

ГЕНЕТИЧНЕ РІЗНОМАНІТТЯ ПОПУЛЯЦІЇ УКРАЇНСЬКОЇ ЧОРНО-РЯБОЇ МОЛОЧНОЇ ПОРОДИ ЗА ГЕНОМ *BoLA-DRB3* ЗА ВПЛИВУ ГОЛШТИНІЗАЦІЇ

Т.М. СУПРОВИЧ ¹, Ю.Т. САЛИГА ², М.П. СУПРОВИЧ ¹, Є.І. ФЕДОРОВИЧ ², В.В. ФЕДОРОВИЧ ²,
С.В. ЛАЙТЕР-МОСКАЛЮК ¹, Т.С. ТОКАРЧУК ¹, В.В. БАНДУРА ¹

¹ Зклад вищої освіти «Подільський державний університет», вул. Шевченка, 12, 32316, Кам'янець-Подільський, Хмельницька обл., Україна

² Інститут біології тварин НААН, вул. Василя Стуса, 38, 79034, Львів, Україна

E-mail: logir@ukr.net

Автор для кореспонденції – Супрович Т.М., e-mail: kokas2008@ukr.net

Мета дослідження — виявлення змін генетичного різноманіття за геном *BoLA-DRB3* екзон2 корів української чорно-рябої молочної породи на прикладі племінного стада, в якому впродовж останнього десятиліття проводиться спрямована селекція на підвищення кровності за голштинами з метою покращення молочної продуктивності. Зміни генетичного різноманіття встановлено шляхом порівняння показників біорізноманіття дослідного стада з голштинськими популяціями. У три етапи отримано зразки крові від 391 корови української чорно-рябої молочної породи з племінного заводу «Козацька долина 2006», Хмельницька область, Україна. Алейний спектр гена *BoLA-DRB3* екзон 2 визначено методом ПЛР-ПДРФ. Дослідження проведено поетапно: у першій популяції (maternal herd, n = 162) в 2008–2010, у другій популяції (daughter herd, n = 123) в 2014–2017 і в третій популяції (granddaughter herd, n = 106) в 2019–2022 рр. Для порівняння у дослідження включені раніше опубліковані дані по голштинах: США (n = 1100), Канади (n = 835), Чилі (n = 113), Аргентини (n = 424), Болівії (n = 159), Парагваю (n = 139) та Перу (n = 133). Високий поліморфізм гена *BoLA-DRB3* екзон 2 робить його зручним для аналізу генетичного різноманіття великої рогатої худоби. Проведена оцінка за індексами Сімсона та Бергера-Паркера свідчить, що підконтрольне стадо української чорно-рябої молочної породи має більше генетичне різноманіття за геном *BoLA-DRB3*, ніж голштинські популяції. Алейна структура досліджених стад, оцінена за індексом Пієлу та рівномірністю Бузаса і Гібсона, більш рівномірна. Значна генетична різноманітність української чорно-рябої молочної породи підтверджена показниками індексу Шенона та ефективної кількості алелів. Їх значення суттєво перевищують аналогічні показники для всіх розглянутих популяцій голштинської худоби. У часовому тренді у корів української чорно-рябої молочної породи виявлено зниження генетичного різно-

маніття за геном *BoLA-DRB3*, порівняно з голштинами. Лінійний прогноз на майбутній період показав, що при нинішньому рівні «голштинізації» породи, рівень її генетичного біорізноманіття буде зменшуватись.

Ключові слова: українська чорно-ряба молочна порода, Голштинська порода, показники біорізноманіття, ген *BoLA-DRB3*, ПЛР-ПДРФ.

Вступ. Біорізноманіття включає генетичні відмінності в межах виду. Це може бути порода великої рогатої худоби, сорт сільськогосподарської культури, популяція риб, колонія бактерій тощо.

Біорізноманіття популяцій свійських тварин стрімко деградує, що викликає серйозне занепокоєння, адже інтенсивний селекційний тиск призводить до стрімкого виснаження генетичного фонду цих тварин, що є життєво важливим для продовольчої безпеки та здоров'я людей. Однією з проблем втрати генетичного біорізноманіття у тваринництві є використання селекційних процесів, спрямованих на отримання високопродуктивних тварин за певними ознаками (Scherf, 2000; Baumung et al, 2004). Більшість селекційних заходів, що застосовують до свійських порід, знижують рівень генетичної мінливості. Багато порід домашніх тварин піддаються жорсткому відбору за кількома економічно важливими ознаками (наприклад, виробництво молока, м'яса, яєць, вовни тощо), і такий спрямований відбір зменшує генетичне різноманіття.

Велика рогата худоба поширена у більшості країн світу, що призвело до створення місцевих популяцій. Після тривалого періоду безконтрольного добору молочного стада ситуація кардинально змінилася. Посилився селекційний тиск, серйозно скоротилося схре-

шування між породами, що призвело до диференціації вихідного генофонду великої рогатої худоби.

Ще більше селекційний тиск зріс через використання штучного запліднення, що призвело до появи кількох промислових порід з дуже високою продуктивністю, але з низькими ефективними розмірами популяції. З розвитком штучного осіменіння, лише деякі самці були задіяні в схемах відтворення, що призвело до скорочення ефективної популяції промислових порід (Taberlet et al, 2011).

Аналіз генетичного різноманіття базується на різних типах маркерів, в тому числі і молекулярних, на основі ДНК. При виборі маркера необхідно враховувати його інформативність та індивідуальний рівень складності типування, адже подібні експерименти проводяться на великих вибірках тварин (Arif & Khan, 2009; Teneva & Petrović, 2010; Singh et al, 2014). У даному контексті досить привабливими є гени, що характеризуються значним поліморфізмом. Для великої рогатої худоби при аналізі використовували ген BoLA-DRB3 головного комплексу гістосумісності (МНС). Він кодує антигени класу II МНС. Ген розташований у Па області сублокусу DR системи BoLA і складається з 6 екзонів. Другий екзон гена BoLA-DRB3, який кодує β 1-домен антигенів класу II, є високополіморфним і впливає, як на величину, так і на епітопну специфічність Т-клітинних відповідей на інфекційні захворювання, що необхідно для зв'язування широкого спектра чужорідних антигенів (Miyasaka et al, 2011; Behl et al, 2012; Takeshima et al, 2015a; Suprovych et al, 2019, 2022).

Станом на кінець 2023 року на сторінці сайту IPD-MHC ([https://www.ebi.ac.uk/ipd/mhc/allele/list/?query=and\(eq\(organism.name,BoLA\),eq\(locus,%27DRB3%27\)\)#panelAdvanced](https://www.ebi.ac.uk/ipd/mhc/allele/list/?query=and(eq(organism.name,BoLA),eq(locus,%27DRB3%27))#panelAdvanced)) містяться дані про 390 алельних варіантів гена BoLA-DRB3. Значна кількість алельних варіантів дозволяє проводити дослідження генетичного різноманіття популяції саме за геном BoLA-DRB3, що істотно спрощує емпіричні розрахунки та матеріальні витрати на дослідження. Однією з причин збіднення генофонду молочних стад стала інтенсивна селекція щодо створення високопродуктивних молочних популяцій на базі голштинської породи. Голштиніза-

ція торкнулася більшості країн світу, в тому числі й України. Позитивний аспект голштинізації в Україні, як і очікувалось, це зростання молочної продуктивності стад (Efimenko et al, 2014a; Піддубна, 2014; Vechorka & Khmelnychy, 2019; Polupan et al, 2022). Але разом з тим інтенсивне використання сперми бугаїв-плідників голштинської породи супроводжується рядом серйозних недоліків, пов'язаних зі зниженням показників відтворення (Abdel Hameed et al, 2006; Polupan et al, 2022; Fedorovych et al, 2023), зростанням проблем з кінцівками, зменшенням тривалості довічного використання корів (Espejo et al, 2006; Polupan et al, 2020; Mazur et al, 2023) та підвищенням витрат на ветеринарне обслуговування тварин (Efimenko et al, 2014b). Крім того, спостерігається збільшення інбридингу, що є причиною різноманітних генетичних аномалій: DUMPS, BLAD, CVM, брахіспінального синдрому BY тощо (Metlytska et al, 2016).

