

ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДОМАШНЕГО СЕВЕРНОГО ОЛЕНЯ В РЕСПУБЛИКЕ ЯКУТИЯ НА ОСНОВАНИИ ПОЛНОГЕНОМНОГО SNP АНАЛИЗА*

В.Р. ХАРЗИНОВА¹, А.В. ДОЦЕВ¹, А.Д. СОЛОВЬЕВА¹,
В.И. ФЕДОРОВ², И.М. ОХЛОПКОВ³, К. ВИММЕРС⁴, Х. РЕЙЕР⁴,
Г. БРЕМ^{1, 5}, Н.А. ЗИНОВЬЕВА¹

Республика Саха (Якутия) — один из основных оленеводческих регионов Российской Федерации. Из четырех утвержденных пород северного оленя (*Rangifer tarandus*) в республике разводят три — эвенскую, эвенкийскую и чукотскую (харгин). Многолетнее снижение поголовья домашних северных оленей в настоящее время приостановлено, но для сохранения популяции и нивелирования неблагоприятных последствий сокращения численности необходимы современные подходы для оценки генетического разнообразия. Наиболее востребован для этих целей анализ однонуклеотидных полиморфизмов (single nucleotide polymorphism, SNP) с помощью ДНК-микроматриц (ДНК-чипов). В настоящей работе с использованием Bovine SNP50 BeadChip проведено генотипирование и дана популяционно-генетическая характеристика трех пород домашнего северного оленя, разводимых на территории Республики Саха (Якутия). Биологическим материалом для исследований служили образцы ткани уха животных эвенской (EVN, $n = 8$), эвенкийской (EVK, $n = 11$) и чукотской (харгин) пород (CHU, $n = 7$). Программное обеспечение PLINK 1.07 применяли для проведения контроля качества генотипирования. Для статистической обработки данных использовали программное обеспечение PLINK 1.07, Admixture 1.3, R пакеты *diversity* и *VennDiagram* с последующей визуализацией в R пакетах *rophelper* и *ggplot2*. По результатам контроля качества для дальнейшего анализа было отобрано 512 полиморфных SNP. Анализ диаграммы Венна показал, что олени эвенской и эвенкийской пород имели максимальное число уникальных полиморфизмов (14 SNP). У оленей чукотской породы детектировали 11 таких SNP. При расчете основных внутривидовых параметров оказалось, что представители чукотской породы характеризуются более высоким генетическим разнообразием ($H_o = 0,180 \pm 0,011$, $H_e = 0,156 \pm 0,008$, $A_r = 1,488 \pm 0,022$), а также более высоким избытком гетерозигот ($F_{IS} = -0,124$) по сравнению с эвенкийской ($H_o = 0,161 \pm 0,009$, $H_e = 0,153 \pm 0,008$, $A_r = 1,487 \pm 0,020$, $F_{IS} = -0,047$) и эвенской ($H_o = 0,164 \pm 0,010$, $H_e = 0,149 \pm 0,008$, $A_r = 1,471 \pm 0,021$, $F_{IS} = -0,089$) породами. Результаты многомерного шкалирования (MDS) и расчета попарных генетических дистанций (F_{ST}) показали, что наибольшей генетической близостью характеризуются олени эвенской и эвенкийской пород. Адмикс-анализ выявил высокую степень генетической обособленности каждой из исследуемых пород. Вместе с тем среди CHU и EVK были обнаружены особи, имеющие смешанное генетическое происхождение, близкое к EVN. Таким образом, мы успешно использовали ДНК-чип, разработанный для крупного рогатого скота, при генетической дифференциации пород северного оленя. Полученные данные найдут применение в разработке программ сохранения и рационального использования этого важнейшего для человека вида животных.

Ключевые слова: одиночный нуклеотидный полиморфизм, генетическое разнообразие, породы северного оленя.

Оленеводство представляет собой важнейшую составляющую экономики Севера, Сибири и Дальнего Востока России (1). В Дальневосточном федеральном округе Республика Саха (Якутия) — один из самых крупных оленеводческих регионов. Домашнее оленеводство — исконное занятие для жителей севера Якутии, которое обеспечивает сохранение жизнедеятельности представителей этноса, народных традиций и культуры. Главное конкурентное преимущество республики заключается в том, что вся ее территория относится к районам Крайнего Севера с высоким природно-ресурсным экономическим потенциалом. Якутия входит в таежно-тундровую зоогеографическую зону, пригодную для оленеводства и подразделяемую на приморскую, субарктическую и горную тундры с необыкновенно богатой фауной (2). Домашним оленеводством занимаются в 20 из 36 улусов и в од-

* Исследования выполнены при поддержке Российского научного фонда, проект № 14-36-00039. При проведении исследований использовано оборудование ЦКП «Биоресурсы и биоинженерия сельскохозяйственных животных» ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста.

ном городском округе Республики Саха. Из 3103,2 тыс. км² территории Якутии оленеводческие хозяйства владеют 2456,5 тыс. км², или 79,2 % (3). До 1990-х годов по численности поголовья домашних северных оленей в Российской Федерации Якутия стабильно занимала третье место (361 тыс. гол.) после Чукотского (491 тыс. гол.) и Ямало-Ненецкого (490,5 тыс. гол.) автономных округов (3). С начала 1990-х годов распад крупных оленеводческих хозяйств на мелкие, сокращение товарного оленеводства и спад производственно-экономических показателей отрасли привели к снижению численности оленей (1). Однако благодаря реализации ряда программ Правительства Российской Федерации (4), Президентской программы (5) и государственных целевых программ (6, 7) многолетнее снижение поголовья домашних северных оленей было приостановлено, и по итогам 2016 года их количество в республике составило более 156 тыс. гол. (3).

