

На правах рукописи

Оюн Надежда Юрьевна

**ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ЯКА (*BOS GRUNNIENS*)
САЯНО-АЛТАЙСКОГО РЕГИОНА**

03.02.07 – генетика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2018

Работа выполнена в лаборатории сравнительной генетики животных Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, г. Москва

Научный руководитель: доктор биологических наук
Столповский Юрий Анатольевич

Официальные оппоненты: доктор биологических наук
Холодова Марина Владимировна,
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, заведующая кабинетом методов молекулярной диагностики

кандидат биологических наук
Орлова Светлана Юрьевна,
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии», старший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики

Ведущее учреждение: Федеральный исследовательский центр
Институт цитологии и генетики Сибирского
отделения Российской академии наук

Защита диссертации состоится «20» декабря 2018 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 002.214.01 на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН по адресу: 119991, ГСП-1, г. Москва, ул. Губкина, дом 3. Факс: (499)132-89-62, тел.: (499)135-14-61, e-mail: aspirantura@vigg.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН.

Автореферат разослан « » _____ 2018 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор биологических наук

Горячева Ирина Игоревна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность и степень разработанности темы исследования

Як *Bos grunniens* L. является domesticiрованным животным, дикая форма которого обитает на территории Цинхай-Тибетского нагорья на рекордной высоте от 2500 до 6000 м над уровнем моря. Ареал яка в высокогорных регионах располагается на высотах 2000-5000 метров над уровнем моря, где лимитирующими факторами для разведения животных являются температура, которая зимой может достигать -50°C , и низкое содержание кислорода в атмосфере. Уникальная способность яка жить в суровых условиях, противостоя экстремально низкой температуре, высотной гипоксии и бескормице, большую часть года добывая скудный корм из-под снега, делает его важным модельным объектом для изучения молекулярно-генетических основ жизнеспособности и адаптации организма к условиям высокогорья.

Сложная и длительная история domestикации яка, а также разорванность современного ареала в силу физико-географических особенностей его местообитания, определяют генетическое разнообразие его современных популяций. Наибольшая численность одомашненного яка отмечена в районах Цинхай-Тибетского нагорья, Западного Китая, Монголии, в Саяно-Алтайском регионе России, а также странах, расположенных на территории Гималаев. В России яков разводят главным образом в Туве, а также на Алтае, в Бурятии и на Северном Кавказе. В России самое большое поголовье яка насчитывается в Туве, поскольку климатические и физико-географические особенности позволяют яководству развиваться сразу в нескольких высокогорных районах республики.

Важно отметить, в то время как генетическое разнообразие популяций яка в нашей стране остается практически не изученным, численность поголовья за последние десятилетия резко сократилась, что делает абсолютно необходимым изучение генетической структуры и разнообразия популяций яков России для разработки мер поддержания численности и рационального разведения.

В настоящее время изучение *Bos grunniens* вызывает большой интерес во всем мире. Активно проводятся исследования дифференциации популяций, генетического разнообразия, геногеографии и филогенетических связей. Необходимо отметить, однако, что большинство исследований генетического разнообразия яка проводилось на популяциях, обитающих на территории других стран. Несмотря на то, что як в России является ценным животным, зачастую обеспечивающим существование населения целых районов страны, исследования генетического разнообразия яка, структуры его популяции и филогенетических связей практически не проводились. Научные изыскания в области генетики яка в России носили в основном

фрагментарный характер и были связаны, как правило, с изучением гибридизации яка и крупного рогатого скота.

Ранее изучение полиморфизма мтДНК российских яков осуществлялось на единичных особях, при этом не было четкого обозначения конкретного района и местности обитания локальной популяции, что не позволяет использовать полученные результаты для создания целостной картины.

Популяции яков России упоминаются в работах зарубежных исследователей в рамках изучения генетического разнообразия и дифференциации популяций яка на основе микросателлитных локусов. Однако, подобные исследования являются крайне неполными и в связи с ограниченным объемом выборки с территории РФ поверхностно описывают генетическое разнообразие яка в России.

