

РАЗВЕДЕНИЕ, СЕЛЕКЦИЯ, ГЕНЕТИКА И БИОТЕХНОЛОГИЯ ЖИВОТНЫХ / BREEDING, SELECTION,
GENETICS AND BIOTECHNOLOGY OF ANIMALS

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.138.64>

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ ТЕСТ-СИСТЕМЫ АНАЛИЗА ПОЛИМОРФИЗМА ПОЛНОГО
МИТОХОНДРИАЛЬНОГО ГЕНОМА СВИНЕЙ

Научная статья

Бакоев Н.Ф.¹, Кошкина О.А.^{2,*}, Харзинова В.Р.³, Сермягин А.А.⁴, Зиновьева Н.А.⁵

² ORCID : 0000-0003-4830-6626;

⁴ ORCID : 0000-0002-1799-6014;

^{1, 2, 3, 4, 5} Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста, Подольск, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (olechka1808[at]list.ru)

Аннотация

В данной работе разработана тест-система праймеров и оптимизированы условия проведения ПЦР для амплификации полных последовательностей митохондриального генома свиней. Валидация разработанной тест-системы проведена на образцах четырех трансграничных пород свиней и диких кабанов двух регионов страны. В результате, получены нуклеотидные последовательности полных митохондриальных геномов образцов свиней (n=17) и дикого кабана (n=3) длиной 16611 п.н. В исследуемой выборке животных было выявлено 16 гаплотипов, из которых 13 были обнаружены у домашних свиней и 3 – у дикого кабана. Общих гаплотипов среди домашних свиней и диких кабанов выявлено не было. На основании полученных полных последовательностей МТ-ДНК, проведен расчет параметров генетического разнообразия, который выявил, что дикие кабаны превосходят породы свиней, как по среднему числу нуклеотидных различий, так и по значениям нуклеотидного разнообразия: $k=106,00$ и $\pi=0,00638$. Филогенетический анализ показал, что, несмотря на небольшую выборку исследованных животных, были определены все пять известных гаплогрупп рода *Sus scrofa* A, B, C, D, и E., что свидетельствует об универсальности разработанной тест-системы.

Ключевые слова: митохондриальная ДНК, геном, полиморфизм, породы свиней, дикий кабан.

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A TEST SYSTEM FOR ANALYSING THE POLYMORPHISM OF THE
COMPLETE MITOCHONDRIAL GENOME OF PIGS

Research article

Bakoev N.F.¹, Koshkina O.A.^{2,*}, Kharzinova V.R.³, Sermyagin A.A.⁴, Zinoveva N.A.⁵

² ORCID : 0000-0003-4830-6626;

⁴ ORCID : 0000-0002-1799-6014;

^{1, 2, 3, 4, 5} Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academician L.K. Ernst, Podolsk, Russian Federation

* Corresponding author (olechka1808[at]list.ru)

Abstract

In this study, a primer test system was developed and PCR conditions were optimized for the amplification of complete sequences of the mitochondrial genome of pigs. The validation of the developed test system was carried out on samples of four transboundary pig breeds and wild boar from two regions of the country. As a result, nucleotide sequences of complete mitochondrial genomes of swine (n=17) and wild boar (n=3) samples were obtained with a length of 16611 bp. 16 haplotypes were identified in the studied sample of animals, 13 of which were found in domestic pigs and 3 in wild boar. No common haplotypes were detected among domestic pigs and wild boar. Based on the obtained complete MT-DNA sequences, the calculation of genetic diversity parameters was performed, which revealed that wild boars outperformed pig breeds both in terms of the average number of nucleotide differences and nucleotide diversity values: $k=106.00$ and $\pi=0.00638$. Phylogenetic analysis showed that, despite the small sample of animals studied, all five known haplogroups of the genus *Sus scrofa* A, B, C, D, and E were determined, which indicates the universality of the developed test system.

Keywords: mitochondrial DNA, genome, polymorphism, pig breeds, wild boar.

Введение

Домашняя свинья (*Sus scrofa domestica*) является наиболее распространенным и экономически значимым видом сельскохозяйственных животных в России. По данным статистики Росстат [4] производство свинины в России растет год от года. В 2022 году производство свинины составило 4,52 млн т в убойной массе, уступив лишь отрасли птицеводства (5,3 млн т). Поэтому, основная доля обеспечения населения страны мясом и мясопродуктами приходится на свиноводство.