Из четырех официально признанных пород северных оленей на территории Якутии разводят три — эвенскую (в 12 улусах горно-таежной, тундровой и лесотундровой зон), эвенкийскую (в 9 улусах таежной и тундровой зон) и чукотскую (харгин) (на территории Нижнеколымского улуса). Популяция оленей этих пород по состоянию на 1 января 2015 года насчитывала соответственно 89913, 41774 и 20750 особей, что составляло 59,0; 27,4 и 13,6 % от общего поголовья оленей в республике (8, 9). Эвенская порода представлена оленями с мясо-транспортным типом телосложения, длинным и относительно узким туловищем. Живая масса взрослых самцов составляет 135-145, самок — 91-110 кг (9). Эвенкийская порода — транспортно-мясного типа телосложения. Олени характеризуются наиболее крупными размерами, большей живой массой и хорошей грузоподъемностью, имеют длинные конечности и вытянутое туловище, что обеспечивает лучшие рабочие качества. Средняя масса самцов перед гоном — 140-170 кг, важенков в возрасте 5,5 лет на осеннем корале — 108-120 кг (9). Чукотскую породу оленей образуют животные мясного типа телосложения, не особо приспособленные для транспортных целей (10). Харгинам свойственна скороспелость, высокая эффективность нагула и наживовки. Живая масса взрослых самцов составляет 130-140 кг, самок — 93-96 кг (9).

Генетическое разнообразие северного оленя достаточно широко изучено с использованием разных типов генетических маркеров: белковых полиморфизмов (11, 12), митохондриальной ДНК (13, 14) и ядерных микросателлитов (15-18). До недавнего времени именно микросателлиты наиболее часто использовались для изучения дрейфа генов, эволюционных процессов, степени дифференциации популяций и оценки генетического разнообразия (19). Однако за последнее десятилетие разработка и совершенствование высокопроизводительных методов генотипирования однонуклеотидных полиморфизмов (single nucleotide polymorphism, SNP) привели к революции в их использовании в качестве молекулярных маркеров, позволяющих давать точную генетическую характеристику популяций (20). Огромное количество SNP в геноме (по разным оценкам, от 3 до 10 млн) позволяет отобрать порядка 100 тыс. маркеров при среднем расстоянии между ними 30 т.п.н. (21). При этом на каждый известный или предполагаемый ген приходится в среднем по 2 SNP. Никакой другой тип геномных различий не способен обеспечить такую плотность картирования. Помимо высокой плотности, SNP имеют очень низкое число мутаций на поколение ($\sim 10^{-8}$), что делает их удобными маркерами для изучения молекулярной эволюции (22, 23).

Практический интерес к SNP сильно возрос в процессе реализации проектов по определению полных нуклеотидных последовательностей у ви-

дов сельскохозяйственных животных. Так, секвенирование ряда полных геномов крупного рогатого скота выявило наличие у них значительного числа SNP (24). В базе данных dbSNP NCBI (National Center for Biotechnological Information, США) в настоящее время их число составляет 73 439 641 (25). Позже были расшифрованы геномы лошадей (26), свиней (27), овец (28).

Востребованность SNP привела к созданию и использованию так называемых микроматриц (ДНК-чипов), представляющих собой твердый носитель небольшого размера (не больше предметного стекла для микро-скопирования) с прикрепленными к нему в определенном порядке короткими олигонуклеотидами размером 8-25 п.н. или фрагментами ДНК размером более 100 п.н. (29). Создание микроматриц разной плотности для основных видов сельскохозяйственных животных помогло определить параметры изменчивости внутри и между породами, идентифицировать географическую локализацию отдельных популяций и перемешивание популяций с различным генетическим происхождением, получить информацию об эволюционных взаимоотношениях (филогенетические деревья) и определить центры происхождения и маршруты миграции, осуществить картирование генов, создать ДНК-хранилища (30). Наиболее широкое практическое применение находят коммерческие ДНК-чипы, сконструированные фирмой «Illumina, Inc.» (США), которые позволяют генотипировать почти все основные модельные виды сельскохозяйственных животных и получать информацию о генетическом разнообразии по десяткам и сотням тысяч маркеров. Для немодельных видов (включая северного оленя) из-за отсутствия информации о полном геноме создание такой SNP-матрицы пока остается неисполнимой задачей (31). Однако многими авторами показана возможность применения на таких видах коммерческих ДНК-чипов, разработанных для домашних видов животных, с целью получения информации о генетическом разнообразии и структуре популяций (32-37). В 2015 году были опубликованы первые данные об успешном применении на северных оленях ДНК-чипов для крупного рогатого скота (Illumina BovineSNP50 BeadChip) и домашних овец (Illumina OvineSNP50 BeadChip) (38). Полученные результаты послужили основой для использования BovineSNP50 BeadChip с целью генетической характеристики ранее не исследованных пород и популяций этого представителя рода *Rangifer*.

В настоящем сообщении нами впервые дана более точная генетическая характеристика трех пород домашнего северного оленя в Республике Саха (Якутия). Полученные данные могут быть использованы для совершенствования селекционно-племенной работы в оленеводстве региона.

Целью исследования была оценка биоразнообразия домашних пород северного оленя (*Rangifer tarandus*) эвенской, эвенкийской и чукотской, разводимых на территории Якутии, с использованием ДНК-чипа средней плотности BovineSNP50K BeadChip.

Методика. Анализировали биоматериал (ушные выщипы) оленей эвенской (EVN, ФГУП «Ючюгейское», $n = 8$), эвенкийской (EVK, НАОК «Таба», $n = 11$) и чукотской (харгин) пород (CHU, ОАО КМНС «Хатыстыр», $n = 7$), отобранный в 2016 году в Республике Саха (Якутия). Группой сравнения служили образцы от животных из дикой якутской популяции (WLD, $n = 16$), собранные в 2016 году в таежной (TGA, $n = 4$) и тундровой (TUN, $n = 12$) природно-климатических зонах при экспедиционных обследованиях.