Частка спадковості за голштинами у генотипах корів української чорно-рябої молочної породи постійно зростає. Якщо у 2003 р. вона коливалась в межах 71–84 %, то у 2014 р. перевищила 93,8 % (Efimenko et al, 2014a).

Виникає слушне питання про те, як змінився рівень генетичного різноманіття породи. Тому мета дослідження полягала у виявленні змін генетичного різноманіття за геном BoLA-DRB3 корів на прикладі племінного стада корів української чорно-рябої молочної породи за спрямованої селекції на збільшення кровності стада за голштинами.

Матеріали та методи. Дослідження полягало у визначенні та порівнянні показників біорізноманіття української чорно-рябої молочної породи з голштинською різних регіонів світу. Було послідовно у три етапи отримано зразки крові від 391 корови української чорно-рябої молочної породи з племінного господарства «Козацька Долина 2006», Хмельницька область, Україна. Експериментальні дослідження виконано в лабораторії Інституту розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця Національної академії аграрних наук України (ІРГТ, с. Чубинське). Для досягнення мети роботи було визначено алельний спектр гена BoLA-DRB3. Щоб судити про зміни в генезисі популяцій за геном BoLA-DRB3 української

чорно-рябої молочної породи, які відбулися у результаті широкого використання бугаїв голштинської породи, проведено порівняння алелофонду даного гена трьох популяцій корів, розведених у часі. У першій популяції (maternal herd) дослідження алельного поліморфізму проведено в 2008–2010 рр. і вони пов'язані з пошуком ДНК-маркерів (на базі алелів BoLA-DRB3.2) чутливості до маститу (UBWD10, $n = 162$). На той час, за результатами аналізу племінних карток, частка кровності за голштинською породою оцінювалася на рівні 75 %. У другій популяції (daughter herd) визначення алельного поліморфізму проведено в 2014–2017 рр. Дослідження спрямовані на виявлення ДНК-маркерів чутливості до некробактеріозу (UBWD17, $n = 123$), при цьому частка кровності голштинів оцінювалася у 87,5 %. Третю популяцію (granddaughter herd) досліджували з 2019 по 2022 рік. Було виконано пошук ДНК-маркерів пов'язаних з неплідністю (UBWD22, $n = 106$). Частка кровності за голштинською породою у підконтрольних корів перевищила 94 %.

Відповідно, до проблем, які виникали в зв'язку з голштинізацією стада, створювались вибірки стійких та сприйнятливих до захворювань корів для пошуку ДНК-маркерів на базі алелів BoLA-DRB3.2 чутливих до маститу, некробактеріозу та ендометриту. Відбір тварин у дослідні вибірки здійснювали на основі діагнозу за стандартними методиками. Щодо генетичної спадковості відбір мав випадковий характер.

Крім того, були використані раніше опубліковані дані досліджень по голштинах: США (HolUSA, $n = 1100$) (Dietz et al, 1997), Канада (HolCan, $n = 835$) (Sharif et al, 1998), Чилі (HolCh, $n = 113$) (Takeshima et al, 2015b), Аргентина (HolArg, $n = 424$), Болівія (HolBol, $n = 159$), Парагвай (HolPar, $n = 139$) та Перу (HolPeru, $n = 133$) (Takeshima et al, 2015a).

Поліморфізм в експериментальних зразках досліджували за частотами алелів екзону 2 гена BoLA-DRB3, які визначали на основі аналізу поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів (ПЛР-ПДРФ) продуктів ампліфікації (Van Eijk et al, 1992).

Виділення ДНК проводили з використанням наборів «DIAtom™DNA Prep200» (Isogen

Laboratory Ltd.) відповідно до інструкцій виробника. Для визначення концентрації ДНК на 1%-ний агарозний гель («Agarose, Biotechnology grade», «Helicon») наносили ДНК фага λ у кількості 25, 50, 100 нг та аліквоти з розчину із невідомою концентрацією. Електрофорез проводили в 1× трис-боратному (ТВЕ) буфері (89 мМ Tris-ОН, 89 мМ H_3BO_3 , 2 мМ EDTA) з додаванням до гелю бромистого етидію (1 мкг/мл) для забарвлення ДНК, за постійної напруги 120 В. Гелі аналізували під ультрафіолетовими променями на транслюмінаторі «UVT», «Біоком» і фотографували за допомогою гел-документувальної системи «MINITRON». Концентрації ДНК досліджуваних зразків визначали, порівнюючи інтенсивність флуоресценції аліквот із розчинів із невідомою концентрацією та контрольного розтитрування ДНК фага λ . ПЛР проводили в ампліфікаторі «Терцік» фірми «ДНК-технологія» з використанням готових наборів «GenPakR PCR Core». Кінцевий об'єм реакційної суміші становив 20 мкл. Суміш містила 60 мМ Tris-HCL (pH 8,8), 2,5 мМ $MgCl_2$, 20 мМ KCl, 15 мМ $(NH_4)_2SO_4$, 10 мМ меркаптоетанолу, 0,1 % Triton X-100, 0,2 мМ dNTP, 10 одиниць ДНК-полімерази KlenTaq, по 10 мМ кожного праймера, досліджувану ДНК. Для першого раунду реакції використовували праймери HLO-30 і HLO-31. В якості шаблону використовували 5 мкл ДНК. Для другого раунду використовували ПЛР-праймери HLO-30 та HLO-32. Матрицею служили 2 мкл продуктів ПЛР першого раунду.

Для рестрикційного аналізу фрагмента екзону 2 гена BoLA-DRB3 використовували ендонуклеази RsaI, HaeIII, XhoII (Promega, США, New England BioLabs, США). Рестрикційні фрагменти розділяли електрофорезом у 4%-ному агарозному гелі. Для оцінки довжини фрагментів використовували маркер молекулярних ваг «GeneRuler™ Ultra Low Range DNA Ladder».

Для визначення розміру рестрикційних фрагментів з незначними відмінностями використовували алельспецифічну ПЛР (Suprovych et al, 2018).

Статистичний аналіз. Підрахунок частот проводили з урахуванням кількості гомозигот (N_{ii}) і гетерозигот (N_{2i}), знайдених за відповід-

ним алелем BoLA-DRB3.2 з урахуванням розміру дослідної вибірки (n) (Hartl & Clark, 1997):

$$P_a = 0,5(2N_{1i} + N_{2i})/n$$

Очікувану гетерозиготність визначали через частоти алелів за формулою (Hedrick, 2010):

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^n P_{ai}^2$$

Також визначали число ефективних алелів $A_e = 1/(1-H_e)$ (Kimura & Crow, 1964), індекс ефективності A_e/N_a , який показує частку ефективних алелів серед усіх виявлених в популяції (N_a) (Suprovych et al, 2018) та ефективну кількість елементів (алелів) за ентропією Shannon $D = \exp(H)$ (Sheldon, 1969).

Перевірку на нормальність розподілу частот алелів виконано за критерієм Шапіро-Уїлка (Shapiro-Wilk) та критерієм згоди Колмогорова-Смірнова (Kolmogorov-Smirnov) в стандартному пакеті IBM SPSS Statistics V24.0 (https://www.ibm.com/support/knowledgecenter/ru/SSLVMB_24.0.0/spss/product_landing.html).

Кластерний аналіз, показники генетичного біорізноманіття, індекс Chao-1 та CAVFAC factor analysis проведено у пакеті PAST 4.03.

Різноманітність популяції характеризують три поняття: багатство (richness), рясність (abundance) і вирівняність (evenness) (Stirling & Wilsey, 2001). З точки зору виконаного дослідження багатство — це число алелів у популяції, рясність — це частота кожного алеля, а вирівняність — це ступінь рівномірності їх розподілу. Аналіз генетичного біорізноманіття проводили за наступними показниками:

α -diversity: загальна кількість алелів (N); індекс Шенона (H); індекс Сімпсона (D); індекс Бергера-Паркера (DPB); індекс Пієлу (J); рівномірність Бузаса та Гібсона (E); індекс Брілюєна (EHB);

β -diversity: індекси Віттакера (b_w) і Рутледжа (b_j) (Petrovska et al, 2022; PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. Reference manual. <https://www.nhm.uio.no/downloads/past4manual>).

