

УДК: 636.2:575:57.08

Поліморфізм мікросателітних маркерів ДНК двох порід великої рогатої худоби**Н.М.Шкавро¹, А.Радко², Е.Слота², В.І.Россоха¹**¹*Інститут тваринництва УААН (Харків, Україна)*²*Інститут зоотехніки (Краків, Польща)*

У статті наведено результати досліджень по вивченню поліморфізму 10 мікросателітних локусів ДНК великої рогатої худоби шаролезької та сірої української порід. За використання ДНК-аналізатора ABI PRISM 3110 методом автоматичного аналізу довжин ампліфікованих фрагментів ідентифіковано 101 алель за дослідженими локусами. Розраховані частоти алелів та ступені гетерозиготності. Найбільша кількість алелів спостерігалась у локусі TGLA53 (10 алелів) у худоби породи шароле. Всі мікросателітні ДНК-маркери показали високий ступень поліморфізму.

Ключові слова: ДНК, мікросателітні локуси, поліморфізм, ступень гетерозиготності.

Полиморфизм микросателлитных маркеров ДНК двух пород крупного рогатого скота**Н.Н.Шкавро, А.Радко, Е.Слота, В.И.Россоха**

В статье приведены результаты исследований по изучению полиморфизма 10 микросателлитных локусов ДНК крупного рогатого скота шаролезской и серой украинской пород. Методом автоматического анализа длин амплифицированных фрагментов с помощью ДНК-анализатора ABI PRISM 3110 идентифицировано 101 аллель. Рассчитаны частоты аллелей и степени гетерозиготности. Наибольшее количество аллелей наблюдалось в локусе TGLA53 (10 аллелей) для породы шароле. Все микросателлитные ДНК-маркеры характеризовались высоким уровнем полиморфизма.

Ключевые слова: ДНК, микросателлитные локусы, полиморфизм, степень гетерозиготности.

Microsatellite DNA loci polymorphism of two cattle breeds**N.N.Shkavro, A.Radko, E.Slota, V.I.Rossokha**

This article highlights the investigation results of the study of 10 microsatellite DNA loci polymorphism of 2 cattle breeds. 101 alleles were identified using the automated DNA sizing technology by DNA-analyzer ABI PRISM 3110. Alleles frequencies and heterozygosity degrees were calculated. The most of alleles were identified in TGLA53 locus (10 alleles) in Charolaise cattle. All the microsatellite DNA markers showed high polymorphism.

Key words: DNA, microsatellite loci, polymorphism, heterozygosity degree.

Вступ

На сучасному рівні розвитку науки важливим є питання збереження генетичної мінливості сільськогосподарських тварин, яка має тенденцію до збільшення завдяки інтенсивному і однобічному схрещуванню. Детальний аналіз геному тварин із залученням сучасних методів його дослідження є вельми важливою складовою племінної роботи. В нашій країні вивчення геному сільськогосподарських тварин традиційно проводилося, базуючись на аналізі поліморфізму еритроцитарних антигенів, білків та ферментів крові. Мікросателітні послідовності ДНК в якості генетичних маркерів, завдяки високому ступеню поліморфізму, менделівському типу успадкування та можливості комп'ютерного аналізу, останнім часом широко використовуються як у теоретичних дослідженнях, так і в прикладній генетиці.

У геномі великої рогатої худоби ідентифіковано більше 2000 мікросателітних послідовностей ДНК – це короткі 1–6-нуклеотидні тандемні повтори, довжиною до 200 пар нуклеотидів, характеризуються високим рівнем поліморфізму, великою кількістю алелів, у середньому 6–8 на локус, та високим рівнем інформативності (Hirano et al., 1996; Ma et al., 1996; Edwards et al., 1991; Janik et al., 2003). Кількість повторів у різних організмів строго індивідуальна, у той час як фланкуючі регіони, до яких відбувається приєднання праймерів, є незмінними.

Поліморфізм мікросателітних локусів використовують у програмах картування геному, при вивченні генетичної структури породи, в аналізі генетичних відстаней між лініями, породами та популяціями, в оцінці генетичної варіабельності і внутрішньовидової спорідненості, а також для прогнозування можливого гетерозисного ефекту при схрещуванні (Ma et al., 1996; Janik et al., 2003;

Machugh et al., 1998; Peelman et al., 1998; Moazami-Goudarzi et al., 1997; Martin-Burriel et al., 1999). Але одним із найбільш розроблених та впроваджених напрямків використання цих маркерів є перевірка вірогідності походження племінних тварин (їх паспортизація) при аналізі спадкової інформації безпосередньо на рівні ДНК (Heyen et al., 1997; Witek-Zawada, Radko, 2006).

