* локусам гена *ESR1*

Пары выборок	P, G-тест		F_{ST}	
	Локус <i>ESR-ex1</i>	Локус <i>ESR-ex4</i>	Локус <i>ESR-ex1</i>	Локус <i>ESR-ex4</i>
Дружба – Авангард	0.666	1.000	-0.0188	-0.0326
Заречье – Авангард	0.796	0.134	-0.0126	0.0918
Заречье – Дружба	0.525	0.607	-0.0217	-0.0036
Земледелец – Авангард	0.763	0.668	-0.0151	-0.0353
Земледелец – Дружба	1.000	1.000	-0.0458	-0.0523
Земледелец – Заречье	0.467	0.218	-0.0107	0.0328
Красный Перекоп – Авангард	1.000	1.000	-0.0235	-0.0500
Красный Перекоп – Дружба	1.000	0.641	-0.0310	0.0000
Красный Перекоп – Заречье	1.000	0.078	-0.0404	0.1959
Красный Перекоп – Земледелец	0.702	0.425	-0.0349	0.0119

Обозначения: P – значение вероятности сходства сравниваемых распределений частот генотипов в двух выборках, F_{ST} – коэффициент Райта.

Таким образом, исследование изменчивости локусов *ESR-ex1* и *ESR-ex4* гена эстрогенового рецептора в изученных выборках овец романовской породы показало значительное внутривидовое сходство, заключающееся в высокой доле гетерозиготных животных по обоим изученным локусам в большинстве выборок, кроме выборки «Заречье», и преобладании частоты *B* (*G*)- и *C*-аллелей по локусам *ESR-ex1* и *ESR-ex4*, соответственно, что отражено в отсутствии различий в распределении частот генотипов (*G*-тест, $P > 0.05$) и нулевых значениях попарных F_{ST} по локусу *ESR-ex1*. По локусу *ESR-ex4* выявлена дифференциация отдельных пар выборок с интервалом значений F_{ST} от 1 до 20%.

3.2.2. Сравнение романовской породы овец с зарубежными породами полл дорсет и суффолк, разводимыми в России, по изменчивости *ESR-ex1* и *ESR-ex4* локусов гена эстрогенового рецептора

Проведен сравнительный анализ объединенной выборки овец романовской породы с низко плодовитыми породами полл дорсет и суффолк канадской селекции, разводимыми в течение нескольких лет в Ярославской области Российской Федерации. Характеристики частот генотипов и аллелей гена *ESR1* по анализируемым локусам экзонов 1 и 4 у перечисленных пород представлены в таблице 19. По локусу *ESR-ex1* гена эстрогенового рецептора у всех пород наблюдается преобладание гетерозигот над остальными генотипами, что особенно ярко выражено у породы полл дорсет (0.750). Из двух гомозигот наиболее часто встречается у романовской породы гомозигота по *B*-аллелю (0.370), в то время как у породы полл дорсет они не выявлены, а у суффолк встречаются с низкой частотой (0.045). В отличие от романовской породы овец, у которой преобладает *B*-аллель, у других изученных пород выше частота *C*-аллеля. По локусу *ESR-ex4* исследованного гена, частота гетерозигот наибольшая в породах овец романовская и суффолк, однако распределение частот гомозигот у них различается: у романовской породы выявлено смещение в сторону высоких значений гомозигот *CC* (0.449), а у суффолк – в сторону гомозигот *TT*. У породы полл дорсет при отсутствии гомозигот по *T*-аллелю и низкой частоте гетерозигот (0.100) генотип *CC* имеет максимальную частоту (0.900).

Таблица 19

Частота генотипов и аллелей гена *ESR1* (*ex1* и *ex2*) у овец романовской породы, полл дорсет и суффолк

Порода	Частота генотипов гена <i>ESR-ex1</i> ($\pm sp$)			Частота аллелей гена <i>ESR-ex1</i> ($\pm sp$)	
	<i>AA</i> (<i>CC</i>)	<i>AB</i> (<i>CG</i>)	<i>BB</i> (<i>GG</i>)	<i>G</i> (<i>B</i>)	<i>C</i> (<i>A</i>)
Романовская (n=73)	0.055 \pm 0.027	0.575 \pm 0.058	0.370 \pm 0.057	0.658 \pm 0.039	0.342 \pm 0.039
Полл дорсет (n=20)	0.250 \pm 0.097	0.750 \pm 0.097	0.000 \pm 0.000	0.375 \pm 0.077	0.625 \pm 0.077
Суффолк (n=22)	0.273 \pm 0.095	0.682 \pm 0.099	0.045 \pm 0.044	0.386 \pm 0.073	0.614 \pm 0.073
Порода	Частота генотипов гена <i>ESR-ex4</i> ($\pm sp$)			Частота аллелей гена <i>ESR-ex4</i> ($\pm sp$)	
	<i>CC</i>	<i>CT</i>	<i>TT</i>	<i>C</i>	<i>T</i>
Романовская (n=49)	0.449 \pm 0.071	0.510 \pm 0.071	0.041 \pm 0.028	0.704 \pm 0.046	0.296 \pm 0.046
Полл дорсет (n=10)	0.900 \pm 0.095	0.100 \pm 0.095	0.000 \pm 0.000	0.950 \pm 0.049	0.050 \pm 0.049
Суффолк (n=10)	0.100 \pm 0.095	0.700 \pm 0.145	0.200 \pm 0.127	0.450 \pm 0.111	0.550 \pm 0.111

Обозначения: $\pm sp$ – стандартная ошибка частоты.

Представленные в таблице 20 параметры генетической изменчивости у исследованных пород свидетельствуют о достоверном отклонении распределения частот генотипов от распределения по Харди-Вайнбергу с учетом поправки Бенджамини-Хочберга ($P < 0.016$) по *ESR-ex1* локусу только у породы полл дорсет, у которой наблюдается достоверно значимый

избыток гетерозигот (F_{IS}). Данный факт может быть объяснён классическими примерами воздействия на популяцию отбора или дрейфа генов.

Таблица 20

Параметры генетической изменчивости исследованных локусов *ESR-ex1* и *ESR-ex4* гена эстрогенового рецептора у овец романовской породы, полл дорсет и суффолк

Порода	H_O	H_E	HWE (P)	F_{IS}
<i>ESR-ex1</i> локус				
Романовская (n=73)	0.575	0.453	0.035	-0.271
Полл дорсет (n=20)	0.750	0.481	0.016	-0.583
Суффолк (n=22)	0.682	0.485	0.078	-0.419
<i>ESR-ex4</i> локус				
Романовская (n=49)	0.510	0.421	0.177	-0.215
Полл дорсет (n=10)	0.100	0.100	1.000	0
Суффолк (n=10)	0.700	0.521	0.520	-0.370

Обозначения: H_O – наблюдаемая гетерозиготность, H_E – ожидаемая гетерозиготность, HWE (P) – достоверность отклонения выборочных распределений частот генотипов от распределения по Харди-Вайнбергу, F_{IS} – коэффициент Райта.

Попарные сравнения исследованных пород овец по распределению частот генотипов выполненные с использованием G-теста, результаты которого приведены в таблице 21, свидетельствуют о значимых отличиях романовской породы по локусу *ESR-ex1* от каждой из низко плодовитых пород (полл дорсет и суффолк) (с учетом поправки Бенжамини-Хочберга $P < 0.033$), в то время как последние друг от друга не отличаются; по локусу *ESR-ex4* все породы отличаются друг от друга (с учетом поправки Бенжамини-Хочберга $P < 0.050$). Представленные в этой же таблице значения индекса фиксации F_{ST} указывают на дифференциацию романовской породы от пород полл дорсет и суффолк по локусу *ESR-ex1*: значения F_{ST} равны 14% и 13%, соответственно. По локусу *ESR-ex4* перечисленные породы овец также дифференцируются с близкими значениями индекса фиксации: 12% и 11%, соответственно. При этом породы суффолк и полл дорсет, согласно значению F_{ST} (44%) по локусу *ESR-ex4*, в отличие от локуса *ESR-ex1*, имеют еще более высокий уровень дифференциации.

Таблица 21

Уровень достоверности попарных сравнений выборок овец романовской породы, полл дорсет и суффолк по распределению частот генотипов гена *ESR1*, G-тест, и индексу фиксации F_{ST}

Сравниваемые пары пород	P, G-тест		F_{ST}	
	<i>ESR-ex1</i>	<i>ESR-ex4</i>	<i>ESR-ex1</i>	<i>ESR-ex4</i>
полл дорсет – романовская	0.00008	0.0131	0.141	0.123
суффолк – романовская	0.00031	0.0195	0.130	0.112
суффолк – полл дорсет	1	0.0007	-0.013	0.439

Обозначения: P – значение вероятности сходства сравниваемых распределений частот генотипов в двух выборках, F_{ST} – коэффициент Райта.

Таким образом, оба исследованных локуса по результатам G-теста и значению индекса фиксации F_{ST} согласованно свидетельствуют о различиях между высоко плодовитыми овцами романовской породы и низко плодовитыми овцами пород полл дорсет и суффолк канадской селекции, разводимых в России. Однако если по *ESR-ex1* локусу зарубежные породы не отличаются друг от друга по рассматриваемым параметрам, то по *ESR-ex4* локусу дифференцируются с высоким уровнем значимости ($P=0.0007$, G-тест) и наибольшим среди пар пород показателем F_{ST} (0.439). Отметим, что редко встречаемый у этих пород генотип *BB* по *ESR-ex1* локусу гена *ESR1*, по литературным данным также с низкой частотой встречается и у ряда высоко плодовитых пород овец зарубежной селекции, таких как короткохвостая порода Хан (0.014), породы Ху (0.104) и немецкий мясной меринос (0.048), и отсутствуют у низко плодовитых пород дорсет (Dorset) и суффолк (Suffolk), разводимых в Китае (Xiao-Dan et al., 2005). В тоже время у романовской породы его частота составляет 37%, что позволяет предположить, что в нашем исследовании была выявлена связь *ESR-ex1* локуса гена *ESR1* с повышенной плодовитостью романовских овец.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Метод ISSR-PCR является высокоинформативным методом для анализа генофондов домашних видов животных. С использованием данного типа маркеров нами была охарактеризована генетическая структура пяти популяций романовской породы овец. Генотипирование романовских овец с использованием двух ISSR-праймеров ((AG)₉C и (GA)₉C) позволило оценить параметры генетического разнообразия, популяционную структуру, сходство и различие генофондов пяти хозяйств романовской породы овец. Наибольшее генетическое разнообразие по Нею и Шеннону по обоим праймерам выявлено у популяции «Авангард», наименьшее зафиксировано у отары овец из «Красного Перекопа». С генетической точки зрения в хозяйстве ООО «Агрофирма Авангард» проводится планомерная селекционно-племенная работа по поддержанию селекционного разнообразия.

Анализ популяционной структуры генофонда в исследуемых выборках романовских овец с использованием обработки данных ISSR-фингерпринтинга в программе STRUCTURE позволил выявить помесных животных и дать оценку консолидированности изученных популяций. Результаты кластеризации на внутривидовом уровне свидетельствуют о наличии двух кластеров в структуре генофонда, что позволяет предположить участие двух исходных прародительских популяций в формировании романовской породы (общей исследованной выборки), одна из которых внесла наибольший вклад в генофонды отар «Авангарда» и «Земледельца», вторая – «Дружбы», Заречья» и «Красного Перекопа». В то же время наличие во всех хозяйствах смешанных/помесных особей, свидетельствует о периодическом обмене животными между хозяйствами. Однако в отаре хозяйства «Земледелец» обнаружена наибольшая однородность структуры генофонда, несмотря на достаточно высокий уровень генетического разнообразия по AG-ISSR-PCR маркеру.

При сравнительном анализе пород овец по спектрам AG-ISSR-анализа обнаружены отличия в количестве выявленных фрагментов и их полиморфизме. Выявлены породоспецифичные фрагменты ДНК, присутствие которых типично для генофонда определенной породы и с высоким уровнем значимости по частоте встречаемости отличают ее от других пород (например, фрагмент A28 длиной 400-380 п.н. у породы тексель). На основании ISSR-полиморфизма оценены основные параметры генетического разнообразия и структуры пород, определены филогенетические связи и генетические дистанции между изученными породами. Таким образом, определена наибольшая близость романовских овец с тувинскими короткожирнохвостыми, что говорит либо об обмене животными, либо о родстве двух пород. Впервые получена информация о генетическом разнообразии для аборигенной породы Алтая – теленгитской, и для недавно созданной в Бурятии породы буубэй, которые ранее не были исследованы с помощью молекулярно-генетических методов. Трехуровневый анализ

разнообразие по данным ISSR-фингерпринтинга показал, что внутривидовая изменчивость и для всей совокупности изученных пород овец, и для романовской породы в частности, составила более 50%, что свидетельствует о важности ведения селекции на уровне особей. С помощью метода иерархического усреднения частот проведена реконструкция «протогенофонда» овец, наибольшее сходство с которым показали эдильбаевские ($D_N=0.0139$), тувинские ($D_N=0.0144$) и монгольские овцы ($D_N=0.0179$). Полученный результат соответствует известным историческим данным о древнейшем происхождении данных групп животных.

Впервые для сельскохозяйственных животных был применен новый математический алгоритм для подсчета степени генетической оригинальности особей. Данный метод, основанный на принципе «взвешивания» признаков в зависимости от частоты их встречаемости, имеет результатом индекс усредненных значений «весов» всех полиморфных в выборке фрагментов, называемый коэффициентом генетической оригинальности (КГО). На основании рассчитанных значений коэффициента генетической оригинальности по данным ISSR-анализа генофонд романовских овец был разделен на классы, были выделены наиболее оригинальные и типичные особи. В результате были определены хозяйства, где сосредоточены наибольшее количество типичных для породы генотипов (хозяйства «Красный Перекоп» и «Дружба») и наиболее оригинальный генофонд романовской породы овец (популяция «Авангард»). Предложенная классификация внутривидового разнообразия может быть использована как в селекционно-племенной работе (при отборе-подборе пар для скрещивания, обмене животными между хозяйствами), так и при сохранении генофонда породы, в частности для сохранения всего спектра редких (оригинальных) и типичных (базовых) генотипов внутри породного разнообразия.

