

ГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СВИНЕЙ РІЗНИХ ПОРІД ЗА ДНК-ПОЛІМОРФІЗМАМИ ЛЕЙКОЦИТАРНОГО АНТИГЕНУ

А. С. ОГЕР¹, О. І. МЕТЛИЦЬКА², В. Ю. НОР³

¹Інститут розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця (Чубинське, Україна)

²Полтавська державна аграрна академія (Полтава, Україна)

³Інститут свинарства і АПВ НААН (Полтава, Україна)

Проведено оцінку поліморфізму лейкоцитарного антигену свині (SLA-3) методом алель-специфічної ПЛР на міжпородному рівні. Досліджено особливості структури алелофонду свиней порід велика біла, миргородська, українська степова біла, українська степова ряба та в'єтнамська звислочервна за чотирма поліморфними сайтами SLA-3-0602, SLA-3-0401, SLA-3-0101 та SLA-3-03cs01. Оцінено інформативність використаних маркерів у визначенні генетичної специфіки порід.

Проаналізовано рівні генетичної гетерогенності та диференціацію порід за частотним розподілом алелів SLA. Доведено перспективність застосування отриманих генетичних характеристик у програмах збереження зникаючих порід і підтримки біологічного різноманіття. **Ключові слова:** лейкоцитарний антиген свині (SLA), поліморфізм, алель-специфічна ПЛР (SSP-ПЛР), генетичні дистанції, свині

GENETICS CHARACTERS OF PIGS DIFFERENT BREEDS BY DNA-POLYMORPHISM OF SWINE LEUKOCYTE ANTIGEN

A. S. Oger¹, O. I. Metlytska², V. Y. Nor³

¹Institute of Breeding and Animal Genetics n. M.V.Zubets NAAS (Chubynske, Ukraine)

²Poltava state agrarian academy (Poltava, Ukraine)

³Institute of pig breeding and ATV NAAS (Poltava, Ukraine)

The assessment of polymorphism of porcine leukocyte antigen (SLA – 3) was carried out by the method of allele-specific PCR at the interbreed level. The peculiarities of the structure of the alelo fund of pigs of large white, Mirgorod, Ukrainian steppe white, Ukrainian steppe rippled and Vietnamese vislobryuya were studied on four polymorphic sites SLA – 3–0602, SLA – 3–0401, SLA – 3–0101 and SLA – 3–03cs01. The information content of the markers used in determining the genetic specificity of the rocks was evaluated. The levels of genetic heterogeneity and differentiation of rocks by the frequency distribution of SLA alleles are analyzed. The perspectivity of using the obtained genetic characteristics in programs for the conservation of endangered species and the maintenance of biological diversity is shown.

Keywords: leukocyte pig antigen (SLA), polymorphism, allele-specific PCR (SSP-PCR), genetic distances, pigs

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СВИНЕЙ РАЗНЫХ ПОРОД ПО ДНК-ПОЛИМОРФИЗМАМ ЛЕЙКОЦИТАРНОГО АНТИГЕНА

А. С. Огер¹, Е. И. Метлицкая², В. Ю. Нор³

¹Інститут розведення і генетики животнох імені М.В.Зубця НААН (Чубинське, Україна)

²Полтавська державна аграрна академія (Полтава, Україна)

³Інститут свиноводства і АПВ НААН (Полтава, Україна)

Проведена оцінка поліморфізму лейкоцитарного антигена свиней (SLA-3) методом аллель-специфічної ПЦР на межпородному рівні. Вивчені особливості структури алелофонда свиней порід крупная белая, миргородская, украинская степная белая, украинская степная рябая и вьетнамская вислобрюхая по чотирьох поліморфним сайтам SLA-3-0602, SLA-3-0401, SLA-3-0101 та SLA-3-03cs01. Оцінена інформативність використаних маркерів в визначенні генетичної специфіки порід. Проаналізовані рівні генетичної гетерогенності та диференціація порід по частотному розподіленню алелів SLA. Показана перспективність використання отриманих генетичних характеристик в програмах по збереженню зникаючих порід та підтримання біологічного різноманіття.

Ключові слова: лейкоцитарний антиген свині (SLA), поліморфізм, аллель-специфічна ПЦР (SSP-ПЦР), генетичні дистанції, свині

Вступ. Проблема збереження генетичних ресурсів місцевих порід сільськогосподарських тварин, як визначається у звітах міжнародних організацій FAO і SLOW FOOD 2007–2016 років, викликана необхідністю збереження культурних традицій, продовольчою безпекою, сталим розвитком сільського господарства а також якістю життя людей у цілому. Важливість збереження біорізноманіття підтверджена Міжнародною конвенцією (1 і 6 статті) [1], що підкреслює значення збереження і регіонального використання генетичних ресурсів для сільського господарства і продовольчої безпеки усього світу. Пріоритетними об'єктами охорони в агробіоценозах повинні бути сорти культурних рослин і локальні породи свійських тварин. В якості основних науково-методичних засобів, що призначені вирішувати проблему збереження біологічного різноманіття в Україні, визначено «...удосконалену систему моніторингу, включаючи інвентаризацію природних ресурсів, ведення кадастрів на основі створення банків даних та інформаційних систем» [2]. Очевидно, що головним завданням при розробці програм збереження зникаючих порід і видів тварин є визначення і розробка методів виявлення їх генетичного різноманіття. В цьому аспекті, найбільш перспективними молекулярно-генетичними маркерами в системі моніторингу малочисельних популяцій тварин можна вважати ті, що ґрунтуються на визначенні поліморфізму генів головного комплексу гістосумісності.