Сіра українська порода великої рогатої худоби є однією з унікальних аборигенних порід, походить від прадавнього тура, зберігає неповторний комплекс закономірностей еволюції порід та може виступати джерелом незамінного генетичного матеріалу в процесі створення нових порід. Досліджуване стадо шаролезької худоби характеризується значним ступенем інбридингу та, з цієї точки зору, виступає унікальним генетичним об'єктом.

Метою наших досліджень був аналіз поліморфізму 10 мікросателітних маркерів ДНК, оцінка рівня гомо- та гетерозиготності, алельного спектру тварин шаролезької та сірої української порід великої рогатої худоби.

Матеріали та методи досліджень

Матеріалом дослідження виступали 50 голів великої рогатої худоби, в тому числі 23 голови великої рогатої худоби породи шароле (ДП племзавод «Гонтарівка» ІТ УААН) та 27 голів худоби сірої української породи (ДПДГ «Поліванівка» ІТЦР УААН), які складають племінне ядро досліджуваних стад.

ДНК виділяли зі 100 мкл периферійної крові, відібраної з хвостової вени в пробірці з антикоагулянтом ЕДТА, за використання методу фенол-хлороформної екстракції (Blin, Stafford, 1976) та сорбенту Chelex-100 (Walsh et al., 1991). Мікросателітний поліморфізм був проаналізований, базуючись на 10 маркерах, що рекомендовані ISAG для диференціації порід великої рогатої худоби, тип флуоресцентного барвника та очікуваний діапазон довжин алелів наведені у табл. 1.

Таблиця 1.

Характеристика праймерів для ампліфікації 11 мікросателітних послідовностей ДНК великої рогатої худоби

	Локус		Послідовності праймерів (5'-3')	Хромосома	Розмір (п.н.)
1	BM1824	Forward	NED – GAG CAA GGT GTT TTT CCA ATC	1	178–196
		Reverse	CAT TCT CCA ACT GCT TCC TTG		
2	BM2113	Forward	FAM – GCT GCC TTC TAC CAA ATA CCC	2	125–143
		Reverse	CTT CCT GAG AGA AGC AAC ACC		
3	INRA023	Forward	JOE – GAG TAG AGC TAC AAG ATA AAC TTC	3	197–223
		Reverse	TAA CTA CAG GGT GTT AGA TGA ACT C		
4	SPS115	Forward	FAM – AAA GTG ACA CAA CAG CTT CTC CAG	15	240–262
		Reverse	AAC GAG TGT CCT AGT TTG GCT GTG		
5	TGLA53	Forward	FAM – GCT TTC AGA AAT AGT TTG CAT TCA	16	144–190
		Reverse	ATC TTC ACA TGA TAT TAC AGC AGA		
6	TGLA126	Forward	JOE – CTA ATT TAG AAT GAG AGA GGC TTC T	20	109–127
		Reverse	TTG GTC TCT ATT CTC TGA ATA TTC C		
7	TGLA227	Forward	FAM – CGA ATT CCA AAT CTG TTA ATT TGC T	18	74–104
		Reverse	ACA GAC AGA AAC TCA ATG AAA GCA		
8	ETH3	Forward	NED – GAA CCT GCC TCT CCT GCA TTG G	19	117–129
		Reverse	ACT CTG CCT GTG GCC AAG TAG G		
9	ETH10	Forward	FAM – GTT CAG GAC TGG CCC TGC TAA CA	5	210–226
		Reverse	CCT CCA GCC CAC TTT CTC TTC TC		
10	ETH225	Forward	NED – GAT CAC CTT GCC ACT ATT TCC T	9	140–156
		Reverse	ACA TGA CAG CCA GCT GCT ACT		

Мікросателітні локуси були ампліфіковані за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Використовували термоциклер БіоКом (Росія), стандартні реагенти «Набір для генотипування великої рогатої худоби» («Bovine PCR Typing Kit II» фірми Applied Biosystems). Реакційна суміш для проведення ПЛР містила: 10× PCR Buffer, dNTPmix (суміш 4 дезоксирибонуклеотидів по 1,25 mM кожний), AmpliTaq Gold DNA полімерази (5U/μL) та по 2.5 pmol кожного з праймерів. Загальний об'єм суміші – 14 мкл. Досліджувану ДНК додавали об'ємом 1,0 мкл.