Племенная база свиноводства России на начало 2022 г. представлена 7 породами свиней с общей численностью основных и проверяемых свиноматок 122280 голов. При этом основной разводимой породой является крупная белая, удельный вес которой составляет 56,9%, далее следуют: йоркшир – 18,52%, ландрас – 18,18%, дюрк – 5,83%, на остальные породы – приходится 0,56% [3].

Для эффективного ведения данной отрасли необходимо правильное и полное использование ее производственного потенциала, что становится невозможным без использования данных о генетических механизмах, происходящих в породах свиней, разводимых на территории России.

Всемирная Продовольственная и сельскохозяйственная организация ФАО считает основными трудностями в рациональном использовании пород сельскохозяйственных животных отсутствие полноценной информации об их генетической структуре [13]. В связи с этим изучение и сохранение биоразнообразия отечественного генофонда свиней, которые представляют значимый экономический интерес для страны, является актуальной задачей в современном мире.

Для характеристики генетического разнообразия домашних животных и их диких сородичей, в частности домашних свиней и диких кабанов, на сегодняшний день используется множество маркеров, таких как микросателлиты (STR) [5], однонуклеотидные полиморфизмы ядерной ДНК (SNP) [7], полиморфизмы митохондриальной ДНК [9].

В то время как в России повсеместно проводятся работы по изучению генетического разнообразия домашних свиней, основанные на исследовании полиморфизмов ядерной ДНК (STR- и SNP-маркеры), митохондриальный геном остается без должного внимания. На сегодняшний день митохондриальная ДНК российских пород свиней исследуется только по единичным маркерам, таким как D-петля [1], ген *COX2* [2]. Однако, остальные гены остаются малоизученными. При этом, мтДНК является единичным маркером, так как ведет себя как один нереккомбинантный локус. Исследование полной последовательности митохондриального генома позволит всесторонне изучить роль мтДНК в жизнедеятельности свиней. В связи с этим, актуальной задачей становится разработка тест-системы анализа полиморфизма полных митохондриальных геномов свиней (*Sus Scrofa*).

В связи с вышеизложенным целью данной работы являлась разработка и валидация тест-системы анализа полиморфизма полных нуклеотидных последовательностей митохондриальных геномов свиней (*Sus Scrofa*).

Методы и принципы исследования

В качестве биологического материала для исследования была использована ткань, полученная от свиней четырех трансграничных пород (n=17) и дикого кабана (n=3). Выборка свиней была представлена породами: крупная белая (n=10), йоркшир (n=4), дюрок (n=2) и ландрас (n=1). Выборка дикого кабана была представлена индивидуумами из Омской (n=2) и Тюменской (n=1) областей. Образцы ткани свиней и диких кабанов были получены из биобанка «Банк генетического материала домашних и диких видов животных и птицы» (зарегистрирован Минобрнауки РФ № 498808), созданной и поддерживаемой в ФГБНУ ФИЦ животноводства – ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста. Исследование проводили на базе оборудования центра коллективного пользования «Биоресурсы и биоинженерия сельскохозяйственных животных» ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста. ДНК из ткани выделяли с использованием набора ДНК-Экстран-2 (ЗАО «Синтол», Россия) по стандартному протоколу производителя. Проверку качества и количества выделенной тотальной ДНК осуществляли в несколько этапов. Сначала, посредством горизонтального электрофореза в 1%-ом агарозном геле (U=110V, t=15 мин) определяли целостность полученной ДНК (рис. 1). Далее выполняли измерение концентрации и проверку чистоты, исследуемой ДНК на приборах Qubit 4.0 (Thermo Fisher Scientific, США) и NanoDrop 8000 (Thermo Fisher Scientific, США) соответственно.