Проанализировано влияние генетической структуры (полиморфизма по AG- и GA-ISSR-фрагментам) на изменчивость хозяйственно-полезных признаков романовских овец и оценены взаимосвязи анализируемых признаков продуктивности овец романовской породы. По результатам анализа ассоциаций между хозяйственно-полезными признаками романовских овец и ISSR-фрагментами впервые установлено влияние последних на изменчивость фенотипических признаков романовских овец. Достоверная взаимосвязь с одним или более локусами была определена для 9 признаков продуктивности. Дальнейшие исследования по ISSR-фрагментам, ассоциированным с фенотипическим проявлением признаков романовских овец, может способствовать выявлению и уточнению вклада потенциальных генов-кандидатов в изменчивость количественных признаков овец.

С помощью корреляционных коэффициентов Пирсона были выявлены достоверные взаимосвязи между анализируемыми фенотипическими признаками у романовских овец. Большинство выявленных взаимосвязей подтвердили ранее известные селекционерам

зависимости, а также влияние таких факторов как пол, популяционная принадлежность и заводская линия на селекционируемые хозяйственно-полезные признаки. Знание направления и степени корреляции между признаками поможет решать вопросы о методах отбора и подбора родительских пар при селекции по комплексу признаков.

В связи с отсутствием информации в научной литературе по изменчивости гена эстрогенового рецептора *ESR1* у отечественной высоко плодовитой романовской породы овец, проведено исследование полиморфизма гена *ESR1* по экзонам 1 и 4 у овец романовской породы в сравнении с низко плодовитыми породами полл дорсет и суффолк канадской селекции, разводимыми в течение нескольких лет в России. В ходе выполнения данной работы оптимизирована методика типирования полиморфизма экзона 1 гена *ESR1* овец, что заключалось в подборе эндонуклеазы рестрикции *MhI* для проведения рестрикционного анализа продуктов амплификации, а также разработке аллель-специфичных праймеров, которые в сочетании с уже описанными в литературе внешними праймерами (Xiao-Dan et al., 2005), позволяют проводить аллель-специфичную ПЦР, более точно детектировать A(C)- и B (G)-аллели.

В результате секвенирования продуктов амплификации экзона 4 гена *ESR1* в наших образцах (49 особей романовской породы и по 10 особей пород полл дорсет и суффолк) обнаружена одна синонимичная замены (27C>T) из выявленных ранее (Ozmen et al., 2012). Полученные для романовской породы последовательности с гомозиготными генотипами (CC, TT) в позиции 27 относительно референсной последовательности JF262030, соответствующие двум гаплотипам (JF262030, JF262033) работы (Ozmen et al., 2012), были зарегистрированы в GenBank под номерами: KT962249, KT962250.

Исследование изменчивости локусов *ESR-ex1* и *ESR-ex4* гена эстрогенового рецептора в изученных выборках овец романовской породы показало значительное внутривидовое сходство, заключающееся в высокой доле гетерозиготных животных по обоим изученным локусам в большинстве выборок, кроме популяции «Заречье» (локус *ESR-ex4*), и в преобладании частоты B (G)- и C-аллелей по локусам *ESR-ex1* и *ESR-ex4*, соответственно. Исследованные выборки романовской породы не различаются по распределению частот генотипов *ESR-ex1* локуса гена *ESR1* друг от друга (G-тест) и не дифференцируются на основе индекса фиксации, F_{ST} .

Проведен сравнительный анализ полиморфизма гена эстрогенового рецептора объединенной выборки овец романовской породы с низко плодовитыми породами полл дорсет и суффолк канадской селекции. Анализ полиморфизма по локусам *ESR-ex1* и *ESR-ex4* выявил достоверное отличие (G-тест, $P < 0.01$ и $P < 0.05$, соответственно) генотипической изменчивости романовской породы от пород полл дорсет, суффолк. Редко встречаемый в нашем

исследовании у низко плодовитых пород канадской селекции генотип *BB* по *ESR-ex1* локусу гена *ESR1*, по литературным данным также с низкой частотой встречается и у ряда высоко плодовитых зарубежных пород овец, таких как короткохвостая порода Хан (0.014), породы Ху (0.104) и немецкий мясной меринос (0.048), и отсутствуют у низко плодовитых пород дорсет и суффолк, разводимых в Китае (Xiao-Dan et al., 2005). В тоже время у романовской породы его частота составляет 37%, что позволяет предположить существование связи *ESR-ex1* локуса гена *ESR1* с повышенной плодовитостью романовских овец.

В настоящей работе изучен генетический полиморфизм романовских овец ведущих генофондных хозяйств. Полученные данные могут быть использованы для сохранения и дальнейшего разведения этой уникальной породы России.

ВЫВОДЫ

1. С помощью ISSR-PCR маркеров изучены генетическая структура, параметры генетического разнообразия, филогенетические связи и генетические дистанции пяти генофондных хозяйств романовской породы овец. Обнаружены достоверные отличия по частоте встречаемости отдельных фрагментов ДНК между изученными популяциями.
2. Методом кластеризации в программе STRUCTURE на основании данных ISSR-фингерпринтинга выполнен анализ популяционных структур романовской породы овец, который позволил провести оценку консолидированности популяций. По результатам кластеризации на внутривидовом уровне выявлено наличие двух кластеров в структуре генофонда, свидетельствующие о том, что в формировании породы принимали участие две исходные прародительские популяции, одна из которых внесла наибольший вклад в генофонды отар «Авангарда» и «Земледельца», вторая – «Дружбы», «Заречья» и «Красного Перекопа». Основываясь на этом в романовской породе можно выделить соответственно две внутривидовые группы.
3. Сравнительный анализ спектров фрагментов ДНК разной длины у 33-х популяций 9 пород овец позволил выявить породоспецифичные фрагменты ДНК, а именно совокупности, маркирующие породы. Впервые получена информация о генетическом разнообразии овец теленгитских и буубэй. По результатам сравнительного анализа по AG-ISSR-PCR маркеру романовские овцы оказались наиболее близки с тувинскими короткожирнохвостыми. С помощью метода иерархического усреднения частот проведена реконструкция «протогенофонда» овец, которая показала, что наиболее древними из изученных пород были эдильбаевские, тувинские и монгольские овцы.
4. Трехуровневый анализ разнообразия по данным по AG-ISSR-анализа для девяти пород овец и оценка долей этих трех компонент в общем разнообразии показали, что на изменчивость между породами приходится 15.8% ($D_{ST}=0.0297$), между популяциями внутри пород – 31.4% ($D_{CS}=0.0591$), на индивидуальное разнообразие внутри популяций – 52.8% ($H_C=0.0994$). Межпопуляционная изменчивость у тувинских овец оказалась практически равной внутривидовой, а у романовских и монгольских овец внутривидовая изменчивость значительно превышает межпопуляционную, что свидетельствует о важности ведения отбора и подбора в генофондных хозяйствах на уровне отдельных особей.
5. Впервые на основании рассчитанных значений коэффициента генетической оригинальности (КГО) по данным ISSR-PCR маркеров генофонд романовских овец был разделен на 5 классов, что позволило выделить в породе наиболее оригинальных и типичных

особей. Наибольшее количество типичных для породы генотипов сосредоточено в хозяйствах «Красный Перекоп» и «Дружба». Наиболее оригинальный генофонд романовской породы содержится в агрофирме «Авангард».

6. На основании результатов анализа ассоциаций впервые установлено влияние генетической структуры, представленной ISSR-фрагментами, на изменчивость фенотипических признаков романовских овец. Достоверная взаимосвязь с одним или более фрагментами была определена для 9 хозяйственно-полезных признаков овец.

7. Выявлен полиморфизм гена рецептора эстрогена *ESR1* (1 и 4 экзоны) у овец романовской породы. В большинстве исследованных выборок по обоим изученным локусам показано преобладание частот *B* (*G*) и *C*-аллелей, соответственно по локусам *ESR-ex1* и *ESR-ex4*, и преобладание гетерозиготных животных, кроме популяции «Заречье» (локус *ESR-ex4*), что свидетельствует о значительном внутривидовом сходстве.

8. Сравнительный анализ полиморфизма по локусам *ESR-ex1* и *ESR-ex4* гена *ESR1* выявил достоверное отличие (*G*-тест, $P < 0.01$ и $P < 0.05$, соответственно) генотипической изменчивости высоко плодовитой романовской породы овец от низко плодовитых пород канадской селекции (полл дорсет, суффолк).

ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ

1. Полученные данные по ISSR-PCR маркерам и использованные способы оценок выявленного полиморфизма предлагается применять для контроля и сохранения существующего генетического разнообразия отечественных пород овец.
2. Использование методов реконструкции «протогенофонда» и кластерного анализа позволяют определять как наиболее древние породы овец, интересные для изучения их филогенеза, так и реликтовые популяции в этих породах, сохранившие близкий к исходному тип животных. В свою очередь это дает возможность вести селекцию на сохранение наиболее древнего типа особей, а также оценить изменения, происходящие в породе в пространстве и времени.
3. В генофондных и племенных хозяйствах для контроля многоплодия у романовских овец следует проводить мониторинг полиморфизма и селекцию по гену рецептора эстрогена *ESR1* (1 и 4 экзоны).

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

КРС – крупный рогатый скот

п.н. – пара нуклеотидов

т.п.н. – тысяч пар нуклеотидов

ПДРФ – полиморфизм длин рестрикционных фрагментов (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP)

ПЦР – полимеразная цепная реакция (Polymerase Chain Reaction, PCR)

RAPD-PCR – random amplified polymorphic DNA, polymerase chain reaction – полимеразная цепная реакция со случайными праймерами

AFLP – amplified fragment length polymorphism – полиморфизм длин амплифицированных фрагментов

ISSR – inter-simple sequence repeat - межмикросателлитный полиморфизм

STR (или STMS - Sequence Tagged Microsatellite Site, SSR - simple sequence repeat) - short tandem repeat – короткие тандемные повторы, микросателлиты

IRAP - inter-retransposon amplified polymorphism – межтранспозонный полиморфизм

AS-PCR – аллель-специфичная ПЦР

QTL – локусы количественных признаков (Quantitative Trait Loci)

SNP – однонуклеотидный полиморфизм (Single Nucleotide Polymorphism)

ESR1 (*ER- α*) – ген эстрогенового рецептора α

UPGMA – метод невзвешенной парно-групповой средней (Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic Mean)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абонеев В.В., Чижова Л.Н., Геращенко Л.В. Биологическая разнокачественность молодняка овец разных пород и ее связь с энергией и составом прироста живой массы // Овцы, козы, шерстяное дело. 2006. № 4. С. 71-74.
2. Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях. М.: ИКЦ «Академкнига», 2003. 431 с.
3. Алтухов Ю.П., Рычков Ю.Г. Популяционные системы и их структурные компоненты. Генетическая стабильность и изменчивость // Журн. общ. биол. 1970. Т. XXXI. № 5. С. 507–526.
4. Арсеньев Д.Д. Пути совершенствования породных и продуктивных качеств романовских овец // Сборник научных трудов «Интенсивные технологии производства продуктов животноводства». Москва, 1989. С. 12-19.
5. Арсеньев Д.Д., Арсеньева Т.В. Особенности разведения романовских овец. - М.: Россельхозиздат, 1976. 79 с.
6. Арсеньев Д.Д., Арсеньева Т.В. Селекция романовских овец. - М. Россельхозиздат, 1985. 175 с.
7. Беляев Д.К. Генетические аспекты доместикации животных // Сборник «Проблемы доместикации животных и растений». – М.: Наука, 1972. С. 39-45.
8. Беляев Д.К. Дестабилизирующий отбор как фактор доместикации // Генетика и благосостояние человечества. – М.: Наука, 1981. С. 53-66.
9. Богданов Е.А. Происхождение домашних животных. – М.: «Сельхозгиз», 1937. - 335 с.
10. Боголюбский С.Н. Происхождение и преобразование домашних животных, – М.: «Советская наука», 1959. 593 с.
11. Боголюбский С.Н. Происхождение и эволюция домашних животных, – М.: «Сельхозгиз», 1940. 168 с.
12. Большая Российская энциклопедия: в 30 т. Т. 9. – М.: Большая Российская энциклопедия, 2007. 767 с.
13. Большая Советская энциклопедия, Т. 8. – М.: Изд-во «Советская энциклопедия», 1972.
14. Борисенко Е.Я. Разведение сельскохозяйственных животных. – М.: «Колос», 1967. 463 с.
15. Бороздин Э.К., Хатаносев С.А., Агаев Р.Б. и др. Генетика и селекция романовских овец на высокую жизнеспособность. М.: ВНИИплем., 1992. С. 65-96.
16. Боронникова С.В. Молекулярно-генетический анализ и оценка состояния генофондов ресурсных видов растений Пермского края. Перм. гос. нац. исслед. ун-т. Пермь, 2013. 239 с.
17. Бурабаев А.А., Марзанов Н.С., Мамадалиев С.Н., Кошеметов Ж.К., Ажибаев А.Ж. Установление генетических связей между различными породами овец республики Казахстан с использованием ДНК-микросателлитов // Вестник науки Казахского агротехнического университета им. С. Сейфуллина. Серия ветеринарных, биологических и сельскохозяйственных наук. 2009. № 2. С. 140-144.
18. Васин Б.Н., Попова Е.Т. Наследование тонины шерсти. Генетика шерсти овец // Тр. Центральной станции по генетике с.-х. животных. 1929. №5. С.25-29.
19. Васин Б.Н. Эволюция шерстного покрова домашних овец. Монографический очерк: Докторская диссертация. М., 1944. Т. I. 203с.
20. Воробьев П.А. Краткая история создания и современное состояние романовской породы овец. – В кн.: Разведение и биология размножения животных. М.: Колос, 1966. С. 232-238.