Головний комплекс гістосумісності свиней (МНС) містить гени SLA (лейкоцитарний антиген свині) кластеру I, II і III. Гени SLA є високо поліморфними, кодують серію глікопротеїнів, що функціонують на поверхні клітин Т – лімфоцитів і, таким чином, забезпечують індивідуальну та породоспецифічну відповідь на інфекційні захворювання та вакцинацію [3].

Визначення поліморфізму SLA є важливим інструментом для дослідження імунних реакцій, стійкості до захворювань (особливо до умовно-патогенних кишкових інфекцій, які є основною причиною загибелі молодняку на ранніх етапах онтогенетичного розвитку), проявом високого рівня репродуктивних [4] та відгодівельних ознак [5]. Актуальність розробки молекулярно-генетичних систем ранньої діагностики стійкості свиней до колібактеріозів, визначається можливістю підвищення у такий спосіб збереженості молодняку, а отже підвищення рентабельності галузі свинарства. Генетична система лейкоцитарного антигену свині також є цінною моделлю для проведення медико-біологічних досліджень, насамперед, спрямованих на апробацію лікарських препаратів, відпрацювання новітніх методів хірургії, проведення оцінки можливості трансплантації органів і тканин від свиней людині. Міжнародним комітетом генетиків і селекціонерів тварин (ISAG) створена систематична номенклатура алелів і генотипів класу I і класу II SLA [6]. Наявна інформація про алелі імунного поліморфізму є у відкритій базі даних (IPD-МНС) [7]. Таким чином, високополіморфна система SLA може бути надійним критерієм щодо оцінки особливостей генетичної структури зникаючих і малочисельних порід і додатковим елементом їх генетичної паспортизації, ідентифікації та вирішення нагальних проблем збереження генофонду.

Аналіз публікацій вітчизняних і зарубіжних науковців за останні роки [8–13] підтверджує тезис про можливість впровадження в систему племінної справи у свинарстві України елементів маркер-асоційованої селекції, що ґрунтується на визначенні генотипів з високим

потенціалом бажаних продуктивних ознак. В цьому контексті, ДНК–маркери SLA локусу можуть створити основу моніторингу і системи селекційного поліпшення порід і популяцій свиней, переважно малочисельних і аборигенних зникаючих. Відомо, що цінність місцевих порід свиней визначається їх високими адаптивними властивостями до місцевих умов розведення, насамперед стійкістю до збудників інфекційних захворювань. Таким чином, пошук унікальних алельних комплексів SLA місцевих порід складатиме вагоме підґрунтя доцільності їх збереження *in situ* та *ex situ*.

Виходячи з вищенаведених даних, **метою** нашої роботи було визначення генетичних особливостей локальних порід і популяцій свиней України за поліморфізмами лейкоцитарного антигену SLA–3.

Матеріали та методи досліджень. Весь обсяг проведених досліджень був здійснений на вибірках свиней миргородської породи з Державного підприємства «Дослідне господарство імені Декабристів» Інституту свинарства і агропромислового виробництва НААН (ДП «ДГ імені Декабристів Інституту свинарства і АПВ НААН», Полтавська область) (n = 48), української степової рябої породи з Державного підприємства «Дослідне господарство Інституту тваринництва степових районів імені М.Ф.Іванова «Асканія–Нова» – Національного наукового селекційно–генетичного центру з вівчарства» (ДП «ДГ ІТСП – ННСГЦВ» , Херсонська область) (n = 12), велика біла порода з племінного репродуктора ПСП «Дзвеняче» с. Дзвеняче, Тетіївського району, Київської області (n = 17), українська степова біла (n = 10) та в'єтнамська звислочерева (n = 10) – з банку ДНК лабораторії генетики Інституту свинарства і АПВ НААН. Для проведення молекулярно–генетичних досліджень від піддослідних тварин були відібрані зразки біоматеріалу (венозна кров, щетина із волосяними цибулинами, вушні вищипи, сперма кнурів). Для виділення геномної ДНК зі зразків була застосована йоннообмінна смола Chelex[®]–100 [14]. Для SLA генотипування використовували метод ПЛП–SSP (sequence specific primers) згідно методик авторів [15] у власній модифікації. В основі методу лежить ампліфікація фрагментів певного генетичного локусу в полімеразній ланцюговій реакції з алель–специфічними праймерами. У випадку виникнення одонуклеотидних замін у сайтах випалювання праймерів, реакція ампліфікації не відбувається, таким чином забезпечується специфічність синтезу алеля відомої нуклеотидної послідовності. Структура використаних у досліді праймерів наведена у таблиці 1.