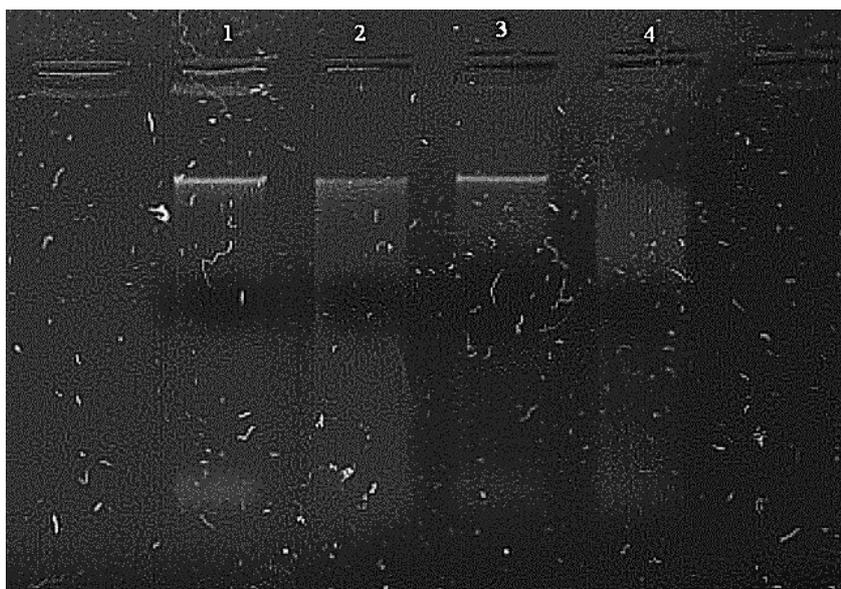


Рисунок 1 - Электрофореграмма проверки целостности, выделенной ДНК
DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.138.64.1>

По результатам электрофореграммы были отобраны образцы № 1-3 (в области примерно в 16000 п.н. наблюдается фрагмент). Образец № 4 из-за отсутствия видимого фрагмента не амплифицируется при продолжительной ПЦР.

В соответствии с референсной последовательностью полного митохондриального генома свиней, представленной в базе Национального центра биотехнологической информации NCBI (GenBank: NC_000845.1) с помощью онлайн-

ресурса Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) были подобраны праймеры для амплификации четырех перекрывающихся фрагментов мтДНК длиной от 4576 до 4857 п.о. (табл. 1).

Таблица 1 - Последовательности праймеров, подобранных для амплификации последовательностей полного митохондриального генома свиней

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.138.64.2>

№	Последовательность	Позиция (длина)	t/GC %	ПЦР (п.н.)
1	F- 5`- TCGGACAACC AGCTATCACCA -3`	13976-13996 (21)	61/52	4701
	R- 5`- CATACACCGCC TACCAACATA- 3`	22084-2064 (21)	60/48	
2	F- 5`- TATTAGCGGTA CGAGTCAGTTA -3`	9846-9868 (24)	62/42	4714
	R- 5`- CTTGATTGAAT AAGGCCATGA AGC-3`	14560-14537 (24)	62/42	
3	F- 5`- GTCAAATCCAC ATTCATATGGG C-3`	5836-5858 (22)	61/43	4576
	R- 5`- CTAAGGACTGC AGGACTTATC- 3`	10412-10392 (21)	60/48	
4	F- 5`- TGGAGTTGGTT GTGGTATTGTA TT-3`	1458-1481 (24)	60/38	4857
	R- 5`- ATCCAAGCACT ATCCATCACCA T-3`	6337-6315 (23)	61/43	

ПЦР амплификацию проводили на термоциклере Applied Biosystems SimpliAmp («Thermo-Fisher Scientific, Inc.», США) в конечном объеме 25 мкл, в том числе 10 мкл реакционного буфера (2,5½ HF Reaction buffer), 10,25 мкл H₂O, 2,5 мкл dNTPs, 1 мкл смеси праймеров, 0,25 мкл SmartTaq HF-FuZZ ДНК полимеразы («Диалат Лтд.», Россия), 1 мкл ДНК. Условия температурно-временного режима ПЦР были следующими: начальная денатурация (94 °С в течение 5 мин); 94 °С в течение 10 с, 63 °С в течение 15 с, 72 °С в течение 3 мин 30 с (33 цикла); заключительная элонгация (72 °С в течение 10 мин). Детекцию результатов ПЦР выполняли в 1 %-ном агарозном геле с использованием колориметрической системы документации на геле Uvitec FireReader V10 imaging System (Clever scientific, Великобритания) (рис. 2).