Результати та обговорення. У дослідному стаді впродовж останніх 15 років здійснюють селекцію у напрямі підвищення генетичного потенціалу молочної продуктивності корів за рахунок масового використання сперми голш-

тинських бугаїв. Найчастіше використовували сперму бугаїв ліній Елевейшна (55 %) і Чіфа (19,7 %). Серед інших плідників записи про використання сперми бугаїв ліній Соверінга, Маршала, Валіанта і Старбака зустрічаються з частотою 5–8 %. Також господарство здійснювало незначні разові закупівлі ремонтного маточного молодняку в кращих племінних господарствах регіону.

На початковому етапі роботи завдання про вивчення генетичного біорізноманіття не виникало. Основний напрям досліджень полягав у виявленні алелів BoLA-DRB3.2 асоційованих з маститом. Але широке використання сперми голштинських бугаїв у селекційному процесі за наявного менеджменту утримання, годівлі та ветеринарного обслуговування призвело до негативних наслідків. З'явилися серйозні проблеми з ламінітами та неплідністю.

У результаті досліджень було отримано дані поліморфізму гена BoLA-DRB3.2 трьох популяцій (стад) української чорно-рябої молочної породи, розведених у часі (табл. 1), які в подальшому використано для аналізу біорізноманіття.

Основний та найбільш простий у трактуванні показник багатства — це загальна кількість виявлених алелів. Кількість алелів, які зустрічаються у дослідній популяції, називається її алельним багатством або алелофондом.

Найчастіше виявилися алелі *22 і *24. Необхідно відмітити, що частоти алелів у вибірках змінюються. Найбільше зростання їх частки спостерігається для варіантів *01, *11, *16, *21 і *24, а максимальна елімінація виявлена для алелів *03, *10, *18 і *26.

Насиченість дослідної вибірки інформацією, якою є кількість виявлених алелів, оцінюється на основі індексу Chao-1 (Chao, 1984), який ще можна трактувати, як передбачення непоміченої кількості алелів. Оцінка алельного багатства за цим індексом показала, що в дослідних популяціях української чорно-рябої молочної породи та голштинів США і Канади проведено достатню кількість типувальних зразків крові аби стверджувати про відсутність непомічених алелів і коректність результатів наступних досліджень (табл. 2).

Стосовно голштинів існує два масштабних дослідження щодо виявлення алельного спек-

тру BoLA-DRB3.2. У 1993 р. у США було проведено генотипування 1100 корів з 93 стад, у яких утримувалися лише корови голштинської породи (Dietz et al, 1997). Аналогічне дослідження виконано з 1993 по 1995 рік на 835 голштинських коровах з 56 стад Канади, де були присутні дочки 66 прабатьків і 259 плідників даної породи (Sharif et al, 1998). Значний обсяг експериментального матеріалу дає можливість перенести результати досліджень на всю породу.

Для подальшого аналізу необхідно виявити так звані «породні алелі» BoLA-DRB3.2, які достовірно виявлятимуться в інших стадах гол-

штинів і в майбутніх поколіннях. Для цього необхідно звернути увагу на алелі, які найбільш часто було виявлено в роботах Dietz et al and Sharif et al. Зазвичай поліморфним вважається локус з частотою виявлення понад 5 %. Він досить умовний, але як критерій інформативності використовується досить часто (Mauguier et al, 2002). У деяких публікаціях алелі з частотою виявлення понад 5 % називають високочастотними (Takeshima et al, 2018). Поліморфний ген — це ген, для якого найпоширеніший алель має частоту не менше 0,95. Алелі з частотою менше 0,05 вважаються рідкісними. Межа частоти алелів, яка встановлена на рівні

Таблиця 1. Результати поетапного дослідження поліморфізму гена BoLA-DRB3 тварин української чорно-рябої молочної породи

Алелі BoLA-DRB3.2	UBWD10	UBWD17	UBWD22	Алелі BoLA-DRB3.2	UBWD10	UBWD17	UBWD22
*01	1–54	1–22	2–83	*18	2–47	1–63	0–94
*02	2–47	2–03	1–42	*21	1–85	2–03	3–3
*03	5–86	4–88	2–83	*22	12–04	7–32	9–91
*04	2–16	1–63	2–83	*23	1–85	4–88	6–6
*06	—	—	1–42	*24	11–73	17–89	19–34
*07	4–94	5–28	3–77	*26	4–32	2–44	1–42
*08	7–41	5–69	6–6	*27	—	—	2–36
*10	5–25	5–28	2–83	*28	7–72	7–32	5–66
*11	1–54	1–63	3–77	*32	3–09	2–03	—
*12	3–7	2–44	2–83	*36	3–09	2–85	1–42
*13	5–25	3–25	3–77	*37	3–4	3–25	2–83
*14	—	0–81	2–36	*39	—	—	1–42
*15	1–85	1–63	—	*48	2–47	1–63	—
*16	0–62	5–69	6–6				

Примітка. Відсутні алелі з частотою до 1 %.

Таблиця 2. Показники генетичного різноманіття для популяцій української чорно-рябої молочної породи та включених у дослідження популяцій голштинської породи за геном BoLA-DRB3

Індикатори різноманіття	UBWD10	UBWD17	UBWD22	HolCan	HolUSA	HolArg	HoLBol	HolPar	HolPeru	HolCh
N_a	28	31	25	27	24	24	20	23	17	17
$Shao-1$	28	31	25	27	24	29	26	26	20	17–5
H_e	0–939	0–933	0–924	0–865	0–904	0–905	0–897	0–886	0–882	0–887
A_e	16–3	15–0	13–2	7–4	10–4	10–6	9–67	8–77	8–47	8–82
A_e/N_a	0–581	0–483	0–527	0–274	0–417	0–422	0–46	0–381	0–471	0–49
D	20–4	21–1	18–2	10–3	12–2	12–9	11–9	11–7	10–5	11–0

Примітка. N_a — загальне число виявлених алелів; H_e — очікувана гетерозиготність; A_e — число ефективних алелів; A_e/N_a — та індекс ефективності; D — ефективна кількість алелів за ентропією Shannon.

0,95 (або 0,99), є довільною і призначена для того, щоб допомогти ідентифікувати гени, в яких алельна мінливість є поширеною (Cavalli-Sforza & Bodmer, 1981).

Серед «інформативних» алелів необхідно виділяти «значимі». Це варіанти для яких значення критерію Пірсона перевищувало критичний рівень ($\chi^2 = 3,84$; $dF = 1$, $CI = 0,95$). «Значимі» алелі є важливими для популяції, тому що зв'язана з ними ознака, як правило, робить можливим їх використання в якості ДНК-маркерів. Результати виявлення «значимих» та «інформаційних» алелів приведено в табл. 3.

Повністю заявленим вимогам відповідає 6 алелів (виділено жирним шрифтом). Це стосується, як обох популяцій голштинів, так і їх середньозважених значень частот. Таким чином, можна вказати на шість алелів BoLA-DRB3.2 (*08, *11, *16, *22, *23 і *24), які формують генетичний пул голштинів за даним

локусом. Сумарно їх кількість коливається від 70,3 % для голштинів з США до 83,5 % для голштинів з Канади. Середньозважене значення для обох популяцій становить 76 %. У подальшому, цей пул з 6 алелів умовно вважається «голштинськими».

Для підтвердження даного припущення оцінимо їх частку в популяціях голштинів з інших країн. У всіх інших взятих для порівняння дослідженнях доля «значимих» алелів складала 60 % і більше, а у перуанських та парагвайських стадах сягнула 71,8 %. Також необхідно відмітити, що більшість з «голштинських» алелів у цих популяціях мають частоту прояву понад 5 %, за винятком, алеля BoLA-DRB3.2*23, який просідає у породах двох країн (Болівія та Чилі). Найбільш поширеними серед усіх голштинських порід виявилися алелі BoLA-DRB3.2*16 (15,3 %), *24 (14,8 %) та *22(12,5 %).