1. Структура праймерів для генотипування свиней за локусами SLA

№ з/п	Назва локусу	Назва алеля (ISAG)	Структура праймерів	Розмір фрагменту
1	SLA – 3	03cs01	Forward: 5'– GCTCTTCCTCCACGGGTACCA – 3'	185 п.н
			Reverse: 5'– GGAGCCACTCCACACACGC – 3'	
2	SLA – 3	0602	Forward: 5'– GCGACGTCGGGCCAGACT – 3'	154 п.н
			Reverse: 5'– GCATCGGCCCGCTCCCT – 3'	
3	SLA – 3	0101	Forward: 5'– TCGCGGGTACAGTCAGTTTGG – 3'	217 п.н
			Reverse: 5'– TGCGTGCTGCAGCGTGTAT – 3'	
4	SLA – 3	0401	Forward: 5'– GGAAGCCCCGTTTCATCGAA – 3'	209 п.н
			Reverse: 5'– CTGGTTGTAGTAGCCGCGCAGGTTT – 3'	
5	A – Actin	«+» конт- роль	Forward: 5'– CGCCATGTGTGACGAAGACGAGACC – 3'	516 п.н
			Reverse: 5'– CACGTACATGGCGGGCACGTTGAAG – 3'	

Алель-специфічна ампліфікація проводилася за наступною схемою: в 0,5-мл пробірки типу Eppendorf вносили реакційну суміш (15 мкл) наступного складу: реакційний буфер (16,6 ммоль/мл (NH₄)₂SO₄; 67,0 ммоль/мл Тріс–HCl (водневий показник – 8,8 одиниць рН за температури 25 ± 0,30С); 0,01%–ий Tween–20; 2,0 ммоль/мл хлориду магнію; 2 ммоль/мл кожної dNTP) – 1,5 мкл;

– 100 пМ праймеру – (0,2–0,5) мкл;

- від 2 до 4 одиниць активності Taq-полімерази – (0,1–0,2) мкл;
- (1–2нг) ДНК-зразка – (1–3) мкл;
- вода дейонізована (в необхідній кількості до досягнення загального об'єму суміші 15 мкл).

Електрофоретичне розділення ампліфікованих ділянок ДНК в техніці ПЛП-SSP у форматі мультиплекс проводилось у 2%-му агарозному гелі у тріс-боратному електрофорезному буфері (TBE: 0,0879 М Тріс, 0,089 М борна кислота, 0,002 М ЕДТА рН 8,0), згідно методичних рекомендацій [16]. Для контролю за розмірами отриманих в результаті ампліфікації фрагментів використовувалися маркери молекулярної розміру: pUC19/Msp1 і O'GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder виробництва «Fermentas» (Вільнюс, Латвія), що дозволяє проводити контроль за розмірами ДНК-фрагментів у діапазоні молекулярних розмірів від 50 до 1000 п.н.

Статистична обробка результатів досліджень проводилась методами математичної статистики, за використання комп'ютерної програми GenAlex 6.0. [17]. Генетичні дистанції розраховували за показниками індексів генетичної подібності, отриманих в програмі GELSTAT за формулою:

$$D_{xy} = - \ln I$$

Побудову дендрограм здійснювали за величинами генетичних дистанцій в програмі TREE та MEGA 4 [18–20]. Статистичний аналіз вірогідності різниці між представниками різних популяцій за частотами алелів, гетерозиготності, внутрігрупової схожості та ін., проводили за алгоритмом Фішера [21].

Результати досліджень. Молекулярно-генетичний аналіз з визначення алелів головного комплексу гістосумісності свиней за чотирма поліморфізмами SLA-3 показав суттєву відмінність досліджених порід за обраними маркерами (табл. 2).

2. Генетико-популяційні показники різних популяцій свиней за чотирма алелями локусу SLA-3

Породи свиней	Частоти алелів				Рівень внутрігру-пової схожості	Сумарна розрахована гетерозиготність
	03cs01	0101	0401	0602		
В'єтнамська звислочеревна	0,100	1,000*	1,000	0,000	0,960	0,024
Велика біла	0,000 ^a	0,000	1,000	0,882*	0,927	0,136
Миргородська	0,000 ^a	0,182	0,818	0,000	0,618	0,495
Українська степова біла	0,400*	0,100	1,000	0,300	0,682	0,250
Українська степова ряба	0,300	0,100	0,400*	0,300	0,156*	0,823

