

ЭВОЛЮЦИЯ МЕТОДОВ ОЦЕНКИ БИОРАЗНООБРАЗИЯ СЕВЕРНОГО ОЛЕНЯ (*Rangifer tarandus*)* (обзор)

В.Р. ХАРЗИНОВА, Т.Е. ДЕНИСКОВА, А.А. СЕРМЯГИН, А.В. ДОЦЕВ,
А.Д. СОЛОВЬЕВА, Н.А. ЗИНОВЬЕВА

Северный олень *Rangifer tarandus*, единственный вид рода *Rangifer*, — важнейшая составляющая продовольственной безопасности коренных народов Российского Севера и незаменимое звено экосистем Арктики (А. Савченко, 2014; В.Г. Логинов, 2014). В настоящее время из-за неблагоприятных природных и антропогенных факторов наблюдается резкое сокращение численности поголовья как домашних, так и диких северных оленей, что приводит к потере генетического разнообразия, необходимого для выживания в новых условиях обитания (Ю.А. Столповский, 2010). В связи с этим все более актуален мониторинг генетического разнообразия ресурсных пород и дикой формы северного оленя с помощью генетических маркеров. В настоящем обзоре обобщены результаты исследований генетического разнообразия северного оленя с использованием различных методов молекулярно-генетического анализа. Первые генетические исследования северного оленя начались в 1960-х годах с изучения полиморфизма сывороточного трансферрина (В. Gahne с соавт., 1961; М. Braend, 1964). Были открыты типы трансферрина, отличающиеся друг от друга положением полос и подвижностью при гель-электрофорезе (А.В. Soldal с соавт., 1979; К.Н. Roed, 1985; П.Н. Шубин с соавт., 1988). С развитием генетических технологий широкую популярность приобрели ДНК-маркеры (М. Çalişkan, 2012). Так называемые «анонимные» маркеры — сначала RAPD (random amplified polymorphic DNA) (В.В. Гончаров с соавт., 2009), позднее ISSR (inter simple sequence repeats) (Н.В. Кол с соавт., 2006; Т.М. Романенко с соавт., 2014; Г.Я. Брызгалов, 2016) — стали первыми ДНК-маркерами, используемыми для изучения биоразнообразия популяций северного оленя. С момента публикации полной нуклеотидной последовательности контрольного региона митохондриального генома у подвидов северного оленя Евразии и Северной Америки широкое распространение получил анализ полиморфизма митохондриальной ДНК (М.А. Cronin, 1992; Е. Randi с соавт., 2001; А.В. Давыдов с соавт., 2007; М.В. Холодова с соавт., 2009; А.Н. Королев с соавт., 2017). Метод стал высокоинформативным инструментом для выяснения филогении и происхождения пород и популяций вида по материнской линии (Ø. Flagstad с соавт., 2003; Н.А. Акопян с соавт., 2016). Микросателлиты нашли широкое применение в прикладных исследованиях генетики северного оленя (установление генетической структуры, характеристика аллелофонда, идентификация и дифференциация особей) (К.Н. Røed с соавт., 1998; В.І. Jepsen с соавт., 2002; R. Courtois с соавт., 2003; М.А. Cronin с соавт., 2003; К.А. Zittlau, 2004; P.D. McLoughlin с соавт., 2004; А.Д. McDevitt с соавт., 2009; А.И. Баранова с соавт., 2016). Для отечественных популяций северного оленя была разработана мультиплексная панель из 9 микросателлитов, которая успешно зарекомендовала себя в рутинном тестировании (В.Р. Харзинова с соавт., 2015), в том числе стало возможным выявление гибридов дикой и домашней форм (V.R. Kharzinova с соавт., 2016). Однако с развитием новых высокопроизводительных технологий и аналитического оборудования нового поколения (А. Vignal, 2002; Е.К. Хлесткина, 2013) на первый план в генетических исследованиях сельскохозяйственных животных выходят ДНК-чипы на основе генотипирования множественных SNP (single nucleotide polymorphism) (F.J. Steemers с соавт., 2007; S. Mastrangelo с соавт., 2014; Т.Е. Денискова с соавт., 2015; В. Slim с соавт., 2015; Н.А. Зиновьева с соавт., 2016; Т. Е. Денискова с соавт., 2016, R. Yonesaka с соавт. 2016). Несмотря на то, что собственный ДНК-чип для северного оленя отсутствует, применение чипа Bovine SNP50 BeadChip, разработанного для крупного рогатого скота, на сегодняшний день служит наиболее эффективным и высокоинформативным методом исследования генома этого вида (V.R. Kharzinova с соавт., 2015; V.R. Kharzinova с соавт., 2016; V.R. Kharzinova с соавт., 2017).

Ключевые слова: *Rangifer tarandus*, северный олень, генетическое разнообразие, генетический маркер, SNP, ДНК-чипы.

Устойчивость экосистем связана с сохранением, увеличением и использованием биоразнообразия. Сведения о генетической изменчивости и процессах, лежащих в основе происхождения и сохранения видов, играют ключевую роль в понимании структуры и динамики популяций (1). Поддержание в популяциях оптимальной степени генетической изменчивости

* Исследования выполнены при поддержке Российского научного фонда, проект № 16-16-10068.

и гетерозиготности необходимо для сохранения способности животных адаптироваться к условиям окружающей среды (изменениям климата, отрицательному действию вредных веществ). Высокое генетическое разнообразие обеспечивает эволюционную приспособленность животных (2-4). Степень генетической изменчивости между и внутри популяций коррелирует с их демографической историей, а также с факторами окружающей среды (5). Информация о генетической структуре популяций животных не только позволяет оценить важность элементарных факторов эволюции (отбор, мутация, миграция, генетический дрейф) в стрессовых условиях, но также важна для восстановления и рационально использования вида (6). Исходя из изложенного, актуальна разработка методов и подходов, дающих наиболее объективное представление о генетическом разнообразии видов и пород. Особое значение это приобретает в связи с наблюдаемым в последние 100 лет снижением численности диких и сельскохозяйственных видов животных (7). Согласно второму докладу «Состояние мировых генетических ресурсов животных для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства» (Food and Agriculture Organization, FAO), около 17 %, или 1458, пород сельскохозяйственных животных в мире находятся на грани исчезновения, в то время как статус риска многих других (58 %) неизвестен из-за отсутствия данных о размере и структуре популяций (8).