Як обитает в высокогорных районах, где экстремально низкие температуры и гипоксия являются лимитирующими факторами. В связи с этим, представляет интерес изучение яка как модельного объекта для понимания молекулярно-генетических основ адаптации к гипоксии в условиях высокогорья. В настоящее время известны гены-кандидаты, которые могут играть ключевую роль в высотной адаптации яка. Известно, что ген *VEGF-A* участвует в непосредственном ответе организма на гипоксию, стимулируя рост капиллярных сосудов, образование новых кровяных телец и повышая проницаемость кровеносных сосудов. В связи с этим представляет интерес обнаружение ассоциаций гена *VEGF-A* с высотой горного рельефа у яка *Bos grunniens*.

Целью работы является изучение генетического разнообразия яка *Bos grunniens*, обитающего в высокогорных районах Саяно-Алтайского региона.

Задачи исследования:

1. Выявить гаплотипическое разнообразие и филогенетические взаимоотношения между гаплотипами яка *Bos grunniens* Саяно-Алтайского региона на основе полиморфизма D-петли мтДНК.
2. Выявить генетическую изменчивость универсальных микросателлитных локусов, разработанных для КРС, для оценки их применимости в исследованиях *Bos grunniens*.
3. Выявить генетическое разнообразие и структуру популяции яка *Bos grunniens* Саяно-Алтайского региона на основе микросателлитных локусов.
4. Поиск ассоциаций гена *VEGF-A* с высотой горного рельефа у яков Саяно-Алтайского региона.

Научная новизна

Впервые проведено комплексное изучение генетического разнообразия яка *Bos grunniens* Саяно-Алтайского региона на основе полиморфизма гипервариабельного района D-петли мтДНК, микросателлитных локусов и SNPs в гене *VEGF-A*.

Впервые показано высокое гаплотипическое разнообразие D-петли мтДНК у яков России (Тувы, Алтай и Бурятия) и Монголии. Описано 4 новых гаплотипа.

Впервые проведен масштабный филогенетический анализ всех известных последовательностей D-петли мтДНК яка *Bos grunniens*. Показано, что гаплотипы не ассоциированы ни с формой (дикая или одомашненная), ни с породной или географической принадлежностью яка.

Впервые показано, что универсальные микросателлитные локусы *CSSM66*, *INRA023*, *SPS115*, *TGLA53*, *CSRM60* и *BM2113*, разработанные для КРС, являются также информативными и пригодны для популяционных исследований яка *Bos grunniens*.

Впервые изучено аллельное разнообразие и генетическая структура российских популяций яка на основе 15 микросателлитных локусов. Впервые показано, что российские и монгольские популяции яка в целом характеризуются достаточно низким аллельным разнообразием микросателлитных локусов и невысоким уровнем генетических различий между популяциями. Впервые выявлена генетическая структура популяций яка Саяно-Алтайского региона России и Монголии, показана их слабая дифференциация.

Впервые осуществлен поиск ассоциаций гена *VEGF-A* с высотой горного рельефа у яков. Впервые показана ассоциация гена *VEGF-A* с адаптацией к высокогорью, показана общая тенденция повышения частоты аллеля *A* в позиции *g.14853* гена *VEGF-A*, участвующего в механизмах адаптации к высокогорной гипоксии, с ростом высоты горного рельефа.

Теоретическая и практическая значимость работы

Работа посвящена комплексному изучению генетического разнообразия яка (*Bos grunniens*) России и Монголии, поддержание которого является условием сохранения данного вида в Саяно-Алтайском регионе. В работе получены новые данные, которые устраняют «белое пятно» в общемировой картине генетического разнообразия и эволюционного развития яка как вида.

Впервые показано, что универсальные микросателлитные локусы *CSSM66*, *INRA023*, *SPS115*, *TGLA53*, *CSRM60* и *BM2113*, разработанные для КРС, пригодны для популяционных исследований яка *Bos grunniens*. Полученные данные микросателлитного анализа и способы оценок генетического разнообразия с использованием наиболее информативных для популяционных исследований яка микросателлитных локусов могут служить основой мероприятий по контролю генетического разнообразия и сохранению генофондов яка в Саяно-Алтайском регионе.

Впервые показана ассоциация гена *VEGF-A* с адаптацией к высокогорью у яка. Полученные результаты имеют важное фундаментальное значение для исследований связи полиморфизма гена *VEGF-A* и его

функционального значения, поскольку использованные в работе SNP обнаружены также в гене *VEGF-A* человека.

