

В. В. Додохов¹, Н. И. Павлова¹, Т. Д. Румянцева¹, Л. А. Калашникова²

Генетическая характеристика чукотской породы оленей на территории Якутии

Аннотация. В статье представлена генетическая характеристика оленей чукотской породы. Объектом исследования послужили олени чукотской породы. За последние годы численность оленей данной породы резко снизилась, что может привести к потере разнообразия. Разведением чукотской породы оленей в Якутии занимаются только в Нижнеколымском районе. Существуют четыре родовых общины, и самой крупной из них является СПК КРО «Турваугин», который выбран для оценки генетических процессов, протекающих в породе, с использованием микросателлитных маркеров: *Rt6*, *BMS1788*, *Rt 30*, *Rt1*, *Rt9*, *FCB193*, *Rt7*, *BMS745*, *C 143*, *Rt24*, *OheQ*, *C217*, *C32*, *NVHRT16*, *T40*, *C276*. Установлено, что микросателлитные маркеры имеют широкий спектр аллелей, и в целом, обладают высокой информативной ценностью для выявления генетических различий между животными и группами животных. Максимальное число выявленных аллелей служит одним из показателей генетического разнообразия популяции. Общее количество выявленных аллелей составило 127 и варьировало от 2 (*C217*) до 14 (*BMS1788*). Для чукотской породы оленей, разводимой в СПК КРО «Турваугин», характерен высокий уровень гетерозиготности, и в популяции система случайного скрещивания преобладает над инбридингом, несмотря на длительное разведение породы в Якутии без «обновления крови». В среднем на локус приходилось 7,9 аллели (*Na*), среднее число эффективных аллелей (*Ne*) составило 4,1. Показатель индекса фиксации в среднем составил 0,001. Индекс полиморфизма (*PI*) варьировал от 0,217 до 0,946, в среднем 0,695.

Ключевые слова: полиморфизм; микросателлиты; гетерозиготность генетическое разнообразие; северные олени; чукотская порода.

Авторы:

Додохов Владимир Владимирович — кандидат биологических наук; e-mail: dodoxv@mail.ru;

Павлова Надежда Ивановна — кандидат биологических наук; e-mail: solnishko_84@inbox.ru;

Румянцева Татьяна Дмитриевна — научный сотрудник; e-mail: tanya_rum@mail.ru;

Калашникова Любовь Александровна — доктор биологических наук; e-mail: lakalashnikova@mail.ru.

¹ ФГБОУ ВО Арктический государственный агротехнологический университет; 677007, Россия, Республика Саха (Якутия), г. Якутск, ш. Сергеляхское 3 км, д. 3.

² ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела»; 141212, Россия, Московская обл., Пушкинский р-н, пос. Лесные Поляны, ул. Ленина, стр. 13.

Введение. Оленеводство является основным видом хозяйственной деятельности коренных малочисленных народов Севера. Перед оленеводством Республики Саха (Якутия) стоит задача значительного увеличения поголовья племенных домашних северных оленей и дальнейшего совершенствования их продуктивных и племенных качеств.

В настоящее время домашние северные олени с точки зрения генетики мало изучены. Геном северного домашнего оленя секвенирован лишь частично (база данных NCBI — The National Center for Biotechnology Information), а поиск молекулярно-генетических маркеров хозяйственно-полезных признаков находится на начальном этапе.

Одним из последних исследований в области поиска генетических маркеров является работа

ученых «Всероссийского научно-исследовательского института генетики и разведения сельскохозяйственных животных», в которой обнаружено четыре однонуклеотидных полиморфизма (SNP) в гене соматотропина, 2 из которых находятся в кодирующей части [1].

Харзинова В. Р. и др. показали возможность использования на северных оленях ДНК чипа Bovine SNP50 BeadChip для крупного рогатого скота, который включает в себя 54609 однонуклеотидных замен. Результаты использования данного чипа выявили 512 полиморфных SNP, которые дают возможность в полной мере судить о генетической структуре пород домашних северных оленей [2].