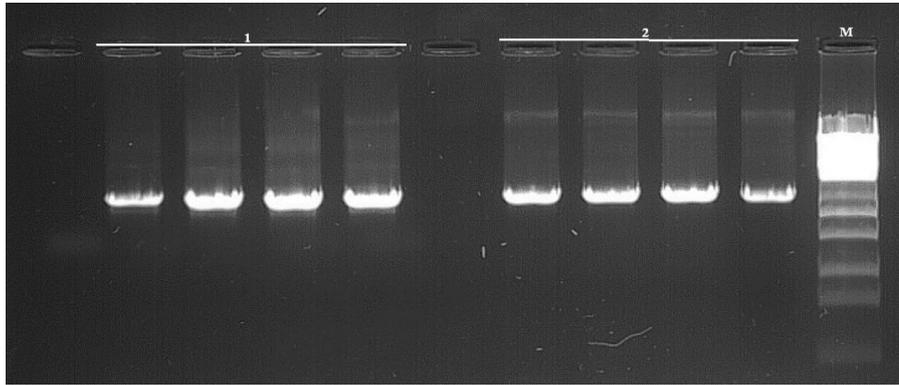


Рисунок 2 - Электрофореграмма 1% агарозного геля
DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.138.64.3>

Примечание: длина ампликона составляет от 4578 до 4857 п.о.

Для исключения попадания в образец неспецифических фрагментов амплификации, полученные фрагменты мтДНК с помощью острого скальпеля вырезали из геля и проводили очистку, с использованием набора для очистки ДНК Cleanup S-Cap (Евроген, Россия).

Прочтение нуклеотидных последовательностей, полученных ампликонов мтДНК, проводили методом секвенирования нового поколения NGS (next generation sequencing) на приборе miSeq (Illumina, США). Создание библиотек для дальнейшего секвенирования полученных продуктов ПЦР проводили с использованием набора NEBNext Ultra II DNA Library Prep Kit for Illumina согласно протоколу производителя. Для секвенирования подготовленных библиотек использовали наборы реагентов MiSeq Reagent Micro Kit, v2 (300 cycles) для прямого и обратного прочтения (Illumina, США).

Биоинформатическая обработка полученных ридов проводилась с использованием следующих программ: FastQC 0.11.9 [6] – проверка качества «сырых» данных; Trimmomatic 0.3.9 [8] – тримминг ридов; bowtie2 v2.4.4 [11] – картирование ридов. Построение филогенетического дерева методом ML (максимального правдоподобия) выполнялось в программе MEGA X [10].

С использованием программы DnaSP 6.12.01 [12], был проведен расчет параметров генетического разнообразия: число полиморфных сайтов (S), среднее число нуклеотидных различий (K), количество гаплотипов (H), гаплотипическое разнообразие (Hd), нуклеотидное разнообразие (π).

Для определения принадлежности исследуемых образцов свиней и кабана к известным гаплогруппам, из базы NCBI были отобраны последовательности мтДНК свиней, относящиеся к гаплогруппам А, В, С, D и Е (табл. 2).

Таблица 2 - Номера последовательностей известных гаплогрупп свиней

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.138.64.4>

№ п/п	Гаплогруппы	№ NCBI
1	А	KT279758.1
2	В	KT261429.1
3	С	KT279759.1
4	Д	KT279760.1
5	Е	KT261430.1

Основные результаты

Нами были получены нуклеотидные последовательности полных митохондриальных геномов образцов свиней и дикого кабана ($n=20$) длиной 16611 п.н. Для расчетов параметров генетического разнообразия, исследуемые образцы были распределены на две группы: домашние свиньи и дикие кабаны (табл. 3). Наибольшее среднее число нуклеотидных различий было обнаружено у диких кабанов по сравнению с домашними свиньями: $k=106,00$ и $k=90,985$, соответственно. Кроме того, дикие кабаны характеризовались большим нуклеотидным разнообразием ($\pi=0,00638$) в сравнении с домашними свиньями ($\pi=0,00548$). При этом количество полиморфных сайтов было больше у домашних свиней по сравнению с дикими кабанями: $S=237$ и $S=159$, соответственно.