Примітка: * – $p < 0,05$

У дослідженій вибірці свиней миргородської породи виявили відсутність алеля SLA-3-03cs01 та SLA-3-0602, в той час як за маркерними системи, SLA-3-0101 та SLA-3-0401 досліджені тварини були поліморфними, з частотою носіїв відповідних алелів 18,2 та 81,8%. За зазначеним поліморфним сайтом SLA-3-0401 тварини порід велика біла, українська степова біла і в'єтнамська звислочеревна характеризувались мономорфністю, проте у представників аборигенної малочисельної породи української степової рябої частота цього алеля не перевищувала 40%. Відмітимо, що генетична структура тварин породи в'єтнамська звислочеревна суттєво відрізнялася від популяційних характеристик, отриманих для тварин місцевих українських порід за чотирма сайтами SLA. Найбільші статистично значущі відмінності зафіксовані для частот алелів SLA-3-0602 та SLA-3-0101: перший із названих алелів був відсутній у тварин породи в'єтнамська звислочеревна за його 100% присутності у свиней великої білої породи, другий – зустрічався у всіх тварин породи в'єтнамська звислочеревна і був відсутній у

вибірці свиней великої білої породи ($p < 0,05$). Не виключно, що генетична структура свиней великої білої породи, обраних для дослідження в ПСП «Дзвеняче», практично не містить генних комплексів, властивих тваринам азійського походження, до яких відноситься в'єтнамська звислочеревна.

На відміну від вибірки свиней миргородської породи, мікропопуляція в'єтнамської звислочеревної виявилася мономорфною за SLA-3-0602, SLA-3-0401 та SLA-3-0101 (тварин-носіїв алеля 0602 виявлено не було, за 0401 та 0101 поліморфізмами 100% особин мали досліджувані алелі) і лише SLA-3-03cs01 був поліморфним з 10%-ю часткою свиней з цим алелем.

За результатом SLA-типуювання вибірки тварин української степової рябої породи було показано, що частота алеля SLA-3-0602 склала, як і у тварин української степової білої породи, 30%, а фрагмент SLA-3 локусу з розміром 209 п.н. (алель 0401) виявив ознаки генетичного поліморфізму у цих тварин і зустрічався з частотою 40%, в той час як мікропопуляція української степової білої породи виявилася мономорфною за цим алелем, а його частота склала 100%.

За поліморфізмами SLA-3-0101 та SLA-3-03cs01 свині порід українська степова ряба та українська степова біла виявилися генетично поліморфними з часткою тварин-носіїв алелю 0101 по 10%, а алелю 03cs01 – 30% і 40%, відповідно. Вважаємо за необхідне зазначити суттєві відмінності цих порід за частотою розповсюдження SLA-3-0401 алеля: він був визначений у всіх досліджених тварин української степової білої породи, великої білої і в'єтнамської звислочеревної, тоді як його наявністю характеризувалися лише 40% тварин української степової рябої породи.

Характер розподілу алелів за усіма обраними для дослідження поліморфізмами локусу лейкоцитарного антигену свині (SLA-3) показав високу генетичну гомогенність вибірки тварин великої білої породи, з тією особливістю, що носіїв алелів SLA-3-0101 та SLA-3-03cs01 виявлено не було, а за SLA-3-0602 та SLA-3-0401 100% особин мали у своєму генотипі відповідні алелі. Цей факт очевидно пов'язаний з тим, що обрана для дослідження група свиней була високопродуктивною та відселекціонована за основними показниками продуктивності, що і підтверджується вихідними зоотехнічними даними з документів племінного обліку господарства. Також, ймовірно, що генетична гомогенність свиней великої білої породи племзаводу «Дзвеняче» пов'язана із тим, що вони є потомками обмеженої кількості термінальних кнурів плідників імпоротної селекції. Метою завезення термінальних кнурів у господарство було поліпшення м'ясних і відгодівельних якостей молодняку, отриманого від свиноматок великої білої породи української селекції. Високі параметри генетичної гомогенності цих тварин підтверджуються і розрахунком показника сумарної розрахованої гетерозиготності що мала значення 0,136. Найвищу генетичну і, відповідно, генеалогічну спорідненість (згідно даних зоотехнічного обліку) мали тварини в'єтнамської звислочеревної породи, для яких рівень внутрігрупової схожості склав 0,960, а розрахована гетерозиготність була мінімальною серед тварин досліджених порід – 0,024.

Аналіз популяційно-генетичних характеристик автохтонних порід – української степової рябої і миргородської дозволив виявити доволі цікаві закономірності, на що необхідно звернути увагу фахівцям при подальшому плануванні селекційно-племінної роботи з цими тваринами. Найменше значення внутрігрупової схожості було зафіксоване для свиней української степової рябої породи – 0,156, порівняно із величинами цього показника у тварин інших порід досліджу ($p < 0,05$), а теоретично розрахована гетерозиготність для вибірки цих тварин дорівнювала 0,823. Феномен збільшення гетерозиготності у популяціях сільськогосподарських тварин обмеженої чисельності неодноразово спостерігався низкою дослідників, що пояснюється не лише удосконаленням системи гетерогенного добору тварин за генеалогічними даними та результатами молекулярно-генетичного маркірування, але і окремими, під час, невідомими факторами презиготичного відбору та природного добору проти гомозигот, насамперед внаслідок часткових ефектів інбридингу [22, 23] .

