

ПОЛИМОРФИЗМ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ ДНК У ОЛЕНЕЙ ЧУКОТСКОЙ ПОРОДЫ

ДОДОХОВ Владимир Владимирович, Арктический государственный агротехнологический университет

ПАВЛОВА Надежда Ивановна, Арктический государственный агротехнологический университет

КАЛАШНИКОВА Любовь Александровна, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела»

В статье представлены результаты исследования полиморфизма микросателлитных локусов ДНК с использованием коммерческого набора, содержащего 16 маркеров: Rt6, BMS1788, Rt30, Rt1, Rt9, C143, Rt7, OheQ, FCB193, C217, Rt24, C32, BMS745, NVHRT16, T40 и C276. Были рассчитаны частоты встречаемости аллелей, показатели наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности, индексы фиксации и полиморфности. Расчет частот аллелей показал, что микросателлитные маркеры имеют широкий спектр аллелей и в целом обладают высокой информативной ценностью для выявления генетических различий между животными и группами животных. Всего было выявлено 116 аллелей, что дало в среднем 7,25 аллеля на локус, число эффективных аллелей – 3,9. Показатели наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности составили 0,713 и 0,691. Наибольшее число аллелей 12 и 13 было выявлено в локусах OheQ и BMS1788 соответственно, а наименьшее в локусе C143, который имел 2 аллеля. Также в локусах C217 и C32 было выявлено по 3 аллеля.

Введение. Оленеводство является неотъемлемой частью культуры и образа жизни народов Крайнего Севера. Разведением домашних северных оленей занимаются во многих регионах России, преимущественно представители малочисленных народов севера. По данным Федеральной службы государственной статистики, в России за 2000–2019 гг. наблюдается рост общего поголовья домашних северных оленей, на конец 2019 г. его численность составила 1 734,4 тыс. голов.

Якутия, обладая огромной площадью оленьих пастбищ, претерпевает спад численности домашних северных оленей. Если в 2010 г. поголовье домашних северных оленей в Республике Саха (Якутия) составляло 200,1 тыс. голов, то в настоящее время всего 152,1 тыс.

Из трех разводимых пород домашних северных оленей наибольший интерес для изучения генетических процессов, протекающих в породе, вызывает чукотская порода оленей. Ее разводят только в одном районе республики, в общей структуре она занимает около 12 %. Популяция чукотских оленей в Якутии уникальна по своему происхождению и отдаленности от других пород, разводимых в республике. Но в настоящее время в Якутии численность домашних северных оленей чукотской породы продолжает снижаться и на 1 января 2019 г. составила 13 094 головы. Чтобы освежить кровь животных, осенью 2018 г. были закуплены племенные бычки чукотской породы с Чукотского АО.

Цель настоящей работы – дать генетическую характеристику домашних северных оленей чу-

котской породы с использованием микросателлитных локусов ДНК.

Методика исследований. Объектом исследования послужили домашние северные олени чукотской породы ($n = 54$), закупленные в Чукотском АО Нижнеколымским районом Республики Саха (Якутия) для освежения крови местной популяции чукотских оленей по программе оздоровления и улучшения состояния оленеводства в районе. Для генетического анализа микросателлитных локусов брали образцы ДНК, выделенные из лейкоцитов крови. Кровь для выделения ДНК отбирали из яремной вены (6 мл) в вакуумные пробирки для гематологических исследований с ЭДТА К3. Выделение ДНК проводили в учебной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО Якутская ГСХА набором реагентов EXCEL BIOTECH (Excel Biotech Corp., Якутск). Генотипирование проведено набором реагентов для мультиплексного анализа 16 микросателлитных маркеров северного оленя COr DIS Rangifer (ООО «Гордиз», г. Москва). При обработке экспериментальных данных использовали надстройку для Microsoft Excel – GeneAlex 6.51.

Результаты исследований. В результате исследования генетического полиморфизма 16 микросателлитных локусов ДНК у оленей чукотской породы было идентифицировано 116 аллелей, в среднем на локус приходилось 7,25 аллеля. Частота встречаемости аллелей 16 микросателлитных локусов представлена в табл. 1. Количество аллелей в зависимости от локуса варьировало от 2 до 13. Наименьшее количество





аллелей идентифицировано в локусе С143, частота аллеля 6 составила 0,620, а аллель 7 встречался с частотой 0,380.