Сокращение численности коснулось всех видов, в том числе северного оленя (*Rangifer tarandus*), играющего ключевую роль в жизни народов Крайнего Севера. Олени не только представляют собой приоритетное звено арктических сообществ, но и служат важнейшей составляющей продовольственной безопасности населения северных территорий Сибири (9). Для народов Севера оленеводство служит основой образа жизни, это непрерывный процесс с периодической сменой используемых пастбищ. Домашняя популяция северного оленя (4 породы) обеспечивает коренное население пищей и необходимыми материалами для жилищ и одежды (10). Значительной угрозе подвергаются дикие формы северного оленя, поскольку экологические изменения среды обитания (таяние ледников в связи с потеплением климата) и охота приводят к дестабилизации численности популяций. Сокращение численности означает уменьшение биологического разнообразия, что может привести к утрате уникальных и ценных культур малочисленных народностей и обернуться этнической катастрофой (11, 12). Среди объектов сельскохозяйственного назначения северный олень — один из наименее генетически изученных видов.

В настоящем обзоре обобщены результаты исследований генетического разнообразия северного оленя *R. tarandus* Linnaeus, 1758 — единственного вида рода *Rangifer* Smith H., 1827 и представителя подсемейства *Odocoileinae*, полученные с использованием различных методов. Впервые описаны исследования северного оленя с применением ДНК-микроматриц на основе платформы BeadArray, которые посредством генотипирования множественных SNP-маркеров позволяют оценивать биоразнообразие этого уникального немодельного представителя фауны северных регионов России на уровне полного генома, а не отдельных генов.

Первым методом, используемым для характеристики биоразнообразия и генетических различий внутри и между популяциями северного оленя, стал гель-электрофорез, а первым маркером служил сывороточный белок трансферрин (Tf), полиморфизм которого был выявлен еще в 1959 году (13). Различные типы Tf отличались друг от друга положением полос в геле вследствие различной электрофоретической подвижности. Локус Tf оставался наиболее часто используемым белковым маркером для оценки

биоразнообразия северного оленя в период, предшествующий открытию полиморфизма ДНК (14-17). В 1961 году сообщалось о выявлении у северных оленей 6 разных типов Tf, в одном из которых было детектировано 3 аллеля (14). В 1964 году в трех домашних, одной полуодомашненной и одной дикой популяциях северного оленя в Норвегии детектировали 8 аллелей Tf (13). В последующем число аллелей Tf, идентифицированных в норвежской популяции, увеличилось до 12 (17). Из 9 белков, исследованных у северных оленей острова Шпицберген, только трансферрин оказался полиморфным и, следовательно, пригодным для оценки биоразнообразия (15). В популяции оленей Шпицбергена было найдено 2 аллеля, отсутствующие у животных в Норвегии, на основании чего они были выделены в отдельную филогенетическую группу — *R. tarandus plutyrhynchus* (15, 16).

Значительное внимание уделялось изучению локуса Tf в российской популяции северного оленя. П.Н. Шубин (18) описал 5 аллелей локуса Tf, число которых в дальнейших исследованиях увеличилось до 13 (19). При сравнительном изучении дикой и домашней популяций на Таймыре большее число аллелей Tf обнаружили у диких оленей, на основании чего был сделан вывод о низкой идентичности двух популяций (20). В ненецкой породе идентифицировали 10 генетических вариантов Tf (21). Высокий полиморфизм локуса Tf обусловил широкое использование метода его электрофоретического скрининга для обнаружения предшествующих событий в эволюции популяций северного оленя, включая оценку их происхождения через «бутылочное горлышко» (22).

Открытие структуры ДНК и развитие методов определения ее вариабельности привело к постепенной замене изучения белкового полиморфизма анализом последовательности ДНК. ДНК-маркеры относительно просты для обнаружения, расположены по всему геному, полностью независимы от условий окружающей среды и могут быть детектированы практически на любом этапе развития (1).

Существует огромное количество генетических локусов, полиморфизм которых может использоваться при молекулярном маркировании. Наиболее консервативные из них можно применять для глобальных классификаций (23), наиболее изменчивые — для оценки разнообразия внутри популяции (24). В основу открытия различных типов полиморфизма легли модификации метода полимеразной цепной реакции (ПЦР), благодаря которым стало возможным использовать разные типы ДНК-маркеров во многих областях науки и отраслях сельского хозяйства (25). Эволюция молекулярных маркеров привела к появлению новых знаний о биоразнообразии популяций северного оленя, включая оценку генетического разнообразия, получение данных о генетической структуре, степени дифференциации и филогенетических отношений пород и популяций этого вида.

Так, с помощью одного из самых ранних методов маркирования — RAPD (random amplified polymorphic DNA) было выявлено, что олени ненецкой породы характеризуются более высокой долей полиморфных локусов и гетерозиготностью, чем эвенкийской (26). С использованием анализа последовательностей межмикросателлитной ДНК (inter simple sequence repeats, ISSR) установлена генетическая структура популяции северных оленей на острове Колгуев и изучено генетическое разнообразие искусственно созданной и поддерживаемой популяции домашнего северного оленя в природно-территориальных комплексах Канинско-Тиманской тундры Ненецкого автономного округа (27, 28). При исследовании ISSR-полиморфизма в тувинской популяции северного оленя были рассчитаны индексы среднего попарного сходства и значения средней гетерозиготности

сти в исследуемой популяции (29). Метод ISSR лег в основу описания генетической структуры чукотской породы (30). Степень гетерозиготности межмикросателлитной ДНК составляла 0,851-0,876, что свидетельствует о генетическом разнообразии соответствующих локусов.