Геномную ДНК выделяли с помощью колонок Nexttec («Nexttec Biotechnologie GmbH», Германия) согласно рекомендациям фирмы-изготовителя. Качество выделенной ДНК проверяли посредством электрофореза

за в агарозном геле. Концентрацию ДНК в растворе оценивали по поглощению при $\lambda = 260$ нм (OD_{260}), чистоту ДНК — по соотношению поглощения при длинах волн 260 и 280 нм (OD_{260}/OD_{280}). Скрининг одиночных нуклеотидных полиморфизмов проводили с использованием микроматрицы средней плотности Bovine SNP50 BeadChip («Illumina, Inc.», США), включающей 54609 SNP.

Программное обеспечение PLINK v1.07 (39) было применено для проведения контроля качества генотипирования с учетом следующих фильтров: исключение SNP, генотипированных менее чем у 90 % индивидов (--geno - 0.1); исключение индивидов, у которых отсутствуют более чем 10 % SNP от их общего числа (--mind - 0.1); исключение локусов с частотой минорных аллелей менее 5 % (--maf - 0.05); исключение маркеров, не соответствующих критерию χ^2 на равновесие в популяции по Харди-Вайнбергу ($p \leq 1 \times 10^{-6}$); удаление SNP со значениями неравновесия по сцеплению (linkage disequilibrium, LD) между однонуклеотидными полиморфизмами $r^2 > 0,05$; окно размером 50 SNP с шагом 5 маркеров. Дополнительно для оценки качества генотипирования SNP использовались критерии GC Score (качество чтения SNP) и GT Score (уровень кластеризации SNP) не менее 0,5 (50 %) (40).

Для построения диаграммы Венна, определяющей уникальные и общие для каждой породы SNP, применяли R пакет VennDiagram. Рассчитывали значения показателей наблюдаемой (H_o) и ожидаемой (H_e) гетерозиготности, аллельного разнообразия с применением процедуры рарификации (A_r), коэффициента инбридинга (F_{IS}) (41). Визуализацию осуществляли в пакете R diveRsity (42). Многомерное шкалирование (MDS), основанное на матрице дистанций идентичности по состоянию (identical-by-state, IBS), было выполнено в PLINK 1.07 (--cluster, --mds-plot 4), последующая визуализация — в R пакете ggplot2. Степень генетической дифференциации популяций оценивали на основании попарных значений F_{ST} (43), рассчитанных в пакете R diveRsity (42). Результаты оценки генетической структуры популяций и межпопуляционных связей были получены с помощью программы Admixture 1.23 (44) с последующей визуализацией в R пакете pophelper (45).

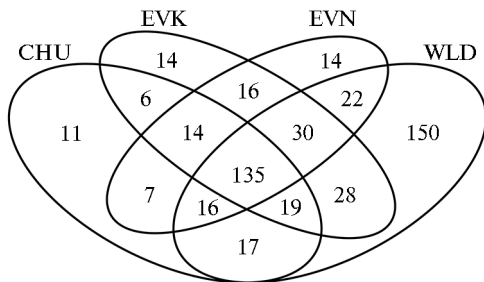


Рис. 1. Диаграмма Венна, отражающая распределение числа уникальных и общих SNP для исследуемых групп северного оленя (*Rangifer tarandus*): CHU — чукотская (харгин), EVK — эвенкийская, EVN — эвенская породы; WLD — популяция дикого северного оленя (Республика Саха—Якутия, 2016–2017 годы).

При статистической обработке данных рассчитывали среднюю арифметическую (M) и стандартные ошибки средней ($\pm m$).

Результаты. После контроля качества осталось 22807 SNP, из которых 512 были полиморфными и использовались для дальнейшего анализа. Небольшое число полиморфных маркеров объясняется уменьшением числа полиморфных SNP с увеличением филогенетических дистанций между семействами *Bovidae* и *Cervidae*, что также проявляется в снижении общего количества генотипированных SNP (call rate) с 99,54 до 61,19 % (37).

Установлено 135 SNP, которые были общими для всех групп на диаграмме Венна (рис. 1). Среди домашних пород количество уникальных SNP оказалось максимальным у EVN и EVK (14 SNP). У оленей чукот-

ской породы было детектировано 11 уникальных SNP. Если рассматривать число специфичных аллелей для двух популяций, то оно было выше для пары EVN—EVK (16 SNP), наименьшим — для EVK—CHU (6 SNP). Олени домашней популяции уступали диким по числу уникальных SNP (14 против 150), при этом общее количество SNP, специфичных только для домашней популяции, составило 349.

1. Генетическое разнообразие домашних пород северного оленя (*Rangifer tarandus*), оцененное на основании профилей одиночных нуклеотидных полиморфизмов (Республика Саха—Якутия, 2016–2017 годы)

Порода	<i>n</i>	$H_o (M \pm m)$	$H_e (M \pm m)$	F_{IS}	$A_r (M \pm m)$
CHU	7	0,180±0,011	0,156±0,008	-0,124	1,488±0,022
EVK	11	0,161±0,009	0,153±0,008	-0,047	1,487±0,020
EVN	8	0,164±0,010	0,149±0,008	-0,089	1,471±0,021

Примечание. CHU — чукотская (харгин), EVK — эвенкийская, EVN — эвенская породы; H_o — наблюдаемая гетерозиготность, H_e — ожидаемая гетерозиготность, A_r — аллельное разнообразие, рассчитанное с применением процедуры рарификации, F_{IS} — коэффициент инбридинга.