Дані табл. 3 дають можливість оцінити динаміку кумуляції «голштинських» алелів у по-

Таблиця 3. Порівняння поліморфізму гена BoLA-DRB3 різних популяцій голштинів та української чорно-рябої молочної породи

Алелі BoLA-DRB3-2	Частота (P_a), %										
	HolCan	HolUSA	Середньо-зважені показники (США + Канада)	UBWD10	UBWD17	UBWD22	HolArg	HolBol	HolPar	HolPeruru	HolCh
*03	5–2	3–96	4–5	5–86	4–88	2–83	5–0	10–7 ^a	6–3	6–0	8–8
*07	2–6	5–32	4–15	4–94	5–28	3–77	3–2	2–8	6–7	2–3	3–5
*08	20–1^c	14–1^c	16–7^c	7–41 ^a	5–69	6–6	7–3	4–7	5–1	9–8	8–0
*10	0–94	1–36	1–16	5–25	5–28	2–83	3–4	0–3	1–2	1–9	1–3
*11	14–9^c	8–51^a	11–3^c	1–54	1–63	3–77	7–6	15–4 ^c	8–3	6–7	8–9
*13	0–20	0–27	0–24	5–25	3–25	3–77	–	–	–	–	–
*16	9–2^b	10–0^b	9–66^b	0–62	5–69	6–6	14–7 ^c	18–2 ^c	17–6 ^c	21–4 ^c	21–7 ^c
*18	0–50	0–64	0–58	2–47	1–63	0–94	2–2	3–1	1–2	1–9	0–9
*20	0–40	0–32	0–35	0–93	0–81	–	0–1	2–2	0–4	0–4	–
*21	0–50	0–95	0–76	1–85	2–03	3–30	1–8	0–3	0–8	–	0–4
*22	13–7^c	14–3^c	14–0^c	12–0 ^c	7–32 ^a	9–91 ^b	12–1 ^c	11–3 ^b	16–5 ^c	16–9 ^c	11–9 ^a
*23	6–4	9–1^a	7–93^b	1–85	4–88	6–6	7–7	4–7	6–7	5–3	4–9
*24	19–2^c	14–3^c	16–4^c	11–7 ^c	17–9 ^c	19–3 ^c	17–7 ^c	5–7	17–6 ^c	11–7 ^a	12–4 ^b
*26	1–4	2–32	1–92	4–32	2–44	1–42	1–7	10–4 ^a	0–4	0–4	1–3
*27	0–8	3–69	2–44	–	–	2–36	3–9	1–6	2–0	8–3	9–7
*28	0–6	1–36	1–03	7–72 ^a	7–32 ^a	5–66	1–9	1–6	0–4	1–1	2–2
$\Sigma P_a \geq 5\%$	88–7	75–6	76–0	55–3	54–5	54–7	72–1	71–7	84–8	86–1	81–4
Значимі алелі Σ	83–5	70–3	76–0	35–2	43–1	52–8	67–1	60–0	71–8	71–8	67–8

Примітка: ^a $P < 0,05$; ^b $P < 0,01$; ^c $P < 0,001$.

пуляції української чорно-рябої молочної породи. Спостерігається суттєве зростання частки цих алелів за останніх 14 років з 35,2 до 52,8 % або у 1,5 рази, що корелює з показниками кровності за голштинською породою. При цьому сумарна частка у 55 % «інформативних» алелів за даний період практично не змінилася. Це беззаперечно підтверджує вплив голштинської спадковості на підконтрольні популяції української породи.

Виконаний вище аналіз показав, що номенклатура знайдених у дослідженнях алелів BoLA-DRB3.2 достатня для оцінки видового багатства. Але це не дає ніякої інформації про зміну генетичного біорізноманіття популяції української чорно-рябої молочної породи в зв'язку з інтенсивним привнесенням у материнське стадо генетичного матеріалу голштинів.

Генетичну структуру та породні зв'язки поліморфізму BoLA-DRB3 вивчали за допомогою дендрограм та CABFAC factor analysis. Невеликий обсяг даних і необхідність точної візуалізації найточніше реалізується через процедуру ієрархічної кластеризації. У програмі PAST на основі чисельності виявлених в популяціях алелів BoLA-DRB3.2. побудовано та проаналізовано ряд дендрограм. На рис. 1 показано один із варіантів UPGMA-дендрограми побудованої на основі індексу подібності Кульчинського. Цей коефіцієнт «компенсує» відмінність у видовому багатстві порівнюваних біот і тому широко використовується при генетичному аналізі (Lado, 2001). Аналогічний візуальний результат отримано для двох інших алгоритмів, які доступні у PAST: single linkage (nearest neighbour) та метод Уорда. Аналіз показав наявність трьох основних кластерів: Голштини США та Канади ($I = 0,827$), південноамериканські популяції голштинської худоби ($I = 0,822$) та популяції української чорно-рябої молочної породи ($I = 0,757$). Подібний результат є досить очікуваним, адже формування порід, в першу чергу, зумовлено географічними та історичними факторами, що зводить до мінімуму генетичну дивергенцію поза цими факторами і зумовлює логіку подібної кластеризації.

Більше інформації про генетичну спорідненість включених у дослідження популяцій надає CABFAC factor analysis в PAST, який при

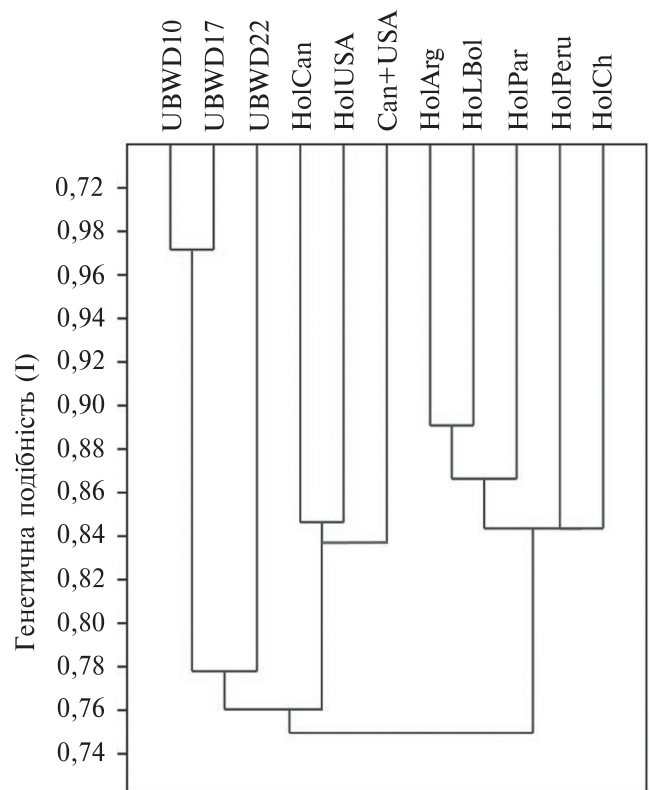


Рис. 1. UPGMA-дендрограма, побудована на основі даних про чисельність алелів BoLA-DRB3.2 для популяцій української чорно-рябої молочної породи та включених у дослідження популяцій голштинської породи (stratigraphically constrained clustering; similarity index: Kulczynski; cophenetic correlation: 0,73)

відсутності даних про навколишнє середовище реалізує простий факторний аналіз з обертанням Varimax (рис. 2) (PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. Reference manual. <https://www.nhm.uio.no/downloads/past4manual>).

На рис. 2 зв'язки графічно інтерпретуються як різноспрямовані розмірні вектори від хмари А, яка об'єднує голштинів США і Канади, до трьох інших хмар: В – голштини Південної Америки, С – популяції української чорно-рябої молочної породи.