В настоящее время для изучения генетической структуры северных оленей используются мик-

росателлитные маркеры ДНК, позволяющие выявить эволюционные процессы в популяциях диких и домашних северных оленей [3]. Микросателлитные локусы являются высоковариабельными областями ДНК и состоят из tandemно повторяющихся последовательностей длиной от одного до шести нуклеотидов. Использование микросателлитов и полимеразная цепная реакция (ПЦР) являются мощными инструментами для количественной оценки генетических вариаций как внутри пород, так и между ними.

Цель исследований — генетическая характеристика чукотской породы оленей, разводимой на территории республики Саха (Якутия)

Материалы и методы исследования. Объектом исследования послужили домашние северные олени чукотской породы, разводимые в СПК КРО «Турваургин» в Нижнеколымском районе Якутии.

Материалом для генетического анализа микросателлитных локусов послужили образцы ДНК, выделенные из лейкоцитов крови. Кровь для выделения ДНК отбирали из яремной вены в объёме 6 мл в вакуумные пробирки для гематологических исследований с ЭДТА КЗ. Выделение ДНК проводилось в учебной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО Якутская ГСХА набором реагентов EXCELL BIOTECH (Разработка ГАУ «Технопарк Якутия», Россия).

Генотипирование проводили набором реагентов для мультиплексного анализа 16-ти микроса-

теллитных маркеров северного оленя COGrDIS Rangifer (ООО «Гордиз», г. Москва).

При обработке экспериментальных данных использовали надстройку для Microsoft Excel — GeneAlex 6.51.

Результаты исследования и обсуждение. На территории Республики Саха (Якутия) разводят три породы домашних северных оленей: эвенскую, эвенкийскую и чукотскую. По данным Федеральной службы государственной статистики на 1 января 2019 года поголовье домашних северных оленей в Якутии 146,6 тыс. гол. В настоящее время численность домашних северных оленей в Якутии сильно сокращается и оказывает негативное влияние на жизненный уклад коренных малочисленных народов и на экономику региона.

По численности чукотская порода занимает только 12,6% (13,09) тыс. гол.) в структуре породного состава домашних северных оленей Якутии. Две первые породы распространены по территории республики повсеместно, а чукотскую породу разводят только в Нижнеколымском районе.

Разведением чукотской породы оленей в Якутии занимаются только кочевые родовые общины. В Нижнеколымском районе существуют четыре родовые общины: СПК КРО «Турваургин», СПК КРО МНС «Олеринский», СКРО «Гулдикан» и КРО МНС (ч) «ТЭВР». И самым крупным по поголовью оленей является СПК КРО «Турваургин» — 10282 голов, который был выбран для

Таблица 1. Описание микросателлитных маркеров COGrDIS RANGIFER

Название маркера	Референсный аллель	Структура повтора
Rt6	19	(CA) ₁₉
BMS1788	17	(AC) ₁₇
Rt 30	15	(AC) ₁₅
Rt1	19	(AC) ₁₉
Rt9	21	(AC) ₂₁
FCB193	13	(AC) ₁₃
Rt7	11	(AC) ₁₁
BMS745	13	(AC) ₁₃
C 143	7	(ATGG) ₇
Rt24	21	(AC) ₂₁
OheQ	20,3	(TATC) ₁₇ ATCTATCTATTTATC
C217	9	CATC(CATG) ₅ (CATC) ₃
C32	14	(ATCC) ₄ (ACCT) ₂ (ATCC) ₇
NVHRT16	25	(AC) ₅ AT(AC) ₄ ATGCGC(AC) ₁₂
T40	13	(ATCT) ₄ ACCTATCT(ATCT) ₄ ACTGACCTATCT
C276	53	(TCCA) ₅ TCCTTCCATACG(TCCA) ₃ TCCTTCCATCTG(TCCA) ₄ TCCG(TCCA) ₅ TCCTTCCATCCG(TCCA) ₃ (TCCG) ₂ TGCA(TCCA) ₂ TCCGTCCA

оценки генетического профиля чукотской породы оленей, разводимой в Якутии.