Узагальнювальну оцінку генетичної диференціації порід за досліджуваними SLA–3 поліморфізмами отримано шляхом проведення кластерного аналізу на основі розрахованих величин генетичних відстаней між породами за розподілом алелів чотирьох SLA–3 поліморфних сайтів. Значення генетичної подібності між породами свиней та відповідні ним величини генетичних дистанцій наведені в таблиці 3. Найбільш генетично віддаленими одна від одної виявилися породи миргородська та українська степова ряба, а значення генетичної дистанції між названими породами склало 0,767. Загалом порода українська степова ряба за отриманими генетичними параметрами характеризувалася найбільш унікальним розподілом SLA–3 алелів, порівняно із представниками інших порід досліду, що і вплинуло на конфігурацію побудованої дендрограми генетичних взаємовідносин між породами методом UPGMA (метод попарної незваженої кластеризації з арифметичним усередненням) (рис. 1).

3. Генетичні дистанції (верхня діагональ) та генетична подібність (нижня діагональ) між мікропопуляціями свиней п'яти порід за результатами SLA–3 типування

Породи свиней	В'єтнамська звислочеревна	Велика біла	Миргородська	Українська степова біла	Українська степова ряба
В'єтнамська звислочеревна	0,000	0,491	0,379	0,416	0,746
Велика біла	0,509	0,000	0,439	0,312	0,623
Миргородська	0,621	0,561	0,000	0,397	0,767
Українська степова біла	0,584	0,688	0,603	0,000	0,658
Українська степова ряба	0,254	0,378	0,233	0,342	0,000

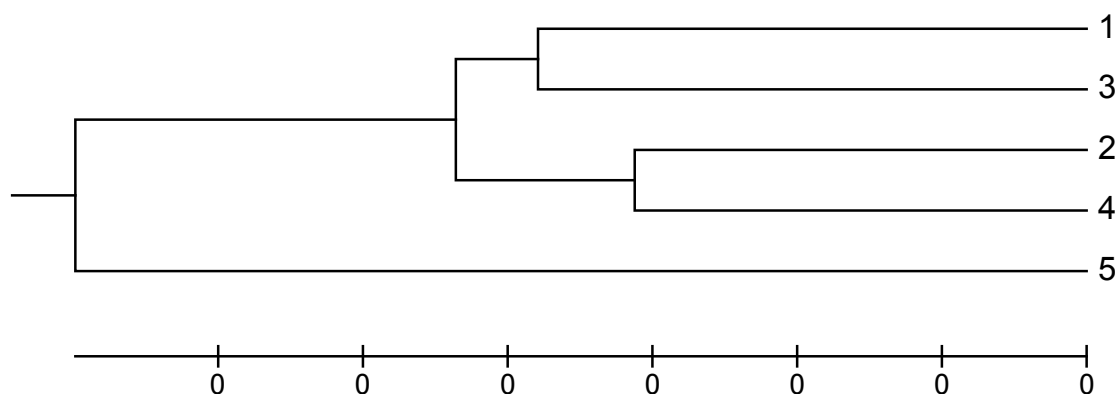


Рис 1. Дендрограма генетичних взаємовідносин між породами, де 1 – В'єтнамська звислочеревна, 2 – Велика біла, 3 – Миргородська, 4 – Українська степова біла, 5 – Українська степова ряба

Структура побудованої дендрограми складається із двох окремих підкластерів. До першого із них увійшли тварини миргородської породи та в'єтнамської звислочеревної, а другий сформований найбільш генетично подібними тваринами великої білої та української степової білої порід, що повністю відповідає історії створення цих порід та історичних зв'язків, що склалися між ними у процесі їх подальшого становлення і удосконалення. Подібність миргородської породи до в'єтнамської також має генеалогічне підтвердження та молекулярно-генетичні докази, які ґрунтуються на визначенні унікальних гаплогруп у геномі свиней миргородської породи, притаманних свиням в'єтнамської породи [24]. Відмітимо, що тварини української степової рябої породи в структурі отриманої нами дендрограми утворили окреме відгалуження, наближене до підкластеру аборигенних миргородських свиней.

Таким чином, в результаті проведеного молекулярно-генетичного, популяційного і кластерного аналізу ми довели унікальність і породну специфічність українських степових білих

та українських степових рябих свиней, що є додатковим аргументом проти пропозицій деяких науковців з приводу об'єднання цих зникаючих степових порід свиней в одну популяцію. Отримані нами генетичні характеристики миргородської породи свиней можуть стати в нагоді у процесі відновлення цих тварин біотехнологічними методами, оскільки епідемія африканської чуми призвела до повного знищення цих тварин, генеративний матеріал від яких залишився лише у Банку генетичних ресурсів Інституту розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН.