21. Воронкова В.Н. Оценка генетического разнообразия лошадей Саяно-Алтайского региона с использованием ядерных и митохондриальных ДНК маркеров. Дисс. канд. биол. наук. - Москва, 2012. 166 с.
22. Гаврилов Д.В. Успехи водворения и разведения в России многоплодных романовских овец в течение 1856-1858 г. Журнал «Акклиматизация», Т. 1. Вып. 7, 1859.
23. Герре В. Происхождение домашних животных и их domestикация // Руководство по разведению животных, Т. 1. Биологические основы продуктивности. Перевод с немецкого. Москва, 1963. - С. 9-69.
24. Гладырь Е.А., Зиновьева Н.А., Брем Г. Характеристика генофонда и выявление генеалогических связей между породами овец России с использованием ДНК-микросателлитов // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. 2004. № 2. С. 26-29.
25. Гладырь Е.А., Зиновьева Н.А., Чимидова Н.В., Моисейкина Л.Г., Кудина Е.П., Эрнст Л.К., Брем Г. Оценка степени дифференциации эдильбаевской и калмыцкой пород овец по микросателлитам // Достижения науки и техники АПК. 2013. № 3. С. 68-70.
26. Гладырь Е.А., Шадрин Я.Л., Горелов П.В., Даваахуу Л., Попов Р.Г., Матюков В.С., Агышова А.К., Зиновьева Н.А. Характеристика аллелофонда якутского скота по микросателлитам // Сельскохозяйственная биология. 2011. № 6. С. 65-69.
27. Глазко В.И., Глазко Г.В. Введение в ДНК-технологии и биоинформатику. К.: Норадрук, 2001. С. 436.
28. Глазко В.И., Дубин А.В., Календарь Р.Н., Глазко Г.В., Шерепитко В.И., Созинов А.А. Генетические взаимоотношения между сортами сои, оцененные с использованием ISSR маркеров. // Цитология и генетика. 1999. Т. 33. № 5. С. 47-51.
29. Глазко В.И., Косовский Г.Ю., Глазко Т.Т. Введение в геномную селекцию животных. ГНУ ЦЭЭРБ Россельхозакад. - М: Приятная компания. - 2012. - 258 с.
30. Глазко В.И., Созинов И.А. Генетика изоферментов животных и растений. - К.: Урожай, 1993. - 528 с.
31. Глазко В.И., Юлдашбаев Ю.А., Кушнир А.В., Салаев Б.К., Арилов А.Н. Традиционная и метаболомическая селекция овец: Монография. - М.: КУРС: ИНФРА-М, 2014. 560 с.
32. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. Пер. с англ. - М.: Мир, 2002. 589 с.
33. Городная А.В., Глазко В.И. ISSR-PCR в дифференциации генофондов пород крупного рогатого скота // Цитология и генетика. 2003. № 1. С. 61-67.
34. Горячева Т.С., Гончаренко Г.М. Анализ полиморфизма генов к-казеина и пролактина у коров разных пород Сибири // Актуальные проблемы сельского хозяйства горных территорий: материалы Международной научно-практической конференции. - Горно-Алтайск: РИО ГАГУ, 2011. С. 116-119.
35. Данкверт С.А., Холманов А.М., Осадчая О.Ю. Овцеводство стран мира. - М. 2010. 508 с.
36. Денискова Т.Е. Характеристика аллелофонда свиней различных пород с использованием ISSR-маркеров: Дис. ...канд. биол. наук. Дубровицы: ГНУ ВИЖ, 2012.
37. Деревенщиков И.Д. Влияние некоторых факторов на многоплодность романовских овец: Автореф. дис. ...канд. с.-х. наук. Кострома, 1974. 31 с.
38. Долматова И. Ю., Ильясов И. Г. Полиморфизм гена гормона роста крупного рогатого скота в связи с молочной продуктивностью // Генетика. 2011, Т. 47. № 6. С. 814-820.

39. Доцев А.В., Зиновьева Н.А., Калугина А.И., Костюнина О.В., Гладырь Е.А., Шавырина К.М. Влияние генотипа по ДНК-маркерам ESR и FSHB на племенную ценность хряков крупной белой породы // Проблемы биологии продуктивных животных. 2011. №1. С. 20-23.
40. Дубинин Н.П. Общая генетика. М.: Наука, 1986. 559 с.
41. Ежегодник по племенной работе в овцеводстве и козоводстве в хозяйствах Российской Федерации (2013) М.: Изд-во ВНИИплем, 2014. – 256 с.
42. Ерохин А.И. Значение соотносительной изменчивости признаков в селекции овец // Материалы межвузовской научно-методической конференции «Селекционные и технологические основы повышения продуктивности сельскохозяйственных животных». Ярославль, 2000. С. 7-13.
43. Ерохин А.И. О зависимости многоплодия овец от генотипических и паратипических факторов // Животноводство. - 1977. - № 6. - С. 42-45.
44. Ерохин А.И., Джанчаров Д.М. Многоплодие и продуктивность романовских овец // Овцеводство - 1989. - № 5. - С. 33-34.
45. Ерохин А.И., Ерохин С.А. Овцеводство. – М.: Изд-во МГУП, 2004. 480 с.
46. Ерохин А.И., Карасев Е.А. Романовская порода овец. – М.: Изд-во МГУП, 2001. – 119 с.
47. Ерохин А.И., Карасев Е.А., Ерохин С.А. Романовская порода овец: состояние, совершенствование, использование генофонда. – М.: ФГБУ «Росинформагротех», 2005. 329 с.
48. Есаулов П.А. Шубные овцы // Овцеводство / Под ред. Г.Р. Литовченко, П.А. Есаулова. - М.: Колос, 1972. Т. 2. С. 401-409.
49. Животовский Л.А. Показатель внутривидового разнообразия // Журн. общ. биол. 1980. Т. 41. № 6. С. 828–836.
50. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 271 с.
51. Жиряков А.М. Разведение многоплодных овец во Франции // Овцеводство. 1976. № 11. С. 36-38.
52. Зиновьева Н.А., Гладырь Е.А., Костюнина О.В., Шавырина К.М., Кунаева Е.К. ДНК-маркеры как рычаг повышения многоплодия свиней // Промышленное и племенное свиноводство. 2005. № 5. С. 18-21.
53. Зиновьева Н.А., Ларионова П.В., Тихомирова Т.И., Гладырь Е.А., Шавырина К.М. Генетическая характеристика свиней пород крупная белая и йоркшир различного происхождения с использованием ДНК-маркеров // Доклады РАСХН. 2008. № 2. С. 33-36.
54. Зиновьева Н.А., Сизарева Е.И., Гладырь Е.А., Шавырина К.М. Некоторые аспекты использования микросателлитов в свиноводстве // Достижения науки и техники АПК. 2009. № 8. С. 38-41.
55. Зиновьева Н.А., Стрекозов Н.И., Молофеева Л.А. Оценка роли ДНК-микросателлитов в генетической характеристике популяции черно-пестрого скота // Зоотехния. 2009. № 1. С. 2-4.
56. Канева Л.А., Жариков Я.А., Матюков В.С. Мясо-шерстное овцеводство на севере. Сыктывкар – Усть-Цильма, 2013. 378 с.
57. Кийко Е.И., Кургузкин В.Н., Саморуков Ю.В., Марзанов Н.С. Оценка аллелофонда быков-производителей по каппа-казеину и VLAD-синдрому // Ветеринарная патология. № 3. 2008. С. 38-40.
58. Ковнерев И.П. У венгерских друзей-овцеводов // Овцеводство. 1978. №6. С. 38-40.

59. Кол Н.В., Лазебный О.Е. Полиморфизм ISSR-PCR-маркеров в тувинской популяции северного оленя (*Rangifer tarandus L.*) // Генетика. 2006. Т. 42. № 12. С. 1731-1734.
60. Костенко С.А., Сидоренко Е.В. Рациональное использование генетического потенциала свиней с целью повышения их репродуктивных и откормочных качества // Рациональное использование ресурсного потенциала регионов России и сопредельных государств: Сборник научных статей / Под общ. ред. доктора с.-х. наук А.А. Афонина. – Брянск: Издательство «Курсив», 2011. С. 96-105.
61. Кочиева Е.З., Рыжова Н.Н., Храпалова И.А., Пухальский В.А. Определение генетического полиморфизма и филогенетических связей у представителей рода *Lusopersicon* (Tourn.) Mill. Методом маркирования межмикросателитных последовательностей (ISSR) // Генетика. 2002. Т. 38. № 9. С. 1133-1142.
62. Красота В.Ф. Разведение сельскохозяйственных животных. - М. "Колос", 1983.
63. Красота В.Ф., Джапаридзе Т.Г. Разведение сельскохозяйственных животных. – М.: ВНИИплем, 1999. 386 с.
64. Курчан Е.С., Ястремский В.Я. Романовские овцы в хозяйствах Нечерноземья. – М.: Моск. рабочий, 1980. 72 с.
65. Лазебная И.В., Лазебный О.Е., Рузина М.Н., Бадин Г.А., Сулимова Г.Е. Полиморфизм генов гормона роста bGH и пролактина bPRL и изучение его связи с процентным содержанием жира в молоке у коров костромской породы // Сельскохозяйственная биология. 2011. № 4. С. 46-51.
66. Лазовский А.А. К вопросу о происхождении романовских овец // Генетика. Т. XVIII. 1982. №12. С. 2036–2042.
67. Лазовский А.А. Происхождение романовских овец // Животноводство. 1983. №8. С. 29.
68. Левитченков А.Н. Изучение полиморфизма ДНК-маркеров и их влияния на показатели мясной и откормочной продуктивности свиней различных пород и кроссов. Дисс. канд. биол. наук. - Дубровицы, 2009. 103 с.
69. Лобков В.Ю., Белоногова А.Н., Арсеньев Д.Д. Биологические особенности овец романовской породы: монография. - Ярославль: Изд-во ФГБОУ ВПО «Ярославская ГСХА», 2012. – 162 с.
70. Лус Я.Я., Колесник Н.Н., Шульженко И.Ф. и др. Домашние животные Монголии. – М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1936. 432 с.
71. Макарова Н.Н., Нестерук Л.В., Столповский Ю.А., Москаленко Л.П., Николаева Е.А. Перспективы использования мультилокусных маркеров ДНК при сохранении и разведении романовской породы овец // Вестник АПК Верхневолжья. 2013. № 2 (22). С. 75-80.
72. Макарова, Н. Н., Москаленко Л. П. Эффективность промышленного скрещивания // Овцы, козы, шерстяное дело. 2012. № 3. С. 20-22.
73. Малюченко О.П., Алексеев Я.И., Монахова Ю.А., Марзанова С.Н., Марзанов Н.С. Изучение молекулярной изменчивости генов плодовитости BMP15 и GDF9 у романовской породы овец // Известия ТСХА. 2011. № 6. С. 167-169.
74. Марзанов Н.С., Амерханов Х.А., Марзанова Л.К., Кантанен Ю., Озеров М.Ю., Петров С.Н., Марзанова С.Н. Эволюция и генная технология в тонкорунном овцеводстве. – М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2012а. 176 с.
75. Марзанов Н.С., Комкова Е.А., Малюченко О.П., Алексеев Я.И., Озеров М.Ю., Кантанен Ю., Лобков В.Ю., Марзанова Л.К., Астафьева Е.Е., Петров С.Н., Колпаков И.Н., Андрюхин А.П., Адамян К.К., Марзанова С.Н. Характеристика аллелофонда романовской породы овец

- по различным типам генетических маркеров // Проблемы биологии продуктивных животных. 2015. № 2. С. 23-40.
76. Марзанов Н.С., Магомадов Т.А. Аллелофонд овец романовской породы // Сельскохозяйственная биология. 1997. № 2. С. 37-41.
77. Марзанов Н.С., Насибов М.Г., Марзанова Л.К., Девришов Д.А., Петров С.Н., Озеров М.Ю., Саморуков Ю.В., Марзанова С.Н., Шимит Л.Д., Комкова Е.А., Алексеев Я.И., Лобков В.Ю. Использование генетических маркеров в разведении овец. – М.: ФГБНУ «Росинформагротех», 2012б. 116 с.
78. Марзанова Н.С., Люцканова П.И. Группы крови в селекционной работе с овцами // Зоотехния. 1991. № 1. С. 21-24.
79. Минасян Л.Г. Современные воззрения на происхождение и эволюцию домашних овец // Овцеводство. № 1, 1986. С. 33-35.
80. Моисеева И.Г., Уханов С.В., Столповский Ю.А., Сулимова Г.Е., Каштанов С.Н. Генофонды сельскохозяйственных животных: генетические ресурсы животноводства России / отв. ред. И.А. Захаров. – М.: Наука, 2006. 462 с.
81. Мороз В.А. Овцеводство и козоводство. Издательство: «КолосС, Агрус». 2006. 496 с.
82. Мороз В.А. У югославских овцеводов // Овцеводство. 1978. №8. С. 40.
83. Москаленко Л.П., Филинская О.В. Селекционно-генетические параметры хозяйственно-полезных признаков романовских овец разных генеалогических групп // Овцы, козы, шерстяное дело. 2014. № 2. С. 16-18.
84. Москаленко Л.П., Филинская О.В., Костылев М.Н. Мониторинг состояния романовского овцеводства // Вестник АПК Верхневолжья. 2014. № 2 (26). С. 28-34.
85. Озеров М.Ю., Марзанов Н.С., Насибов М.Г., Кантанен Ю., Тапио М. Генетический профиль у различных пород овец по микросателлитам // Вестник РАСХН. 2003. № 5. С. 72-75.
86. Озеров М.Ю., Марзанов Н.С., Тапио М., Марзанова Л.К., Петров С.Н., Кантанен Ю. Использование микросателлитных локусов для определения достоверности происхождения потомства овец // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. 2007. № 2. С. 32-36.
87. Озеров М.Ю., Тапио М., Марзанов Н.С., Насибов М.Г., Шайдуллин И.Н., Кантанен Ю. Микросателлитный анализ эволюционно-генетических связей у различных пород овец // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. 2006. № 2. С. 30-33.
88. Покатилова Г.А. Романовские овцы за рубежом // Овцеводство. 1992. №4. С. 40-42
89. Полный каталог пород домашних животных. – М.: Изд-во ЭКСМО-Пресс, Изд-во Лик пресс, 2001. 128 с.
90. Породы племенных сельскохозяйственных животных и птицы, распространенные в Российской Федерации / Каталог. – М.: ФГНУ «Росинформагротех», 2006. 60 с.
91. Потокина Е.К., Александрова Т.Г. Коэффициенты генетической оригинальности образцов коллекции вики посевной (*Vicia sativa L.*) по результатам молекулярного маркирования // Генетика. 2008. Т. 44. № 11. С. 1508-1516.
92. Потокина Е.К., Александрова Т.Г. Методы классификации внутривидового разнообразия по результатам молекулярного маркирования // Материалы всероссийской конференции «Фундаментальные и прикладные проблемы ботаники в начале XXI века». Петрозаводск, 22-27 сентября 2008 г. С. 62-65.
93. Рычков Ю.Г., Ящук Е.В. Генетика и этногенез // Вопросы антропологии. 1980. Вып. 64. С. 23-39.