Каждый из локусов С217 и С32 имел по три аллеля. В первом локусе частота встречаемости аллеля 7 составила 0,880, также в этом локусе встречались дробные аллели 7,1 и 7,3. Частота встречаемости аллеля 7,3 составила 0,102, а аллель 7,1 у оленей чукотской породы встречался с частотой 0,019. В локусе С32 наиболее часто встречался аллель 17, а аллели 12 и 14 встречались с частотой 0,259 и 0,269 соответственно.

Микросателлитный локус С276 имел 5 аллелей, все аллели имели частоту встречаемости больше 5 %. С наибольшей частотой встречался аллель 53 (0,398), аллели 34 и 54 встречались с одинаковой частотой 0,213. Количество аллелей в локусе Rt7 у исследованных оленей составило 7 с преобладанием аллеля 11 (0,417).

В локусах Т40 и BMS745 выявлено по 6 аллелей. В локусе Т40 по частоте встречаемости преобладал аллель 10 (0,704), на втором месте аллель 8 с частотой 0,157 и аллель 11 имел частоту 0,093. Частота встречаемости других аллелей не превышала 5 % и составила 0,9 % для аллели 14 и 1,9 % для аллелей 18,3 и 24,3. В локусе BMS745 наиболее часто встречались аллели 12 (0,306) и 14 (0,269), а меньше всего аллель 11 с частотой 0,083.

У оленей чукотской породы в локусах Rt6, FCB193, Rt24 и NVHRT16 было идентифицировано по 8 аллелей. В локусе Rt6 преобладал аллель 24 (0,370), аллели 14 и 17 встречались с частотой 0,009 для каждого. С такой же частотой (0,009) встречался аллель 9 в локусе FCB193, а максимальную частоту в данном локусе имел аллель 13 (0,491). Три аллеля локуса Rt24 имели частоту встречаемости меньше 5 %, с наибольшей частотой встречались аллели 17 (0,361), 15 (0,176) и 19 (0,157). Локус NVHRT16 характеризовался преобладанием аллелей 25 (0,259), 26 (0,269) и 21 (0,157). Локусы Rt30, Rt1 и Rt9 имели по 9 аллелей с преобладанием аллелей 15 (0,287) и 18 (0,315) в первом локусе, 16 (0,481) и 18 (0,231) во втором, в локусе Rt9 преобладали аллели 22, 21 и 16 с частотой 0,315; 0,213 и 0,204 соответственно.

Самый высокий аллельный полиморфизм показали локусы OheQ и BMS1788. Наиболее часто встречался в локусе BMS1788 аллель 17 (0,380), частота встречаемости других аллелей варьировала от 0,009 (аллели 20, 15 и 11,1) до 0,194 (аллель 12). Число аллелей с частотой встречаемости ≥ 5 % составило 5. В локусе OheQ это число составило 7. Наиболее часто встречались аллели 13 (0,231), 14 (0,194) и 171 (0,111).

В результате исследования полиморфизма 16 локусов микросателлитной ДНК установлено, что микросателлитные маркеры имеют широкий спектр аллелей, а олени чукотской породы, завезенные с Чукотского АО, имеют определенный спектр аллелей и своеобразный генетический профиль. В табл. 2 представлена популяционно-генетическая характеристика оленей. В среднем на локус приходилось 7,25 (Na) аллеля, число эффективных аллелей – 3,9 (Ne). Значение индекса фиксации (F) в среднем по породе составило -0,030, наблюдаемая гетерозиготность (Ho) 0,713, ожидаемая (He) – 0,691. Низкие показатели наблюдаемой гетерозиготности выявлены в локусах С143 (0,500), Т40 (0,519) и С32 (0,593), а минимальное значение этот показатель принял в локусе С217 (0,204).