Наибольшую степень наблюдаемой гетерозиготности отмечали у чукотской породы — $H_o = 0,180 \pm 0,011$ (табл. 1). Ранее было установлено, что она превосходила эвенскую и эвенкийскую породы по генетическому разнообразию, оцененному с использованием микросателлитов (18). Выборка эвенкийской породы характеризовалась минимальными значениями

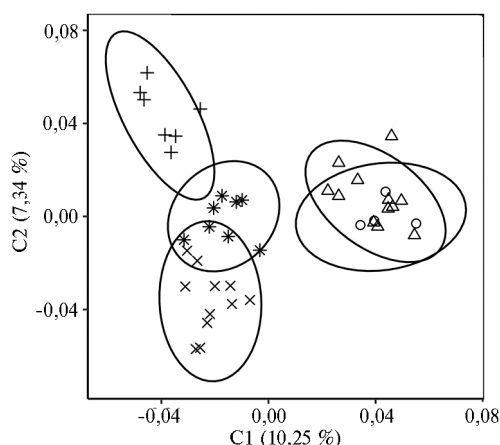


Рис. 2. Графическое изображение результатов многомерного шкалирования (MDS) образцов, полученных от особей северного оленя (*Rangifer tarandus*) разных пород и генотипированных с использованием Bovine SNP50 BeadChip: + — чукотская (харгин), x — эвенкийская, * — эвенская породы; O и Δ — соответственно таежная и тундровая популяции дикого северного оленя; ось X — главная компонента 1 (C1), ось Y — главная компонента 2 (C2) (Республика Саха—Якутия, 2016–2017 годы).

наблюдаемой гетерозиготности ($H_o = 0,161 \pm 0,009$). Показатель аллельного разнообразия (A_r), скорректированный методом рарификации, не выявил существенных различий между породами: значения A_r варьировали от 1,471 (EVN) до 1,488 (CHU). Все три породы имели незначительный избыток гетерозигот, о чем свидетельствовали отрицательные значения коэффициента инбридинга (F_{IS}) — от -0,124 (CHU) до -0,047 (EVN).

Диаграмма расположения исследованных образцов в пространстве, полученная на основании анализа SNP профилей с помощью метода многомерного шкалирования (MDS), представлена на рисунке 2. Первая координата объясняла большую часть (10,25 %) общей дисперсии всего массива данных и четко разделяла домашнюю и дикую популяции, в то время как вторая координата, отража-

ющая около 8 % общей изменчивости, позволила дифференцироваться домашние породы. Наибольшей генетической близостью с незначительным перекрытием массивов характеризовались особи эвенской и эвенкийской пород. Смещение можно объяснить более близким географическим расположением племенных хозяйств, где содержатся эти пород. Дикие северные олени таежной и тундровой популяций формировали единый кластер, что указывает на их генетическое сходство.

Расчет значений F_{ST} при парном сравнении (табл. 2) показал сходство полученных данных с результатами MDS-анализа: минимальное значение ($F_{ST} = 0,006$) было установлено для эвенской и эвенкийской пород, что подтверждает их большую генетическую близость. Олени чукотской породы оказались равноудалены от эвенской ($F_{ST} = 0,098$) и эвенкийской ($F_{ST} = 0,095$) пород и наиболее дифференцированы от дикой популяции ($F_{ST} = 0,101$).

2. Дифференциация исследуемых пород северного оленя (*Rangifer tarandus*) по показателю F_{ST} при парном сравнении, рассчитанном на основании SNP профилей (Республика Саха—Якутия, 2016-2017 годы)

Группа	CHU	EVK	EVN	WLD
CHU	0,0000			
EVK	0,0953	0,0000		
EVN	0,0981	0,0632	0,0000	
WLD	0,1007	0,0659	0,0597	0,0000

Примечание. CHU — чукотская (харгин), EVK — эвенкийская, EVN — эвенская породы; WLD — популяция дикого северного оленя.

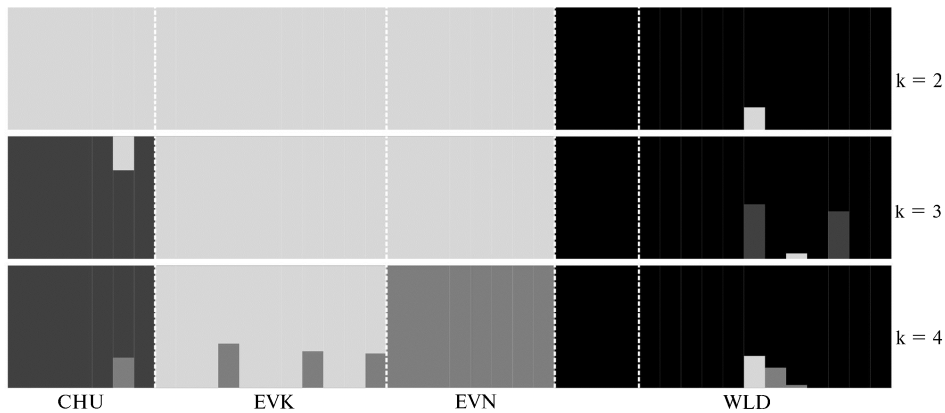


Рис. 2. Генетическая структура изучаемых пород северного оленя (*Rangifer tarandus*) по результатам адмикс-анализа образцов, генотипированных с использованием Bovine SNP50 BeadChip, для числа кластеров k от 2 до 4: CHU — чукотская (харгин), EVK — эвенкийская, EVN — эвенская породы; WLD — популяция дикого северного оленя (Республика Саха—Якутия, 2016-2017 годы).

На основании адмикс-анализа генетической структуры исследуемых пород северного оленя (рис. 2) при числе кластеров $k = 2$ была установлена четкая дифференциация домашних пород от дикой популяции. При $k = 3$ наблюдалось формирование особями чукотской породы собственного кластера, в то время как животные эвенской и эвенкийской пород кластеризовались вместе. При $k = 4$ порода образовала отдельный кластер с высокой степенью генетической обособленности. Следует, однако, указать на наличие среди оленей чукотской и эвенкийской пород животных, имеющих смешанное генетическое происхождение, близкое к EVN. Особи дикой популяции, используемые в качестве группы сравнения, сохраняли членство в собственном кластере при k от 2 до 4, хотя у некоторых из них были обнаружены проявления адмиссии домашних северных оленей.