Реакцію проводили в наступному температурному режимі:

1. початкова денатурація – 95°C – 5 хв;
2. 31 цикл за схемою: денатурація – 94°C – 45 с;
 відпал праймерів – 61°C – 45 с;
 синтез – 72°C – 60 с;
3. заключний синтез – 72°C – 60 хв.

Аналіз продуктів ампліфікації проводили методом капілярного електрофорезу на ДНК-секвенаторі ABI PRISM 3110 (фірми Applied Biosystems) – ця техніка високоефективна при ідентифікації індивідуальних варіантів аналізованих локусів та гарантує високе відтворення результатів. Як стандарт розмірів фрагментів ДНК використовували маркер ROX-350 (Маниатис, 1984; Ziegler et al., 1992). Розмір ідентифікованих фрагментів ДНК (алелів) визначений за допомогою комп'ютерної програми GeneScan 2.1. Були розраховані популяційно-генетичні параметри за поліморфними мікросателітними локусами ДНК за наступними формулами:

1. Частоти алелів, що ідентифіковані для кожного локусу (F):

$$F = f_x / N,$$

де f_x – кількість алелів x ; N – кількість всіх алелів.

2. Процент гомо- та гетерозиготних генотипів (Charon, Świtoński, 2000):

$$H = (n \times 100) / L,$$

де n – кількість гомо- або гетерозигот, L – кількість тварин.

3. Ступінь гетерозиготності (H) (Nei, Roychoudhury, 1974):

$$H = 1 - \sum_{i=1}^n q_i^2$$

де n – кількість алелів у локусі; q_i – частота i -го алеля.

4. Кількість активно діючих алелів у локусі (E) (Kimura, Crow, 1964):

$$E_k = \frac{1}{\sum_{i=1}^n q_i^2},$$

де E_k – ефективне число алелів у локусі k , n – число алелів у локусі, q_i – частота i -го алеля.

5. Індекс ступеня поліморфізму (PIC – polymorphism information content) (Botstein et al., 1980):

$$PIC = 1 - \left(\sum_{i=1}^n p_i^2 \right) - \frac{n-1}{\sum_{i=1}^n \sum_{j=i+1}^n 2 p_i^2 p_j^2}$$

Результати досліджень

Загалом було ідентифіковано 101 алель за 10 дослідженими мікросателітними локусами великої рогатої худоби, включаючи 50 алелів у шаролезької та 51 – у сірої української порід (табл. 2).

Найбільша кількість алелів спостерігалась у локусі TGLA53: 10 алелів у корів породи шароле та 8 алелів у худоби сірої української породи. Інші алелі показали досить рівномірний розподіл у специфічних локусах (від 3 до 7 алелів), крім локусу ETH10 у шаролезької породи, за яким було ідентифіковано тільки два алелі (див. табл. 2).

Таблиця 2.
 Частоти алелів мікросателітних локусів, що ідентифіковані у двох досліджуваних порід великої рогатої худоби