Висновки. Результати розрахунку внутрігрупової схожості, гетерозиготності і генетичних дистанцій між представниками досліджених порід за SLA-3 може бути використано при оцінці рівня їх генетичної консолідованості, інбридингу і прогнозуванні оптимальних поєднань для отримання гетерозисного ефекту, в тому числі і за ознаками опірності до інфекційних захворювань. Виявлення породної специфічності SLA алелофонду тварин місцевих порід створює перспективи щодо використання цієї інформації в якості додаткового інструменту їх генетичної паспортизації в програмах із збереження і відновлення їх генофонду.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Convention on biological diversity. Rio de Janeiro, 5 June 1992. – 214 p. [Electronic resource]. – Режим доступу : https://treaties.un.org/doc/Treaties/1992/06/19920605%2008-44%20PM/Ch_XXVII_08p.pdf
2. Про концепцію збереження біологічного різноманіття України. Постанова Кабінету міністрів України від 12.05.1997., № 439, із змінами і доповненнями від 12.10.2011., № 1048. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: [http://search.ligazakon.ua/l_doc2.nsf/link1/KP970439.htm].
3. Shuhua, F. Structural and Biochemical Analyses of Swine Major Histocompatibility Complex Class I Complexes and Prediction of the Epitope Map of Important Influenza A Virus Strains / W. Yanan, W. Song, W. Zhenbao, J. Bo, L. Yanjie, L. Ruiying, Z. Wenzhong, Z. Nianzhi, X. Chun // Journal of virology. – 2016. – V. 90. – № 15. – P. 6625–6641.
4. Soe, O. Assignment of the SLA alleles and reproductive potential of selective breeding Duroc pig lines / Y. Ohba, N. Imaeda, N. Nishii, M. Takasu, G. Yoshioka, H. Kawata, A. Shigenari, H. Uenishi, H. Inoko, A. Ando, H. Kitagawa // Xenotransplantation. – 2008. – V. 15. – № 6. – P. 390–397.
5. Lunney, J. K. Molecular genetics of the swine major histocompatibility complex, the SLA complex / C. Ho, M. Wysocki, D. Smith // Dev. Comp. Immunol. – 2009. – V. 33. – P. 362–374.
6. Nomenclature for factors of the swine leukocyte antigen class II system / D. M. Smith, J. K. Lunney, C. S. Ho, G. W. Martens, A. Ando, J. H. Lee, L. Schook, C. Renard, P. Chardon // Tissue Antigens. – 2005. – V. 66. – P. 623–639.
7. ISAG/IUIS–VIC Comparative MHC Nomenclature Committee report / S. A. Ellis, R. E. Bontrop, D. F. Antczak, K. Ballingall, C. J. Davies, J. Kaufman, L. J. Kennedy, J. Robinson, D. M. Smith, M. J. Stear, R. J. Stet, M. J. Waller, L. Walter, S. G. Marsh // Immunogenetics. – 2005. – V. 57. – P. 953–958.
8. Рудоман, Г. С. Аналіз поліморфізму гена MUC4, асоційованого із стійкістю свиней вітчизняної і зарубіжної селекції до колибактеріозу / Г. С. Рудоман, В. М. Балацький, В. Ю. Нор // Розведення і генетика тварин : міжвід. темат. наук. зб. – К., 2016. – Вип. 51. – С. 200–205.
9. Vykoukalová, Z. New SNPs in the IGF2 gene and backfat thickness and lean meat content in Large White pigs / Z. Vykoukalová, A. Knoll, J. Dvořák // J. Anim. Breed. Genet. – 2006. – V. 123. – P. 204–207.
10. Балацький, В. М. Використання ДНК-типів у практиці селекційно-плеємної роботи / В. М. Балацький, К. Ф. Почерняев // Вісник Полтавської державної аграрної академії. – 2005. – № 3. – С. 25–26.