94. Селионова М.И. Молочная продуктивность и уровень естественной резистентности у коров разных генотипов гена каппа-казеина // Вестник АПК Ставрополя. № 1(1), 2011. С. 21-24.
95. Сельскохозяйственный энциклопедический словарь / Гл. ред. В. К. Месяц. - М.: Сов. энциклопедия, 1989. 656 с.
96. Серебровский А.С. Исследования по генетике курицы // Генетика домашней курицы (Тр. Аников. генет. станции Наркомзема РСФСР) / Под. ред. Н.К. Кольцова. М.: Новая деревня, 1926. С. 1-74.
97. Сизарева Е.И. Изучение продуктивных особенностей и характеристика аллелофонда свиней породы Боди по ДНК-маркерам. Автореф. Дисс. канд. биол. наук. - Дубровицы, 2010. 18 с.
98. Смирнов Е.С. Таксономический анализ рода // Журн. общ. биол. 1960. Т. 21. № 2. С. 89-103.
99. Смирнов Е.С. Таксономический анализ. М.: Изд-во Московского университета. 1969. 187 с.
100. Смирнов Л.Ф. Романовское овцеводство. – Ярославль: Ярославское книжное издательство, 1961, 231 с.
101. Соколов В.В., Куц Г.А. Мировое овцеводство / Справочник. - Ижевск. Изд-во Удмуртского университета, 1994.
102. Состояние всемирных генетических ресурсов животных в сфере продовольствия и сельского хозяйства / ФАО, 2010. ВИЖ РАСХН, 2010. Москва / Перевод с англ. ФАО. 2007. The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture, edited by Barbara Rischkowsky & Dafydd Pilling. Rome
103. Справочник пород и типов сельскохозяйственных животных, разводимых в Российской Федерации. Словарь терминов по разведению, генетике, селекции и биотехнологии размножения сельскохозяйственных животных. Перечень российских и международных организаций в сфере животноводства / М-во сел. хоз-ва РФ, ВНИИплем; [подгот. Дунин И. М. и др.]. - Москва: ВНИИплем, 2013. 551 с.
104. Стакан Г.А. Изменчивость и наследственность складчатости кожи у тонкорунных овец в связи с их продуктивностью // Сборник «Наследственность и изменчивость растений, животных и микроорганизмов». 1959. Т.1. М. АН СССР.
105. Стакан Г.А. Влияние внешней среды на показатели наследуемости признаков у тонкорунных овец // Животноводство. 1966. № 10.
106. Стакан Г.А. Значение взаимодействия генотипа со средой в тонкорунном овцеводстве в условиях промышленных комплексов // Труды Выездной сессии секции овцеводства ВАСХНИЛа. Москва. 1976.
107. Стакан Г.А., Соскин А.А. К вопросу о влиянии условий среды на наследуемость признаков // Известия СО АН СССР. 1962. № 12.
108. Стакан Г.А., Соскин А.А. Наследуемость хозяйственно-полезных признаков у тонкорунных овец. - Изд. отд. СО АН СССР. Новосибирск: Наука. 1965. 160 с.
109. Столповский Ю.А. Консервация генетических ресурсов сельскохозяйственных животных: проблемы и принципы их решения / Под ред. И.А. Захарова. М.: Эребус, 1997. 112 с.
110. Столповский Ю.А. Популяционно-генетические основы сохранения ресурсов генофондов domesticированных видов животных (генетика): Дис. ... докт. биол. наук. – М., 2010.
111. Столповский Ю.А., Ахани Азари М., Кол Н.В., Рузина М.Н., Столповский К.Ю., Сулимова Г.Е., Глазко В.И. Дифференциация генофонда пород крупного рогатого скота по ISSR-PCR-маркерам // Известия ТСХА. 2009а. Т. 3. С. 89-97.
112. Столповский Ю.А., Ахани Азари М., Евсюков А.Н. Сравнительный анализ полиморфизма ISSR-маркеров у пород крупного рогатого скота // Генетика. 2011. Т. 47. № 2. С. 213-226.

113. Столповский Ю.А., Кол Н.В., Евсюков А.Н., Нестерук Л.В., Доржа Ч.М., Цендсурэн Ц., Сулимова Г.Е. Сравнительный анализ полиморфизма ISSR-маркеров в популяциях яка (*Bos mutus*) и гибридов F1 между яком и крупным рогатым скотом в Саяно-Алтайском регионе // Генетика. 2014. Т. 50. № 10. С. 1163-1176. DOI: 10.7868/S0016675814100142.
114. Столповский Ю.А., Кол Н.В., Евсюков А.Н., Рузина М.Н., Шимиит Л.В., Сулимова Г.Е. Анализ генетической структуры популяций тувинской короткожирнохвостой овцы с использованием метода ISSR-PCR // Генетика. 2010а, N 12. С. 1660-1670.
115. Столповский Ю.А., Лазебный О.Е., Столповский К.Ю., Сулимова Г.Е. Применение межмикросателлитного анализа ДНК для оценки популяционной структуры, идентификации и сходства генофондов пород и видов domestцированных животных // Генетика. 2010б. Т. 46. № 6. С. 825-833.
116. Столповский Ю.А., Лапшин А.В., Кол Н.В., Сулимова Г.Е., Глазко В.И. Полиморфизм молекулярно-генетических маркеров у овец романовской породы // Известия ТСХА. 2008. № 2. С. 125-134.
117. Столповский Ю.А., Шимиит Л.В., Кол Н.В. Анализ генетической изменчивости и филогенетических связей у популяций тувинской короткожирнохвостой овцы с использованием ISSR-маркеров // Сельскохозяйственная биология. 2009б. №6. С. 34-43.
118. Сулимова Г. Е. ДНК-маркеры в генетических исследованиях: типы маркеров, их свойства и области применения. // Успехи Современной Биологии. 2004. Т. 124. №3. С. 260-271.
119. Сулимова Г. Е., Ахани Азари М. Анализ генетического разнообразия Калмыцкого скота с использованием ISSR-фингерпринтинга. // Материалы Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы животноводства на современном этапе», посвященной 75-летию технологического факультета Бурятской государственной сельскохозяйственной академии. 22-25 июня 2006. Улан-Удэ. С. 55-58.
120. Трут Л.Н. Доместикация животных в историческом процессе и в эксперименте // Вестник ВОГиС, 2007. Т. 11. № 2. С. 273-289.
121. Тюлькин С.В., Ахметов Т.М., Валиуллина Э.Ф., Вафин Р.Р. Полиморфизм по генам пролактина, лептина, тиреоглобулина быков-производителей // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2012. Т. 16. № 4/2. С. 1008-1011.
122. Федоров Н.А., Ерохин А.И., Новиков Л.С. и др. Романовское овцеводство. - М.: Агропромиздат, 1987. 223 с.
123. Феофилов А.В., Бардуков Н.В., Глазко В.И. Дифференциация генофондов алтайской и рысистых пород лошадей по ISSR-PCR маркерам // Генетика. 2011. Т. 47. № 9. С. 1230-1235.
124. Феофилов А.В., Юлдашбаев Ю.А., Глазко В.И. Оценка генофонда калмыцкой породы овец, в сравнении с эдильбаевской, с применением ISSR-PCR маркеров // Достижения науки и техники АПК. 2013. № 3. С. 71-73.
125. Фураева Н.С., Хрусталева В.И., Соколова С.И., Григорян Л.Н., Марзанов Н.С. Состояние и перспективы романовского овцеводства в России // Овцы, козы, шерстяное дело. 2015. № 1. С. 6-9.
126. Хататаев С. А., Заморышев А. В., Кузнецова К. И. и др. Программа селекции овец романовской породы и организация выращивания племенного молодняка. - М., 1990.
127. Цалкин В.И. Горные бараны Европы и Азии. Изд. Моск. о-ва исп. природы. 1951.
128. Цюкша Л., Волгаева Е. Факторы, влияющие на плодовитость овец // Овцеводство. 1982. № 5. С. 21-22.

129. Чикалев А.И., Юлдашбаев Ю.А. Овцеводство. – М.: КУРС: ИНФРА-М, 2015. 200с.
130. Чирвинский Н.П., Елагин В.Б. Разводимые в России породы грубошерстных овец. - Киев, 1916. 245 с.
131. Шаброва Е.В., Тарская Л.А., Микулич А.И. и др. Дифференциация близкородственных и отдаленных популяций человека на основе данных мультилокусного ДНК-фингерпринтинга // Генетика. 2003. Т. 39. № 2. С. 236-243.
132. Шарипов Т.И. Исследование методами СЗМ иммобилизации молекул ДНК и оценка их проводимости: Автореф. дис. ... канд. ф.-м. наук. - Саратов, 2011. 24 с.
133. Шевченко Е.А., Копылов К.В. Определение ДНК-полиморфизма кроликов по ISSR-маркерам // Биология тварин. 2011. Т. 13. № 1-2. С. 384-391.
134. Эрнст Л.К., Бегучев А.П., Левантин Д.Л. Скотоводство: монография. – М.: Колос, 1984. 519 с.
135. Эрнст Л.К., Дмитриев Н.Г., Паронян И.А. Генетические ресурсы сельскохозяйственных животных в России и сопредельных странах. С.-Пб. 1994. 472 с.
136. Эрнст Л.К., Зиновьева Н.А. Биологические проблемы животноводства и XXI веке. – М.: РАСХН, 2008. 508 с.
137. Эрнст Л.К., Зиновьева Н.А., Гладырь Е.А., Аль-Кейси Т.В., Луцихина Е.М., Даваахуу Л., Горелов П.В., Жунушов А.Т. Сравнительный анализ пород крупного рогатого скота *Bos Taurus* и домашнего яка *Bos (Phephagus) grunniens* по микросателлитам // Зоотехния. 2009. № 8. С. 5-6.
138. Юдин Н.С., Воевода М.И. Молекулярно-генетические маркеры экономически важных признаков у молочного скота // Генетика. 2015. Т. 51. № 5. С. 600-612. DOI: 10.7868/S0016675815050082
139. Юлдашбаев Ю.А., Гаряев Б.Е., Церенов И.В. Хозяйственно-полезные признаки калмыцких курдючных овец. – М.: Изд-во РГАУ-МСХА. 2012. 150с.
140. Abbot P. Individual variation in invertebrates revealed by inter-simple sequence repeats (ISSRs). // Journal of Insect Science. 2001. V.1. №8. P. 1-3.
141. Achmann R., Brem G. Parentage control in Austrian domestic mountain sheep (*Ovis aries*) using DNA microsatellite analysis. // Animal Genetics. 1998. V. 29. P. 12-13.
142. Ajmone-Marsan P., Negrini R., Milanesi E., Bozzi R., Nijman I.J., Buntjer A., Valentini A., Lenstra J.A. Genetic distances within and across cattle breeds as indicated by biallelic AFLP markers // Anim. Genet. 2002. 33. P.280-286.
143. Akis Akad I., Mengi A., Oztabak K.O. A determination of growth hormone receptor gene polymorphisms in East Anatolian Red cattle, South Anatolian Red cattle, and Turkish Grey cattle // Turk. J. Vet. Anim. Sci. 2012. 36(1). P. 27-33.
144. Alipanah M., Kalashnikova L., Rodionov G. Association of prolactin gene variants with milk production traits in Russian Red Pied cattle // Iranian Journal of Biotechnology. 2007. V. 5. № 3. P. 158-161.
145. Arber W. Promotion and limitation of genetic exchange. // Science. 1979. V. 205. № 4404. P. 361-365.
146. Ayala F.J. (ed.). Molecular evolution. Sunderland (Mass.): Sinauer, 1976. 277 p.
147. Ayala F.J. Genetic polymorphism: from electrophoresis to DNA sequences // Experimentia. 1983. V. 39. P. 813-823.

148. Barendse W., Bunch R.J., Harrison B.E. The effect of variation at the retinoic acid receptor-related orphan receptor C gene on intramuscular fat percent and marbling score in Australian cattle // *J. Anim. Sci.* 2010. № 88. P. 47-51.
149. Barendse W., Bunch R.J., Kijas J.W., Thomas M.B. The Effect of Genetic Variation of the Retinoic Acid Receptor-Related Orphan Receptor C Gene on Fatness in Cattle // *Genetics*. 2007. 175. P. 843-853.
150. Barillet F., Arranz J.J., Carta A. Mapping quantitative trait loci for milk production and genetic polymorphisms of milk proteins in dairy sheep // *Genet. Sel. Evol.* 2005. V. 37. 109-123.
151. Barzehkar R., Salehi A., Mahjoubi F. Polymorphisms of the ovine leptin gene and its association with growth and carcass traits in three Iranian sheep breeds // *IRANIAN Journal of Biotechnology*. 2009. V. 7. № 4.
152. Bauer M., Vasicek D., Vasickova K., Huba J., Leskova L., Bolecek P. Detection of DGAT-1 gene polymorphism in Holstein and Slovak spotted cattle breeds using a microchip electrophoresis // *Slovak J. Anim. Sci.* 2011. V. 44. № 3. P. 85-89.
153. Benjamini Y., Hochberg Y. Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing // *Journal of the Royal Statistical Society. Series B.* 1995. V. 57. № 1. P. 289-300.
154. Boichard D., Chung H., Dasonneville R., Xavier D., Eggen A., Fritz S., Gietzen K.J., Hayes B.J., Lawley C.T., Sonstegard T.S., Van Tassell C.P., VanRaden P.M., Viaud-Martinez K.A., Wiggans G.R. Design of a Bovine Low-Density SNP Array Optimized for Imputation // *PLoS ONE*. 2012. № 7. e34130.
155. Bolormaa S., K. Gore, J.H.J. Werf, B.J. Hayes, Daetwyler H.D. Design of a low-density SNP chip for the main Australian sheep breeds and its effect on imputation and genomic prediction accuracy // *Animal Genetics*. 2015. V. 46. № 5. P. 544-556.
156. Brookes A.J. The essence of SNPs // *Gene*. 1999. V. 234. № 2. P. 177.
157. Brym P., Kamiński S., Wójcik E. Nucleotide sequence polymorphism within exon 4 of the bovine prolactin gene and its associations with milk performance traits // *J. Appl. Genet.* V. 45. № 2. 2005. P. 179-185.
158. Buntjer J.B., Otsen M., Nijman I.J., Kuiper M.T.R., Lenstra J.A. Phylogeny of bovine species based on AFLP fingerprinting // *Heredity*. 2002. V. 88. № 1. P. 46-51.
159. Chebel R.C., Santos J.E.P. Association between leptin single nucleotide polymorphism and reproductive performance of lactating Holstein cows // *Animal Reproduction Science*. 2011. V. 127. P. 126-134.
160. Chen K.F., Huang L.S., Li N., Zhang Q., Luo M., Wu C.X. The genetic effect of estrogen receptor (ESR) on litter size traits in pig, *Yi Chuan Xue Bao* // *Acta Genetica Sinica*, 2000. V. 27. P. 853-857.
161. Chu M.X., Guo X.H., Feng C.J., Li Y., Huang D.W., Feng T., Cao G.L., Fang L., Di R., Tang Q.Q., Ma Y.H., Li K. Polymorphism of 5' regulatory region of ovine FSHR gene and its association with litter size in Small Tail Han sheep // *Mol. Biol. Rep.* 2012. № 39. P. 3721-3725.
162. Chu M.X., Jiao C.L., He Y.Q., Wang J.Y., Liu Z.H., Chen G.H. Association between PCR-SSCP of bone morphogenetic protein 15 gene and prolificacy in Jining Grey goats // *Animal Biotechnology*. 2007. № 18. P. 263-274.
163. Chu M.X., Mu Y.L., Fang L., Ye S.C., Sun S.H. Prolactin Receptor as a Candidate Gene for Prolificacy of Small Tail Han Sheep // *Animal Biotechnology*. 2007. V. 18. № 1. P. 65-73.