Таблица 3 - Показатели генетического разнообразия домашних свиней и диких кабанов

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.138.64.5>

Группа	n	S	H	Hd	k	π
Домашняя свинья	17	237	13	0,971±0,028	90,985	0,00548±0,00051
Дикий кабан	3	159	3	1,000±0,272	106,00	0,00638±0,00266
Всего	20	244	16	0,979±0,021	89,753	0,00541±0,00040

Примечание: n – число образцов, S – число полиморфных сайтов, K – среднее число нуклеотидных различий, H – количество гаплотипов, Hd – гаплотипическое разнообразие, π – нуклеотидное разнообразие

Всего было определено 16 гаплотипов, в том числе 13 у домашних свиней и 3 у диких кабанов. Все выявленные гаплотипы домашних свиней отличались от гаплотипов, обнаруженных у кабанов.

В породах свиней крупная белая и йоркшир, а также в группе диких кабанов были выявлены породоспецифичные гаплотипы. Один гаплотип (Нар-4) был общим для пород ландрас и дюрок (табл. 4).

Таблица 4 - Распределение гаплотипов по породам

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.138.64.6>

Гаплотип	Породы	Гаплотип	Породы
Нар-1	Крупная белая	Нар-9	Крупная белая
Нар-2	Йоркшир	Нар-10	Крупная белая
Нар-3	Йоркшир	Нар-11	Йоркширская
Нар-4	Ландрас/Дюрок	Нар-12	Дюрок
Нар-5	Крупная белая	Нар-13	Йоркшир
Нар-6	Крупная белая	Нар-14	Дикий кабан
Нар-7	Крупная белая	Нар-15	Дикий кабан
Нар-8	Крупная белая	Нар-16	Дикий кабан

Анализ филогенетического дерева (рис. 3), построенного методом ML (максимального правдоподобия) выявил, что гаплотипы домашних свиней Нар-5 и Нар-6 были соотнесены с представителями гаплогруппы А. Гаплотипы Нар-1, Нар-3, Нар-10 домашних свиней и гаплотип Нар-14 дикого кабана были определены с гаплогруппой В. С гаплогруппой С кластеризовались гаплотипы Нар-2, Нар-13, Нар-12 домашних свиней и гаплотип Нар-15 дикого кабана, а гаплотипы Нар-4, Нар-7, Нар-11 домашних свиней и гаплотип Нар-16 дикого кабана были распределены с гаплогруппой D, в то время как гаплотипы Нар-8 и Нар-9 были определены с представителями гаплогруппы Е.

Представители домашних свиней характеризовались наличием всех гаплогрупп, в то время как дикие кабаны соотносились лишь к трем гаплогруппам. Кабаны, обитающие на территории Омской области (Нар-14, Нар-15), соответствовали гаплогруппам азиатского происхождения (гаплогруппы В и С), а кабан из Тюменской области характеризовался наличием гаплогруппы D (европейское происхождение).

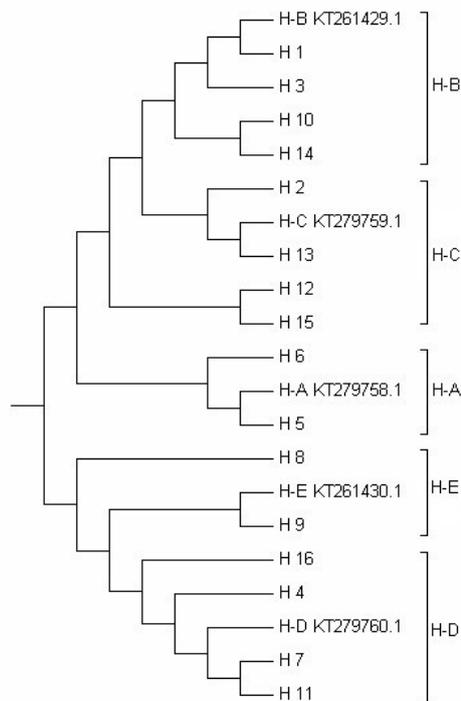


Рисунок 3 - Филогенетическое дерево, построенное методом максимального правдоподобия
DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2023.138.64.7>

Примечательно, что, несмотря на небольшую выборку животных, нами были определены все пять известных гаплогрупп, что позволяет сделать вывод об универсальности разработанной тест-системы.