Положения, выносимые на защиту

1. Популяции яка Саяно-Алтайского региона характеризуются довольно высоким гаплотипическим разнообразием D-петли мтДНК вследствие распространения на данной территории гаплотипов из всех известных гаплогрупп, описанных в настоящее время.

2. Гаплотипы мтДНК яка *Bos grunniens* не ассоциированы ни с формой (дикая или одомашненная), ни с породной или географической принадлежностью яка.

3. Универсальные микросателлитные локусы, разработанные для КРС, в разной степени генетически изменчивы, в связи с чем некоторые локусы информативны и пригодны для популяционных исследований яка *Bos grunniens*.

4. Популяции яка России и Монголии генетически слабо дифференцированы и характеризуются низким аллельным разнообразием микросателлитных локусов.

5. С ростом высоты горного рельефа наблюдается общая тенденция повышения частоты аллеля *A* в позиции *g.14853* гена *VEGF-A*, участвующего в механизмах адаптации яка *Bos grunniens* к высокогорной гипоксии.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов обеспечена использованием современных молекулярно-генетических методов, биоинформатических и математико-статистических методов обработки данных.

Основные результаты данной работы были представлены на Международной научной конференции, посвященной 80-летию со дня рождения академика Ю.П. Алтухова (1936-2006) и 45-летию основания лаборатории популяционной генетики им. Ю.П. Алтухова ИОГен РАН (Москва, 2017), на VII Международной школе молодых учёных по молекулярной генетике «Геномика и биология живых систем» (Москва, 2016).

Публикации по теме диссертации

По материалам работы опубликовано 5 печатных работ, из них 3 – в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК, 2 – в материалах международных конференций.

Декларация личного участия автора

Диссертация написана автором лично с использованием собственных результатов. Обсуждение, основные положения и выводы диссертации сформулированы лично автором. Автор самостоятельно осуществлял планирование исследований и их реализацию в рамках диссертационной работы. Автор лично проводил экспериментальный анализ: выделение ДНК из всех биологических образцов; измерение концентрации; создание ДНК-коллекций; амплификация исследуемых локусов мтДНК и гена *VEGF-A*;

пробоподготовка ПЦР-продуктов для секвенирования; типирование SNP в гене *VEGF-A* методом ПЦР-ПДРФ. Биоинформатическая и математико-статистическая обработка данных проводилась совместно и под руководством Г.Р. Свищёвой, Е.А. Конорова, И.В. Артюшина.

Структура и объём диссертации

Диссертационная работа изложена на 103 страницах, содержит 15 таблиц, 23 рисунка и состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты и обсуждение, заключение, выводы, благодарности, список литературы. Список литературы включает 135 источников, из них 125 на иностранном языке.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Обзор литературы

В диссертационной работе глава «Обзор литературы» состоит из двух разделов. Первый раздел посвящен общей характеристике *Bos grunniens*, происхождению, domestикации и распространению яка. Во втором разделе описаны исследования яка *B. grunniens* с использованием генетических маркеров, в том числе филогенетические исследования яка на основе мтДНК, генетический полиморфизм на основе микросателлитных локусов, молекулярно-генетические основы адаптации яка к гипоксии в условиях высокогорья.

Материалы и методы

Материалом для данной работы послужили выборки из яководческих хозяйств, собранные в нескольких регионах России и аймаках Монголии. В целях более полного сравнительного анализа в исследование была привлечена выборка из аймака Южный Гоби, который не входит в зону Саяно-Алтайского региона. В результате исследовано 504 яка из 10 выборок (табл. 1).

Таблица 1. Характеристика исследованных выборок

Регион	Выборка	Район	Кол-во особей
Тува	Арыг-Хем	Барун-Хемчикский	60
	Адарган	Овюрский	58
	Сайзырал	Монгун-Тайгинский	69
	Малчын		59
	Моген-Бурен		58
Алтай	Алтай	Кош-Агачский	34
Бурятия	Бурятия	Окинский	46
Монголия	Южный Гоби	Южный Гоби	43
	Хубсугул	Хубсугул	28
	Ховд	Ховд	49
Всего			504

Выделение ДНК проводили из венозной крови яка, используя набор Magna DNA Prep 200, ООО «Лаборатория Изоген».