164. Chu M.X., Wang X.C., Jin M., Di R., Chen H.Q., Zhu G.Q., Fang L., Ma Y.H., Li K. DNA polymorphism of 5' flanking region of prolactin gene and its association with litter size in sheep // *J. Anim. Breed. Genet.* 2009. № 129. P. 63-68.
165. Chu Q., Sun D., Yu Y., Zhang Y., Zhang Y. Identification of complex vertebral malformation carriers in Chinese Holstein // *J. Vet. Diagn. Invest.* 2008. № 20. P. 228-230.
166. Clutton-Brock J. A natural history of domesticated mammals. 2nd ed. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1999.
167. Cory A.T., Price C.A., Lefebvre R., Palin M.F. Identification of single nucleotide polymorphisms in the bovine follicle-stimulating hormone receptor and effects of genotypes on superovulatory response traits // *Anim. Genet.* 2013. V. 44. № 2. P. 197-201.
168. da Silva R.C.G., Ferraz J.B.S., Meirelles F.V., Eler J.P., Balieiro J.C.C., Cucco D.C., Mattos E.C., Rezende F.M., Silva S.L. Association of single nucleotide polymorphisms in the bovine leptin and leptin receptor genes with growth and ultrasound carcass traits in Nellore cattle // *Genetics and Molecular Research.* 2012. V. 11 № 4. P. 3721-3728.
169. Davis G.H., Balakrishnan L., Ross I.K., Wilson T., Galloway S.M., Lumsden B.M., Hanrahan J.P., Mullen M., Maoe X.Z., Wang G.L., Zhaoe Z.S., Zenge Y.Q., Robinson J.J., Mavrogenis A.P., Papachristoforou C., Peter C., Baumungi R., Cardyn P., Boujenane I., Cockett N.E., Eythorsdottir E., Arranz J.J., Notter D.R. Investigation of the Booroola (FecB) and Inverdale (FecXI) mutations in 21 prolific breeds and strains of sheep sampled in 13 countries // *Animal Reproduction Science.* 2006. № 92. P. 87-96.
170. De Marchi, M. Assessing genetic diversity in indigenous Veneto chicken breeds using AFLP markers // *Anim. Genet.* 2006. V. 37. P. 101-105.
171. Demars J., Fabre S., Sarry J., Rossetti R., Gilbert H., Persani L., Tosser-Klopp G. et al. Genome-wide association studies identify two novel BMP15 mutations responsible for an atypical hyperprolificacy phenotype in sheep // *PLoS Genet.* 2013. 9(4): E1003482. doi:10.1371/journal.pgen.1003482.
172. Di Stasio L., Destefanis G., Brugiapaglia A., Albera A., Rolando A. Polymorphism of the GHR gene in cattle and relationships with meat production and quality // *Animal Genetics.* 2005. № 36. P. 138-140.
173. Diamond J. Evolution, consequences and future of plant and animal domestication // *Nature.* 2002. 418. P. 700-707.
174. Diez-Tascon C., Littlejohn R.P., Ameida P.A.R., Crawford A.M. Genetic variation within the Merino sheep breed: analysis of closely related populations using microsatellites // *Animal Genetics.* 2000. V. 31. P. 243-251.
175. DAD-IS (Domestic Animal Diversity Information System). FAO. URL: <http://dad.fao.org/>
176. Dominik S., Henshall J.M., Hayes B.J. A single nucleotide polymorphism on chromosome 10 is highly predictive for the polled phenotype in Australian Merino sheep // *Animal Genetics.* 2012. V. 43. № 4. P. 468-470.
177. Drogemuller C, Hamann H, Distl O. Candidate gene markers for litter size in different German pig lines // *Journal of Animal Science.* 2001. 79 (10). P. 2565-2570.
178. Dybus A., Grzesiak W., Kamieniecki H., Szatkowska I., Sobek Z., Blaszczyk P., Czerniawska-Piatkowska E., Zych S., Muszynska M. Association of genetic variants of bovine prolactin with milk production traits of Black-and-White and Jersey cattle // *Arch. Tierz.* 2005. № 2. P. 149-156.

179. Evanno G., Regnaut S., Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study // *Molecular Ecology*. 2005. V. 14. P. 2611-2620. doi: 10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x
180. Fabre S., Pierre A., Mulsant P., Bodin L., Di Pasquale E., Persani L., Monget P., Monniaux D. Regulation of ovulation rate in mammals: contribution of sheep genetic models // *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2006. 4:20. doi:10.1186/1477-7827-4-20
181. FAO. 2007. The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture, edited by Barbara Rischkowsky & Dafydd Pilling. Rome.
182. FAO/UNEP. Animal Genetic Resources Conservation by Management data banks and training. Rome.: FAO/UNEP. 1984. 185 p.
183. Fontanesi L., Scotti E., Tazzoli M., Beretti F., Dall'Olio S., Davoli R., Russo V. Investigation of allele frequencies of the growth hormone receptor (GHR) F279Y mutation in dairy and dual purpose cattle breeds // *Ital. J. Anim.Sci.* 2007. V. 6. 415-420.
184. Galloway S.M., McNatty K.P., Cambridge L.M., Laitinen M.P.E., Juengel J.L., Jokiranta T.S., McLaren R.J., Luiro K., Dodds K.G., Montgomery G.W., Beattie A.E., Davis G.H., Ritvos O. Mutations in an oocyte-derived growth factor gene (BMP15) cause increased ovulation rate and infertility in a dosage-sensitive manner // *Nat. Genet.* 2000. № 25. P. 279-283.
185. Gascuel O. BIONJ: An improved version of the NJ algorithm based on a simple model of sequence data // *Mol. Biol. Evol.* 1997. №14. P. 685-695.
186. Giblin L., Butler S.T., Kearney B.M., Waters S.M., Callanan M.J., Berry D.P Association of bovine leptin polymorphisms with energy output and energy storage traits in progeny tested Holstein-Friesian dairy cattle sires // *BMC Genetics*. 2010. № 11. P. 73.
187. Gill J L, Bishop S C, McCorquodale C, Williams J L, Wiener P Association of selected SNP with carcass and taste panel assessed meat quality traits in a commercial population of Aberdeen Angus-sired beef cattle // *Genetics Selection Evolution*. 2009. № 41. P. 36
188. Glazko, V., Zybaylov, B., Glazko, T. Domestication and Genome Evolution // *International Journal of Genetics and Genomics*. 2014. V. 2. № 4, P. 47-56. doi: 10.11648/j.ijgg.20140204.11
189. Grisart B., Farnir F., Karim L., Cambisano N., J. Kim, A. Kvasz, M. Mni, P. Simon, Fre` re J-M., Coppieters W., Georges M. Genetic and functional confirmation of the causality of the DGAT1 K232A quantitative trait nucleotide in affecting milk yield and composition // *PNAS* . 2004. V. 101. № 8. P. 2398-2403.
190. Gupta M., Chia Y.S., Romero-Severson J., Owen J.L. Amplification of DNA markers from evolutionarily diverse genomes using single primers of simple-sequence repeats // *Theoret. and Appl. Genet.* 1994. V. 89. P. 998-1006.
191. Gutierrez-Gil B., El-Zarei M.F., Alvarez L., Bayon Y., de la Fuente L.F., San Primitivo F., Arranz J.J. Quantitative trait loci underlying milk production traits in sheep // *Anim. Genet.* 2009. V. 40. P. 423-434
192. Hanrahan J.P., Gregan S.M., Mulsant P., Mullen M., Davis G.H., Powell R., Galloway S. Mutations in the genes for oocyte derived growth factors GDF9 and BMP15 are associated with both increased ovulation rate and sterility in Cambridge and Belclare sheep (*Ovis aries*) // *Biol. Reprod.* 2004. № 70. P. 900-909.
193. Herre W., Siewing G. Die Tierreste der Motte Frimmerdorf bei Bonn, Im Druck, 1954.
194. Hewitt S.C., Korach K.S. Oestrogen receptor knockout mice: roles for oestrogen receptors α and β in reproductive tissues // *Reproduction*. 2003. 125. P. 143-149.

195. Hiendleder S., Kaupe B., Wassmuth R., Janke A. Molecular analysis of wild and domestic sheep questions current nomenclature and provides evidence for domestication from two different subspecies // *Proc. Biol. Sci.* 2002. V. 269. № 1494. P. 893-904.
196. Hiendleder S., Mainz K., Plante Y., Lewalski H. Analysis of mitochondrial DNA indicates that domestic sheep are derived from two different ancestral maternal sources: no evidence for contributions from urial and argali sheep / *J. Hered.* 1998. V. 89. № 2. P. 113-120.
197. Hoda A., Ajmone-Marsan P., Dobi P., Bozgo V., Econogene Consortium. Genetic diversity in Albanian sheep breeds estimated by AFLP markers // *Albanian Journal of Agricultural Sciences.* 2010. V. 10 № 2. P. 23-29.
198. Homer E.M., Derecka K., Webb R., Garnsworthy P.C. Mutations in genes involved in oestrous cycle associated expression of oestrus // *Anim. Reprod. Sci.* 2013. V. 142. № 3-4. P. 106-112.
199. Houston R.D., Cameron N.D., Ranee K.A. A melanocortin-4 receptor (MC4R) polymorphism is associated with performance traits in divergently selected large white pig populations // *Animal Genetics.* 2004. № 35. P. 386-390.
200. Hradecka E., Čitek J., Panicke L., Řehout V., Hanusova L. The relation of GH1, GHR and DGAT1 polymorphisms with estimated breeding values for milk production traits of German Holstein sires // *Czech J. Anim. Sci.* 2008. V. 53. № 6. P. 238-245.
201. Huson D.H. SplitsTree: analyzing and visualizing evolutionary data // *Bioinformatics.* 1998. № 14 (1). P. 68-73.
202. ISGC (International Sheep Genomics Consortium). URL <http://www.sheepmap.org/>
203. Jalil-Sarghale A., Moradi Shahrabak M., Moradi Shahrabak H., Sadeghi M., Mura M.C. Association of pituitary specific transcription factor-1 (POU1F1) gene polymorphism with growth and biometric traits and blood metabolites in Iranian Zel and Lori-Bakhtiari sheep // *Mol. Biol. Rep.* 2014. № 4. P. 5787-5792.
204. Jawasreh K. I. Z., Awawdeh F., Rawashdeh I., Hejazeen F., Al-Talib M. The Allele and Genotype Frequencies of Bovine Pituitary Specific Transcription Factor and Leptin Genes in Jordanian Cattle Population by Using PCR-RFLP // *Australian Journal of Basic and Applied Sciences.* 2009. V. 3. № 3. P. 1601-1606.
205. Jia L.H., Chu M.X., Chen H.Q., Fang L. Cloning and sequence analysis of exon 4 of estrogen receptor gene in Small Tail Han sheep // *China Animal Husbandry and Veterinary Medicine.* 2008-02.
206. Jiang Y., Xie M., Chen W., Talbot R. et al. The sheep genome illuminates biology of the rumen and lipid metabolism. *Science.* 2014; 344(6188):1168-1173. DOI: 10.1126/science.1252806
207. Jin L., Macaubas C., Hallmayer J., Kimura A., Mignot E. Mutation rate varies among alleles at a microsatellite locus: phylogenetic evidence // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 1996. V. 93. № 26. P. 15285-15288.
208. Kale D.S., Yadav B.R., Anupama Mukherjee, Jagdish Prasad Exploring DNA Polymorphisms of Leptin Gene within Indian Water Buffaloes // *Journal of Advanced Veterinary Research.* 2013. V. 3. P. 20-26.
209. Kaluz S., Kaluzova M., Flint A.P.F. Sequence variability in the A/B region of the estrogen receptor // *Animal Biotechnology.* 1997. V. 8. № 2. P. 221-226.
210. Kanael Y., Endoh D., Nagahata H., Hayashi M. A method for detecting complex vertebral malformation in Holstein calves using polymerase chain reaction-primer introduced restriction analysis // *J. Vet. Diagn. Invest.* 2005. № 17. P. 258-262.