Для оценки степени генетического разнообразия, филогенетических отношений внутри и между популяциями северного оленя широко используют анализ последовательности митохондриальной ДНК (мтДНК). Высокий полиморфизм, наследование по материнской линии и отсутствие рекомбинации мтДНК позволяют эффективно применять этот подход и для определения исторического происхождения пород и популяций (31). Наибольшее распространение получило использование контрольного региона (CR) мтДНК и его гипервариабельной части — D-петли. Полная нуклеотидная последовательность CR у подвидов северного оленя Евразии и Северной Америки была опубликована в 2003 году (32).

Анализ полиморфизма фрагмента D-петли мтДНК позволил охарактеризовать разнообразие популяции северного оленя, обитающего в Тоджинском районе Республики Тыва (33). Несмотря на достаточно высокую степень генетического разнообразия, было установлено преобладание одного гаплотипа. Предполагается, что особи, у которых обнаруживается этот вариант мтДНК, происходят от одной самки. На основе анализа гаплотипов мтДНК (гипервариабельный участок, левый домен контрольного региона D-петли) были выявлены существенные отличия чукотских оленей от сибирских тундровых и североамериканских карibu (34). Авторы объясняют это различия во времени происхождения форм и неодинаковой интенсивностью генетических обменов между популяциями. Анализ мтДНК у животных с архипелага Новая Земля, острова Колгуев и из других мест выявил повышенное гаплотипическое разнообразие по сравнению с другими островными формами. У новоземельских животных было детектировано наличие двух гаплотипов с острова Колгуев. На сегодняшний день в этой популяции 7 гаплотипов — примерно столько же, сколько характерно для других групп, занимающих значительно более обширные территории на материке. Для островных же форм обычно наличие 1-3 гаплотипов (35).

Исследование контрольного региона мтДНК у дикого северного оленя, населяющего европейскую часть России, выявило достаточно высокую степень гаплоидного разнообразия этой популяции (0,914). Филогенетический анализ показал близкое родство европейских северных оленей с дикими северными оленями Сибири. У оленей из Мурманской области был описан общий гаплотип с дикими северными оленями, населяющими Юго-Западную Норвегию. В исследованной выборке не нашли ни одного гаплотипа, описанного ранее для северных оленей из Центральной Норвегии. Было сделано предположение, что дикие северные олени европейского Севера России в недавнем прошлом составляли единую популяцию с оленями, населявшими север азиатской части Евразии (36). Изучение D-петли мтДНК у северных оленей в материковой части европейского Северо-Востока России (восточные районы Архангельской области, Республика Коми, Ненецкий автономный округ) выявило сравнительно высокие значения показателей генетического разнообразия. Посредством филогенетического анализа обнаружено близкое родство этих оленей с животными из тундровой зоны Сибири. Влияние домашних оленей на формирование генетического разнообразия диких в целом было признано незначительным. Среди рецентных группировок оленей европейского Северо-Востока России обнаружены генетические линии вымершей группировки лесного северного оленя Нижегородской области (37). При изучении по-

лиморфизма митохондриальной ДНК семейства *Cervidae*, включая 51 популяцию оленей, обитающих в Европе и Азии, было выявлено, что благородный олень произошел на территории между Кыргызстаном и Северной Индией (38). P. Gravlund с соавт. (39) показали полифилетическое происхождение трех высокоарктических подвидов: *R. t. pearyi* (Канадский архипелаг) и *R. t. eogroenlandicus* (Восточная Гренландия, вымерший с 1900 года н.э.) тесно связаны между собой и, вероятно, произошли на территории Северной Арктики; *R. t. platyrhynchus* (Шпицберген) произошел от лесных оленей Евразии. Результаты изучения изменчивости мтДНК у оленей семейства *Cervidae* представлены в ряде работ (40-42).

Проведенные исследования свидетельствуют о том, что анализ полиморфизма мтДНК северного оленя служит высокоинформативным инструментом для характеристики генетического разнообразия, выяснения филогении и дифференциации пород и популяций внутри вида.

Для молекулярно-генетического анализа разнообразия пород и популяций животных также широко применяются микросателлиты. Это класс простых tandemно повторяющихся последовательностей ДНК (short tandem repeats, STR) (43-45), присутствующих как в некодирующих, так и в кодирующих областях генома, а также в хлоропластном (46) и митохондриальном геномах (47). Они нашли широкое применение в оценке генетической структуры пород и популяций северного оленя. Прикладная значимость STR показана в работах ученых из Америки (48-50), Норвегии (51, 52), Канады (53-55), Великобритании (56), Дании (57), Ирландии (58) и России (59-61). С помощью 13 STR было описано генетическое разнообразие различных подвидов северного оленя, обитающих в Норвегии, Канаде, Западной Гренландии, на Шпицбергене, Аляске и в Финляндии (62). Популяция оленей Шпицбергена по причине изолированного географического обитания характеризовалась наименьшими значениями по среднему числу аллелей на locus и степени гетерозиготности, а также уступала остальным популяциям по числу полиморфных STR (5 из 13). A. Mcdevitt с соавт. (58) на основе анализа 11 микросателлитов изучили генетическую структуру двух популяций северного оленя Северной Америки. С использованием 14 STR была выявлена генетическая дифференциация между двумя материковыми популяциями оленей Шпицбергена, обитающими примерно в 45 км друг от друга (56). M. Ball с соавт. (63) проанализировали полиморфизм 11 микросателлитных локусов у лесной популяции северного оленя (*R. t. caribou*) в центральной части Канады. J. Kushny и J. Coffin (64) изучали генетическое разнообразие трех популяций северного оленя в Канаде (*R. t. groenlandicus*, *R. t. pearyi*, *R. t. caribou*) с использованием 4 микросателлитных локусов. А.И. Баранова с соавт. (65) с помощью 16 микросателлитных локусов показали четкое разделение северных оленей материковой части евразийского ареала и арктических островов. Северные олени азиатской и европейской части России были генетически более близки друг к другу, чем к оленям Камчатки. Также было выявлено достаточно слабое разделение северных оленей из восточной части Евразии по отдельным районам обитания (Томская область, Ханты-Мансийский автономный округ, Таймыр, Якутия и Чукотка), что свидетельствует об их тесном генетическом родстве.