Индекс полиморфности (PIC) является показателем полезности маркера [2]. Этот показатель варьировал от 0,199 (С217) до 0,852 (OheQ). По результатам исследования выявлено, что 13 локусов имеют высокую информативность (PIC > 0,5) и один локус оказался слегка информативным (PIC < 0,25) – С217.

Микросателлитные маркеры давно нашли применение в животноводстве в качестве генетических маркеров. Они показали свою эффективность в исследованиях по оценке различий между породами и в верификации происхождения крупного рогатого скота и других сельскохозяйственных животных [1, 3–5, 7, 8, 9]. В настоящее время разработано несколько панелей микросателлитных локусов у северных оленей. В 2015 г. российскими учеными была разработана мультиплексная панель, содержащая 9 микросателлитных локусов. Результаты исследования продемонстрировали возможность использования этой панели для выявления генетических различий между популяциями северных оленей [8]. Также имеются результаты широкого применения микросателлитных локусов в изучении генетической структуры северных оленей в других странах [10, 11, 12].

Низкая стоимость и относительная простота внедрения по сравнению с другими методами делают микросателлиты экономически эффективным инструментом [14]. Несмотря на наличие разработанных микросателлитных панелей, одной из проблем остается отсутствие стандартизации, которая препятствует возможности сравнения результатов. Также отсутствие единой рекомендации для выполнения критериев, прописанных в правилах о племенном животноводстве по генетическому мониторингу и по проведению генетической экспертизы на достоверность происхождения, не позволяет в полном объеме оценить генетическую структуру пород северных оленей России.

Частота встречаемости аллелей 16 микросателлитных локусов ДНК

Локус	Аллель	Частота	Локус	Аллель	Частота	Локус	Аллель	Частота
Rt6	14	0,009	Rt9	11	0,120	C217	7	0,880
	17	0,009		13	0,009		7,1	0,019
	20	0,139		15	0,028		7,3	0,102
	21	0,130		16	0,204	Rt24	11	0,130
	22	0,148		17	0,056		14	0,046
	23	0,120		19	0,009		15	0,176
	24	0,370		20	0,046		16	0,009
	26	0,074		21	0,213		17	0,361
BMSI788	11,1	0,009	C143	22	0,315	C32	18	0,028
	12	0,194		6	0,620		19	0,157
	12,1	0,028		7	0,380		21	0,093
	13	0,019		Rt7	11		0,417	12
	14	0,028	12		0,074	14	0,269	
	15	0,009	13		0,028	17	0,472	
	15,1	0,019	15		0,157	BMS745	11	0,083
	16	0,120	16		0,194		12	0,306
	17	0,380	17		0,093		12,1	0,157
	19	0,093	18		0,037		13	0,176
	18	0,065	OheQ		7	0,083	NVHRT16	14
	20	0,009		7,3	0,083	15		0,009
24,1	0,028	8		0,009	20	0,120		
15	0,287	10		0,009	21	0,157		
18	0,315	12	0,046	22	0,065			
19	0,019	12,3	0,046	25	0,259			
20	0,037	13	0,231	26	0,269			
21	0,037	14	0,194	27	0,019			
22	0,120	15	0,074	31	0,102			
24	0,009	15,3	0,074	T40	8	0,157		
25	0,111	17	0,111		10	0,704		
17	0,065	18	0,037		11	0,093		
16	0,481	9	0,009		14	0,009		
Rt1	17	0,019	FCB193	12	0,046	C276	18,3	0,019
	18	0,231		13	0,491		24,3	0,019
	19	0,056		14	0,028		34	0,213
	21	0,009		15	0,074		49	0,093
	22	0,019		16	0,046	50	0,083	
	24	0,083		17	0,185	53	0,398	
	25	0,056		18	0,120	54	0,213	
	26	0,046						