Для амплификации фрагмента D-петли мтДНК использовали праймеры YDF (GTAAAGAGCCTCACCAGTAT), YDR (TCCTGTAGCCATTGACAT) и набор реагентов «GenPak PCR Core» ООО «Лаборатория Изоген». Условия реакции: первичная денатурация 95⁰С – 4 мин; 35 циклов: денатурация 95⁰С – 55 с, отжиг 50⁰С – 55 с, синтез 72⁰С – 55 с; завершающий синтез 72⁰С – 5 мин. Концентрация каждого праймера в реакции 0,5 мМ, количество ДНК около 50 ng. Экстракцию и очистку ПЦР-продуктов из агарозного геля проводили с помощью набора Cleanup Mini «Евроген» в соответствии с инструкцией производителя. Работа по секвенированию осуществлялась в ЗАО «Евроген».

Для выявления SNP g.8430T>C и g.14853G>A в гене VEGF-A амплифицированы фрагменты VEGF-A_1 и VEGF-A_2 с использованием пар праймеров (F1: TCACCATCTGAACGCCTCT, R1: CTCCTATCCCACTGCTGCTA; F2: TGGAGGCTAGGACTGTGCTTT, R2: GCGGCTATGGGTAGTTCTGTG) и набор реагентов «GenPak PCR Core» ООО «Лаборатория Изоген». Условия реакции для фрагментов VEGF-A1 (VEGF-A2) соответственно: первичная денатурация 95⁰С – 4 мин; 35 циклов: денатурация 95⁰С – 40 с, отжиг 59.8⁰С (61.6⁰С) – 30 с, синтез 72⁰С – 1 мин; завершающий синтез 72⁰С – 10 мин. Типирование SNPs осуществляли методом ПДРФ. Для типирования SNP g.8430T>C применяли эндонуклеазу рестрикции Fat I с сайтом узнавания 5'-↓CATG-3', для SNP g.8430T>C – Erh I с сайтом 5'-C↓CWWGG-3' («СибЭнзим»). Для верификации выборочно проводили секвенирование.

Микросателлитный анализ проводили на основе мультиплексной панели 15 высокополиморфных микросателлитных локусов для КРС «COrDIS Cattle» ООО «Гордиз». Условия амплификации: первичная денатурация 98⁰С – 3 мин; 4 цикла: денатурация 98⁰С – 30 с, отжиг 59⁰С – 120 с, синтез 72⁰С – 90 с; 6 циклов: 94⁰С – 30 с, 59⁰С – 120 с, 72⁰С – 90 с; 20 циклов: 90⁰С – 30 с, 59⁰С – 120 с, 72⁰С – 75 с; завершающий синтез 68⁰С – 30 мин, 15⁰С – ∞. Фрагментный анализ проводили методом капиллярного электрофореза на генетическом анализаторе ABI Prism 3130 (Applied Biosystems). Размеры аллелей определяли на основании набора фрагментов ДНК, длиной от 76 п.н. до 556 п.н. с шагом в 24 п.н., используя программное обеспечение GeneMapper v.4.1. Работа осуществлялась в ООО «Гордиз».

Статистическая обработка данных

Анализ полиморфизма D-петли мтДНК. Расшифровка хроматограмм проводилась в ChromasPro Technelysium Pty Ltd v1.6, выравнивание последовательностей – в MUSCLE. Выявление и подсчёт частот гаплотипов проводили в R-пакете regas. Филогенетический анализ выявленных гаплотипов проводился в MrBayes v3.2.6. Для изучения вклада материнской генетической компоненты в формирование внутривидового и межвидового разнообразия D-петли мтДНК яка построено дерево

гаплотипов *B. grunniens* и *B. mutus*. Все доступные последовательности D-петли мтДНК яка, как оригинальные, так и полученные из GenBank, были выравнены с помощью MAFFT v7.205

Для построения дерева гаплотипов *B. grunniens* и *B. mutus* оригинальные (n=100) и полученные из GenBank последовательности (n=852) выравнены в MAFFT v7.205. В программе DnaSP v6.10.03 выявлены полиморфные сайты и гаплотипы, которые затем были использованы для построения деревьев в программах MrBayes v3.2.6 с использованием библиотеки BEAGLE и RAxML v8.2.11. Выбор модели молекулярной эволюции проводили с помощью PartitionFinder v1.1.1.