Локус	Шароле		Сіра українська	
	алель (п.н.)	частота алелів	алель (п.н.)	частота алелів
1	2	3	4	5
BM 1824	178	0,152 ± 0,053**	178	0,037 ± 0,026
	182	0,457 ± 0,073****	180	0,167 ± 0,051***
	188	0,391 ± 0,072****	182	0,444 ± 0,068****
BM 2113	131	0,217 ± 0,061**	188	0,352 ± 0,065****
	133	0,065 ± 0,036	133	0,630 ± 0,066****
	135	0,174 ± 0,056***	135	0,130 ± 0,046**
	137	0,500 ± 0,074****	137	0,167 ± 0,051**
ETH 10	139	0,022 ± 0,022	139	0,056 ± 0,031
	217	0,891 ± 0,046****	217	0,426 ± 0,067****
	219	0,109 ± 0,046*	219	0,426 ± 0,067****
INRA 023			221	0,148 ± 0,048****
	198	0,043 ± 0,030	196	0,259 ± 0,060****
	200	0,174 ± 0,056**		
	206	0,391 ± 0,072**	206	0,204 ± 0,055****
			208	0,111 ± 0,043
	212	0,043 ± 0,030	212	0,315 ± 0,063****
	214	0,217 ± 0,061**	214	0,056 ± 0,031
TGLA 53	218	0,087 ± 0,042	216	0,056 ± 0,031
	154	0,109 ± 0,046		
	158	0,043 ± 0,030		
	160	0,065 ± 0,036	160	0,100 ± 0,041*
	162	0,065 ± 0,036	162	0,040 ± 0,027
	164	0,022 ± 0,022		
	166	0,174 ± 0,056***	166	0,320 ± 0,063****
	168	0,043 ± 0,030	168	0,380 ± 0,066****
	170	0,326 ± 0,069****		
	176	0,109 ± 0,046*	172	0,160 ± 0,050**
	184	0,043 ± 0,030		
	248	0,565 ± 0,073****	248	0,635 ± 0,066****
	252	0,022 ± 0,022	252	0,115 ± 0,043*
	254	0,174 ± 0,056**	254	0,019 ± 0,019
	256	0,152 ± 0,053**	256	0,019 ± 0,019
	260	0,065 ± 0,036	260	0,212 ± 0,056****
			111	0,083 ± 0,038
115	0,630 ± 0,071****	113	0,042 ± 0,027	
117	0,196 ± 0,058**	115	0,292 ± 0,062****	
		117	0,292 ± 0,062****	
123	0,174 ± 0,056**	119	0,063 ± 0,033	
		125	0,208 ± 0,055****	
TGLA 227	77	0,065 ± 0,036	77	0,185 ± 0,053**
			79	0,111 ± 0,043
	81	0,174 ± 0,056**	81	0,019 ± 0,018
	83	0,283 ± 0,066****	83	0,056 ± 0,031
	87	0,109 ± 0,046*	87	0,148 ± 0,048**
	89	0,174 ± 0,056**	89	0,185 ± 0,053**
	91	0,174 ± 0,056**	93	0,222 ± 0,057****
		97	0,037 ± 0,026	

Продовження табл. 2.

1	2	3	4	5
ETH 3	117	0,652 ± 0,070 ^{***}	115	0,037 ± 0,026
	119	0,087 ± 0,042 [*]	117	0,611 ± 0,066 ^{***}
	121	0,022 ± 0,022	119	0,259 ± 0,060 ^{***}
	123	0,174 ± 0,056 ^{**}		
	125	0,043 ± 0,030	125	0,093 ± 0,039
ETH 225	140	0,022 ± 0,022	140	0,333 ± 0,064 ^{***}
	144	0,065 ± 0,036	144	0,093 ± 0,039 [*]
	146	0,022 ± 0,022	146	0,037 ± 0,026
	148	0,239 ± 0,063 ^{***}	148	0,167 ± 0,051 ^{**}
	150	0,652 ± 0,070 ^{***}	150	0,278 ± 0,061 ^{***}
			152	0,093 ± 0,026 [*]

Примітка: ± – статистична похибка частот алелів;
 достовірність зустрічаємості алеля в популяції при * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

За кількістю ідентифікованих алелів для кожного з локусів і визначених частот алелів були розраховані ступені гетерозиготності H , а також, з метою підтвердження придатності досліджуваних маркерів до вивчення генетичної структури порід, додатково обчислена кількість активно діючих алелів в локусі (E) (табл. 3).

Таблиця 3.

Фактична кількість алелів (n), кількість активно діючих алелів (E) та ступені гетерозиготності (H) за 10 мікросателітними локусами, що ідентифіковані у досліджуваних порід великої рогатої худоби

Локус	Шароле				Сіра українська				
	n	H	E	PIC	n	H	E	PIC	
BM1824	3	0,659	2,93	0,535	4	0,650	2,86	0,582	
BM2113	5	0,668	3,01	0,623	4	0,556	2,25	0,517	
INRA023	6	0,758	4,13	0,726	6	0,774	4,42	0,739	
SPS115	5	0,622	2,65	0,583	5	0,538	2,16	0,490	
TGLA53	10	0,827	5,78	0,810	5	0,716	3,52	0,667	
TGLA126	3	0,534	2,15	0,477	6	0,774	4,42	0,739	
TGLA227	6	0,813	5,35	0,788	8	0,843	6,37	0,824	
ETH3	5	0,534	2,15	0,500	4	0,549	2,22	0,490	
ETH10	2	0,194	1,24	0,175	3	0,615	2,60	0,533	
ETH225	5	0,512	2,05	0,459	6	0,765	4,26	0,730	
		$H_{\text{сеп}}=0,62$				$H_{\text{сеп}}=0,68$			

Параметри, що обчислені в даному дослідженні (див. табл. 3), показали, що в популяціях великої рогатої худоби мікросателітні локуси, які вивчалися, мають високий ступінь поліморфізму. Так, показник ступеня гетерозиготності (H) для кожного маркеру перевищив 40% (в середньому $H=0,65$, тобто 65%), а в деяких випадках навіть більше 80% (за локусом TGLA53 у шаролезької, за локусом TGLA227 для двох досліджених порід), окрім локусу ETH10 у шаролезької породи ($H=0,194$).