С целью повышения производительности и информативности STR-анализа для контроля достоверности происхождения и оценки биоразнообразия российских популяций северного оленя (эвенской, эвенкийской, ненецкой пород и тувинской популяции) нами разработана мультилокусная панель, включающая 9 STR (59). С ее использованием был изучен ал-

лелофонд выборки двух самых многочисленных популяций северного оленя — домашних оленей ненецкой породы и таймырской популяции дикого северного оленя, а также определена степень генетической интрогрессии между ними. Несмотря на то, что кластерный анализ показал высокую генетическую обособленность обеих форм, были обнаружены несколько особей, имеющих смешанное генетическое происхождение (66). По мнению С.А. Котовой с соавт. (67), STR-маркеры остаются бесценным генетическим инструментом для изучения популяционной вариативности; выявления возможной субструктурированности популяций животных, населяющих как одну и ту же территорию, так и географически изолированные или удаленные территории; выявления популяционной структуры диких и домашних животных одного и того же вида; картирования генов и оценки потоков генов между группами животных, а также для установления родства и идентификации особей.

Вместе с тем получение новых сведений о геноме животных, совершенствование методических подходов, развитие высокопроизводительных технологий геномного анализа и создание современного аналитического оборудования сделали возможным использование различных генетических маркеров для изучения аллелофондов (68). На сегодняшний день наиболее востребован для этих целей анализ однонуклеотидных полиморфизмов (single nucleotide polymorphism, SNP). Существует множество способов детектирования SNP: от анализа полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (restriction fragment length polymorphism, RFLP, ПДФ-анализ) до пиросеквенирования (69). Однако реализация проектов по определению полных нуклеотидных последовательностей геномов у большинства видов сельскохозяйственных животных привела к созданию ДНК-микроматриц (ДНК-чипов), которые позволили SNP-маркерам занять лидирующее место в вопросах исследования геномов животных. ДНК-чипы — это наборы из большого числа олигонуклеотидов на миниатюрных твердых подложках, предназначенные для анализа последовательностей ДНК (70). Наибольшую популярность приобрела технология полногеномного параллельного генотипирования множественных SNP (до несколько сотен тысяч) на платформе BeadArray (71). На основе полногеномного скрининга SNP с использованием ДНК-чипов разной плотности получена информация о биоразнообразии (72-74), эволюционных взаимоотношениях, степени интрогрессии и изменчивости пород и популяций животных (75, 76).

В настоящее время ДНК-чипы для наиболее популярных видов сельскохозяйственных животных (крупный рогатый скот, овцы, козы, свиньи, лошади) и кур выпускают фирмы «Illumina Inc.» (США) (<http://www.illumina.com>) и «Affymetrix Inc.» (США) (<http://www.affymetrix.com>). Тем не менее, изучение биоразнообразия у представителей семейства *Cervidae* с использованием нативного ДНК-чипа представляет невыполнимую задачу из-за отсутствия информации о полном геноме. Однако ряд авторов продемонстрировали возможность применения коммерческих ДНК-чипов, разработанных для родственных домашних животных, при характеристике биоразнообразия и структуры популяции подвидов (82-85), а также для дифференциации семейств полорогих (*Bovidae*) и оленьих (*Cervidae*) (80). Для вида *R. tarandus* полногеномные исследования начались с тестирования двух коммерческих чипов средней плотности Bovine и OvineSNP50 BeadChip (81). Было установлено, что Bovine SNP50 BeadChip, разработанный для крупного рогатого скота, более эффективен для геномного сканирования северного оленя, поскольку с его помощью удалось детектировать большее количество полиморфных SNP по сравнению с чипом, со-

зданным для домашних овец. В одной из последних работ по изучению генетики северного оленя с помощью множественных SNP-маркеров дана популяционно-генетическая характеристика трех пород, разводимых на территории Республики Саха—Якутия (эвенская, эвенкийская, чукотская или харгин) (82). Было показано, что особи чукотской породы превосходят своих сородичей из двух других пород по степени генетического разнообразия, однако характеризуются меньшим количеством уникальных полиморфизмов. Кроме того, несмотря на выявленную четкую степень обособленности каждой породы, олени эвенской и эвенкийской пород более близки генетически.

Таким образом, нами представлено детальное описание изменения подходов к изучению генетического разнообразия северного оленя: от наиболее простых (трансферрины) до современных высокопроизводительных (ДНК-чипы). Несмотря на успех применения последних, широкое внедрение новых (next generation sequencing, NGS) и удешевление существующих (метод Сэнгера) технологий секвенирования позволит узнать полную нуклеотидную последовательность генома уникального вида — *Rangifer tarandus*, что откроет новые перспективы в его исследовании.