В результате молекулярно-генетического тестирования установлено, что микросателлитные маркеры имеют широкий спектр аллелей (табл. 2).

Общее количество выявленных аллелей составило 127 и варьировало в разных локусах от 2 до 14.

Наибольшее количество аллелей выявлено в локусе BMS1788 (14). Наиболее часто в этом локусе встречались аллели 12 (0,250), 17 (0,217)

Таблица 2. Частота встречаемости аллелей 16 микросателлитных локусов у оленей чукотской породы (n=90)

Локус	Аллель	Частота	Локус	Аллель	Частота	Локус	Аллель	Частота
Rt6	14	0,011	Rt9	11	0,141	Rt24	11	0,103
	17	0,022		13	0,038		13	0,038
	20	0,163		15	0,016		14	0,082
	21	0,201		16	0,114		15	0,217
	22	0,103		18	0,005		17	0,304
	23	0,060		17	0,011		18	0,071
	24	0,359		20	0,038		19	0,098
	26	0,082		21	0,234		20	0,005
BMS1788	6	0,005	C143	22	0,391	C32	21	0,076
	11	0,038		23	0,011		22	0,005
	12	0,250		6	0,522		12	0,304
	13	0,163	Rt7	7	0,440	BMS745	14	0,380
	14	0,016		8	0,038		17	0,315
	14,1	0,033		11	0,440		11	0,109
	15	0,038		12	0,163		12	0,272
	15,1	0,005		13	0,011		12,1	0,163
	16	0,082		15	0,125		13	0,288
	17	0,217		16	0,158		14	0,163
	19	0,082		17	0,076	NVHRT16	15	0,005
	18	0,027	OheQ	18	0,027		10	0,174
	20	0,022		7	0,082		21	0,168
	24,1	0,022		7,3	0,016		22	0,092
Rt30	15	0,321		8	0,022		24	0,011
	16	0,071		10	0,033		25	0,201
	18	0,217		12	0,005		26	0,261
	19	0,043		12,3	0,049		27	0,038
	20	0,022		13	0,239		31	0,054
	21	0,016		14	0,168	T40	8	0,179
	22	0,152		15	0,049		10	0,587
	24	0,033		15,3	0,136		11	0,087
	25	0,049		17	0,179		12	0,033
	17	0,076		18	0,022		13	0,005
Rt1	13	0,038	FCB193	9	0,005		14	0,043
	16	0,462		13	0,527		17,3	0,005
	17	0,065		14	0,016		18,3	0,049
	18	0,168		15	0,092		24	0,011
	19	0,060		16	0,065	C276	34	0,147
	20	0,016		17	0,082		45	0,005
	21	0,022		18	0,207		49	0,043
	22	0,005		20	0,005		50	0,147
	24	0,076	C217	7	0,853		53	0,429
	25	0,038		7,3	0,147		54	0,228
	26	0,049						

и 13 (0,163). Доля аллелей, имеющих частоту встречаемости $\geq 5\%$, составила 35%.

Высокое аллельное разнообразие у оленей чукотской породы было выявлено в локусах OheQ (12 аллелей) и Rt1 (11 аллелей). Наибольшую частоту встречаемости в локусе OheQ имели аллели 13 (0,239), 17 (0,179), 14 (16,8) и 15,3 (13,6). В локусе Rt1 только четыре аллеля имели частоту встречаемости $\geq 5\%$. Аллель 16 встречался с частотой 0,462, аллель 18 — 0,168, аллель 19 — 0,06 и частота аллеля 24 составила 0,076.

В трех микросателлитных локусах — Rt9, Rt24 и Rt30 — выявлено по 10 аллелей. В локусе Rt9 наибольшую частоту встречаемости имели аллели 22 (0,391) и 21 (0,234). Частоту встречаемости выше 5% имели еще два аллеля этого локуса — аллели 11 (14,1%) и аллель 16 (11,4%). На первом месте по частоте встречаемости в локусе Rt24 расположился аллель 17 (0,304), на втором месте — аллель 15 (0,217). В локусе Rt30 преобладают три аллеля — 15, 18 и 22, частота которых равна 0,321, 0,217 и 0,152 соответственно.