В групах досліджених тварин сірої української та шаролезької порід перевага гетерозиготних генотипів над гомозиготними є більш значною для сірої української породи ($H_{\text{сеп}}=0,68$) в порівнянні з тваринами шаролезької породи ($H_{\text{сеп}}=0,62$). Така картина може бути пов'язана із специфічними умовами утримання великої рогатої худоби шаролезької породи в ДПДГ «Гонтарівка», що склалася на протязі останніх двадцяти років. Ця порода розводилася «сама в собі» через відсутність «приливу крові», що зазвичай відбувається при закупівлі нових бугаїв-плідників і використанні їх в системі відтворення стада.

Рівень поліморфності є важливим інтегральним показником, який характеризує кількість активно діючих алелів в популяції (E). Найвищими показниками оцінюваних параметрів

характеризувався локус TGLA53 у шаролезької ($H=0,827$, $E=5,78$) та локус TGLA227 у сірої української порід ($H=0,843$, $E=6,37$) (див. табл. 3). Зазначені локуси є найбільш поліморфними у відповідних порід великої рогатої худоби. В інших локусах, не беручи до уваги найвищі для локусу TGLA53 та найнижчі для локусу ETH10 показники, кількість активно діючих алелів коливалася в межах від 2,05 (локус ETH225) у шаролезької до 5,49 (локус ETH3) у сірої української порід.

На основі аналізу ідентифікованих алелів за 10 мікросателітними послідовностями ДНК у великої рогатої худоби двох досліджуваних порід розрахований індекс ступеня поліморфізму PIC (табл. 3). Параметри PIC та H показали, що досліджені мікросателітні послідовності ДНК характеризуються високим рівнем поліморфізму. Так, значення PIC, розраховані для кожного локусу, були на рівні понад 0,45, а H – від 51,2% до 84,3% (див. табл. 3). Високополіморфними також є локуси BM1824, BM2113, INRA023 та SPS115 у двох досліджених порід тварин.

Про високий поліморфізм локусу TGLA227 із значеннями PIC та H понад 0,8 повідомляли також Peelman et al. (1998) у великої рогатої худоби Holstein Friesian та Belgian Red Pied, що вирощуються в Бельгії, Heyen et al. (1997) – у великої рогатої худоби Holstein і Gelbvieh в США, Bredbacka та Koskinen (1998) – у великої рогатої худоби гольштинської та айширської порід в Фінляндії, а також Martín-Burriel et al. (1999) – у 10 порід великої рогатої худоби в Іспанії. Численні дослідження виявляють також високий поліморфізм мікросателітних маркерів ETH225 (Bredbacka, Koskinen 1998; Peelman et al., 1998), TGLA53 (Peelman et al., 1998; Schmid et al., 1999) і TGLA122 (Heyen et al., 1997; Peelman et al., 1998).

Висновки

1. Досліджені мікросателітні локуси ДНК характеризуються високим рівнем поліморфізму. Так, показник ступеня гетерозиготності (H) в середньому за всіма дослідженими локусами дорівнює 0,65.
2. Найбільш поліморфним мікросателітним локусом для великої рогатої худоби шаролезької породи є локус TGLA53 ($H=0,827$, $E=5,78$), для сірої української породи – локус TGLA227 ($H=0,843$, $E=6,37$). Локус ETH10 у шаролезької породи характеризується найнижчим показником ступеня гетерозиготності ($H=0,194$).
3. Отримані дані аналізу 10 досліджуваних мікросателітних маркерів ДНК та підтвердження їх високополіморфності свідчать про можливість їх використання для паспортизації, ідентифікації та підтвердження походження окремих індивідів, порід та популяцій великої рогатої худоби.