Имеется достаточное число публикаций, демонстрирующих успешные исследования немодельных видов с использованием коммерческого ДНК-чипа BovineSNP50K BeadChip, разработанного для крупного рогатого скота. Так, G.D. Haynes и E.K Latch. (35) охарактеризовали двух представителей семейства *Cervidae*: чернохвостого (*Odocoileus hemionus*) и белохвостого оленя (*O. virginianus*). Авторы смогли успешно генотипировать 38,7 % локусов, из которых 5 % ($n = 1068$) оказались полиморфными.

R. Kasarda с соавт. (37) исследовали два вида семейства *Cervidae* — благородного оленя (*Cervus elaphus*) и лань (*Dama dama*). Всего было успешно генотипировано 94,76 % SNP, из которых 5,24 % (1542) оказались полиморфными. М. Tokarska с соавт. (46) выявили 960 полиморфных локусов у европейского бизона (*Bison bonasus*). С. Pertoldi с соавт. (32) идентифицировали 929, 1403 и 1524 полиморфных SNP соответственно у европейского бизона и двух подвидов американского бизона — равнинного (*B. bison bison*) и лесного (*B. bison athabascae*). Авторы показали, что системы генотипирования SNP, разработанные для домашних видов, могут быть эффективны на немодельных видах, прошедших через «бутылочное горлышко», у которых гетерозиготность других маркеров, таких как микросателлиты, очень низка (32, 46). SNP-маркеры применяют не только при изучении биоразнообразия и эволюционных взаимоотношений, но и для определения достоверности происхождения (47).

Таким образом, мы успешно использовали ДНК-чип, разработанный для крупного рогатого скота, при генетической дифференциации пород северного оленя. В результате исследований одиночных нуклеотидных полиморфизмов дана популяционно-генетическая характеристика трех пород северного оленя — чукотской (харгин), эвенской и эвенкийской, разводимых на территории Республики Саха (Якутия). Оленеводство в этом регионе не только связано с сельскохозяйственным сектором, но и составляет неотъемлемую часть культуры коренных народов. Полученные данные могут быть использованы для разработки программ сохранения и рационального использования этого важнейшего для человека вида животных.

¹ФГБНУ Федеральный научный центр
животноводства — ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста,
142132 Россия, Московская обл., г.о. Подольск,
пос. Дубровицы, 60,
e-mail: veronika0784@mail.ru, asnd@mail.ru, anastasiya93@mail.ru,
n_zinovieva@mail.ru;

Поступила в редакцию
23 мая 2017 года

²ФГБНУ Якутский НИИ сельского хозяйства
им. М.Г. Софронова,
677001 Россия, Республика Саха (Якутия), г. Якутск,
ул. Бестужева-Марлинского, 23/1,
e-mail: vfedorov_09@mail.ru;

³ФГБУН Институт биологических проблем
криотозоны СО РАН,
677000 Россия, Республика Саха (Якутия), г. Якутск, пр. Ленина, 41,
e-mail: imo-ibpc@yandex.ru;

⁴Institute of Genome Biology, Leibniz Institute for Farm
Animal Biology (FBN),
Mecklenburg-Vorpommern, 18196 Dummerstorf, Germany,
e-mail: wimmers@fbn-dummerstorf.de, reyer@fbn-dummerstorf.de;

⁵Institut für Tierzucht und Genetik,
University of Veterinary Medicine (VMU),
Veterinärplatz, A-1210, Vienna, Austria,
e-mail: gottfried.brem@vetmeduni.ac.at

Sel'skokhozyaystvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2017, V. 52, № 4, pp. 669–678

POPULATION-GENETIC CHARACTERISTICS OF DOMESTIC REINDEER OF YAKUTIA BASED ON WHOLE-GENOME SNP ANALYSIS

V.R. Kharzjinova¹, A.V. Dotsev¹, A.D. Solovieva¹, V.I. Fedorov², I.M. Okhlopov³,
K. Wimmers⁴, H. Reyer⁴, G. Brem^{1, 5}, N.A. Zinovieva¹

¹L.K. Ernst Federal Science Center for Animal Husbandry, Federal Agency of Scientific Organizations, 60, pos. Dubrovitsy, Podolsk District, Moscow Province, 142132 Russia, e-mail veronika0784@mail.ru (corresponding author), asnd@mail.ru, anastasiya93@mail.ru, n_zinovieva@mail.ru;

²M.G. Sofronov Yakutsk Research Institute of Agriculture, Federal Agency of Scientific Organizations, 23/1, ul.

Bestuzheva-Marlinskogo, Yakutsk, Sakha Republic (Yakutia), 677001 Russia, e-mail vfedorov_09@mail.ru;
³Institute for Biological Problems of Cryolithozone Siberian Branch of RAS, Federal Agency of Scientific Organizations, 41, pr. Lenina, Yakutsk, Sakha Republic (Yakutia), 677000 Russia, e-mail imo-ibpc@yandex.ru;
⁴Institute of Genome Biology, Leibniz Institute for Farm Animal Biology (FBN), Mecklenburg-Vorpommern, 18196 Dummerstorf, Germany, e-mail wimmers@fbn-dummerstorf.de, reyer@fbn-dummerstorf.de;
⁵Institut für Tierzucht und Genetik, University of Veterinary Medicine (VMU), Veterinärplatz, A-1210, Vienna, Austria, e-mail gottfried.brem@vetmeduni.ac.at

ORCID:

Kharzinova V.R. orcid.org/0000-0002-8067-0404
Dotsev A.V. orcid.org/0000-0003-3418-2511
Solovieva A.D. org/0000-0003-2628-9554
Fedorov V.I. org/0000-0002-8454-6531
Okhlopov I.M. org/0000-0002-6227-5216