11. Лядський, І. К. Поліморфізм гена *hmgal* в різних популяціях свиней великої білої породи України / І. К. Лядський, К. Ф. Почерняєв // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. – К., 2009. – Вип. 138. – С. 269–272.
12. Mrode, R. Genomic Selection and Use of Molecular Tools in Breeding Programs for Indigenous and Crossbred Cattle in Developing Countries: Current Status and Future Prospects / R. Mrode, J. Ojango, A. Okeyo, J. Mwacharo // *Front Genet.* – 2018. – V. 9. – P. 694–705.
13. Piyasatian, N. QTL detection and marker-assisted composite line development / N. Piyasatian, R. L. Fernando, J. C. M. Dekkers // *Livestock Sci.* – 2012. – V. 143. – P. 233–241.
14. Walsh, P. S. Chelex 100 as a Medium for Extraction of DNA for PCR-Based Typing from Forensic Material / P. S. Walsh, D. A. Metzger, R. Higuchi // *BioTechniques.* – 1991. – № 10. – P. 506–509.
15. Characterization of swine leukocyte antigen polymorphism by sequence-based and PCR-SSP methods in Meishan pigs / C. S. Ho, E. S. Rochelle, G. W. Martens, L. B. Schook, D. M. Smith // *Immunogenetics.* – 2006. – V. 58. – № 11. – P. 873–882.
16. Маниатис, Т. Мол. клон. / Т. Маниатис, Э. Фрич, Дж. Сембрук ; под. ред. А. А. Баева. – М. : Мир, 1984. – 479 с.
17. Peacall, R. GENALEX 6 : genetic analysis in Excel Population genetic software and research / R. Peacall, P. E. Smouse // *Molecular Ecology Notes.* – 2006. – № 6. – P. 288–295.
18. Rogstad, S. GELSTATS : a computer program for population genetics analyses using VNTR multilocus probe data / S. Rogstad, S. Pelican // *Bio Techniques.* – 1996. – V. 21. – № 6.
19. Календарь, Р. Н. Компьютерная программа для построения эволюционных деревьев на основе электрофореграмм ДНК и белков / Р. Н. Календарь // Молекулярно-генетические маркеры и селекция растений : материалы конф. – Киев, 1994. – С. 25–26.
20. MEGA 4 : Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0 / K. Tamura, J. Dudley, M. Nei, S. Kumar // *Molecular Biology and Evolution.* – 2004. – V. 24. – P. 1596–1599.
21. Плохинский, Н. А. Руководство по биометрии для зоотехников / Н. А. Плохинский // М. : Колос, 1969. – 255 с.
22. Lenormand, T. Gene flow and the limits to natural selection / T. Lenormand // *Trends Ecol. Evol.* – 2002. – № 17. – P. 183–189.
23. Hu, X, F. Yeh, Assessing postzygotic isolation using zygotic disequilibria in natural hybrid zones / X. Hu, F. Yeh // *PLoS ONE.* – 2014. – V. 9. – P. 1–15.
24. Почерняєв К. Ф. Оцінка генетичної різноманітності локальних порід свиней України за поліморфізмом мітохондріальної ДНК / К. Ф. Почерняєв // Свинарство : міжвід. темат. наук. зб. – Полтава, 2012. – Вип. 60. – С. 71–76.

REFERENCES

1. Convention on biological diversity. Rio de Janeiro, 5 June 1992. – 214p. (https://treaties.un.org/doc/Treaties/1992/06/19920605%2008-44%20PM/Ch_XXVII_08p.pdf). (in English).
2. Pro koncepciyu zberezhennya biologichnogo riznomanittya Ukrayiny. Postanova Kabinetu ministriv Ukrayiny vid 12.05.1997., № 439, iz zminamy i dopovnennyamy vid 12.10.2011., № 1048 – About the concept of conservation of biodiversity in Ukraine. Resolution of the Cabinet of Ministers of Ukraine dated May 12, 1997, No. 439, as amended and supplemented dated 12.10.2011, No. 1048. (http://search.ligazakon.ua/l_doc2.nsf/link1/KP970439.htm) (in Ukrainian).
3. Shuhua, F., W. Yanan, W. Song, W. Zhenbao, J. Bo, L. Yanjie, L. Ruiying, Z. Wenzhong, Z. Nianzhi, X. Chun. 2016. Structural and Biochemical Analyses of Swine Major Histocompatibility Complex Class I Complexes and Prediction of the Epitope Map of Important Influenza A Virus Strains – *Journal of virology.* 90(15):6625 – 6641(in English).
4. Soe, O., Y. Ohba, N. Imaeda, N. Nishii, M. Takasu, G. Yoshioka, H. Kawata, A. Shigenari, H. Uenishi, H. Inoko, A. Ando, H. Kitagawa. 2008. Assignment of the SLA alleles and reproductive potential of selective breeding Duroc pig lines – Xenotransplantation. 15(6):390-397(in English).