Як і очікувалось, найбільш генетично віддаленими від голштинів США і Канади за геном BoLA-DRB3 були популяції української чорно-рябої молочної породи. Однак, на цьому векторі спостерігається зменшення дивергенції, якщо порівнювати стадо 2010 і 2022 року. Третя дослідна популяція української

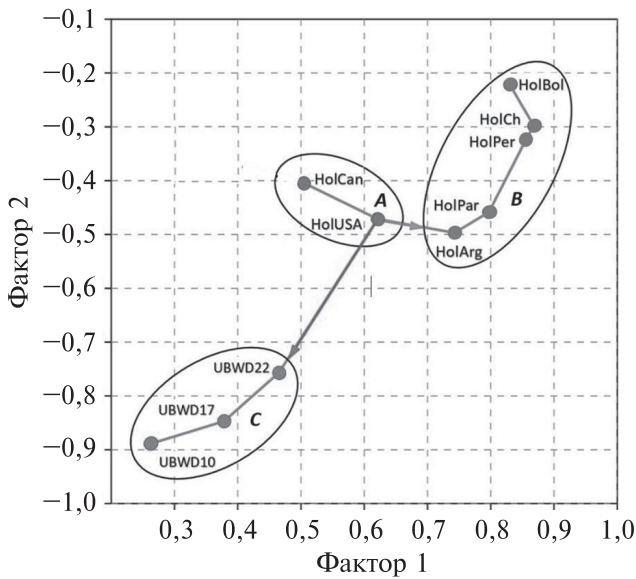


Рис. 2. Факторний аналіз з обертанням Varimax даних про чисельність алелів BoLA-DRB3.2 для популяцій української чорно-рябої молочної породи та включених у дослідження популяцій голштинської породи

чорно-рябої молочної породи (granddaughter herd) за геном BoLA-DRB3 знаходиться значно ближче до голштинів.

Вектори до південноамериканських популяцій значно менші, що свідчить про більшу їх генетичну подібність з популяціями США та Канади. Також необхідно відмітити, що показана на рис. 2, дивергенція між популяціями південноамериканських голштинів співпадає з даними безпосереднього дослідження цих порід (Takeshima et al, 2015a).

Ізоляція, дрейф генів, добір і система розведення призводять до дивергенції популяції, утворення субпопуляцій та їхньої диференціації, внаслідок чого формується просторово-часова структура різноманітності.

На видовому рівні використовують показники, які відносять до індексів біорізноманіття. На їх базі все частіше проводять оцінку генетичної мінливості. Наприклад, Jost та його колеги розробили індикатори екологічного різноманіття, які мають спільну структурну основу з індикаторами генетичного різноманіття і, таким чином, забезпечують зрозумілу конструкцію для числової інтерпретації (Jost, 2006). Так, індекс Сімсона, розрахований на основі частот видів, математично ідентичний

стандартному показнику алельної ідентичності Ne_i , які можуть бути переведені безпосередньо в «ефективні числа» елементів (ефективне число видів для екології, ефективне число алелів для генетики) (Scofield et al, 2012)

Аналіз розподілу частот алелів BoLA-DRB3.2 реально відображає оцінку генетичного різноманіття великої рогатої худоби. Він заснований на застосуванні логічних та математичних процедур, які можна перенести на дослідження генетичного різноманіття, сформоване на основі елементів системи з поліморфних генів популяції.

Наприклад, у дослідженні Blackwood et al, 2007, індекси Шенона, Бергера-Паркера і Сімсона застосовуються до методів молекулярного профілювання T-RFLP, щоб порівняти різноманітність між мікробними спільнотами. Альфа-метрики різноманіття (багатство Chao-1, різноманітність Шенона, рівномірність Pielou, домінування Бергера-Паркера та індекс рідкісної чисельності) були розраховані та візуалізовано на основі метакодування ДНК для визначення змін у структурі бентосних макро-безхребетних угруповань (Serrana et al, 2022). Високе нуклеотидне різноманіття за індексами різноманітності Шенона, Сімсона, Бріллюена, Менхініка, Маргалефа, Бергера-Паркера та Чао-2 встановлено за допомогою аналізу випадкової ампліфікованої поліморфної ДНК (RAPD) при дослідженнях генетичних варіацій субпопуляцій чорної мухи (Anbalagan et al, 2012).

Об'єктивність оцінки генетичного різноманіття ґрунтувалась на попарному порівнянні індексів, домінування та рівномірності (в протилежному розумінні нерівномірності) розподілу алелів BoLA-DRB3.2, а також індексу Шенона, як узагальненої міри різноманіття (рис. 3).

Найбільші значення індексу домінування Сімсона встановлено для популяцій української чорно-рябої молочної породи. Цей показник дає змогу добре порівнювати зміни в «значимих» алелях. Чим вищий індекс, тим менша їх роль в домінуванні. Оцінка індексу Сімсона показала, що всі розглянуті популяції мають високу насиченість дослідних вибірок алельною інформацією, що корелює показником з Chao-1 (табл. 2). Необхідно також

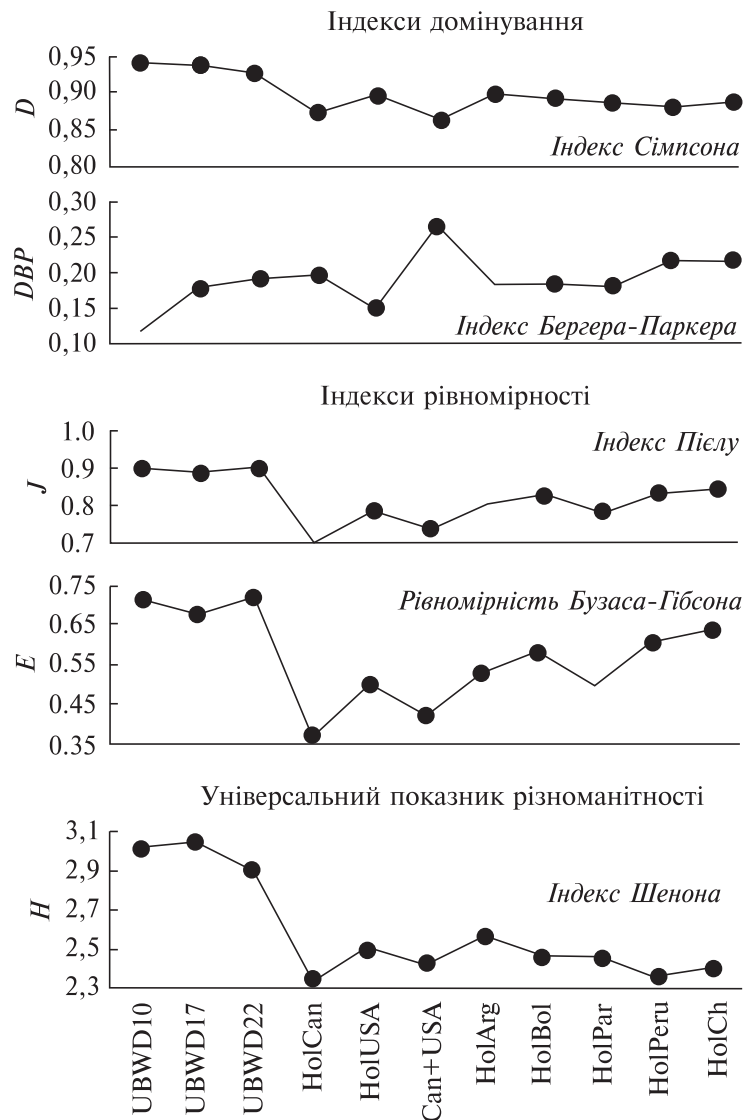


Рис. 3. Індикатори генетичного різноманіття популяцій української чорно-рябої молочної породи та включених у дослідження популяцій голштинської породи визначених за алельним спектром гена BoLA-DRB3 екзон 2

відмітити, що для популяцій української чорно-рябої молочної породи характерним було зменшення індексу, відповідно, $D = 0,939$ (maternal herd), $D = 0,933$ (daughter herd) і $D = 0,924$ (granddaughter herd), що корелює з ростом частки «значимих голштинських» алелів.