Wimmers K. orcid.org/0000-0002-9523-6790
Reyer H. orcid.org/0000-0001-6470-0434
Brem G. orcid.org/0000-0002-7522-0708
Zinovieva N.A. orcid.org/0000-0003-4017-6863

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

Equipment of the Collective Center Agricultural Animals' Bioresources and Bioengineering of the L.K. Ernst Federal Science Center for Animal Husbandry was used in the study

Supported financially by Russian Science Foundation (project No. 14-36-00039)

Received May 23, 2017

doi: 10.15389/agrobiologia.2017.4.669eng

Abstract

The Republic of Sakha (Yakutia) is one of the main reindeer herding regions of the Russian Federation. The census population size of domesticated reindeer in the Sakha Republic amounts to more than 156 thousand individuals. Three of the four officially recognized breeds are being bred in Yakutia: the Even, Evenk and Chukotka (Khargin). The analysis of single nucleotide polymorphisms (SNPs) using DNA microarrays (DNA chips) is the useful tool to assess and preserve the biodiversity of this important agricultural species. In the present work, we have used the Bovine SNP50 BeadChip to determine the genotypes and population-genetic characteristics of three domestic reindeer originated from the territory of the Republic of Sakha (Yakutia). Tissue samples (ear skin samples) from reindeer of the breeds Even (EVN, $n = 8$), Evenk (EVK, $n = 11$) and Chukotka (CHU, $n = 7$) were used as biological material for the study. The PLINK 1.07 software was used to check the quality of genotyping. For data processing, we used the software PLINK 1.07, Admixture 1.3, and R packages diveRsity, VennDiagram with subsequent visualization in the R packages pophelper and ggplot2. According to the results of quality control, we selected 512 polymorphic SNPs for further analysis. Analysis of Venn-diagrams showed that the reindeer of Even and Evenk breeds have a maximal number of unique polymorphisms (14 SNPs). Eleven unique SNPs were detected in the Chukotka breed. The calculation of basic population parameters revealed that individuals of the Chukotka breed are characterized by higher levels of genetic diversity ($H_o = 0.180 \pm 0.011$, $H_e = 0.156 \pm 0.008$, $A_r = 1.488 \pm 0.022$) and a higher excess of heterozygotes ($F_{IS} = -0.124$), compared to Evenk ($H_o = 0.161 \pm 0.009$, $H_e = 0.153 \pm 0.008$, $A_r = 1.487 \pm 0.020$, and $F_{IS} = -0.047$) and Even ($H_o = 0.164 \pm 0.010$, $H_e = 0.149 \pm 0.008$, $A_r = 1.471 \pm 0.021$, and $F_{IS} = -0.089$) breeds. The results of multidimensional scaling and the calculation of pairwise genetic distances (F_{ST}) showed the greatest closeness of the breeds Even and Evenk. Admixture analysis revealed a high degree of genetic isolation of each of the studied breeds. However, among the domestic reindeer of Chukotka and Evenk breeds we identified individuals with a mixed genetic origin, which is close to Even genetics. The obtained data will be applied in the development of programs for the conservation and sustainable use of this important animal species.

Keywords: single nucleotide polymorphism, genetic diversity, reindeer breeds.

REFERENCES

1. Azarova L.V. *Molodoi uchenyi*, 2013, 5: 831-833 (in Russ.).
2. Robbek N.S., Abramov A.F. *Evenskaya poroda olenei Yakutii: myasnaya produktivnost', biologicheskaya i pishcheyaya tsennost'* [Even reindeer: meat production, biological and nutritional value]. A.D. Reshetnikov (ed.). Novosibirsk, 2017 (ISBN 978-5-4379-0519-7) (in Russ.).
3. Okorokov A.I. *Vestnik Severo-Vostochnogo federal'nogo universiteta imeni M.K. Ammosova*, 2013, 10(3): 36-41 (in Russ.).
4. Syrovatskii D.I. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK*, 2006, 5: 10-11 (in Russ.).
5. *Prezidentskaya programma sotsial'no-ekonomicheskogo razvitiya sela Respubliki Sakha (Yakutiya) na 2002-2006 gody*. Utv. rasporyazheniem Prezidenta Respubliki Sakha (Yakutiya) ot 23 dekabrya 2002 goda № 328-RP [The President Program for social and economic development of the Sakha Republic in 2002-2006. Approved by the decree of President of Sakha Republic № 328-RP of December 23, 2002 (Yakutiya)] (in Russ.).
6. *Zakon Respubliki Sakha (Yakutiya) ot 11 iyulya 2007 goda, Z № 991-III. O gosudarstvennoi tsel'voi programme «Sotsial'no-ekonomicheskoe razvitiye sela Respubliki Sakha (Yakutiya) na 2007-2011 gody»* [Law of the Sakha Republic Z № 991-III of July 11, 2007 about the State Program of social and economic development of rural areas in Sakha Republic for 2007-2011] (in Russ.).