Список літератури

- Маниатис Т. Молекулярное клонирование. Методы. – М.: Мир, 1984. – С. 156–185.
- Blin N., Stafford D.W. A general method for isolation of high molecular weight DNA from eukaryotes // Nuc. Acid Research. – 1976. – Vol.3. – P. 2303–2308.
- Botstein D., White R.L., Skolnick M., Davis R.W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms // Am. J. Hum. Genet. – 1980. – Vol.32. – P. 314–319.
- Bredbacka P., Koskinen M.T. Polymorphism of microsatellite loci used in parentage testing in Finnish Ayrshire and Holstein populations // XXVth International Conference on Animal Genetics. – Auckland, New Zealand, 1998. – P.15.
- Charon K.M., Świtoński M. Genetyka zwierząt. – Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2000. – 320p.
- Edwards A., Civitello A., Hammond H.A., Caskey C.T. DNA typing and genetic mapping with trimeric and tetrameric tandem repeats // Am. J. Hum. Genet. – 1991. – Vol.49. – P. 746–756.
- Heyen D.W., Beever J.E., Da Y. et al. Exclusion probabilities of 22 bovine microsatellite markers in fluorescent multiplexes for semiautomated parentage testing // Anim. Genet. – 1997. – Vol.28. – P. 21–27.
- Hirano T., Nakane S., Mizoshita K. et al. Characterization of 42 highly polymorphic bovine microsatellite markers // Anim. Genet. – 1996. – Vol.27(5). – P. 365–368.
- Janik A., Zabek T., Radko A. Analysis of usefulness of 11 DNA microsatellites for parentage control in Limousin cattle // Ann. Anim. Sci. – 2003. – Vol.3. – P. 11–20.
- Kimura M., Crow J.F. The number of alleles that can be maintained in a finite population // Genetics. – 1964. – Vol.49. – P. 725–738.
- Ma R.Z., Russ I., Park C. et al. Isolation and characterization of 45 polymorphic microsatellites from the bovine genome // Anim. Genet. – 1996. – Vol.27. – P. 43–47.
- Machugh D.P., Loftus R.T., Cunningham P., Bradley D.G. Genetic structure of seven European cattle breeds assessed using 20 microsatellite markers // Anim. Genet. – 1998. – Vol.29. – P. 333–340.

- Martin-Burriel I., Garcia-Muro E., Zaragoza P. Genetic diversity analysis of six Spanish native cattle breeds using microsatellites // *Anim. Genet.* – 1999. – Vol.30. – P. 177–182.
- Moazami-Goudarzi K., Lalo D., Furet J.P., Grosclaude F. Analysis of genetic relationships between 10 cattle breeds with 17 microsatellites // *Anim. Genet.* – 1997. – Vol.28. – P. 338–345.
- Nei M., Roychoudhury A.K. Sampling variances of heterozygosity and genetic distance // *Genetics.* – 1974. – Vol.76. – P. 379–390.
- Peelman L.J., Mortiaux F., Van Zeveren A. et al. Evaluation of the genetic variability of 23 bovine microsatellite markers in four Belgian cattle breeds // *Anim. Genet.* – 1998. – Vol.29. – P. 161–167.
- Schmid M., Saitbekova N., Gaillard C., Dolf G. Genetic diversity in Swiss cattle breeds // *J. Anim. Breed. Genet.* – 1999. – Vol.116. – P. 1–8.
- Walsh P.S., Metzger D.A., Higuchi R. Chelex 100 as a medium for simple extraction of DNA for PCR-based typing from forensic material // *BioTechniques.* – 1991. – Vol.10. – P. 506–513.
- Witek-Zawada B., Radko A. Polimorfizm 11 loci mikrosatelitarnych u bydla rasy polskiej czerwonej // *Rocz. Nauk. Zoot.* – 2006. – T.33, z.1. – P. 5–12.
- Ziegle J.S., Ying Su, Corcoran K.P. et al. Application of automated DNA sizing technology for genotyping microsatellite loci // *Genomics.* – 1992. – Vol.14. – P. 1026–1031.

Представлено: Т.Е.Ткачіком / Presented by: Т.Е.Тkachik

Рекомендовано до друку: В.Ю.Страшнюком / Recommended for publishing by: V.Yu.Strashnyuk

Подано до редакції / Received: 11.03.2010.

© Н.М.Шкавро, А.Радко, Е.Слота, В.І.Россоха, 2010
© N.N.Shkavro, A.Radko, E.Slota, V.I.Rossokha, 2010