Виявлена динаміка підтверджується зростанням індексу Бергера-Паркера, який вказує на алельну «бідність». Він виражає відносну значущість найбільш поширеного алеля, тобто зменшення різноманітності та збільшення ступеня домінування одного таксона при зростан-

ні показника. Наприклад, найбільше значення індексу Бергера-Паркера $DBP = 0,266$ у популяції голштинів США і Канади зумовлено значним переважанням алеля BoLA-DRB3.2*08 ($P_a = 16,7\%$).

Аналіз рівномірності базувався на парі показників — індекс Пієлу та рівномірність Бузаса та Гібсона. Індекс Пієлу набуває значень від 0 (вирівняність відсутня) до 1 (вирівняність максимальна, тобто всі алелі мають однакову частоту). За цим показником найбільша рівномірність розподілу алелів BoLA-DRB3.2 ха-

рактерна для української чорно-рябої молочної породи ($J \approx 0,9$). Інші розглянуті в дослідженні популяції мають менші показники індексу, що свідчить про їх менше генетичне біорізноманіття. Цей висновок підтверджується значеннями рівномірності Бузаса та Гібсона. (Hayek & Buzas, 2010), яка представляє частку еквівалентних алелів у породі (Laflamme et al, 2011).

Для сукупної оцінки багатства та складності використовують індекс різноманітності Шенона. Його значення зростають як при збільшенні кількості алелів, так і при зростанні рівності частот між ними (Nolan & Callahan, 2006).

Результати дослідження показали досить високі значення індексу для української чорно-рябої молочної породи. За роками вони змінювалися наступним чином: $H_{UBWD10} = 3,02$, $H_{UBWD17} = 3,05$ та $H_{UBWD22} = 2,9$. На сьогодні маємо негативну динаміку генетичного різноманіття за геном BoLA-DRB3. Але отримані показники значно перевищують значення індексу Шенона для голштинських порід, серед яких найбільший показник був у аргентинської популяції — $H_{HOLARG} = 2,56$.

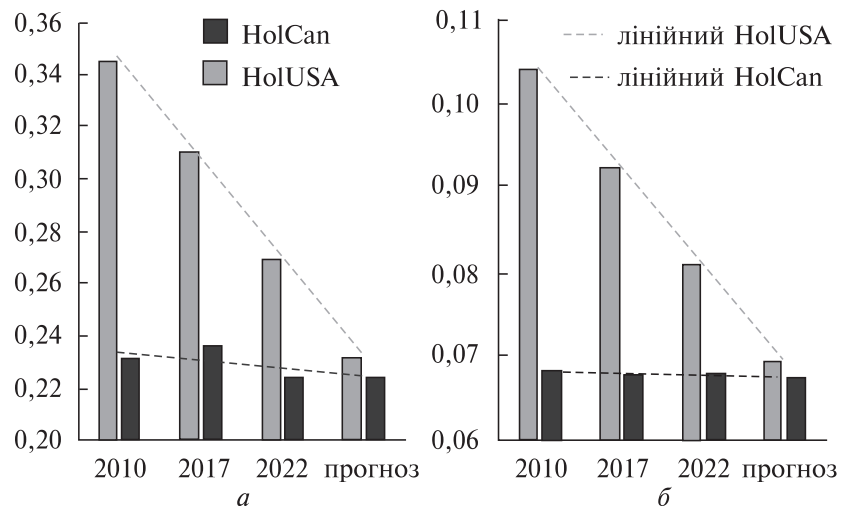
Сучасна українська чорно-ряба молочна порода характеризується як відкрита динамічна популяція широкого ареалу, різноманітна за своєю генеалогічною структурою і не вирівняна за типом. Вона має спорідненість з голландською, естонською, литовською, чорно-рябими популяціями інших регіонів Східної Європи. Наприкінці 70-х років минулого століття було висунуто концепцію й розроблено програму створення молочного типу чорно-рябої худоби. При цьому поліпшуючою визначено голштинську породу, яка вигідно відрізнялась від чорно-рябої високою молочною продуктивністю. На нашу думку, сукупність великої кількості порід великої рогатої худоби з різноманітним генетичним потенціалом, які використовувались у селекційному процесі формування української чорно-рябої молочної породи, зумовили її значну генетичну диференціацію, яку ми спостерігали при аналізі поліморфізму гена BoLA-DRB3.

Індекс Шенона є найглибшим і найкориснішим з усіх індексів розмаїття, але його величина характеризує ентропію, а не розмаїття. Тому L. Jost запропонував на основі ентропії

Шенона використовувати експоненціальну функцію, яка конвертує його в інтуїтивно інтерпретований показник розмаїття (D), яке він визначив як істинне (Jost, 2006). Ефективна кількість алелів за ентропією Shannon — це мінімальна кількість необхідних алелів з однаковою частотою для отримання такої самої величини H , яку було розраховано за реальними вибірковими даними. Показник D є ентропійним аналогом числа ефективних алелів (A_e) за гетерозиготністю. Цей показник (табл. 2) остаточно підтверджує міркування про високу генетичну різноманітність української чорно-рябої молочної породи. Його значення суттєво перевищують аналогічні показники для всіх розглянутих популяцій голштинської худоби. Також має місце зменшення величини ефективного кількості алелів за ентропією Shannon з $D = 20,4$ у популяції 2010 року до $D = 18,2$ у популяції 2022 року.

Бета-різноманіття вивчає зміну біорізноманіття між певними областями, які досліджуються вздовж певного градієнту. Його називають диференційним, бо він на відміну від α -різноманіття, вимірюється не кількістю таксонів, а ступенем їх варіабельності. У якості градієнту використано числову вісь, на якій розташовано три популяції української чорно-рябої молочної породи: maternal herd (2010), daughter herd (2017 рік), granddaughter herd (2022 рік). При аналізі використано припущенням Вітакера про те, що матриця попарної (функціональної) несхожості між ділянками (популяціями) сама по собі є вираженням бета-різноманітності, тому середня несхожість між популяціями може бути використана як скалярна міра функціональної бета-диференціації (Whittaker, 1972). Для виявлення варіабельності селекційних заходів щодо голштинізації материнського стада 2010 року проведено попарне порівняння з чистокровними голштинами Канади і США (рис. 4). Для коректності порівняння використано два індекса β -різноманіття: Вітакера і Рутледжа. Тенденція зміни цих показників чітко вказує, що в часовому тренді спостерігається зниження генетичного різноманіття за геном BoLA-DRB3 української чорно-рябої молочної породи, відносно голштинів Канади та США. Використання у селекційній роботі генетичних ресур-

Рис. 4. Попарні порівняння бета-різноманіття у часовому тренді української чорно-рябої молочної породи відносно голштинів США (HolUSA) і Канади (HolCan) за допомогою індексів Вітакера (а) і Рутледжа (б) з лінійним прогнозом на майбутній період



сів канадських голштинів має більший вплив на цю тенденцію. Лінійний прогноз на майбутній період показує, що при нинішньому рівні використання генетичних ресурсів голштинської породи, рівень генетичного біорізноманіття буде скорочуватись.

Висновки. Високий поліморфізм алелів гена BoLA-DRB3.2 робить його придатним для використання при аналізі генетичного різноманіття великої рогатої худоби. На основі аналізу поліморфізму локусу DRB3 двох популяцій чистокровних голштинів США і Канади встановлено шість алелів BoLA-DRB3.2*08, *11, *16, *22, *23 і *24, які були найбільш поширеними і значимими ($P < 0,05$) в породі. Їх сума коливалася від 70,3 % (США) до 83,5 % (Канади) при середньозваженому значенні 76 %. У досліджених популяціях української чорно-рябої молочної породи за умов селекції спрямованої на постійне використання голштинських плідників частка значимих алелів з 2008 по 2022 рік зросла з 35,2 до 52,8 %. Біорізноманіття, оцінене на базі індексів Сімпсона та Бергера-Паркера, показало, що досліджене стадо української чорно-рябої молочної породи має більше генетичне різноманіття за геном BoLA-DRB3, ніж голштинські популяції, що підтверджено показниками індексу Шенона та ефективною кількістю алелів. Їх значення суттєво перевищують аналогічні показники для всіх розглянутих популяцій голштинської худоби. Також українська чорно-ряба молочна порода має більш рівномірну аallelну структуру

за індексом Пієлу та рівномірністю Бузаса та Гібсона. Спостерігалася тенденція щодо зміни показників бета-різноманіття, яка оцінювалася за індексами Вітакера і Рутледжа. У часовому тренді виявлено зниження генетичного різноманіття за геном BoLA-DRB3 у корів української чорно-рябої молочної породи, відносно Голштинів Канади та США. Використання у селекційній роботі генетичних ресурсів канадських Голштинів має більший вплив на цю тенденцію. Лінійний прогноз на майбутній період показує, що при нинішньому рівні використання генетичних ресурсів голштинської породи, рівень генетичного біорізноманіття української чорно-рябої молочної породи буде зменшуватись.