7. Gosudarstvennaya tselevaya programma «Sotsial'no-ekonomicheskoe razvitiye sela Respubliki Sakha (Yakutiya) na 2012–2016 gody». Utv. Rasporyazheniem Pravitel'stva RS (YA) № 1394-r ot 24.12.2011 g. [State Program of social and economic development of rural areas in Sakha Republic for 2012–2016. Approved by the decree of the Government of Sakha Republic № 1394-r of December 24, 2011] (in Russ.).
8. Alekseev E.D. *Tekhnologiya kruglogodichnogo izgorodnogo sodержaniya domashnikh olenei v usloviyakh taezhnoi zony Yakutii. Avtoreferat kandidatskoi dissertatsii* [Coral-based technology of all-the-year-round keeping domestic reindeers in taiga zone of Yakutiya. PhD Thesis]. Yakutsk, 2009 (in Russ.).
9. *Plemennaya rabota v olenevodstve* [Breeding in reindeer herding]. Available <http://reindeer.sakha-plem.ru/plemennaya-rabota-v-olenevodstve/>. No date (in Russ.).
10. Mukhachev A.D. *Olenevodstvo* [Reindeer herding]. Moscow, 1990 (ISBN 5-10-000725-7) (in Russ.).
11. Roed K.H. Genetic differences at the transferrin locus in Norwegian semidomestic and wild reindeer (*Rangifer tarandus* L.). *Hereditas*, 1985, 102: 199–206.
12. Shubin P.N. Genetics transferrin of European reindeer and moose. *Genetics*, 1988, 5(1): 37–41.
13. Flagstad O., Røed K.H. Refugial origins of reindeer (*Rangifer tarandus* L.) inferred from mitochondrial DNA sequences. *Evolution*, 2003, 57(3): 658–670.
14. Cronin M.A., MacNeil M.D., Patton J.C. Variation in mitochondrial DNA and microsatellite DNA in caribou (*Rangifer tarandus*) in North America. *J. Mammalogy*, 2005, 86: 495–505.
15. Ball M.C., Finnegan L., Manseau M., Wilson P. Integrating multiple analytical approaches to spatially delineate and characterize genetic population structure: an application to boreal caribou (*Rangifer tarandus caribou*) in central Canada. *Conserv. Genet.*, 2010, 11: 2131–2143 (doi: 10.1007/s10592-010-0099-3).
16. McDevitt A.D., Mariani S., Hebblewhite M., De Cesare N.J., Morgantini L., Seip D., Weckworth B.V., Musiani M. Survival in the Rockies of an endangered hybrid swarm from diverged caribou (*Rangifer tarandus*) lineages. *Mol. Ecol.*, 2009, 18: 665–679 (doi: 10.1111/j.1365-294X.2008.04050.x).
17. Wilson G.A., Strobeck C., Wu L., Coffin J.W. Characterization of microsatellite loci in caribou *Rangifer tarandus*, and their use in other artiodactyls. *Mol. Ecol.*, 1997, 65: 697–699 (doi: 10.1046/j.1365-294X.1997.00237.x).
18. Kharzina V.R., Gladyr' E.A., Fedorov V.I., Romanenko T.M., Shim-it L.D., Layshev K.A., Kalashnikova L.A., Zinovieva N.A. Development of multiplex microsatellite panel to assess the parentage verification in and differentiation degree of reindeer populations (*Rangifer tarandus*). *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2015, 50(6): 756–765 (doi: 10.15389/agrobiology.2015.6.756eng).
19. Kharzina V.R., Dotsev A.V., Kramarenko A.S., Layshev K.A., Romanenko T.M., Solov'eva A.D., Deniskova T.E., Kostyunina O.V., Brem G., Zinovieva N.A. Study of the allele pool and the degree of genetic Introgression of semidomesticated and wild populations of reindeer (*Rangifer tarandus* L., 1758) using microsatellites. *Agricultural Biology*, 2016, 51(6): 811–823 (doi: 10.15389/agrobiology.2016.6.811eng) (in Engl.).
20. Deniskova T.E., Sermyagin A.A., Bagirov V.A., Okhlopkov I.M., Gladyr E.A., Ivanov R.V., Brem G., Zinovieva N.A. *Genetika*, 2016, 52(1): 90–96 (doi: 10.7868/S0016675816010021) (in Russ.).
21. Li J., Butler J.M., Tan J., Lin H., Royer S., Ohler L., Shaler T.A., Hunter J.M., Pollart D.J., Monforte J.A., Becker C.H. Single nucleotide polymorphism determination using primer extension and time off mass spectrometry. *Electrophoresis*, 1999, 20: 1258–1265.
22. Crow J.F. Spontaneous mutation as a risk factor. *Exp. Clin. Immunogenet.*, 1995, 12: 121–128.
23. Li W.H., Ellsworth D.L., Krushkal J., Chang B.H., Hewett-Emmet D. Rates of nucleotide substitution in primates and rodents and the generation-time effect hypothesis. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 1996, 5: 182–187.
24. The Bovine HapMap Consortium Genome-Wide Survey of SNP Variation Uncovers the Genetic Structure of Cattle Breeds. *Science*, 2009, 324: 528–532.
25. NCBI Resource Coordinators. Database resources of the National Center for Biotechnology Information. *Nucleic Acids Research*, 2015, 43: 6–17 (doi: 10.1093/nar/gku1130).
26. Wade C.M., Giulotto E., Sigurdsson S., Zoli M., Gnerre S., Inslund F., Lear T.L., Adelson D.L., Bailey E., Bellone R.R., Blöcker H., Distl O., Edgar R.C., Garber M., Leeb T., Mauceli E. Genome sequence, comparative analysis, and population genetics of the domestic horse. *Science*, 2009, 326: 865–867 (doi: 10.1126/science.1178158).
27. Archibald A.L., Bolund L., Churcher C., Fredholm M., Groenen M.A., Harlizius B., Lee K.T., Milan D., Rogers J., Rothschild M.F., Uenishi H., Wang J., Schook L.B., Swine Genome Sequencing Consortium. Pig genome sequence — analysis and publication strategy. *BMC Genomics*, 2010, 11: 438–442 (doi: 10.1186/1471-2164-11-438).
28. Jiang Y., Xie M., Chen W., Talbot R., Maddox J.F., Thomas F., Chunhua W., Muzny D.M., Yuxiang L., Wenguang Z., Stanton J.-A., Brauning R., Barris W.C.,