211. Kantanen J., Edwards C.J., Bradley D.G., Viinalass H., Thessler S., Ivanova Z., Kiselyova T., Cinkulov M.C., Popov R., Stojanovic S., Ammosov I. and Vilkkii J. Maternal and paternal genealogy of Eurasian taurine cattle (*Bos taurus*) // *Heredity*. 2009. P. 1-12
212. Kaupé B., Brandt H., Prinzenberg E-M., Erhardt G. Joint analysis of the influence of CYP11B1 and DGAT1 genetic variation on milk production, somatic cell score, conformation, reproduction, and productive lifespan in German Holstein cattle // *J. Anim. Sci.* 2007. V. 85. P. 11-21.
213. Kesper K. D. Phylogenetische und entwicklungsgeschichtliche Studien an den Gattungen *Ovis* und *Capra*. Diss. Kiel., 1953.
214. Kijas J.W., Townley D., Dalrymple B.P., Heaton M.P., Maddox J.F., McGrath A., Wilson P. et al. A genome wide survey of SNP variation reveals the genetic structure of sheep breeds // *PLoS ONE* 2009. 4(3):E4668. doi:10.1371/journal.pone.0004668.
215. Kilger, C. and S. Paabo. Direct DNA sequence determination from total genomic DNA // *Nucleic Acids Res.* 1997. V. 25. P. 2032-2034.
216. Kim K.S., Reecy J.M., Hsu W.H., Anderson L.L., Rothschild M.F. Functional and phylogenetic analyses of a melanocortin-4 receptor mutation in domestic pigs // *Domestic Animal Endocrinology*. 2004. № 26. P. 75-86.
217. Kimec' M., Dvorak J., Vrtkova I. Study on a relation between estrogen receptor (ESR) gene polymorphism and some pig reproduction performance characters in Polish Landrace breed // *Czech. J. Animal Sci.* 2002. V. 47. P. 189-193.
218. Komisarek J., Dorynek Z. The relationship between the T945M single nucleotide polymorphism in the leptin receptor gene (LEPR) and milk production traits in Jersey cows // *Animal Science Papers and Reports*. 2006. V. 24. № 4. P. 271-277.
219. Komisarek J., Michalak A., Walendowska A. The effects of polymorphisms in DGAT1, GH and GHR genes on reproduction and production traits in Jersey cows // *Animal Science Papers and Reports*. 2011. V. 29. № 1. P. 29-36.
220. Kwok S., Kellogg D.E., McKinney N., Spasic D., Goda L., Levenson C., Sninsky J.J. Effects of primer-template mismatches on the polymerase chain reaction: human immunodeficiency virus type 1 model studies // *Nucleic Acids Res.* 1990. V. 18. № 4. P. 999-1005.
221. Lai E. Application of SNP technologies in medicine: lessons learned and future challenges // *Genome Res.* 2001. V. 11. № 6. P. 927.
222. Lewontin, R. C. The apportionment of human diversity // *Evol. Biol.* 1972. № 6. P. 381-398.
223. Li M.-H., Iso-Touru T., Laurén H., Kantanen J. A microsatellite-based analysis for the detection of selection on BTA1 and BTA20 in northern Eurasian cattle (*Bos taurus*) populations // *Genetics Selection Evolution*. 2010. 42: 32. doi:10.1186/1297-9686-42-32.
224. Li M.-H., Tapio I., Villkii J., Ivanova Z., Kiselyova T., Marzanov N., Ctnkulov M., Stojanovic S., Ammosov I., Popov R., Kantanen J. The genetic structure of cattle populations (*Bos taurus*) in northern Eurasia and the neighbouring. Near Eastern regions: implications for breeding strategies and conservation // *Molecular Ecology*. 2007. V. 16. P. 3839-3853.
225. Litt M., Luty J.A. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene // *Am. J. Hum. Genet.* 1989. V. 44. № 3. P. 397-401.
226. Liu J., Li Zhang, Lingyang Xu, Hangxing Ren, Jian Lu, Xiaoning Zhang, Shifang Zhang, Xinlei Zhou, Caihong Wei, Fuping Zhao, Lixin Du Analysis of copy number variations in the sheep

- genome using 50K SNP BeadChip array // BMC Genomics. 2013. № 14. P. 229 // <http://www.biomedcentral.com/1471-2164/14/229>
227. Logar B., Kavari T., Meglic V. Detection of recessive mutations (CVM, BLAD and Red factor) in Holstein bulls in Slovenia // Journal of Central European Agriculture. 2008. V. 9. № 1. P. 101-106.
228. Lusk J.L. Association of single nucleotide polymorphisms in the leptin gene with body weight and backfat growth curve parameters for beef cattle // J. Anim. Sci. 2007. V. 85. P. 1865-1872.
229. Ma R. N., C. J. Deng, X. M. Zhang, X. P. Yue, X. Y. Lan, H. Chen, C. Z. Lei. A novel SNP OF α -lactalbumin gene in chinese dairy goats // Молекулярная биология. 2010. V. 44. № 4. С. 608-612.
230. Martin P., Raoul J., Bodin L. Effects of the FecL major gene in the Lacaune meat sheep population // Genet. Sel. Evol. 2014. 46:48. doi:10.1186/1297-9686-46-48.
231. Matsushashi T., Maruyama S., Uemoto Y., Kobayashi N., Mannen H., Abe T., Sakaguchi S., Kobayashi E. Effects of bovine fatty acid synthase, stearoyl-coenzyme A desaturase, sterol regulatory element-binding protein 1, and growth hormone gene polymorphisms on fatty acid composition and carcass traits in Japanese Black cattle // J. Anim. Sci. 2011. № 89. P. 12-22.
232. McCue M.E., Bannasch D.L., Petersen J.L., Gurr J., Bailey E., Binns M.M., Distl O., Guérin G., Hasegawa T., Hill E.W., Leeb T., Lindgren G., Penedo M.C., Røed K.H., Ryder O.A., Swinburne J.E., Tozaki T., Valberg S.J., Vaudin M., Lindblad-Toh K., Wade C.M., Mickelson J.R. A high density SNP array for the domestic horse and extant Perissodactyla: utility for association mapping, genetic diversity, and phylogeny studies // PLoS Genet. 2012. V. 1. e1002451.
233. Meadows J.R., Cemal I., Karaca O., Gootwine E., Kijas J.W. Five ovine mitochondrial lineages identified from sheep breeds of the near east // Genetics. 2007. 175. P. 1371-1379.
234. Menz M.A., Klein R.R., Mullet J.E., Obert J.A., Unruh N.C., Klein P.E. A high-density genetic map of Sorghum bicolor (L.) Moench based on 2926 AFLP, RFLP and SSR markers // Plant Mol Biol. 2002. V. 48. № 5-6. P. 483.
235. Mirhoseini S.Z., Badbarin N., Khaleghzadegan A. An AFLP Male-Specific Marker Detected in 15 Iranian Sheep and Goats Populations // Life Sci. J. 2012. V. 9. № 3. P. 2048-2052.
236. Mohammadabadi M.R., A. Torabi, M. Tahmourespoor, A. Baghizadeh, A. Esmailizadeh Koshkoieh, A. Mohammadi Analysis of bovine growth hormone gene polymorphism of local and Holstein cattle breeds in Kerman province of Iran using polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) // African Journal of Biotechnology. 2010. V. 41. № 9. P. 6848-6852.
237. Mohan M., Nair S., Bhagwat A., Krishna T.G., Yano M., Bhatia C.R., Sasaki T. Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants // Mol. Breed. 1997. V. 3. P. 87-103.
238. Montgomery G.W., Lord E.A., Penty J.M., Dodds K.G., Broad T.E., Cambridge L., Sunden S.L.F., Stone R.T., Crawford A.M. The Booroola fecundity (FecB) gene maps to sheep chromosome 6 // Genomics. 1994. V. 22. № 1. P. 148-153.
239. Moravčíková N., Trakovická A., Kasarda R. Polymorphism within the Intron Region of the Bovine Leptin Gene in Slovak Pinzgau Cattle // Animal Sciences and Biotechnologies. 2012. V. 45. № 1. P. 211-214.
240. Mueller U.G., Wolfenbarger L. AFLP genotyping and fingerprinting // Trends Ecol. Evol. 1999. V. 14. № 10. P. 389.

241. Mulsant, P., Lecerf, F., Fabre, S., Schibler, L., Monget, P., Lanneluc, I., Pisselet, C., Riquet, J., Monniaux, D., Callebaut, I., Crihiu, E., Thimonier, J., Teyssier, J., Bodin, L., Cognie, Y., Elsen, J.M. Mutation in bone morphogenetic protein receptor-1B is associated with increased ovulation rate in Booroola Merino ewes // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2001. № 98. P. 5104-5109.
242. Muñoz G., Ovilo C., Estellé J., Silió L., Fernández A., Rodríguez C. Association with litter size of new polymorphisms on ESR1 and ESR2 genes in a Chinese-European pig line. *Genetics Selection Evolution*. 2007. V. 39. P. 195-206.
243. Negrini R., Milanesi E., Bozzi R., Pellecchia M., Ajmone-Marsan R. Tuscany autochthonous cattle breeds: an original genetic resource investigated by AFLP markers // *Anim. Breeding and Genetics*. 2006. 123. P. 10-16.
244. Nei M. Analysis of Gene Diversity in Subdivided Populations // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1973. V.70. №12. P. 3321-3323.
245. Nei M. Estimation of Average Heterozygosity and Genetic Distance from a Small Number of Individuals // *Genetics*. 1978. V. 89. № 3. P. 583-590.
246. Nei M. Genetic distance between populations // *Amer. Nature*. 1972. № 949. P. 283-292.
247. Nei M. *Molecular evolutionary genetics*. New York: Columbia University Press, 1987. 512 c.
248. Nguyen T.C. Additional blood-groups systems in sheep // XVIth international conference on animal blood groups and biochemical polymorphism. USSR Leningrad. 1979. V. 4. P. 15-20.
249. Orford M., Hadjipavlou G., Tzamaloukas O., Chatziplis D., Koumas A., Mavrogenis A., Papachristoforou C., Miltiadou D. A single nucleotide polymorphism in the acetyl-coenzyme A acyltransferase 2 (ACAA2) gene is associated with milk yield in Chios sheep // *J. Dairy. Sci*. 2012. V. 95. P. 3419-3427.
250. Orford M., Tzamaloukas O., Papachristoforou C. and Miltiadou D. Technical note: A simplified PCR-based assay for the characterization of two prolactin variants that affect milk traits in sheep breeds // *J. Dairy. Sci*. 2010. V. 93. P. 5996-5999.
251. Ozmen O., Seker I., Kul B.C., Ertugrul O. Haplotype variation of estrogen receptor- α (ER- α) gene exon 4 in Turkish sheep breeds // *Генетика*. 2012. Т. 48. №10. С. 1185-1189.
252. Paz E., Quinones J., Bravo S., Montaldo H.H., Sepulveda N. Genotyping of BMPR1B, BMP15 and GDF9 genes in Chilean breeds and association with prolificacy // *Animal Genetics*. 46. P. 91-99.
253. Pedrosa S., Uzun M., Arranz J.J., Gutierrez-Gil B., San Primitivo F. et al. Evidence of three maternal lineages in near eastern sheep supporting multiple domestication events // *Proc. Biol. Sci*. 2005. 272. P. 2211-2217.
254. Peters J., Helmer D., von den Driesch A., Segui S. Animal husbandry in the northern Levant // *Paléorient*. 1999. V. 25. № 2. P. 27-48.
255. Piper L.R., Bindon B.M. The Booroola Merino and the performance of medium non-peppin crosses at Armidale // *The Booroola Merino, Proceedings of a workshop, Armidale, CSIRO*. 1982. P. 161-173.
256. Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data // *Genetics*. 2000. V.155. P. 945-959.
257. Plaschke, J., H. Voss, M. Hahn, W. Ansorge, and H.K. Schackert. Doublex sequencing in molecular diagnosis of hereditary diseases // *BioTechniques*. 1998. V. 24. P. 838-841.
258. Polley S., De S., Brahma B., Mukherjee A., Vinesh P.V., Batabyal S., Arora J.S., Pan S., Samanta A.K., Datta T.K., Goswami S.L. Polymorphism of BMPR1B, BMP15 and GDF9 fecundity genes in prolific Garole sheep // *Tropical Animal Health and Production*. 2009. № 42. P. 985-993.

259. R Core Team (2015) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, URL <http://www.R-project.org/>
260. Rahbar R., Rahimi G., Ansari Pirsaraei Z., Gholizadeh M. Identification of polymorphism in promoter region of growth hormone receptor (GHR) gene and its association with milk related traits in Holstein cows // African Journal of Biotechnology. 2010. V. 9(33). P. 5460-5464.
261. Raina S.N., Rani V., Kojima T., Ogihara Y., Singh K.P., Devarumath R.M. RAPD and ISSR fingerprints for analysis of genetic diversity, varietal identification, and phylogenetic relationships in peanut (*Arachis hypogaea*) cultivars and wild species. // Genome. 2001. V. 44. № 5. P. 763-772.
262. Ramos A.M., Matos C.A.P., Russo-Almeida P.A., Bettencourt C.M.V., Matos J., Martins A., Pinheiro C., Rangel-Figueiredo T. Candidate genes for milk production traits in Portuguese dairy sheep, Small Ruminant Res. 2009. V. 82. P. 117-121.
263. Rasmusen B.A. Blood groups in sheep. I. The X-Z – system // Genetics. 1958. V. 43. P. 814-821.
264. Rasmusen B.A., Stormant C., Suzuki Y. Blood groups in sheep. III. The A, C, D and B – system // Genetics. 1960. V. 145. P. 1595-1603.
265. Ricordeau G., Thimonier J., Poivey J.P., Driancourt M.A., Hochereau-de-Reviers M.T., Tchamitchian L: INRA. Research on the Romanov sheep breed in France: a review // Livest. Prod. Sci. 1990. V. 24. P. 305-332.
266. Rothschild, M.F., Messer, L., Day, A., Wales, R., Short, T., Southwood, O., Plastow, G. Investigation of the retinol-binding protein 4 (RBP4) gene as a candidate gene for increased litter size in pigs // Mammalian Genome. 2000. 11 (1). P. 75-77.
267. Rotschild M., Jacobson C., Vaske D.A., et al. The estrogen receptor locus is associated with a major litter size in pigs // Proc. Nat Acad. Sci. 1996. V. 93. P. 201-205.
268. Rotschild M.F., Larson R.G., Jacobson C., Pearson P. Pvu II polymorphisms at the porcine oestrogen receptor locus (ESB). // Anim. Genet. 1991. 22(5): 448.
269. Rupp R., Mucha S., Larroque H., McEwan J., Conington J. Genomic application in sheep and goat breeding // Animal Frontiers. 2016. V. 6. № 1. P. 39-44. doi:10.2527/af.2016-0006
270. Saiki R.K., Gelfand D.H., Stoffel S. et al. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA Polymerase. // Science. 1988. V. 239. № 4839. P. 487-491.
271. SanCristobal M., Chevalet C., Peleman J. et al. Genetic diversity in European pigs utilizing amplified fragment length polymorphism markers // Anim. Genet. 2006. V. 37. P. 232–238.
272. Santana B.A., Biase F.H., Antunes R.C. Association of the estrogen receptor gene Pvu II restriction polymorphism with expected progeny differences for reproductive and performance traits in swine herds in Brazil // Genetics and Molecular Biology. 2006. V. 29. № 2. P. 273-277.
273. Sasvari-Szekely M, Gerstner A, Ronai Z, Staub M, Guttman A. Rapid genotyping of factor V Leiden mutation using single-tube bidirectional allele-specific amplification and automated ultrathin-layer agarose gel electrophoresis // Electrophoresis. 2000. V. 21. № 4. P. 816-21.
274. Schenkel F.S., Miller S.P., Ye X., Moore S.S., Nkrumah J.D., Li C., Yu J., Mandell I.B., Wilton J.W., Williams J.L. Association of single nucleotide polymorphisms in the leptin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle // J. Anim. Sci. 2005. V. 83. № 9. P. 2009-2020.
275. Shafieiyan Z., Mohammadi G., Jolodarzadeh A., Amiri S. No mutations of FecB and FecG^H in Iranian Lory sheep // Veterinary Research Forum. 2013. V. 4. № 4. P. 265-268.
276. Sharifzadeh A., Doosti A. Investigation of leptin gene polymorphism in Iranian native cattle // Bulgarian Journal of Veterinary Medicine. 2012. V. 15. № 2. P. 86-92.