ЛИТЕРАТУРА

1. Çalişkan M. Analysis of genetic variation in animals. Rijeka, Croatia, 2012. ISBN: 978-953-51-0093-5.
2. Дубинин Н.П., Машуров А.М. Аллельные маркёры при наследовании отдельных участков и целых хромосом у сельскохозяйственных животных. Сельскохозяйственная биология, 1986, 2: 76-79.
3. Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях. М., 1989.
4. Кузнецова И.В. Мониторинг генетической структуры популяции крупного рогатого скота черно-пестрой породы. Автореф. канд. дис. Рязань, 2010.
5. Hamrick J.L., Godt M.J.W. Allozyme diversity in plant species. In: Plant population genetics, breeding, and genetic resources /A.H. Brown, M.T. Clegg, A.L. Kahler, B.S. Weir (eds.) Sunderland, 1989.
6. Sheng Y., Zheng W., Pei K., Ma K. Genetic variation within and among populations of a dominant desert tree *Haloxylon ammodendron* (Amaranthaceae) in China. Ann. Bot., 2005, 96(2): 245-252 (doi: 10.1093/aob/mci171).
7. Столповский Ю.А. Популяционно-генетические основы сохранения ресурсов генофондов domestизированных видов животных. Автореф. докт. дис. М., 2010.
8. Второй доклад о состоянии мировых генетических ресурсов животных для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства. 2015. Режим доступа: <http://www.fao.org/3/a-i5086g.pdf>. Дата обращения: 18.09.2017.
9. Савченко А. На север — за оленями. В Эвенкийском районе Красноярского края стартовала экологическая программа по «переписи» дикого северного оленя. 2014. Информационный портал Известия. <https://iz.ru/news/569479>. Дата обращения: 18.09.2017.
10. Логинов В.Г. Оленеводство как базовая отрасль традиционного сектора АПК Севера. Аграрный вестник Урала, 2014, 11(129): 74-77.
11. Donahoe B. The troubled taiga: survival on the move for the last nomadic reindeer herders of south Siberia, Mongolia, and China. In: Cultural survival quarterly. Cambridge (Spring), 2003: 12-18.
12. Кол Н.В. Генетический полиморфизм в популяции северного оленя (*Rangifer tarandus*) Республики Тыва (Тоджинского района). Автореф. канд. дис. М., 2006.
13. Braend M. Polymorphism in the serum proteins of the reindeer. Nature, 1964, 203: 674 (doi: 10.1038/203674a0).
14. Gahne B., Rendel J. Blood and serum groups in reindeer compared with those in cattle. Nature, 1961, 192: 529-530 (doi: 10.1038/192529a0).
15. Storset A., Osaisen B., Wika M. Bjarghov R. Genetic markers in the Spitsbergen reindeer. Hereditas, 1978, 88: 113-115 (doi: 10.1111/j.1601-5223.1978.tb01610.x).
16. Soldal A.V., Staaand. H. Genetic variation in Norwegian reindeer. Proc. 2nd. Int. Reindeer/Caribou Symp. Roros, Norway, 1979: 396-402.
17. Roed K.H. Genetic differences at the transferrin locus in Norwegian semidomestic and wild reindeer (*Rangifer tarandus* L.). Hereditas, 1985, 102: 199-206 (doi: 10.1111/j.1601-5223.1985.tb00616.x).

18. Шубин П.Н. Генетика трансферринов северного оленя и европейского лося. Генетика, 1969, 5(1): 37-41.
19. Шубин П.Н., Ефимцева Э.А. Биохимическая и популяционная генетика северного оленя. Ленинград, 1988.
20. Шубин П.Н., Ионов Т.А. Идентификация 13 аллелей *Tf*-локуса у северного оленя (*Rangifer tarandus* L.). Цитология и генетика, 1983, 25(3): 60-62.
21. Южаков А.А. Ненецкая аборигенная порода северных оленей. Автореф. докт. дис. Новосибирск, 2004.
22. Røed K.H. Genetic variability in Norwegian semi-domestic reindeer (*Rangifer tarandus* L.). Hereditas, 1985, 102: 177-184 (10.1111/j.1601-5223.1985.tb00612.x).
23. Woese C., Kandler O., Wheelis M. Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. PNAS USA, 1990, 87: 4576-4579.
24. Абрамсон Н.И. Молекулярные маркеры, филогеография и поиск критерия разграничения видов. Труды Зоологического института РАН, 2009, приложение № 1: 185-198.
25. Додохов В.В. Оценка биоразнообразия лошадей якутской породы с использованием ДНК маркеров. Автореф. канд. дис. Якутск, 2017.
26. Гончаров В.В., Митрофанова О.В., Дементьева Н.В., Тыщенко В.И., Сергеева О.К., Батырев О.М. Оценка генетического разнообразия домашнего северного оленя в Красноярском крае с использованием RAPD-анализа. Достижения науки и техники АПК, 2009: 43-45.
27. Романенко Т.М., Калашникова Л.А., Филиппова Г.И., Лайшев К.А. Генетическая структура популяции северных оленей о. Колгуев ненецкого автономного округа. Достижения науки и техники АПК, 2014, 4: 68-71.
28. Романенко Т.М., Филиппова Г.И. Генетический полиморфизм в популяции домашнего северного оленя Канинско-Тиманской тундры Ненецкого АО. Символ науки, 2015, 11: 44-52.
29. Кол Н.В., Лазебный О.Е. Полиморфизм ISSR-PCR маркеров в тувинской популяции северного оленя (*Rangifer tarandus* L.). Генетика, 2006, 42(12): 1731-1734.
30. Брызгалов Г.Я. Оценка генетической структуры чукотской породы северных оленей. Вестник ДВО РАН, 2016, 2: 108-112.
31. Акопян Н.А., Костюнина О.В., Зиновьева Н.А. Исследование последовательности D-петли митохондриальной ДНК у свиней пород крупная белая и ландрас, разводимых в России. Достижения науки и техники АПК, 2016, 7: 93-95.
32. Flagstad Ø., Røed K.H. Refugial origins of reindeer (*Rangifer tarandus* L.) inferred from mitochondrial DNA sequences. Evolution, 2003, 57(3): 658-670.
33. Кол Н.В. Генетический полиморфизм в популяции северного оленя (*Rangifer tarandus*) Республики Тыва (Тоджинского района). Автореф. канд. дис. М., 2006.
34. Давыдов А.В., Холодова М.В., Мешерский И.Г., Груздев А.Р., Сипко Т.П., Кол Н.В., Царев С.А., Железнов-Чукотский Н.К., Мирутенок В.С., Губарь Ю.П., Линьков А.Б., Рожков Ю.И. Дифференциация диких и домашних форм северного оленя (*Rangifer tarandus* L.) по результатам анализа мтДНК. Сельскохозяйственная биология, 2007, 6: 48-53.
35. Холодова М.В., Звычайная Е.Ю., Рожнов В.В., Хахин Г.В., Давыдов А.В., Рожков Ю.И. Северный олень Новой Земли. Результаты анализа мтДНК. Вестник охотоведения, 2009, 6(2): 151-154.
36. Баранова А.И., Холодова М.В., Давыдов А.В., Рожков Ю.И. Полиморфизм контрольного региона мтДНК диких северных оленей европейской части России *Rangifer tarandus* (Mammalia: Artiodactyla). Генетика, 2012, 48(9): 1-7.
37. Королев А.Н., Мамонтов В.Н., Холодова М.В., Баранова А.И., Шадрин Д.М., Порошин Е.А., Ефимов В.А., Кочанов С.К. Полиморфизм контрольного региона мтДНК северных оленей (*Rangifer tarandus*) материковой части европейского Северо-Востока России. Зоологический журнал, 2017, 96(1): 106-118 (doi: 10.7868/S0044513417010147).
38. Cronin M.A. Intraspecific variation in mitochondrial DNA of North American cervids. J. Mamm., 1992, 73(1): 70-82.
39. Gravlund P., Meldgaard M., Raabø S., Arctander P. Polyphyletic origin of the small-bodied, high-altitude subspecies of tundra reindeer (*Rangifer tarandus*). Mol. Phylogenet. Evol., 1998, 10(2): 151-159 (doi: 10.1006/mpev.1998.0525).
40. Douzery E., Randi E. The mitochondrial control region of *Cervidae*: Evolutionary patterns and phylogenetic content. Mol. Biol. Evol., 1997, 14(11): 1154-1166.
41. Polziehn R.O., Strobeck C. Phylogeny of wapiti, red deer, sika deer, and other North American cervids as determined from mitochondrial DNA. Mol. Phylogenet. Evol., 1998, 10(2): 249-258.
42. Randi E., Pierpaoli M., Danilkin A. Mitochondrial DNA polymorphism in populations of Siberian and European roe deer (*Capreolus pygargus* and *C. capreolus*). Heredity, 1998, 80: 429-437.