Заключение

Таким образом, разработанная нами тест-система, позволила получить полные митохондриальные геномы домашних свиней и дикого кабана. В результате нами были получены 20 последовательностей мтДНК длиной 16613 п.н., на основании которых, была дана характеристика материнской изменчивости и определена гаплогрупповая принадлежность исследуемых образцов к известным, на сегодняшний день, гаплогруппам рода *Sus scrofa* A, B, C, D, и E.

Полученные в данной работе результаты исследований открывают перспективы дальнейшего проведения обширного секвенирования различных пород свиней и популяций кабана, обитающих на территории России, что позволит получить детальную информацию не только о состоянии генетического разнообразия, но и о древних эволюционных событиях и демографической истории представителей вида *Sus scrofa*.

Финансирование

Исследование поддержано Российским научным фондом, № 23-46-00014.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Funding

The study was supported by the Russian Science Foundation, № 23-46-00014.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы / References

1. Акопян Н.А. Исследование последовательности D-петли митохондриальной ДНК у свиней пород крупная белая и ландрас, разводимых в России / Н.А. Акопян, О.В. Костюнина, Н.А. Зиновьева // Достижения науки и техники АПК. — 2016. — Т. 30. — № 7. — С. 93-95.
2. Колосова М.А. Исследование митохондриального гена COX2 у свиней / М.А. Колосова, А.Ю. Колосов, Н.Ф. Бакоев [и др.] // Вестник Донского государственного аграрного университета. — 2019. — № 2-1(32). — С. 8-13.
3. Павлова С.В. Генетические ресурсы отечественного свиноводства в Российской Федерации по состоянию на 1 января 2022 года / С.В. Павлова, Н.А. Козлова, М.С. Мышкина [и др.] // Свиноводство. — 2022. — № 5. — С. 9-11. — DOI: 10.37925/0039-713X-2022-5-9-11.
4. Федеральная служба государственной статистики. — URL: <https://rosstat.gov.ru/> (дата обращения: 25.09.2023).

5. Харзинова В.Р. Молекулярно-генетическая идентификация и паспортизация кемеровской породы свиней на основе STR-анализа / В.Р. Харзинова, К.В. Жучаев, О.В. Костюнина [и др.] // Достижения науки и техники АПК. — 2017. — Т. 31. — № 6. — С. 62-64.
6. Andrews S. FastQC: a Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data / S. Andrews. — Cambridge: Babraham Institute, 2010.
7. Belous A.A. Study of Genetic Architecture of Feed Conversion Rate in Duroc Young Boars (*Sus scrofa*) Based on the Genome-wide SNP Analysis / A.A. Belous, A.A. Sermyagin, O.V. Kostyunina [et al.] // Agricultural Biology. — 2019. — Vol. 54. — № 4. — P. 705-712. — DOI: 10.15389/agrobiology.2019.4.705rus.
8. Bolger A.M. Trimmomatic: A Flexible Trimmer for Illumina Sequence Data / A.M. Bolger, M. Lohse, B. Usadel // Bioinformatics. — 2014. — № 30(15). — P. 2114-2120.
9. Kharzinova V. Genetic Characteristic of Russian Wild Boar Populations Based on Mitochondrial and Nuclear Markers / V. Kharzinova, N. Akopyan, O. Kostyunina // Journal of Animal Science. — 2018. — Vol. 96. — S 3. — P. 277.
10. Kumar S. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms / S. Kumar, G. Stecher, M. Li [et al.] // Molecular Biology and Evolution. — 2018. — Vol. 35(6). — P. 1547-1549. — DOI: 10.1093/molbev/msy096.
11. Langmead B. Fast Gapped-read Alignment with Bowtie 2. / B. Langmead, S. Salzberg // Nature Methods. — 2012. — Vol. 9. — P. 357-359.
12. Rozas J. DnaSP, DNA Sequence Polymorphism: An Interactive Program for Estimating Population Genetics Parameters from DNA Sequence Data / J. Rozas, R. Rozas // Bioinformatics. — 1995. — № 11. — P. 621-625. — DOI: 10.1093/bioinformatics/11.6.621.
13. The State of Food and Agriculture // Food and Agriculture Organization of the United Nations. — URL: <https://www.fao.org/3/a1200e/A1200E.pdf> (accessed: 25.09.2023).