277. Shin S. C., Chung E. R. Association of SNP Marker in the Leptin Gene with Carcass and Meat Quality Traits in Korean Cattle // *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* 2007. V. 20. № 1. P. 1-6.
278. Short T.H., Rothschild F., Southwood O.I., et al. Effect of the estrogen receptor locus on reproduction and production traits in four commercial pig lines // *J. Animal Sci.* 1997. V. 75. P. 3138-3142.
279. Song C., Gao B., Teng Y., Wang X., Wang Z., Li O., Mi H., Jing R., Mao J. Msp I polymorphisms in the 3rd intron of the swine POU1F1 gene and their associations with growth performance // *J. Apple Genetic.* 2005. V. 46. № 3. P. 285-289.
280. Southern E. M. Long range periodicities in mouse satellite DNA. // *J. Mol. Biol.* 1975. V.94. №1. P. 51-69.
281. Souza C.J., MacDougall C., Campbell B.K., McNeilly A.S., Baird D.T. The Booroola (FecB) phenotype is associated with a mutation in the bone morphogenetic receptor type 1 B (BMPRI1B) gene // *J. Endocrinol.* 2001. 169. R1-R6.
282. Souza F.R.P., Mercadante M.E.Z., Fonseca L.F.S., Ferreira L.M.S., Regatieri I.C., Ayres D.R., Tonhati H., Silva S.L., Razook A.G., Albuquerque L.G. Assessment of DGAT1 and LEP gene polymorphisms in three Nelore (*Bos indicus*) lines selected for growth and their relationship with growth and carcass traits // *J. Anim. Sci.* 2010. V. 88. P. 435-441.
283. Staiger E.A., Thonney M.L., Buchanan J.W., Rogers E.R., Oltenacu P.A., Mateescu R.G. Effect of prolactin, β -lactoglobulin, and κ -casein genotype on milk yield in East Friesian sheep // *J. Dairy. Sci.* 2010. V. 93. P. 1736-1742.
284. Sulimova G.E., Ahani Azari M., Rostamzadeh J., Mohammad Abadi M.R., Lazebny O.E. κ -Casein Gene (CSN3) Allelic Polymorphism in Russian Cattle Breeds and Its Information Value as a Genetic Marker // *Russian Journal of Genetics.* 2007. V. 43. № 1, P. 73-79.
285. Szreder T., Zwierzchowski L. Estrogen receptors and their genes-potential markers of functional and production traits of farm animals // *Mol. Biol. Rep.* 2007. 34(4): 207-11.
286. Szreder T., Zwierzchowski L. RFLP- TspRI polymorphism within exon 1 of the bovine estrogen receptor- α (ER- α) gene // *Animal Science Papers and Reports.* 2004. V. 22. P. 543-549.
287. Szreder T., Zwierzchowski L. Polymorphism within the bovine estrogen receptor α gene 5'-region // *J. Applied Genet.* 2004. V. 45. P. 225-236.
288. Tania M.S., Vijn R.K., Mishra B.P., Mishra B., Kumar S.T.B., Sodhi M. DGAT1 and ABCG2 polymorphism in Indian cattle (*Bos indicus*) and buffalo (*Bubalus bubalis*) breeds // *BMC Veterinary Research.* 2006. № 2. P. 32.
289. Tanyolac B. Inter-simple sequence repeat (ISSR) and RAPD variation among wild barley (*Hordeum. vulgare* subsp. *spontaneum*) populations from west Turkey // *Genetic Resources and Crop Evolution.* 2003. № 50. P. 611-614.
290. Tapio M., Marzanov N., Ozerov M., Cinkulov M., Gonzarenko G. et al. Sheep mitochondrial DNA variation in European, Caucasian, and Central Asian areas // *Mol. Biol. Evol.* 2006. 23. P. 1776-1783.
291. Tautz D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers // *Nucleic Acids Res.* 1989. V. 17. № 16. P. 6463-6471.
292. Thomas C.M., Vos P., Zabeau M., Jones D.A., Norcott K.A., Chadwick B.P., Jones J.D.G. Identification of amplified restriction fragment polymorphism (AFLP) markers tightly linked to the tomato Cf-9 gene for resistance to *Cladosporium fulvum* // *Plant Journal.* 1995. V. 8. № 5. P. 785.

293. Thomsen B., Horn P., Panitz F., Bendixen E., Petersen A.H., Holm L.-E., Nielsen V. H., Agerholm J.S., Arnbjerg J., Bendixen C. A missense mutation in the bovine SLC35A3 gene, encoding a UDP-N-acetylglucosamine transporter, causes complex vertebral malformation // *Genome Res.* 2006. V. 16. P. 97-105.
294. Vallet J.L., Freking B.A., Leymaster K.A., Christenson R.K. Allelic variation in the erythropoietin receptor gene is associated with uterine capacity and litter size in swine // *Animal Genetics.* 2005. V. 36. № 2. P. 97-103.
295. Varela M.A., González-Tizón A., Mariñas L., Martínez-Lage A. Genetic divergence detected by ISSR markers and characterization of microsatellite regions in *Mytilus* mussels. // *Biochem Genet.* 2007. V. 45. № 7-8. P. 565-78.
296. Viitala S., Szyda J., Blott S., Schulman N., Lidauer M., Asko Maki-Tanila, Georges M., Vilkki J. The Role of the Bovine Growth Hormone Receptor and Prolactin Receptor Genes in Milk, Fat and Protein Production in Finnish Ayrshire Dairy Cattle // *Genetics.* 2006. 173. P. 2151-2164.
297. Vincent A.L., Rothschild, M.F. Rapid communication: A restriction fragment length polymorphism in the ovine prolactin gene // *J. Anim. Sci.*, 1997. V. 75. P. 1686.
298. Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., van de Lee T., Hornes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M. AFLP: a new technique for DNA fingerprint. // *Nucleic Acids Res.* 1995. V. 23. № 21. P. 4407-4414.
299. Wang X., Wang A., Fu J., Lin H. Effects of ESR1, FSHB and RBP4 genes on litter size in a Large White and a Landrace herd // *Archiv fur Tierzucht.* 2006. V. 49. № 1. P. 64-70.
300. Ward R.J., Travers M.T., Richards S.E., Vernon R.G., Salter A.M., Buttery P.J., Barber M.C. Stearoyl-CoA desaturase mRNA is transcribed from a single gene in the ovine genome // *Biochimica et Biophysica Acta.* 1998. 1391. P. 145-156.
301. Weber J.L., May P.E. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction // *Amer. J. Hum. Genet.* 1989. V. 44. N3. P. 388-396.
302. Wilson T., Wu, Xi-Yang, Juengel J.L., Ross I.K., Lumsden J.M., Lord E.A., Dodds K.G., Walling G.A., McEwan J.C., O'Connell A.R., McNatty K.P., Montgomery, G.W. Highly prolific Booroola sheep have a mutation in the intracellular kinase domain of bone morphogenetic protein IB receptor (ALK-6) that is expressed in both oocytes and granulosa cells // *Biol. Reprod.* 2001. № 64. P. 1225-1235.
303. Xiao-Dan B., Ming-Xing C., Hai-Guo J., Li F., Su-Cheng Y. Estrogen receptor as a candidate gene for prolificacy of Small Tail Han sheep // *Acta Genetica Sinica.* 2005. V. 32. P. 1060-1065.
304. Zeder M.A. Domestication and early agriculture in the Mediterranean Basin: Origins, diffusion, and impact // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2008. 105. P. 11597-11604.
305. Zhang D., Chen S., Chen S., Zhang D., Gao Q. Patterns of genetic variation in *Swertia przewalskii*, an endangered endemic species of the Qinghai-Tibet Plateau. // *Biochem Genet.* 2007. V. 45. № 1-2. P. 33-50.
306. Zhu K.Y., Clark J.M. Addition of a competitive primer can dramatically improve the specificity of PCR amplification of specific alleles // *Biotechniques.* 1996. V. 21. № 4. P. 586- 590.
307. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome Fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. // *Genomics.* 1994. V. 20. № 2. P. 176-183.

Приложение 1. Частоты встречаемости ISSR-фрагментов, полученные с помощью праймера (AG)₉C, у 33 популяций девяти пород овец

Фрагменты	ИРФ	Романовская Авангард	Романовская Земледелец	Романовская Дружба	Романовская Заречье	Романовская Красный Перекоп	Дагестанская Дарада-Мурада	Монгольская Южный Гоби	Монгольская Холь	Монгольская Дархат	Тексель Александровское	Эдильбаевская Александровское	Телегитская Алтай	Тувинская Амык	Тувинская Амырлан	Тувинская Бай-Тал	Тувинская Бай-Хол	Тувинская Белдир
		n=80	40	40	100	40	100	43	50	48	40	49	50	60	60	60	60	60
A1	2500-2300																	
A2	2100-2000							0,093	0,220	0,152								
A3	1900-1800									0,364								
A4	1750-1700																	
A5	1650-1600									0,242								
A6	1550-1500	0,925	1,000	0,950	0,930	1,000	1,000	0,977	1,000	0,970	1,000	0,980	1,000			1,000	1,000	1,000
A7	1450-1400									0,152								
A8	1350-1300																	
A9	1290-1240	0,563	0,650	0,125			1,000	0,628	0,960	0,455	0,850	0,837	1,000			0,367	0,500	0,483
A10	1230-1180	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,983	1,000	1,000
A11	1170-1120						1,000					0,175						
A12	1110-1060	0,350	0,550	0,050	0,040		1,000		1,000	0,273		0,041				0,717	0,950	0,833
A13	1050-1000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,050	1,000	1,000	1,000
A14	990-940	0,475	0,950	0,400	0,230		1,000	1,000	0,860	0,879	1,000	1,000	1,000	0,450	0,050	1,000	1,000	0,900
A15	930-880								0,100								0,033	
A16	870-820	0,825	0,650	0,525	0,600	0,850	1,000	0,395	0,760	0,394	0,525	0,469	0,520	0,967		0,500	0,800	0,700
A17	810-760								0,140		0,125			0,017		0,050	0,083	0,133
A18	750-720	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,983	0,983	1,000
A19	710-680	0,013			0,010				0,080	0,030		0,041				0,050	0,133	0,017
A20	670-640								0,060						0,017	0,017	0,017	
A21	630-600	0,988	1,000	1,000	0,950	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
A22	590-560	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,667	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
A23	550-530				0,130		1,000		0,300		0,125		0,320				0,017	0,017
A24	520-500	0,613	0,800	0,175	0,170	0,100	0,020	0,279	0,960	0,091	0,575	0,122	0,240	0,333	0,483	0,117	0,483	0,300
A25	490-470	1,000	1,000	1,000	0,970	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
A26	460-440	0,850	0,975	0,975	0,960	0,725	1,000	0,884	0,760	0,242	0,925	0,939	0,740	0,917	0,617	0,617	0,850	0,517
A27	430-410	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
A28	400-380	0,025	0,050		0,020		0,090	0,023	0,360	0,061	1,000		0,100	0,317		0,067	0,167	0,150
A29	370-360	0,875	1,000	0,700	0,650	0,150	1,000	1,000	0,960	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,983
A30	350-340		0,025							0,121		0,020					0,050	
A31	330-320	0,413	0,200		0,270		1,000	0,791	0,740	0,242	0,725	0,245	1,000	0,883	0,950	0,550	0,950	0,717
A32	310-300	0,975	0,975	0,950	0,820	1,000	1,000	0,837	1,000	0,818	1,000	0,878	1,000	1,000	0,650	1,000	1,000	1,000
A33	290-280	1,000	1,000		0,060	0,425		0,907	1,000	1,000	0,650	0,367	0,060	0,967	0,983	0,733	1,000	1,000
A34	270-260			0,825	0,960	0,275	1,000	0,256	0,580	0,091	0,125	0,102	0,100	0,883	0,650	0,367	0,983	0,983
A35	250-240	0,225	0,100					0,349	0,460	0,576		0,224	0,520		0,833	0,133	0,100	0,050
A36	230-220	0,638	0,925	1,000	0,700	0,800	1,000	0,442	0,500	0,121	0,475		0,040	1,000		0,717	1,000	0,883
A37	210-200																0,517	
A38	180-160							0,419							0,083			