43. Litt M., Luty J.A. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am. J. Hum. Genet.*, 1989, 44: 397-401.
44. Tautz D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nuc. Acids Res.*, 1989, 17: 6463-6471.
45. Weber J.L., May P.E. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am. J. Hum. Genet.*, 1989, 44(3): 388-396.
46. Chung A.M., Staub J.E., Chen J.F. Molecular phylogeny of *Cucumis* species as revealed by consensus chloroplast SSR marker length and sequence variation. *Genome*, 2006, 49: 219-229 (doi: 10.1139/g05-101).
47. Rajendrakumar P., Biswal A.K., Balachandran S.M., Srinivasarao K., Sundaram R.M. Simple sequence repeats in organellar genomes of rice: frequency and distribution in genic and intergenic regions. *Bioinformatics*, 2007, 23: 1-4 (doi: 10.1093/bioinformatics/btl1547).
48. Engel S.R., Linn R.A., Taylor J.F., Davis S.K. Conservation of microsatellite loci across species of artiodactyls: implications for population studies. *J. Mammal.*, 1996, 77: 504-518 (doi: 10.2307/1382825).
49. 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).
50. Cronin M.A., Patton J.C., Balmysheva N., MacNeil M.D. Genetic variation in caribou and reindeer (*Rangifer tarandus*). *Anim. Genet.*, 2003, 34: 33-41 (doi: 10.1046/j.1365-2052.2003.00927.x).
51. Røed K.H., Midthjell L. Microsatellites in reindeer, *Rangifer tarandus*, and their use in other cervids. *Mol. Ecol.*, 1998, 7: 1773-1776 (doi: 10.1046/j.1365-294x.1998.00514.x).
52. Røed K., Flagstad Ø, Nieminen M., Holand Ø., Dwyer M.J., Carles Vila N.R. Genetic analyses reveal independent domestication origins of Eurasian reindeer. *Proceedings of the Royal Society B*, 2008, 275: 1849-1855 (doi:10.1098/rspb.2008.0332).
53. Zittlau K.A. Population genetic analyses of North American caribou (*Rangifer tarandus*). PhD Thesis. Canada, University of Alberta, 2004.
54. Courtois R., Bernatche L., Ouellet J.P., Breton L. Significance of caribou (*Rangifer tarandus*) ecotypes from a molecular genetics viewpoint. *Conserv. Genet.*, 2003, 4: 393-404 (doi: 10.1023/A:1024033500799).
55. McLoughlin P.D., Paetkau D., Duda M., Boutin S. Genetic diversity and relatedness of boreal caribou populations in western Canada. *Biol. Conserv.*, 2004, 118: 593-598 (doi: 10.1016/j.biocon.2003.10.008).
56. Côté 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 (doi: 10.1046/j.1365-294X.2002.01582.x).
57. Jepsen B.I., Siegismund H.R., Fredholm M. Population genetics of the native caribou (*Rangifer tarandus groenlandicus*) and the semi-domestic reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) in Southwestern Greenland: evidence of introgression. *Conserv. Genet.*, 2002, 3: 401-409 (doi: 10.1023/A:1020523303815).
58. McDevitt A.D., Mariani S., Hebblewhite M., DeCesare 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).
59. Харзинова В.Р., Гладырь Е.А., Федоров В.И., Романенко Т.М., Шимит Л.Д., Лайшев К.А., Калашникова Л.А., Зиновьева Н.А. Разработка мультиплексной панели микросателлитов для оценки достоверности происхождения и степени дифференциации популяций северного оленя (*Rangifer tarandus*). *Сельскохозяйственная биология*, 2015, 50(6): 756-765 (doi: 10.15389/agrobiology.2015.6.756rus).
60. Kharzinova V.R., Dotsev A.V., Solovieva A.D., Fedorov V.I., Brem G., Zinovieva N.A. Estimation of biodiversity and population structure of Russian reindeer (*Rangifer tarandus*) breeds inhabiting Northeastern Siberia (Republic of Sakha—Yakutia) using microsatellite markers. *Journal of Acta Fytotechnica et Zootechnica*, 2016, 19: 87-92 (doi: 10.15414/afz.2016.19.03.87-92).
61. Холодова М.В., Баранова А.И., Мизин И.А., Рожнов В.В., Сипко Т.П., Давыдов А.В., Рожков Ю.И. Своеобразие генетической структуры новоземельского северного оленя (*Rangifer tarandus pearsoni*): анализ полиморфизма маркеров ядерной и митохондриальной ДНК. *Мат. Межд. совещания «Териофауна России и сопредельных территорий»*. X Съезд Териологического общества при РАН. М., 2016: 445.
62. Røed K.H. Refugial origin and postglacial colonization of Holarctic reindeer and caribou. *Rangifer*, 2003, 25: 19-30.
63. 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).
64. Kushny J., Coffin J., Strobeck C. Genetic survey of caribou populations using mi-