Микросателлитный анализ. Анализ аллельного и генетического разнообразия, расчёт индексов фиксации и инбридинга проводился в GenAlEx 6.503, а также с помощью R-пакетов hierfstat и pegas. Оценка частот нуль-аллелей и поправки на них показателей разнообразия и индексов фиксации проведены в программе FreeNa. Анализ генетической структуры проводился в программе Structure v. 2.3.4 при следующих параметрах: Length of Burnin Period: 5000, Number of MCMC Reps after Burnin: 50000, Use Admixture Model, Use Sampling Location Information, Allele frequencies independent, 30 iterations, K: 1-13. Количество генетических кластеров K определяли с помощью Structure Harvester v.0.6.94. Графическое представление распределения аллелей среди выборок с помощью кругов Эйлера-Венна выполнено с помощью gplots 2.7.4 в среде R. Математическая модель возможных миграций между локальными популяциями на основе числа мигрантов на поколение Nm реализована в среде R с помощью пакета divMigrate-online (bootstrap=5000). В качестве меры генетической дифференциации использовали эффективное число мигрантов на поколение Nm .

Поиск ассоциаций гена VEGF-A с высотой. Подсчёт показателей гетерозиготности, индексов фиксации и инбридинга, тест на дифференциацию, а также тест на нейтральность Эванса-Ваттермана проводились в программе Arlequin 3.5.2.2. Поиск ассоциаций и корреляций SNPs с высотой горного рельефа проводили в среде R.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ гаплотипического разнообразия мтДНК яка *Bos grunniens* Саяно-Алтайского региона

На основе полиморфизма D-петли мтДНК проведен анализ гаплотипического разнообразия у яков России и Монголии. Из каждой выборки случайным образом отбирали по 10 особей. В результате был амплифицирован фрагмент D-петли мтДНК 100 яков. Длина амплифицированного фрагмента составила 700 п.н., что соответствует позициям 27-726 референсного митохондриального генома дикого яка в GenBank NCBI: FJ548841. Длина анализируемого фрагмента D-петли мтДНК

составила 632 п.н. (76–707 согласно референса). Нуклеотидные последовательности депонированы в базу данных GenBank NCBI под номерами KY807427–KY807506, MN834630–MN834649.

Для сравнительного анализа гаплотипов из базы данных GenBank NCBI были использованы последовательности D-петли мтДНК дикого яка (KM280683–KM280687, FJ548840–FJ548845), одомашненного яка *Bos grunniens* пород Tianzhu (AY521149–AY521157), Jiulong (AY521138–AY521143), Maiwa (AY521144–AY521148, DQ007213, DQ007214, DQ856603, DQ856604) и Jinchuan (JQ811490–JQ811498).

Анализ полиморфных сайтов в гипервариабельном фрагменте D-петли мтДНК в выборках из России и Монголии выявил 17 гаплотипов, на их основе построено дерево гаплотипов (рис. 1).