Дотримання етичних стандартів. Ми заявляємо, що при підготовці цієї статті були дотримані всі етичні норми. Дозвіл на використання тварин було отримано від інституту біології тварин НААН відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей від 18.03.1986 року і Директивою 2010/63/ЄС Європейського Парламенту та Ради від 22 вересня 2010 року.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що у них немає конфлікту інтересів. Всі автори зробили істотний, безпосередній та інтелектуальний внесок у роботу, і схвалили її до публікації.

Фінансування. Ця наукова робота була виконана відповідно до наукової теми, зареєстрованої

ної в ДНУ УкрІНТЕІ (№ держреєстрації 01115u005805) без фінансування сторонніх організацій.

GENETIC DIVERSITY OF THE UKRAINIAN BLACK-AND-WHITE DAIRY BREED POPULATION BY THE BoLA-DRB3 GENE UNDER THE EFFECT OF HOLSTEINISATION

T. Suprovych, Y. Salyha, M. Suprovych, Y. Fedorovych, V. Fedorovych, S. Laiter-Moskaliuk, T. Tokarchuk, V. Bandura
Higher Educational Institution «Podillia State University»,
12, Shevchenko Str., 32316, Kamianets-Podilskyi,
Khmelnyskyi region, Ukraine,
Institute of animal biology NAAS, 38, V. Stus Str.,
79034, Lviv, Ukraine,
E-mail: logir@ukr.net

The aim of the study is to identify changes in genetic diversity in terms of the BoLA-DRB3 gene exon 2 of Ukrainian Black-and-White dairy cows using the example of a breeding herd, where over the recent decade, targeted selection for increasing Holstein bloodlines has been carried out to improve milk production. The changes in genetic diversity were determined by comparing the biodiversity indices of the experimental herd with Holstein populations. In three stages, blood samples were obtained from 391 cows of the Ukrainian Black-and-White dairy breed from the Kozatska Dolyna 2006 breeding farm, Khmelnytsky region, Ukraine. The allelic spectrum of the BoLA-DRB3 gene exon 2 was determined by PCR-RFLP. The study was carried out in stages: in the first population (maternal herd, $n = 162$) in 2008–2010, in the second population (daughter herd, $n = 123$) in 2014–2017, and in the third population (granddaughter herd, $n = 106$) in 2019–2022. For comparison, the study contains previously published data on Holsteins: the USA ($n = 1100$), Canada ($n = 835$), Chile ($n = 113$), Argentina ($n = 424$), Bolivia ($n = 159$), Paraguay ($n = 139$) and Peru ($n = 133$). The high polymorphism of the BoLA-DRB3 exon 2 gene makes it convenient for analyzing the genetic diversity of cattle. The assessment by Simpson and Berger-Parker indices shows that the measured herd of Ukrainian Black-and-White dairy breed has more genetic diversity by the BoLA-DRB3 gene than the Holstein populations. The allelic structure of the studied herds, evaluated by the Pielou index and Buzas and Gibson evenness, is more uniform. Significant genetic diversity of the Ukrainian Black-and-White dairy breed is confirmed by the Shannon index and the effective number of alleles. Their values are significantly higher than those for all the considered Holstein cattle populations. In the time trend, a decrease in genetic diversity by the

BoLA-DRB3 gene was found in Ukrainian Black-and-White dairy cows compared to Holstein cows. The linear forecast for the future period showed that at the current level of using of Holstein genetic material, the level of its genetic biodiversity will decrease.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Abdel Hameed KG, Sender G, Mayntz M (2006) Major histocompatibility complex polymorphism and mastitis resistance – a review. *Animal Sci Papers Rep* 24(1):11–25
- Anbalagan S, Bharathiraja C, Pandiarajan J, Dinakaran S, Krishnan M (2012) Use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) to study genetic diversity within a population of blackfly, *Simulium graveyoli* from Palni hills, peninsular India. *Biologia* 67:1195–1203. <https://doi.org/10.2478/s11756-012-0104-z>
- Arif IA, Khan HA (2009) Molecular markers for biodiversity analysis of wildlife animals: a brief review. *Anim Biodiv Conserv* 32(1):9–17
- Baumung R, Simianer H, Hoffmann I (2004) Genetic diversity studies in farm animals – a survey. *J Anim Breed Genet* 121:361–373. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0388.2004.00479.x>
- Behl JD, Verma NK, Tyagi N, Mishra P, Behl R, Joshi BK (2012) The Major Histocompatibility Complex in Bovines: A Review. *ISRN Veterinary Sci* D872710:12. <https://doi.org/10.5402/2012/872710>
- Bilginer Ü, Ergin M, Demir E, Yolcu HI, Argun Karsli B (2022) Detection of genetic diversity in cattle by microsatellite and SNP markers – a review. *Anim Sci P* 40 (4):375–392
- Blackwood CB, Hudleston D, Zak DR, Buyer JS (2007) Interpreting ecological diversity indices applied to terminal restriction fragment length polymorphism data: insights from simulated microbial communities. *Appl Environ Microb* 73(16):5276–5283. <https://doi.org/10.1128/AEM.00514-07>
- Cavalli-Sforza LL, Bodmer WF (1981) *Genética de las Poblaciones Humanas*. Ed. Omega., Barcelona
- Chao A (1984) Nonparametric Estimation of the Number of Classes in a Population. *Scand J Stat* 11:265–270. <https://doi.org/10.2307/4615964>
- Dietz AB, Cohen ND, Timms L, Kehrli ME (1997) Bovine lymphocyte antigen class II alleles as risk factors for high somatic cell counts in milk of lactating dairy cows. *J Dairy Sc* 80(2):406–412. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)75951-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)75951-4)
- Dilbeck K (2017) Factor analysis: varimax rotation. In *The SAGE Encyclopedia of Communication Research Methods* 4:532–533. <https://doi.org/10.4135/9781483381411>
- Efimenko M, Podoba B, Bratuschka R (2014a) Prospects for the development of the Ukrainian black-