**Популяционно-генетическая характеристика оленей чукотской породы,
завезенных на территорию Якутии**

Locus	Na	Ne	Ho	He	F	PIС
Rt6	8,0	4,6	0,852	0,785	-0,086	0,758
BMS1788	13,0	4,7	0,778	0,788	0,012	0,765
Rt30	9,0	4,6	0,852	0,784	-0,086	0,755
Rt1	9,0	3,3	0,704	0,699	-0,007	0,664
Rt9	9,0	4,8	0,870	0,793	-0,097	0,764
C143	2,0	1,9	0,500	0,471	-0,062	0,36
Rt7	7,0	4,0	0,667	0,748	0,108	0,716
OheQ	12,0	7,4	0,833	0,866	0,037	0,852
FCB193	8,0	3,3	0,796	0,700	-0,138	0,669
C217	3,0	1,3	0,204	0,216	0,055	0,199
Rt24	8,0	4,7	0,778	0,785	0,010	0,758
C32	3,0	2,8	0,593	0,638	0,071	0,565
BMS745	6,0	4,4	0,852	0,772	-0,104	0,735
NVHRT16	8,0	5,2	0,796	0,806	0,013	0,78
T40	6,0	1,9	0,519	0,471	-0,102	0,436
C276	5,0	3,8	0,815	0,735	-0,108	0,695
Среднее	7,25	3,9	0,713	0,691	-0,030	0,654

Примечание: Na – число аллелей; Ne – число эффективных аллелей; Ho – наблюдаемая гетерозиготность; He – ожидаемая гетерозиготность; F – индекс фиксации; PIС – индекс полиморфности.

Для решения данного вопроса в северном оленеводстве необходимо иметь единую открытую базу данных генетической структуры домашних северных оленей. Первоочередной задачей является разработка единой методики и правил генетической экспертизы в северном оленеводстве. Основной задачей племенного животноводства является обеспечение процесса воспроизводства племенных животных в целях улучшения продуктивных качеств и разведения высокопродуктивных сельскохозяйственных животных. В связи с этим генетическая экспертиза помогает повысить эффективность племенной работы путем совершенствования племенной оценки и мониторинга селекционных процессов.

Заключение. Результаты исследования показали, что для северных оленей чукотской породы, завезенных в Якутию из Чукотского АО, характерно высокое генетическое разнообразие. Расчет частот аллелей показал, что микросателлитные маркеры имеют широкий спектр аллелей и обладают высокой информативной ценностью (PIС = 0654). Значение индекса фиксации в среднем по породе составило $-0,030$, наблюдаемая гетерозиготность – $0,713$, ожидаемая – $0,691$.

Полученные результаты могут внести вклад в получение информации о генетической структуре оленей чукотской породы, использоваться в программах по улучшению популяции этих жи-

вотных в Якутии, а также в разработке методик и правил генетической экспертизы в северном оленеводстве.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бейшова И. С. Генетическая характеристика линий Костанайской породы лошадей по 17 локусам микросателлитов ДНК // Наука и образование: материалы IX Междунар. конф. – Астана, 2014. – С. 3679–3683.
2. Генетическая характеристика голштинской породы с использованием микросателлитных маркеров / Я.А. Хабибрахманова [и др.] // Повышение конкурентоспособности животноводства и актуальные проблемы его научного обеспечения: материалы науч.-практ. конф. – Ставрополь; Махачкала, 2014. – С. 513–518.
3. Долматова И.Ю., Горелов П.В., Ильясов А.Д. Характеристика аллелофонда башкирской популяции симментальского скота по микросателлитам // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. – 2012. – № 2. – С. 52–54.
4. Зайцева М.А., Храброва Л.А., Калинин Л.В. Внутривидовая дифференциация по 17-микросателлитной ДНК лошадей разных линий чистокровной арабской породы // Коневодство и конный спорт. – 2010. – № 1. – С. 19–21.
5. Зиновьева Н.А., Сизарева Е.И., Гладырь Е.А. Некоторые аспекты использования микросателлитов в свиноводстве // Достижения науки и техники АПК. – 2009. – № 8. – С. 38–41.
6. Огороков А.И. О состоянии и развитии домашнего северного оленеводства в Республике Саха



(Якутии) // Вестник СВФУ. – 2013. – № 3(10). – С. 36–41.

7. Полиморфизм микросателлитной ДНК у лошадей заводских и локальных пород / В.В. Калашников [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2011. – № 2. – С. 11–14.