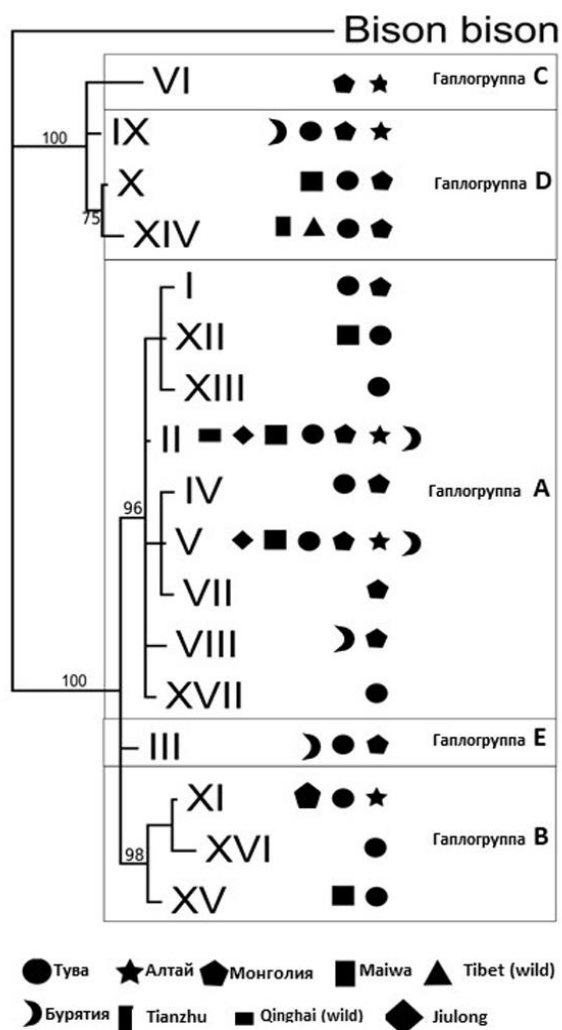


Рисунок 1. Байесово дерево гаплотипов в выборках Тувы, Алтая, Бурятии и Монголии.

Для укоренения дерева использована последовательность *Bison bison* (U12864), поскольку последние филогенетические исследования указывают на более близкое родство яка *Bos grunniens* с *Bison bison* нежели с остальными представителями *Bos*. Выделенные нами гаплогруппы, в

соответствии с недавно предложенной буквенной классификацией китайских исследователей обозначены как А, В, С, D, Е. В связи с тем, что в настоящее время не существует единой номенклатуры гаплотипов мтДНК яка, в данной работе все гаплотипы обозначались цифрами с указанием принадлежности к определенной гаплогруппе.

В результате анализа гаплотипов определена встречаемость гаплогрупп в каждой выборке (рис. 2). Наибольшей частотой в популяциях характеризуется гаплогруппа А, далее В и D. Высокая частота данных гаплогрупп отчасти определяется разнообразием гаплотипов в их составе. На гаплогруппу А приходится 9 гаплотипов из 17 выявленных нами, на В и D – по 3 гаплотипа, на гаплогруппы С и Е – по 1 гаплотипу. В исследованных нами выборках широко распространены гаплотипы А2 и А5, они выявлены практически во всех выборках и характеризуются самой высокой частотой.

В ходе исследования обнаружено четыре новых гаплотипа: А4, А13, D9 и Е3. При этом гаплотипы А4, D9 и Е3 обнаружены как в российских, так и в монгольских выборках.

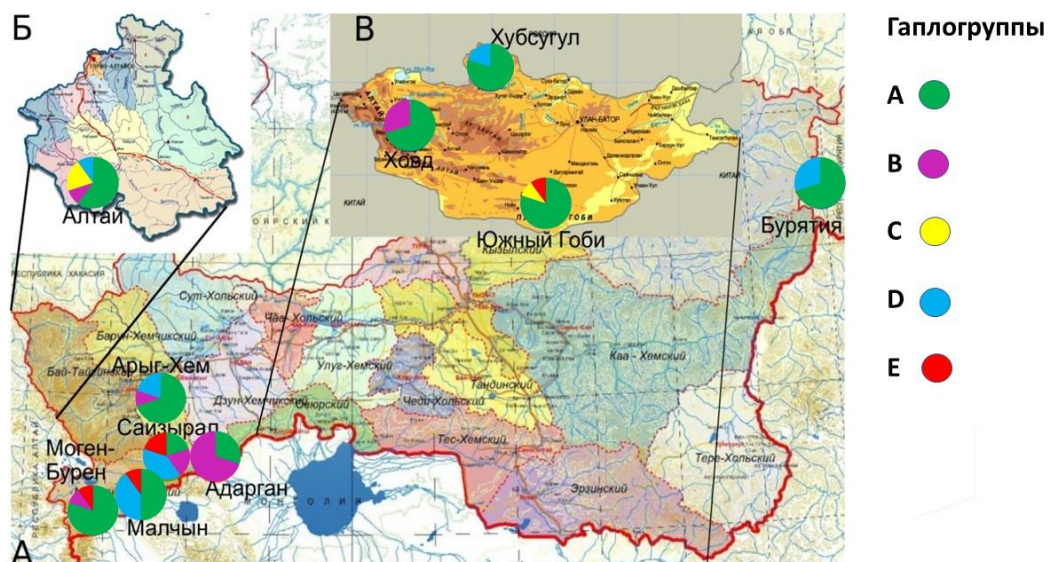


Рисунок 2. Положение исследованных выборок на карте и частота гаплогрупп. Карта А – Тува и Бурятия, В – Алтай, В – Монголия.