В локусе T40 было выявлено 9 аллелей с заметным преобладанием аллеля 10, частота встречаемости которого у чукотской породы оленей составила 58,7%. Частота встречаемости аллелей 8 и 11 составила 0,179 и 0,087 соответственно. Количество аллелей, имеющих частоту встречаемости ниже 5%, составило 6.

В трех локусах FCB19, Rt6 и NVHRT16 обнаружено по 8 аллелей. Суммарная частота встречаемости двух аллелей локуса FCB193 составила 73% — это аллель 13 и 18, частота которых составила 52,7% и 20,7% соответственно. В локусе Rt6 значительно преобладают аллели 24 (0,359), 21 (0,201) и 20 (0,163). В локусе NVHRT16 на первых местах по частоте встречаемости расположились аллели 26 (0,261) и 25 (0,201).

В локусе Rt7 было выявлено 7 аллелей. С наибольшей частотой встречался аллель 11 (0,440). Аллели 12, 15, 16 и 17 имели частоту встречаемости 0,163, 0,125, 0,158 и 0,076 соответственно.

Микросателлитные локусы BMS745 и C276 имели по 6 аллелей. В локусе BMS745 только один аллель имел частоту встречаемости ниже 5% — аллель 15 (0,5%). Частота встречаемости остальных аллелей этого локуса варьировала от 0,109 (11) до 0,288 (13). В локусе C276 из шести аллелей четыре имели частоту встречаемости выше 5%: с наибольшей частотой в данном локусе встречались аллели 43 (0,429) и 54 (0,228). Аллели 34 и 50 встречались с одинаковой частотой 0,147.

У протестированных оленей в локусах C143 и C32 выявлено по 3 аллеля. Частота встречае-

мости аллеля 6 локуса C143 составила 52,2%, аллеля 7 — 44%. Аллели локуса C32 распределились равномерно с частотой 0,304 (12), 0,380 (14) и 0,315 (17).

Наименьшее количество аллелей выявлено в локусе C217 — всего 2 аллеля со значительным преобладанием аллеля 7, частота встречаемости которого составила 0,853.

Для характеристики аллелофонда чукотской породы определяли среднее число аллелей (Na) и число эффективных аллелей (Ne) в расчете на локус, степень наблюдаемой (Ho) и ожидаемой гетерозиготности (He) и индекс фиксации (Fis). Результаты расчета показателей полиморфизма микросателлитных локусов у оленей чукотской породы представлены в таблице 3.

Согласно полученным результатам чукотская порода на территории Якутии имеет высокое генетическое разнообразие. В среднем на локус выявлено 7,9 аллеля (Na), среднее число эффективных аллелей (Ne) составило 4,1 (табл. 3). Наименьшее количество эффективных аллелей отмечено в локусе C217 (1,3 аллеля), а наибольшее — в локусе BMS1788 (6,2).

Среднее значение наблюдаемой гетерозиготности (Ho) достигло 0,713 и близко к ожидаемому значению (He) 0,710. Близость значений наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности свидетельствует о наличии умеренного уровня инбридинга при использовании системы случайного скрещивания в замкнутой популяции оленей чукотской породы. Минимальное значение наблюдаемой гетерозиготности выявлено в локусе C217, имеющем 2 аллеля, и составило 0,222, максимальное — в локусе Rt30 (0,867).

Дефицит гетерозигот выявлен в 9 локусах из 16 изученных. Соответственно, показатель индекса фиксации является положительным в 9 локусах и отрицательным в 7 локусах из 16 изученных. Среднее значение индекса фиксации по чукотской породе составляет 0,001 при колебаниях от -0,103 в локусе T40 до 0,125 в локусе C143.