- cro satellite DNA. *Rangifer*, 1994, Special Issue No. 9: 351-354 (doi: 10.7557/2.16.4.1277).
65. Баранова А.И., Холодова М.В., Сипко Т.П. Генетическая структура дикого северного оленя (*Rangifer tarandus*) России на основании полиморфизма микросателлитных локусов. Мат. Всерос. науч. конф., посвященной 70-летию кафедры «Зоология и экология» Пензенского государственного университета и памяти профессора В.П. Денисова (1932-1997) «Актуальные вопросы современной зоологии и экологии животных». Пенза, 2016: 21.
 66. Kharzinova 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 semi-domesticated and wild populations of reindeer (*Rangifer tarandus* L., 1758) using microsatellites. *Agricultural Biology*, 2016, 51(6): 811-823 (doi: 10.15389/agrobiol.2016.6.811eng).
 67. Котова С.А., Шило Е.А., Заблоцкая Е.А., Недзвецкая Д.Э., Цыбовский И.С. Феномен перекрестной амплификации микросателлитных ДНК-маркеров в исследовании видов отряда *Artiodactyla* (парнокопытные). Труды Белорусского государственного университета, 2016, 11(2): 56-69.
 68. Зиновьева Н.А., Доцев А.В., Сермягин А.А., Виммерс К., Рейер Х., Солкнер Й., Денискова Т.Е., Брем Г. Изучение генетического разнообразия и популяционной структуры российских пород крупного рогатого скота с использованием полногеномного анализа SNP. *Сельскохозяйственная биология*, 2016, 51(6): 788-800 (doi: 10.15389/agrobiol.2016.6.788rus).
 69. Vignal A., Milan D., SanCristobal M., Eggen A. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genet. Sel. Evol.*, 2002, 34: 275-305 (doi: 10.1051/gse:2002009).
 70. Хлесткина Е.К. Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и в селекции. *Вавиловский журнал генетики и селекции*, 2013, 17(4/2): 1044-1054.
 71. Steemers F.J., Gunderson K.L. Whole genome genotyping technologies on the BeadArray™ platform. *Biotechnol. J.*, 2007, 2: 41-49 (doi: 10.1002/biot.200600213).
 72. Slim B.J., Mekki B., Mehdi M.B., Lee J.H., Lee S.H. Genome-wide insights into population structure and genetic history of tunisian local cattle using the illumina bovinesnp50 beadchip. *BMC Genomics*, 2015, 16(1): 677 (doi: 10.1186/s12864-015-1638-6).
 73. Yonesaka R, Sasazaki S., Yasue H., Niwata S., Inayoshi Y., Mukai F., Mannen H. Genetic structure and relationships of 16 Asian and European cattle populations using DigiTag2 assay. *Anim. Sci. J.*, 2016, 87: 190-196 (doi: 10.1111/asj.12416).
 74. Денискова Т.Е., Охлопков И.М., Сермягин А.А., Гладырь Е.А., Багиров В.А., Сёлкнер И., Мамаев Н.В., Брем Г., Зиновьева Н.А. Полногеномное SNP-сканирование снежного барана *Ovis nivicola*. Доклады Академии наук, 2016, 469(5): 625-630.
 75. Mastrangelo S., Gerlando R.D., Tolone M., Tortorici L., Sardina M.T., Portolano B. and International Sheep Genomics Consortium. Genome wide linkage disequilibrium and genetic structure in Sicilian dairy sheep breeds. *BMC Genet.*, 2014, 15: 108 (doi: 10.1186/s12863-014-0108-5).
 76. Денискова Т.Е., Сермягин А.А., Багиров В.А., Охлопков И.М., Гладырь Е.А., Иванов Р.В., Брем Г., Зиновьева Н.А. Сравнительное исследование информативности STR и SNP маркеров для внутривидовой и межвидовой дифференциации рода *Ovis*. *Генетика*, 2016, 52(1): 90-96 (doi: 10.7868/S0016675816010021).
 77. 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).
 78. Kasarda R., Moravčiková N., Trakovická A. Advances in genomic sequencing using Bovine SNP BeadChip in deer. *Acta Fytotechnica et Zootechnica*, 2014, 17(2): 65-71 (doi: 10.15414/afz.2014.17.02.65-71).
 79. Kharzinova V.R., Dotsev A.V., Okhlopkov I.M., Layshev K.A., Fedorov V.I., Shimit L.D., Brem G., Wimmers K., Reyer H., Zinovieva N.A. Genetic characteristics of semi-domesticated reindeer populations from different regions of Russia based on SNP analysis. *J. Anim. Sci.*, 2016, 94(Suppl. 5.): 166 (doi: 10.2527/jam2016-0346).
 80. Kasarda R., Moravčiková N., Židek R., Mészáros G., Kadlečík O., Trakovická 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).
 81. Kharzinova V.R., Sermyagin A.A., Gladyshev E.A., Okhlopkov 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*. *J. Heredity*, 2015, 106(6): 758-761. (doi: 10.1093/jhered/esh081).
 82. Kharzinova V.R., Dotsev A.V., Solovieva A.D., Fedorov V.I., Okhlopkov I.M., Wimmers K., Reyer H., Brem G., Zinovieva N.A. Population-genetic characteristics of domestic reindeer of Yakutia based on whole-genome SNP analysis. *Agricultural Biology*, 2017, 52(4): 669-678 (doi: 10.15389/agrobiol.2017.4.669eng).