- and-white dairy breed. Tvarynnystvo Ukrainy no. 5: 10–14
- Efimenko M, Podoba B, Bratuschka R (2014b) Uncontrolled «holsteinization» of Ukrainian Black and White dairy breed: expectations and realities. *Propozytsiia* (9):186–189
- Espejo LA, Endres MI, Salfer JA (2006) Prevalence of lameness in high-producing holstein cows housed in freestall barns in Minnesota. *J Dairy Sci* 89(8): 3052–3058. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72579-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72579-6)
- Fedorovych V, Mazur N, Fedorovych Ye, Fyl S (2021) Influence of genetic factors on productive longevity of dairy cattle. *Animal Biol* 23(3):33. <https://doi.org/10.15407/animbiol23.03>
- Fedorovych Ye, Fedorovych V, Kuziv M, Kuziv N (2023) Variability of breeding characters in cows of the ukrainian black-and-white dairy breed under different breeding methods. *Scientifical and practical institute of biotechnologies in animal husbandry and veterinary medicine. Maximovca* 103–110
- Groom MJ, Meffe GK, Carroll CR (2006) *Principles of Conservation Biology*, 3rd Edition. Sinauer Associates. Sunderland, MA. ISBN 978-0-87893-597-0
- Hartl DL, Clark AG (1997) *Principles of Population Genetics*. 3rd Ed. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates
- Hayek LC, Buzas MA (2010) *Surveying Natural Populations. Quantitative Tools for Assessing Biodiversity*. Columbia Univ Press
- Hedrick P (2010) *Genetic of populations*. 4th Edition. Sudbury, Mass Jones and Bartlett Publishers). ISBN-10: 0763757373
- Jost L (2006) Entropy and diversity. *Oikos* 113(2):363–375. <https://doi.org/10.1111/j.2006.0030-1299.14714.x>
- Jost LG (2008) (ST) and its relatives do not measure differentiation. *Mol Ecol* 17(18):4015–4026. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294x.2008.03887.x>
- Kimura M, Crow JF (1964) The number of alleles that can be maintained in a finite population. *Genetics* 49(4):725–738. <https://doi.org/10.1093/genetics/49.4.725>
- Lado C (2001) *Nomenmyx. A nomenclatural taxabase of Myxomycetes*. Madrid: Cuadenos de Trabajo de Flora Micologica Iberica 16:1–221
- Laflamme M, Schiffbauer JD, Dorbos SQ (eds) (2011) *Quantifying the Evolution of Early Life: Numerical Approaches to the Evaluation of Fossils and Ancient Ecosystems*. *Top Geobiol* <https://doi.org/10.1017/S0016756812000039>
- Maguire TL, Peakall R, Saenger P (2002) Comparative analysis of genetic diversity in the mangrove species *Avicennia marina* (Forsk.) Vierh. (*Avicenniaceae*) detected by AFLPs and SSRs. *TAG. Theoretische und Angewandte Genetik* 104(2–3):388–398. <https://doi.org/10.1007/s001220100724>
- Mazur NP, Fedorovych YeI (2023) Productive longevity of dairy cattle. Achievements and research prospects in animal husbandry and veterinary medicine : Sci-entific monograph. Riga, Latvia: «Baltija Publishing 253–276. <https://doi.org/10.30525/978-9934-26-316-3-13>
- Metlytska OI, Kopylov KV, Berezovsky AV (2016) Modern molecular-genetic approach to increase efficiency of selection process in animal breeding of Ukraine. *Animal Breed Genet* (51):193–200
- Nei M (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. *P Natl Acad Sci USA* 70(12):3321–3323. <https://doi.org/10.1073/pnas.70.12.3321>
- Nolan KA, Callahan JE (2006) Beachcomber biology: The Shannon-Weiner Species Diversity Index. Pages 334–338, in *Tested Studies for Laboratory Teaching*, 27, 383 (M.A. O'Donnell, Editor). *Proceedings of the 27th Workshop/Conference of the Association for Biology Laboratory Education (ABLE)*
- Petrovska IR, Salyha YuT, Vudmaska IV (2022) *Statistical methods in biological studies*. Kyiv agricultural science 171 p.
- Piddubna LM (2014) «Holsteinization» of open regional population of Black-and-White cattle and prospects of its further improvement. *Animal Biol* 16(4):121–132
- Polupan YuP, Melnik YuF, Biriukova OD, Peredriy MM (2020) Durability and efficiency of lifetime use of red-and-white dairy cattle. *Animal Breed Genet* 59:78–91. <https://doi.org/10.31073/abg.59.09>
- Polupan YuP, Melnik YuF, Biriukova OD, Priyma SV, Mitiglo LV (2022) Growth, reproductive capacity and productivity of cows of different breeds, methods of selection and parentage. *Animal Breed Genet* 63:91–119. <https://doi.org/10.31073/abg.63.09>
- Scherf BD (2000) *World watch list for domestic animal diversity*. 3rd edition Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy
- Serrana JM, Li B, Sumi T, Takemon Y, Watanabe K (2022) Implications of taxonomic and numerical resolution on DNA metabarcoding-based inference of benthic macroinvertebrate responses to river restoration. *Ecol Indic* (135):108508. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2021.108508>
- Sheldon AL (1969) Equitability indices: Dependence on the species count. *Ecology* 50(3):466–467. <https://doi.org/10.2307/1933900>
- Singh U, Deb R, Alyethodi R, Alex R, Kumar S, Chakraborty S, Dhama K, Sharma A (2014) Molecular markers and their applications in cattle genetic research: A review. *Biomarkers Genom Med* 6:49–58. <https://doi.org/10.1016/j.bgm.2014.03.001>
- Sharif S, Mallard BA, Wilkie BN, Sargeant JM, Scott

- HM, Dekkers JC, Leslie KE (1998) Associations of the bovine major histocompatibility complex DRB3 (BoLA-DRB3) alleles with occurrence of disease and milk somatic cell score in Canadian dairy cattle. *Anim Genet* 29:185–193. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2052.1998.00318.x>
- Suprovych TM, Dyman TM, Suprovych MP, Karchevska TM, Koval TV, Kolodiy VA (2018) Population genetic structure of the Ukrainian black-pied dairy breed with the genome BoLA-DRB3. *Regulatory Mechan Biosyst* 9(4):568–577. <https://doi.org/10.15421/021885>
- Suprovych TM, Vishchur OI, Suprovych MP, Cherpurno VA (2019) Relationship between alleles of gene BoLA-DRB3 and somatic cells amount in milk of Ukrainian black-and-white dairy breed. *Anim Biol* 21(4):75–83. <https://doi.org/10.15407/animbiol21.04.075>
- Suprovych TM, Salyha YT, Suprovych MP, Fedorovych EI, Fedorovych VV, Chornyj IO (2022) Genetic Polymorphism of BoLA-DRB3.2 Locus in Ukrainian Cattle Breeds. *Cytol Genet* 56(4):319–330. <https://www.doi.org/10.3103/S0095452722040089>
- Takeshima SN, Giovambattista G, Okimoto N, Matsumoto Y, Rogberg-Mucoz A, Acosta TJ, Onuma M, Aida Y (2015a) Characterization of bovine MHC class II DRB3 diversity in South American Holstein cattle populations. *Tissue Antigens* 86(6):419–430. <https://doi.org/10.1111/tan.12692>
- Takeshima SN, Miyasaka T, Matsumoto Y, Xue G, Diaz V, Rogberg-Munoz A, Giovambattista G, Ortiz M, Oltra J, Kanemaki M, Onuma M, Aida Y (2015b) Assessment of biodiversity in Chilean cattle using the distribution of major histocompatibility complex class II BoLA-DRB3 allele. *Tissue Antigens* 85(1):35–44. <https://doi.org/10.1111/tan.12481>
- Takeshima SN, Corbi-Botto C, Giovambattista G, Aida Y (2018) Genetic diversity of BoLA-DRB3 in South American Zebu cattle populations. *BMC Genet* 19(1):33. <https://doi.org/10.1186/s12863-018-0618-7>
- Taberlet P, Coissac E, Pansu J, Pompanon F (2011) Conservation genetics of cattle, sheep, and goats. *C R Biol* 334(3):247–254. <https://doi.org/10.1016/j.crvi.2010.12.007>
- Teneva A, Petrović MP (2010) Application of molecular markers in livestock improvement. *Biotechnol Animal Husband* (26):135–154. <https://doi.org/10.2298/BAH1004135T>
- United Nations Environment Programme. Convention on biological diversity, June 1992. <https://wedocs.unep.org/20.500.11822/8340>
- Van Uhm DP (2016) The Sixth Mass Extinction. In: *The Illegal Wildlife Trade. Studies of Organized Crime*, 15. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-42129-2_2
- Van Eijk MJT, Stewart-Haynes JA, Lewin HA (1992) Extensive polymorphism of the BoLA-DRB3 gene distinguished by PCR-RFLP. *Anim Genet* 23(6):483–496. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.1992.tb00168.x>
- Vechorka VV, Khmelnychy LM (2019) Genetic factors influence the productivity of cows of Ukrainian Black-and-White dairy cattle. *Anim Breed Genet* 57:22–28. <https://doi.org/10.31073/abg.57.03>
- Weir BS, Cockerham CC (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolut Inter J Organ Evolut* 38(6):1358–1370. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1984.tb05657.x>
- Whittaker RH (1972) Evolution and measurement of species diversity. *Taxon* (21):213–251

Надійшла в редакцію 19.03.2024
Після доопрацювання 01.06.2024
Прийнята до друку 18.11.2024