Список литературы на английском языке / References in English

1. Akopjan N.A. Issledovanie posledovatel'nosti D-petli mitohondrial'noj DNK u svinej porod krupnaja belaja i landras, razvodimyh v Rossii [A Study of Mitochondrial DNA D-loop Sequence in Large White and Landrace Pigs Bred in Russia] / N.A. Akopjan, O.V. Kostjunina, N.A. Zinov'eva // Dostizhenija nauki i tehniki APK [Achievements of Science and Technology in the Agricultural Complex]. — 2016. — Vol. 30. — № 7. — P. 93-95. [in Russian]
2. Kolosova M.A., Issledovanie mitohondrial'nogo gena COX2 u svinej [A Study of Mitochondrial COX2 Gene in Pigs] / M.A. Kolosova, A.Ju. Kolosov, N.F. Bakoev [et al.] // Vestnik Donskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta [Bulletin of Don State Agrarian University]. — 2019. — № 2-1(32). — P. 8-13. [in Russian]
3. Pavlova S.V. Geneticheskie resursy otechestvennogo svinovodstva v Rossijskoj Federacii po sostojaniju na 1 janvarja 2022 goda [Genetic Resources of Domestic Pig Breeding in the Russian Federation as of 1 January 2022] / S.V. Pavlova, N.A. Kozlova, M.S. Myshkina [et al.] // Svinovodstvo [Pig Breeding]. — 2022. — № 5. — P. 9-11. — DOI: 10.37925/0039-713X-2022-5-9-11. [in Russian]
4. Federal'naja sluzhba gosudarstvennoj statistiki [Federal State Statistics Service]. — URL: <https://rosstat.gov.ru/> (accessed: 25.09.2023). [in Russian]
5. Harzinova V.R. Molekuljarno-geneticheskaja identifikacija i pasportizacija kemerovskoj porody svinej na osnove STR-analiza [Molecular Genetic Identification and Passportisation of the Kemerovo Pig Breed on the Basis of STR-Analysis] / V.R. Harzinova, K.V. Zhuchaev, O.V. Kostjunina [et al.] // Dostizhenija nauki i tehniki APK [Achievements of Science and Technology of the Agricultural Complex]. — 2017. — Vol. 31. — № 6. — P. 62-64. [in Russian]
6. Andrews S. FastQC: a Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data / S. Andrews. — Cambridge: Babraham Institute, 2010.
7. Belous A.A. Study of Genetic Architecture of Feed Conversion Rate in Duroc Young Boars (*Sus scrofa*) Based on the Genome-wide SNP Analysis / A.A. Belous, A.A. Sermyagin, O.V. Kostyunina [et al.] // Agricultural Biology. — 2019. — Vol. 54. — № 4. — P. 705-712. — DOI: 10.15389/agrobiology.2019.4.705rus.
8. Bolger A.M. Trimmomatic: A Flexible Trimmer for Illumina Sequence Data / A.M. Bolger, M. Lohse, B. Usadel // Bioinformatics. — 2014. — № 30(15). — P. 2114-2120.
9. Kharzinova V. Genetic Characteristic of Russian Wild Boar Populations Based on Mitochondrial and Nuclear Markers / V. Kharzinova, N. Akopyan, O. Kostyunina // Journal of Animal Science. — 2018. — Vol. 96. — S 3. — P. 277.
10. Kumar S. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms / S. Kumar, G. Stecher, M. Li [et al.] // Molecular Biology and Evolution. — 2018. — Vol. 35(6). — P. 1547-1549. — DOI: 10.1093/molbev/msy096.
11. Langmead B. Fast Gapped-read Alignment with Bowtie 2. / B. Langmead, S. Salzberg // Nature Methods. — 2012. — Vol. 9. — P. 357-359.
12. Rozas J. DnaSP, DNA Sequence Polymorphism: An Interactive Program for Estimating Population Genetics Parameters from DNA Sequence Data / J. Rozas, R. Rozas // Bioinformatics. — 1995. — № 11. — P. 621-625. — DOI: 10.1093/bioinformatics/11.6.621.
13. The State of Food and Agriculture // Food and Agriculture Organization of the United Nations. — URL: <https://www.fao.org/3/a1200e/A1200E.pdf> (accessed: 25.09.2023).