8. Разработка мультиплексной панели микросателлитов для оценки достоверности происхождения и степени дифференциации популяций северного оленя (*Rangifer tarandus*) / В.Р. Харзинова [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2015. – № 50(6). – С. 756–765.

9. Сравнительный анализ информативности эритроцитарных антигенов и ДНК микросателлитов как генетических маркеров в селекционно-племенной работе со свиньями канадской селекции / Н.В. Прокураева [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2007. – № 6. – С. 41–47.

10. Cote S.D., Dallas J.F., Marshall F., Irvine R.J., Langvatn R., Albon S.D. Microsatellite DNA evidence for genetic drift and philopatry in Svalbard reindeer. *Mol. Ecol.*, 2002, 11: 1923–1930.

11. Cronin M.A., Renecker L., Pierson B.J., Patton J. C. Genetic variation in domestic reindeer and wild caribou in Alaska. *Animal Genetic*, 1995, 6: 427–434.

12. Elston C.R. Polymorphism Information Content // *Encyclopedia of Biostatistics*, 2005, No. 6.

13. Jepsen B., Siegmund H., Fredholm M. Population genetics of the native caribou (*Rangifer tarandus groenlandicus*) and the semi-domestic reindeer (*Rangifer-*

tarandus) in Southwestern Greenland: Evidence of introgression. *Conservation Genetics*, 2002, No. 3, P. 401–409.

14. Miller W.L., Edson J., Pietrandrea P., Miller-Butterworth C., Walter W.D. Identification and evaluation of a core microsatellite panel for use in white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*). *BMC genetics*, 2019, 20: 49.

Додохов Владимир Владимирович, канд. биол. наук, доцент кафедры «Традиционные отрасли Севера», Арктический государственный агротехнологический университет. Россия.

Павлова Надежда Ивановна, канд. биол. наук, научный сотрудник биоклональной и молекулярно-генетической лаборатории, Арктический государственный агротехнологический университет. Россия.

677007, г. Якутск, Сергеляхское ш. 3 км, д. 3.
Тел.: (4112) 50-79-81.

Калашникова Любовь Александровна, д-р, биол. наук, проф., зав. лабораторией ДНК-технологий, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела». Россия.

141212, Московская обл., Пушкинский р-н, пос. Лесные Поляны, ул. Ленина, стр. 13.

Тел.: (4955) 15-95-57.

Ключевые слова: северные олени; полиморфизм; микросателлиты; чукотская порода оленей; биоразнообразие; генетическая экспертиза.

POLYMORPHISM OF DNA MICROSATELLITE AMONG CHUKOTKA REINDEER

Dodokhov Vladimir Vladimirovich, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the chair “Traditional Industry of the North”, Arctic State Agrotechnological University, Russia.

Pavlova Nadezhda Ivanovna, Candidate of Biological Sciences, Researcher, Arctic State Agrotechnological University, Russia.

Kalashnikova Lyubov Aleksandrovna, Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Laboratory of DNA Technologies, All-Russian Research Institute of Brood Cases, Russia.

Keywords: reindeer; polymorphism; microsatellite; Chukotka reindeer; biodiversity; DNA test.

The article presents the results of DNA microsatellite polymorphism with the use of a commercial kit containing 16 markers: Rt6, BMS1788, Rt30, Rt1, Rt9, C143, Rt7, OheQ, FCB193, C217, Rt24, C32, BMS745, NVHRT16,

T40 и C276. Allele frequency, indicators of observed and expected heterozygosity, fix index and polymorphism were calculated. The calculation of allele frequencies showed that microsatellite markers have a wide range of alleles and high informative value for detecting genetic differences between animals and groups of animals. A total of 116 alleles were identified, which gave an average of 7.25 alleles per locus, and the number of effective alleles was 3.9. Indicators of observed and expected heterozygosity were 0.713 and 0.691. The highest number of alleles 12 and 13 were found in locus OheQ и BMS1788 and the smallest in locus C 143, which had 2 alleles. Also, 3 alleles were identified in locus C217 and C32. The results of the study can contribute to receiving information on the genetic structure of the Chukchi reindeer and using an improvement population program in Yakutia. Moreover, the results can be used in methods development and DNA test rules in the northern reindeer breeding.