Индекс информативности полиморфизма (PIC) варьировал от 0,217 до 0,946, в среднем 0,695, что указывает, в целом, на достаточно высокое генетическое разнообразие. Согласно Botstein et. al. (1980) малоинформативными оказались только локусы C217 и C143 ($PIC < 0.5$) с малым количеством выявленных аллелей. Четырнадцать локусов из шестнадцати показали высокую информативность ($PIC > 0.5$), при этом у 10 локусов из 16 индекс информативности оказался выше 0,7.

Заключение. Таким образом, результаты генетического тестирования показали, что микросател-

Таблица 3. Полиморфизм микросателлитных маркеров у оленей чукотской породы

Локус	Na	Ne	Ho	He	F	PIС
Rt6	8	4,519	0,744	0,779	0,044	0,750
BMS1788	14	6,252	0,789	0,840	0,061	0,822
Rt 30	10	5,261	0,867	0,810	-0,070	0,787
Rt1	11	3,824	0,778	0,739	-0,053	0,787
Rt9	10	4,099	0,744	0,756	0,015	0,716
C143	3	2,142	0,467	0,533	0,125	0,427
Rt7	7	3,689	0,711	0,729	0,024	0,696
OheQ	12	6,678	0,856	0,850	-0,006	0,833
FCB193	8	2,980	0,667	0,664	-0,003	0,628
C217	2	1,328	0,222	0,247	0,101	0,217
Rt24	10	5,678	0,811	0,824	0,016	0,803
C32	3	2,973	0,711	0,664	-0,072	0,590
BMS745	6	4,519	0,778	0,779	0,001	0,743
NVHRT16	8	5,542	0,811	0,820	0,010	0,795
T40	9	2,527	0,667	0,604	-0,103	0,573
C276	6	3,596	0,778	0,722	-0,077	0,946
Среднее	7,94	4,101	0,713	0,710	0,001	0,695

литные маркеры имеют широкий спектр аллелей и обладают высокой информативной ценностью. Для чукотской породы оленей, разводимой в СПК КРО «Турваургин», характерен высокий уровень гетерозиготности. При использовании системы случайного скрещивания наблюдается умеренный уровень инбридинга, несмотря на длительное разведение породы в Якутии без «обновления крови». За последние годы численность оленей чукотской породы резко снизилась. Такое снижение поголовья может вести к потере разнообразия.

Сохранение популяции оленей чукотской породы в Якутии является одной из важных задач

республики, так как эта порода имеет хорошие мясные качества, обладает высокой жизнеспособностью и адаптирована к неблагоприятным тундровым условиям Якутии. Перспективным методом поддержания уровня генетического разнообразия является генетический мониторинг чукотской породы по полиморфизму микросателлитных локусов ДНК. Полученный генетический профиль частотного распределения микросателлитных маркеров ДНК оленей чукотской породы может служить отправной точкой для дальнейших сравнительных исследований и контроля процессов, протекающих в популяции оленей чукотской породы на территории Якутии.

Литература

1. Полиморфизм гена гормона роста северных оленей / А. Н. Крутикова [и др.] // Генетика и разведение животных. — 2016. — № 2. — С. 8–12.
2. Митрофанова О. В. Оценка возможности использования микросателлитных маркеров у северного оленя *rangifer tarandus* / О. В. Митрофанова, Н. В. Дементьева, О. К. Зозуля, В. В. Гончаров // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Проблемы освоения и сохранения Арктики», Санкт-Петербург, 20 марта 2015. — С.117–118.
3. Популяционно-генетическая характеристика домашнего северного оленя в Республике Якутия на основании полногеномного SNP анализа / В. Р. Харзинова [и др.] // Сельскохозяйственная биология. — 2017. — Том 52. — № 4. — С. 669–678 doi: 10.15389/agrobiology.2017.4.669rus.
4. *Rangifer tarandus* isolate US061 RanTarSib_scaffold_0, whole genome shotgun sequence [Electronic resource] / National Center for Biotechnology Information. — Режим доступа: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/PV1010000001.1>.
5. Botstein D. Co Instruction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms // Am. J. Hum. Genet. — 1980. — Vol. 32. — P. 314–331.