5. Lunney, J. K., C. Ho, M. Wysocki, D. Smith. 2009. Molecular genetics of the swine major histocompatibility complex, the SLA complex – *Dev. Comp. Immunol.* 33:362–374 (in English).
6. Smith, D. M., J. K. Lunney, C. S. Ho, G. W. Martens, A. Ando, J. H. Lee, L. Schook, C. Renard, P. Chardon. 2005. Nomenclature for factors of the swine leukocyte antigen class II system – *Tissue Antigens.* 66:623–639 (in English).
7. Ellis, S. A., R. E. Bontrop, D. F. Antczak, K. Ballingall, C. J. Davies, J. Kaufman, L. J. Kennedy, J. Robinson, D. M. Smith, M. J. Stear, R. J. Stet, M. J. Waller, L. Walter, S. G. Marsh. 2006. ISAG/IUIS–VIC Comparative MHC Nomenclature Committee report – *Immunogenetics.* 57:953–958 (in English).
8. Rudoman, G. S., V. M. Balacz`kyj, V. Yu. Nor. 2016. Analiz polimorfizmu gena MUC4, asocijovanogo iz stijkisty svynej vitchyznyanoi i zarubizhnoyi selekciyi do kolibakteriozu – Analysis of the polymorphism of the gene MUC4 associated with the resistance of pigs of domestic and foreign breeding to colibacillosis. *Rozvedennya i genetyka tvaryn. Mizhvidomchij naukovyj zbirnyk – Animal breeding and genetics. Interdepartmental scientific collection.* 55:200–205 (in Ukrainian).
9. Vykoukalová, Z., A. Knoll, J. Dvořák. 2006. New SNPs in the IGF2 gene and backfat thickness and lean meat content in Large White pigs – *J. Anim. Breed. Genet.* 123:204–207 (in English).
10. Balacz`kyj, V. M., K. F. Pochernyaev. 2005. Vykorystannya DNK–typuvannya v praktyci selekcijno–pleminnoi roboty – The use of DNA is typified in the practice of breeding and breeding work. *Visnyk Poltavskoyi derzhavnoyi agrarnoyi akademii – Newsletter of the Poltava State Agrarian Academy.* 3:25–26 (in Ukrainian).
11. Lyads`kyj, I. K., K. F. Pochernyaev. 2009. Polimorfizm gena hmga1 v riznyx populyaciyax svynej velykoyi biloyi porody Ukrayiny – Polymorphism of the hmga1 gene in different populations of large white pigs in Ukraine. *Naukovyj visnyk Nacional'nogo universytetu bioresursiv i pryrodokorystuvannya Ukrayiny – Scientific herald of the National University of Bioresources and Nature Management of Ukraine.* 138:269–272 (in Ukrainian).
12. Mrode, R., J. Ojango, A. Okeyo, J. Mwacharo. 2018. Genomic Selection and Use of Molecular Tools in Breeding Programs for Indigenous and Crossbred Cattle in Developing Countries: Current Status and Future Prospects – *Front Genet.* 9:694–705 (in English).
13. Piyasatian, N., R. L. Fernando, J. C. M. Dekkers. 2012. QTL detection and marker–assisted composite line development – *Livestock Sci.* 143:233–241 (in English).
14. Walsh, P. S., D. A. Metzger, R. Higuchi. 1991. Chelex 100 as a Medium for Extraction of DNA for PCR–Based Typing from Forensic Material – *BioTechniques.* 10:506–509 (in English).
15. Ho, C. S., E. S. Rochelle, G. W. Martens, L. B. Schook, D. M. Smith. 2006. Characterization of swine leukocyte antigen polymorphism by sequence–based and PCR–SSP methods in Meishan pigs – *Immunogenetics.* 58:873–882 (in English).
16. Maniatis, T., E. Fritch, and D. Sembruk. 1984. *Molekulyarnoe klonirovanie – Molecular cloning.* Moscow, Mir, 479 (in Russian).
17. Peacall, R., P. E. Smouse. 2006. GENALEX 6 : genetic analysis in Excel Population genetic software and research – *Molecular Ecology Notes.* 6:288–295 (in English).
18. Rogstad, S., S. Pelican. 1996. GELSTATS : a computer program for population genetics analyses using VNTR multilocus probe data – *Bio Techniques.* 21:187–196 (in English).
19. Kalendar', R. N. 1994. Komp'yuternaya programma dlya postroyeniya evolyutsyonnykh derevev na osnove elektroforegram DNK i belkov – Computer program for building evolutionary trees on the sound electrophoregram of DNA and proteins. *Materyaly konferentsyy «Molekulyarno–henetycheskiye markery v selektsii rastenyy» – Materials of the conference "Molecular Genetic Markers and Plant Selection".* 1:25–26 (in Russian).
20. Tamura, K., J. Dudley, M. Nei, S. Kumar. 2004. MEGA 4 : Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0 – *Molecular Biology and Evolution.* 24:1596–1599 (in English).
21. Plokhynskyy, N. A. 1969. *Rukovodstvo po byometryi dlya zootekhnykov – Biometrics guide for livestock breeders.* Moscow, 255 (in Russian).

22. Lenormand, T. 2002. Gene flow and the limits to natural selection – *Trends Ecol. Evol.* 17:183–189 (in English).
23. Hu, X, F. Yeh, 2014. Assessing postzygotic isolation using zygotic disequilibria in natural hybrid zones – *PLoS ONE*. 9:1–15 (in English).
24. Pochernyayev, K. F. 2012. Ocinka genety`chnoyi riznomanitnosti lokal`ny`x porid svy`nej Ukrayiny` za polimorfizmom mitoxondrial`noyi DNK – *Svy`narstvo*. 60:71–76 (in Ukraine).