EVOLUTION OF THE METHODS FOR ESTIMATION BIODIVERSITY IN REINDEER (*Rangifer tarandus*) (review)

V.R. Kharzinova, T.E. Deniskova, A.A. Sermyagin, A.V. Dotsev, A.D. Solovieva,
N.A. Zinovieva

L.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), horarka@yandex.ru, alex_sermyagin85@mail.ru, asnd@mail.ru, anastasiya93@mail.ru, n_zinovieva@mail.ru
ORCID:

Kharzinova V.R. orcid.org/0000-0002-8067-0404

Deniskova T.E. orcid.org/0000-0002-5809-1262

Sermyagin A.A. orcid.org/0000-0002-1799-6014

Dotsev A.V. orcid.org/0000-0003-3418-2511

Solovieva A.D. orcid.org/0000-0003-2628-9554

Zinovieva N.A. orcid.org/0000-0003-4017-6863

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

Supported financially by Russian Science Foundation, project № 16-16-10068

Received September 9, 2017

doi: 10.15389/agrobiol.2017.6.1083eng

Abstract

Reindeer *Rangifer tarandus*, the only member of the genus *Rangifer*, is an important component of the food security of the indigenous people of the Russian North, and is an indispensable part of the Arctic ecosystems (A. Savchenko, 2014; V.G. Loginov, 2014). To-date, due to a number of unfavorable natural and anthropogenic factors, population number of both domestic and wild reindeer is sharply decreasing. This leads to a loss of the genetic diversity, which is sufficient for survival in new habitats (Y.A. Stolpovsky, 2010). In this regard, it is significant to monitor the genetic diversity of resource breeds and wild reindeer populations with use of genetic markers. The review summarizes the results of the genetic diversity studies of reindeer using different molecular genetic analysis methods. The first genetic studies of reindeer began with the assessment of serum transferrin polymorphism in the 1960s (B. Gahne et al., 1961; M. Braend, 1964). Types of transferrin were distinguished from each other by the band position and mobility in gel electrophoresis (A.V. Soldal et al., 1979; K.H. Roed, 1985; P.N. Shubin et al., 1988). With the development of genetic technology, DNA markers gained popularity (M. Çalişkan, 2012). The so-called “anonymous” markers (initially RAPD and later ISSR) became the first DNA markers used to investigate the biodiversity of reindeer populations (V.V. Goncharov et al., 2009; N.V. Kol et al., 2006; T.M. Romanenko et al., 2014; G.Y. Bryzgalov, 2016). Since the publication of the complete nucleotide sequence of the control region of the mitochondrial genome of reindeer subspecies of Eurasia and North America, analysis of the polymorphism of mitochondrial DNA (mtDNA) has become widespread (M.A. Cronin, 1992; E. Randi et al., 2001; A.V. Davydov et al., 2007; M.V. Kholodova et al., 2009; A.N. Korolev et al., 2017). The method is a highly informative for revealing the phylogeny and origin of breeds and populations by the maternal line (Ø. Flagstad et al., 2003; N.A. Akopyan et al., 2016). Microsatellites have found great implementation in applied studies of genetics of reindeer (establishment of genetic structure, characteristic of allele pool, identification and differentiation of individuals) (K.H. Røed et al., 1998; B.I. Jepsen et al., 2002; R. Courtois et al., 2003; M.A. Cronin et al., 2003; K.A. Zittlau, 2004; P.D. McLoughlin et al., 2004; A.D. McDevitt et al., 2009; A.I. Baranova et al., 2016). For Russian reindeer populations, a multiplex panel of nine microsatellites was developed (V.R. Kharzinova et al., 2015). It is successfully using in the routine testing of reindeer, including the detection of hybrids between wild and domestic forms (V.R. Kharzinova et al., 2016). However, with the development of new high-throughput technologies and new-generation analytical equipment (A. Vignal, 2002; E.K. Khlestkina, 2013), DNA chips based on genotyping of multiple SNPs come to the fore in genetic studies of farm animals (F.J. Steemers et al., 2007; S. Mastrangelo et al., 2014; T.E. Deniskova et al., 2015; B. Slim et al., 2015; N.A. Zinovieva et al., 2016; T.E. Deniskova et al., 2016; R. Yonesaka et al., 2016). To-date, despite the fact that there is no the specific DNA chip for reindeer, the use of the Bovine SNP50 BeadChip, designed for cattle, is the most effective and highly informative method for studying the reindeer genome (V.R. Kharzinova et al., 2015; V.R. Kharzinova et al., 2016; V.R. Kharzinova et al., 2017).

Keywords: *Rangifer tarandus*, reindeer, genetic diversity, genetic marker, SNP, DNA chip.