- Hourlier T., Bronwen L. Aken B.L., Searle S.M.J., Adelson D.L., Bian C., Cam G.R., Chen Y., Cheng S., DeSilva U., Dixon K., Dong Y., Fan G., Franklin I.R., Fu S., Guan R., Highland M.A., Holder M.E., Huang G., Ingham A.B., Jhangiani S.N., Kalra D., Kovar C.L., Lee S.L., Liu W., Liu X., Lu C., Lv T., Mathew T., McWilliam S., Menzies M., Pan S., Robelin D., Servin B., Townley D., Wang W., Wei B., White S.N., Yang X., Ye C., Yue Y., Zeng P., Zhou Q., Hansen J.B., Kristensen K., Gibbs R.A., Flicek P., Warkup C.C., Jones H.E., Oddy V.H., Nicholas F.W., McEwan J.C., Kijas J., Wang J., Worley K.C., Archibald A.L., Cockett N., Xu X., Wang W., Dalrymple B.P. The sheep genome illuminates biology of the rumen and lipid metabolism. *Science*, 2014, 344: 1168-1173 (doi: 10.1126/science.1252806).
29. Hacia J.G., Collins F.S. Mutation analysis using oligonucleotide microarrays. *J. Med. Genet.*, 1999, 36: 730-736.
 30. Glazko V.I. *Farm animals*, 2012, 1: 24-29 (in Russ.).
 31. Seeb J.E., Carvalho G.R., Hauser L., Naish K., Roberts S., Seeb L.W. Single-nucleotide polymorphism (SNP) discovery and applications of SNP genotyping in nonmodel organisms. *Molecular Ecology Resources*, 2011, 11: 1-8 (doi: 10.1111/j.1755-0998.2010.02979.x).
 32. Pertoldi C., Wyjck J.M., Tokarska M., Kawałko A., Kristensen T.N., Loeschcke V., Gregersen V.R., Coltman D., Wilson G.A., Randi E., Henryon M., Bendixen C. Genome variability in European and American bison detected using BovineSNP50 BeadChip. *Conservation Genetics*, 2010, 11: 627-634.
 33. Miller J.M., Poissant J., Kijas J.W., Coltman D.W., International Sheep Genomics Consortium. A genome-wide set of SNPs detects population substructure and long range disequilibrium in wild sheep. *Molecular Ecology Resources*, 2011, 11(2): 314-322 (doi: 10.1111/j.1755-0998.2010.02918.x).
 34. Ogden R., Baird J., Senn H., McEwing R. The use of cross-species genome-wide arrays to discover SNP markers for conservation genetics: a case study from Arabian and scimitar-horned oryx. *Conservation Genetics Resources*, 2012, 4: 471-473.
 35. Haynes G.D., Latch E.K. Identification of novel single nucleotide polymorphisms (SNPs) in deer (*Odocoileus* spp.) using the BovineSNP50 BeadChip. *PLoS ONE*, 2012, 7: e36536 (doi: 10.1371/journal.pone.0036536).
 36. Deniskova T.E., Okhlopov I.M., Sermyagin A.A., Gladyr' E.A., Bagirov V.A., Sölkner I., Mamaev N.V., Brem G., Zinov'eva N.A. *Doklady Akademii nauk*, 2016, 469(5): 625-630 (in Russ.).
 37. Kasarda R., Moravčíková N., Židek R., Mészáros G., Kadlečík O., Trakovic-ká A., Pokorádi J. Investigation of the genetic distances of bovids and cervids using BovineSNP50k BeadChip. *Arch. Anim. Breed.*, 2015, 58: 57-63 (doi: 10.5194/aab-58-57-2015).
 38. Kharzinova V.R., Sermyagin A. A., Gladyr E.A., Okhlopov I. M., Brem G., Zinovieva N.A. A study of applicability of SNP chips developed for bovine and ovine species to whole-genome analysis of reindeer *Rangifer tarandus*. *Journal of Heredity*, 2015, 106(6): 758-761 (doi: 10.1093/jhered/esv081).
 39. Purcell S., Neale B., Todd-Brown K., Thomas L., Ferreira M.A.R., Bender D., Maller J., Sklar P., de Bakker P.I., Daly M.J., Sham P.C. PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *American Journal of Human Genetics*, 2007, 81: 559-575 (doi: 10.1086/519795).
 40. Fan J.B., Oliphant A., Shen R., Kermani B.G., Garcia F., Gunderson K.L., Hansen M., Steemers F., Butler S.L., Deloukas P., Galver L., Hunt S., McBride C., Bibikova M., Rubano T., Chen J., Wickham E., Doucet D., Chang W., Campbell D., Zhang B., Kruglyak S., Bentley D., Haas J., Rigault P., Zhou L., Stueland J., Chee M.S. Highly parallel SNP genotyping. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 2003, 68: 69-78.
 41. Hartl D.L., Clark A.G. *Principles of population genetics*. Sunderland, Massachusetts, 1997.
 42. Keenan K., McGinnity P., Cross T.F., Crozier W.W., Prodohl P.A. diveRsity: An R package for the estimation of population genetics parameters and their associated errors. *Methods in Ecology and Evolution*, 2013, 4: 782-788 (doi: 10.1111/2041-210X.12067).
 43. Weir B.S., Cockerham C.C. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 1984, 38: 1358-1370.
 44. Alexander D.H., Novembre J., Lange K. Fast model based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Res.*, 2009, 19: 1655-1664 (doi: 10.1101/gr.094052.109).
 45. Francis R.M. pophelper: An R package and web app to analyse and visualise population structure. *Molecular Ecology Resources*, 2016 (doi: 10.1111/1755-0998.12509).
 46. Tokarska M., Marshall T., Kowalczyk R., Wyjck J.M., Pertoldi C., Kristensen T.N., Loeschcke V., Gregersen V.R., Bendixen C. Effective ness of microsatellite and SNP markers for parentage and identity analysis in species with low genetic diversity: the case of European bison. *Journal of Heredity*, 2009, 103: 326-332 (doi: 10.1038/hdy.2009.73).
 47. Oleński K., Kamiński S., Tokarska M., Hering D.M. Subset of SNPs for parental identification in European bison Lowland-Białowieża line (*Bison bonasus bonasus*). *Conservation Genetics Resources*, 2017, First Online 13 May 2017: 1-6 (doi: 10.1007/s12686-017-0768-3).