Dodokhov V.¹, Pavlova N.¹, Rumyantseva T.¹, Kalashnikova L.²

The way of value of Correlation of genomic DNA microsatellite loci and live weight of Chukchi reindeer

Abstract. *The article presents the genetic characteristic of the Chukchi reindeer breed. The object of the study was of the Chukchi reindeer. In recent years, the number of reindeer of the Chukchi breed has declined sharply. Reduced reindeer numbers could lead to biodiversity loss. The Chukchi breed of deer has good meat qualities, has high germination viability and is adapted in adverse tundra conditions of Yakutia. Herding of the Chukchi breed of deer in Yakutia are engaged only in the Nizhnekolymsky district. There are four generic communities and the largest of which is the agricultural production cooperative of nomadic tribal community «Turvaugin», which was chosen to assess the genetic processes of breed using microsatellite markers: Rt6, BMS1788, Rt 30, Rt1, Rt9, FCB193, Rt7, BMS745, C 143, Rt24, OheQ, C217, C32, NVHRT16, T40, C276. It was found that microsatellite markers have a wide range of alleles and generally have a high informative value for identifying of genetic differences between animals and groups of animal. The number of identified alleles is one of the indicators of the genetic diversity of the population. The total number of detected alleles was 127. The Chukchi breed of deer is characterized by a high level of heterozygosity, and the random crossing system prevails over inbreeding in the population. On average, there were 7.9 alleles (Na) per locus, and the mean number of effective alleles (Ne) was 4.1. The index of fixation averaged 0.001. The polymorphism index (PIC) ranged from 0.217 to 0.946, with an average of 0.695.*

Keywords: polymorphism; microsatellites; heterozygosity; genetic differentiation; reindeer; Chukchi breed.

Authors:

Dodokhov V. — PhD (Biol. Sci.); e-mail: dodoxv@mail.ru;

Pavlova N. — PhD (Biol. Sci.); e-mail: solnishko_84@inbox.ru;

Rumyantseva T. — researcher; e-mail: tanya_rum@mail.ru;

Kalashnikova L. — Dr. Habil. (Biol. Sci.), e-mail: lakalashnikova@mail.ru.

¹ FGBOU VO Arctic State Agrotechnological University, 3 km. house 3, Sergelyakhskoye sh., Yakutsk, Rep. Sakha (Yakutia), 677007.

² All Russian Research Institute of Animal Breeding, 141212, Russia, Moscow region, Pushkinskiy r-n, pos. Lesnyye Polyany, St. Lenina, 13.

References

1. Krutikova A. N., Dementieva N. V., Mitrofanova O. V., Pozovnikova M. V., Goncharov V. V. Reindeer Growth Hormone Gene Polymorphism, *Genetika i razvedenie zhivotnyh*, 2016. — № 2. — P. 8–12.
2. Mitrofanova O. V., Dement'eva N. V., Zozulya O. K., Goncharov V. V. Assessment of the possibilities of using microsatellite markers in reindeer rangifer tarandus. *Materialy Vserossijskoj nauchno-prakticheskoy konferencii «Problemy osvoeniya i sohraneniya Arktiki»*, Sankt-Peterburg, 20 marta 2015. — P. 117–118.
3. Harzinova V. R., Docev A. V., Solov'eva A. D., Fedorov V. I., Ohlopkov I. M., Vimmers K., Rejer H., Brem G., Zinov'eva N. A. Population and genetic characteristics of domestic reindeer in the Republic of Yakutia based on the genome-wide analysis of SNP. *Sel'skohozyajstvennaya biologiya*. — 2017. — Vol. 52. — № 4. — P. 669–678. doi: 10.15389/agrobiology.2017.4.669rus.
4. Rangifer tarandus isolate US061 RanTarSib_scaffold_0, whole genome shotgun sequence [Electronic resource] / National Center for Biotechnology Information. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/PVIN010000001.1>.
5. Botstein D. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms // *Am. J. Hum. Genet.* — 1980. — Vol. 32. — P. 314–331.