Продолжение

Фрагменты	ИРФ	Тувинская Биче-Гей	Тувинская Иртиш	Тувинская Кочкарлыг	Тувинская Кызыльская	Тувинская Малчын	Тувинская Моген-Бурен	Тувинская ХакасскаяМК	Тувинская Салгы-Бажы	Тувинская Сай-Хонаш	Тувинская Чаа-Суур	Тувинская Чога-Суур	Тувинская Чолураа	Тувинская Ямаалык	Тувинская Дуза	Калмыцкая Калмыкия	Буузой Бурятия	Всего
		n=60	60	57	29	60	60	60	60	33	58	60	60	58	59	30	29	
A1	2500-2300																	1798
A2	2100-2000																	0,011
A3	1900-1800																	0,007
A4	1750-1700																	
A5	1650-1600			0,526							0,655			0,328				0,053
A6	1550-1500	1,000	1,000	1,000		0,167		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000		1,000		1,000	1,000	0,780
A7	1450-1400																	0,003
A8	1350-1300																	
A9	1290-1240	0,600	0,717						0,917				0,283					0,346
A10	1230-1180	1,000	0,800	1,000	0,655	0,917	0,950	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,983	1,000	0,983	1,000	1,000	0,982
A11	1170-1120		0,783								0,034	0,017		0,103		0,633	0,138	0,103
A12	1110-1060	0,867	0,950								0,069			0,103				0,270
A13	1050-1000	1,000	1,000	1,000	0,069	0,917	0,683	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,417	1,000	0,983	1,000	1,000	0,920
A14	990-940	1,000	1,000	1,000	0,138	0,333	0,067	1,000	1,000	1,000	1,000	0,883		1,000	0,254	1,000	0,448	0,700
A15	930-880	0,033																0,005
A16	870-820	0,717	0,967	0,368	0,517	0,417	0,217	0,600	0,467	0,939	0,500	0,400	0,233	0,328	0,525	0,567	0,310	0,576
A17	810-760	0,033		0,070	0,345		0,083	0,017				0,033			0,017			0,030
A18	750-720	1,000	1,000	1,000	0,690	0,983	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,983	1,000	1,000	0,993
A19	710-680	0,100	0,033			0,017	0,050				0,069		0,100	0,103	0,305			0,037
A20	670-640																	0,003
A21	630-600	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,997
A22	590-560	1,000	1,000	1,000	1,000	0,983	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,667	1,000	1,000	1,000	1,000	0,982
A23	550-530					0,017		0,017			0,017						0,034	0,086
A24	520-500	0,300	0,350		0,069	0,050	0,067	0,550	0,600	0,545	0,103	0,150	0,067	0,259			0,207	0,274
A25	490-470	1,000	1,000	1,000	1,000	0,983	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,983	1,000	1,000	1,000	1,000	0,997
A26	460-440	0,700	0,850	0,263	0,448	0,500	0,417	0,983	0,933	0,788	0,328	0,433	0,517	0,655	0,458	0,467	0,448	0,707
A27	430-410	1,000	1,000	1,000	0,966	0,983	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,999
A28	400-380	0,183	0,217	0,105	0,207	0,167	0,100	0,150	0,100	0,152	0,052	0,167	0,100	0,052	0,305	0,000	0,103	0,132
A29	370-360	0,967	0,983	1,000	0,759	1,000	0,900	1,000	1,000	1,000	0,966	0,983	0,967	1,000	0,542	0,967	1,000	0,920
A30	350-340	0,017				0,033	0,083						0,067					0,012
A31	330-320	0,850	0,917	0,456	0,276	0,583	0,183	1,000	1,000	1,000	0,948	0,700	0,133	0,862	0,356	0,600	0,828	0,633
A32	310-300	1,000	0,983	1,000	0,207	0,283	0,333	0,900	1,000	1,000	0,948	0,883	0,833	1,000	0,966	0,900	0,448	0,879
A33	290-280	0,950	0,467	1,000		0,067	0,400	1,000	1,000	0,970	1,000	1,000	0,433	1,000	0,102		0,345	0,630
A34	270-260	0,983							1,000	0,848	0,500	0,750	0,150		0,068			0,425
A35	250-240		0,017	0,456			0,233	0,467			0,603	0,683		0,552	0,068		0,207	0,206
A36	230-220	0,983	0,467	0,596			0,033	0,533	0,083			0,050	0,217	0,466	0,627			0,476
A37	210-200						0,117		0,033	0,364			0,183	0,083	0,069		0,034	0,041
A38	180-160								0,217				0,067					0,022

Приложение 2. Схема расчета коэффициента генетической оригинальности (КГО) генофонда романовской породы овец на основании полиморфизма AG- и GA-ISSR-PCR маркеров

Исходная матрица присутствия/отсутствия ISSR-фрагментов у особей							«Взвешенные» на основе частоты встречаемости в выборке значения присутствия/отсутствия ISSR-фрагментов							Σ	КГО= Σ/n	Log КГО	КГО по шкале
Номер в популяции	A6	A9	A12	A14	A16	...	Номер в популяции	A6	A9	A12	A14	A16	...				
PO A26	1	1	0	0	1	...	PO A26	0,05	2,95	0,23	0,62	0,45	...	22,99	0,66	-0,42	3
PO A27	1	1	0	0	1	...	PO A27	0,05	2,95	0,23	0,62	0,45	...	21,29	0,61	-0,50	3
PO A28	1	1	1	1	1	...	PO A28	0,05	2,95	4,36	1,61	0,45	...	42,54	1,22	0,20	4
PO A29	1	1	0	1	1	...	PO A29	0,05	2,95	0,23	1,61	0,45	...	67,73	1,94	0,66	4
PO A30	1	1	0	0	1	...	PO A30	0,05	2,95	0,23	0,62	0,45	...	15,32	0,44	-0,83	2
PO A31	1	1	0	1	1	...	PO A31	0,05	2,95	0,23	1,61	0,45	...	72,58	2,07	0,73	5
PO A32	0	0	0	0	1	...	PO A32	19,00	0,34	0,23	0,62	0,45	...	68,45	1,96	0,67	4
PO A33	0	0	0	1	1	...	PO A33	19,00	0,34	0,23	1,61	0,45	...	80,80	2,31	0,84	5
...
PO КП37	1	0	0	0	1	...	PO КП37	0,05	0,34	0,23	0,62	0,45	...	67,21	1,92	0,65	4
PO КП38	1	0	0	0	1	...	PO КП38	0,05	0,34	0,23	0,62	0,45	...	58,39	1,67	0,51	4
PO КП39	1	0	0	0	0	...	PO КП39	0,05	0,34	0,23	0,62	2,23	...	18,83	0,54	-0,62	2
PO КП40	1	0	0	0	1	...	PO КП40	0,05	0,34	0,23	0,62	0,45	...	9,80	0,28	-1,27	1
Количество "1"	285	76	56	115	207	...	Количество "1"	285	76	56	115	207	...				
Количество "0"	15	224	244	185	93	...	Количество "0"	15	224	244	185	93	...				
Вес "1"	$\frac{15}{285}$	$\frac{224}{76}$	$\frac{244}{56}$	$\frac{185}{115}$	$\frac{93}{207}$...	Вес "1"	0,05	2,95	4,36	1,61	0,45	...				
Вес "0"	$\frac{285}{15}$	$\frac{76}{224}$	$\frac{56}{244}$	$\frac{115}{185}$	$\frac{207}{93}$...	Вес "0"	19,00	0,34	0,23	0,62	2,23	...				

Примечание. Σ - сумма «весов» всех ISSR-фрагментов для каждой особи. КГО= Σ/n – коэффициент генетической оригинальности особи как частное полученной суммы и количества проанализированных ISSR-фрагментов (n=35). Log КГО – логарифм КГО по основанию 2. «КГО по шкале» - градация значения КГО по 5-бальной шкале.

Приложение 3. Генетические расстояния (Nei, 1978) между 33 популяциями девяти пород овец

	Авангард	Земледелец	Дружба	Заречье	Красный Перекоп	Дагестанская	Южный Гоби	Холь	Дархат	Тексель	Эдильбаевская	Теленгитская	Амык	Амырлан	Бай-Тал	Бай-Хол	Белдир	Биче-Тей	Иртиш	Кошкарлыг	Кызыльская	Малчын	Моген-Бурен	ХакасскаяМК	Саглы-Бажы	Сай-Хонаш	Чаа-Суур	Чога-Суур	Чодураа	Ямаалык	Дуза	Калмыцкая		
Авангард	****																																	
Земледелец	0.0225	****																																
Дружба	0.0700	0.0814	****																															
Заречье	0.0714	0.1057	0.0155	****																														
Красный Перекоп	0.0465	0.0908	0.0293	0.0349	****																													
Дагестанская	0.2505	0.2131	0.2150	0.2304	0.2795	****																												
Южный Гоби	0.0409	0.0337	0.0894	0.0875	0.1004	0.2146	****																											
Холь	0.0545	0.0469	0.1549	0.1556	0.1426	0.1760	0.0794	****																										
Дархат	0.0469	0.0618	0.1288	0.1200	0.1058	0.3225	0.0398	0.0969	****																									
Тексель	0.0798	0.0628	0.1188	0.1269	0.1258	0.2077	0.0470	0.0902	0.0982	****																								
Эдильбаевская	0.0594	0.0530	0.0827	0.0788	0.0927	0.2174	0.0181	0.1014	0.0556	0.0471	****																							
Теленгитская	0.1031	0.1031	0.1439	0.1385	0.1440	0.1725	0.0437	0.1029	0.1042	0.0549	0.0380	****																						
Амык	0.0649	0.0898	0.0762	0.0864	0.1061	0.2187	0.0965	0.1406	0.1332	0.1331	0.1376	0.1689	****																					
Амырлан	0.1149	0.1710	0.1785	0.1453	0.1834	0.4150	0.1172	0.1912	0.1166	0.2032	0.1562	0.1855	0.1227	****																				
Бай-Тал	0.0479	0.0335	0.0728	0.0847	0.0786	0.1789	0.0244	0.0641	0.0496	0.0536	0.0322	0.0592	0.0985	0.1613	****																			
Бай-Хол	0.0858	0.0559	0.1153	0.1332	0.1518	0.1284	0.0750	0.0567	0.1233	0.1086	0.1232	0.1297	0.0794	0.2084	0.0480	****																		
Белдир	0.0511	0.0474	0.0851	0.0887	0.0955	0.1632	0.0571	0.0463	0.0730	0.0938	0.0922	0.1136	0.0704	0.1585	0.0315	0.0152	****																	
Биче-Тей	0.0719	0.0516	0.0840	0.0978	0.1123	0.1261	0.0578	0.0550	0.0997	0.0868	0.0906	0.1009	0.0777	0.1939	0.0302	0.0060	0.0072	****																
Иртиш	0.0818	0.0733	0.1299	0.1332	0.1218	0.1172	0.0632	0.0715	0.1118	0.0732	0.0628	0.0642	0.1424	0.2240	0.0401	0.0825	0.0811	0.0690	****															
Кошкарлыг	0.0489	0.0463	0.1137	0.1232	0.0957	0.2887	0.0303	0.1003	0.0291	0.0745	0.0561	0.0916	0.1135	0.1437	0.0249	0.0872	0.0539	0.0680	0.0947	****														
Кызыльская	0.1556	0.2254	0.1503	0.1251	0.1394	0.4638	0.1703	0.2852	0.1675	0.2266	0.1507	0.2241	0.1924	0.0992	0.1784	0.3153	0.2421	0.2690	0.2112	0.2022	****													
Малчын	0.0982	0.1471	0.1055	0.0802	0.1098	0.3567	0.0882	0.2055	0.0894	0.1437	0.0786	0.1343	0.1218	0.0770	0.1056	0.2229	0.1637	0.1852	0.1403	0.1232	0.0349	****												
Моген-Бурен	0.0942	0.1554	0.1057	0.0834	0.0988	0.4137	0.1080	0.2125	0.0955	0.1721	0.0988	0.1717	0.1345	0.0579	0.1267	0.2489	0.1732	0.2042	0.1771	0.1308	0.0247	0.0125	****											
ХакасскаяМК	0.0527	0.0443	0.1285	0.1258	0.1295	0.2375	0.0200	0.0901	0.0688	0.0658	0.0630	0.0740	0.0979	0.1290	0.0486	0.0717	0.0717	0.0717	0.0759	0.0437	0.2251	0.1330	0.1595	****										
Саглы-Бажы	0.0912	0.0837	0.1525	0.1314	0.1726	0.1848	0.0463	0.0768	0.1063	0.0796	0.0816	0.0681	0.1167	0.1613	0.0731	0.0601	0.0507	0.0515	0.1055	0.0899	0.2915	0.1930	0.2210	0.0559	****									
Сай-Хонаш	0.0698	0.0763	0.1341	0.1120	0.1250	0.2040	0.0409	0.0893	0.0855	0.0746	0.0750	0.0739	0.0888	0.1435	0.0505	0.0618	0.0497	0.0540	0.0726	0.0578	0.2361	0.1452	0.1778	0.0296	0.0306	****								
Чаа-Суур	0.0634	0.0772	0.1413	0.1230	0.1175	0.2737	0.0307	0.0978	0.0398	0.0880	0.0671	0.0779	0.1234	0.1200	0.0429	0.0872	0.0568	0.0701	0.0914	0.0181	0.2047	0.1239	0.1376	0.0317	0.0593	0.0318	****							
Чога-Суур	0.0423	0.0608	0.1051	0.0851	0.0908	0.2697	0.0248	0.0814	0.0262	0.0798	0.0533	0.0817	0.1045	0.0921	0.0401	0.0836	0.0409	0.0634	0.1003	0.0253	0.1745	0.1007	0.1050	0.0409	0.0517	0.0387	0.0152	****						
Чодураа	0.0998	0.1549	0.1064	0.0914	0.1025	0.4024	0.1214	0.2155	0.0891	0.1726	0.1110	0.1795	0.1235	0.0651	0.1273	0.2395	0.1679	0.1982	0.1879	0.1343	0.0460	0.0289	0.0192	0.1710	0.2176	0.1781	0.1527	0.1202	****					
Ямаалык	0.0452	0.0415	0.1194	0.1228	0.1059	0.2583	0.0191	0.0839	0.0371	0.0647	0.0527	0.0708	0.1052	0.1255	0.0250	0.0730	0.0528	0.0617	0.0769	0.0076	0.2117	0.1245	0.1390	0.0171	0.0637	0.0361	0.0117	0.0216	0.1433	****				
Дуза	0.0724	0.1327	0.0576	0.0555	0.0461	0.3297	0.1035	0.1844	0.1086	0.1346	0.0939	0.1429	0.0863	0.1118	0.0945	0.1945	0.1356	0.1505	0.1412	0.1123	0.0609	0.0392	0.0322	0.1480	0.1995	0.1506	0.1292	0.1085	0.0411	0.1207	****			
Калмыцкая	0.0808	0.0893	0.0884	0.0792	0.0768	0.2267	0.0386	0.1407	0.0659	0.0698	0.0279	0.0585	0.1494	0.1654	0.0339	0.1388	0.0996	0.1001	0.0551	0.0507	0.1382	0.0712	0.0947	0.0705	0.1148	0.0669	0.0541	0.0563	0.1097	0.0500	0.0791	****		
Буубэй	0.0654	0.0943	0.0875	0.0659	0.0760	0.2872	0.0445	0.1361	0.0550	0.0919	0.0486	0.0772	0.1336	0.1010	0.0592	0.1543	0.1038	0.1231	0.0939	0.0676	0.1056	0.0370	0.0564	0.0681	0.1225	0.0817	0.0602	0.0443	0.0804	0.0615	0.0723	0.0304		

Приложение 4. Дендрограмма кластерного анализа изученных популяций 9 пород овец, построенная методом BIONJ (Gascuel, 1997) с помощью программы SplitsTree4 V4.13.1. Масштаб указывает генетические расстояния (Nei, 1978).