Таким образом, исследование полиморфизма D-петли мтДНК яка Саяно-Алтайского региона России и Монголии показало довольно высокое гаплотипическое разнообразие. Несмотря на сравнительно малый объём выборки, выявлено в общей сложности 17 гаплотипов из гаплогрупп А, В, С, D, Е. Самое высокое разнообразие отмечено в тувинской популяции. Так, в результате исследования 50 особей выявлено 14 гаплотипов. В ходе работы обнаружено четыре новых гаплотипа: А4, А13, D9 и Е3.

Наблюдаемую картину можно отчасти объяснить особенностями разведения яка. При разведении других типов домашнего скота (КРС, МРС,

лошадей) племенное ядро, как правило, подвержено интенсивной селекции и выбраковке, что ведет к снижению генетического разнообразия в стаде. Поскольку яководство является типичным примером отгонного скотоводства, то основная часть стада перегоняется на сезонные пастбища, находясь на полусвободном выпасе, и содержится далеко от хозяйства. Все это может способствовать свободному скрещиванию особей и отсутствию направленного искусственного отбора, а, следовательно, поддержанию генетического разнообразия.

Филогенетический анализ яка *Bos grunniens* на основе мтДНК

Для изучения вклада материнской генетической компоненты в формирование внутривидового и межвидового разнообразия яка проведен анализ 852 последовательностей мтДНК дикого и одомашненного яка заимствованных из GenBank и 100 оригинальных, полученных нами. Выявлено 124 полиморфных сайта и 178 гаплотипов мтДНК, на основе которых построено дерево гаплотипов дикого и одомашненного яка (рис. 3).

Отметим, что 8 гаплотипов не вошли в состав ни одной из гаплогрупп. В результате проверки выявлена 100% идентичность последовательностям (и гаплотипам) D-петли мтДНК *Bos taurus*. Следовательно, в базу данных GenBank были внесены последовательности D-петли мтДНК, принадлежащие гибридам *Bos grunniens* и *Bos taurus*. Получение гибридов яка и коровы является достаточно распространенным явлением в равнинных сельскохозяйственных районах Китая. Это обусловлено тем, что як *Bos grunniens* сильное и выносливое животное, однако, адаптировано к обитанию в условиях высокогорья и не способно выживать на равнине. Получаемые гибриды сильные и выносливые, но, в отличие от яка, хорошо адаптированы к обитанию в условиях равнины.

Филогенетический анализ выявил наличие двух крупных клад с bootstrap значением = 100. Первая кладка включает в себя гаплогруппы А, В, Е, а вторая кладка представлена гаплогруппами С и D. Отметим, что ранее лишь в одной работе [Wang, 2010] было показано наличие гаплогруппы F, представленной двумя гаплотипами дикого яка. По нашим данным, при исследовании 952 последовательностей мтДНК яка гаплогруппа F не выявлена.

В ходе сравнительного анализа последовательностей из GenBank яков России, Монголии, Китая и диких яков Цинхай-Тибетского нагорья были обнаружены гаплогруппы, соответствующие выделенным нами в ходе исследования, однако, с более обширным набором гаплотипов.

Выявлено, что гаплотипы, описанные у дикого яка и различных пород и географических популяций одомашненного яка, присутствуют во всех гаплогруппах. Кроме того, гаплотипы диких яков не выделяются в отдельные клады, а расположены вместе с гаплотипами одомашненных яков. Необходимо отметить, что подавляющее большинство описанных гаплотипов встречается как у диких, так и у одомашненных яков. В связи с этим, можно предположить, что дикий и одомашненный яки унаследовали от

предка изначально высокое гаплотипическое разнообразие, которое сохранилось до настоящего времени. Гаплотипы не ассоциированы ни с породной, ни с географической принадлежностью яка. Судя по всему, гаплотипы и гаплогруппы сформировались задолго до одомашнивания яка. Вероятно, этому способствовало и то, что в ходе одомашнивания яка условия его обитания почти не менялись. В результате наблюдается генетический эффект trade-off, позволяющий якам выживать как на суровой высоте, так и в условиях высокогорных пастбищ [Qiu, 2015]. Этот эффект, безусловно, влияет на эволюционное развитие и доместикацию яка в целом.

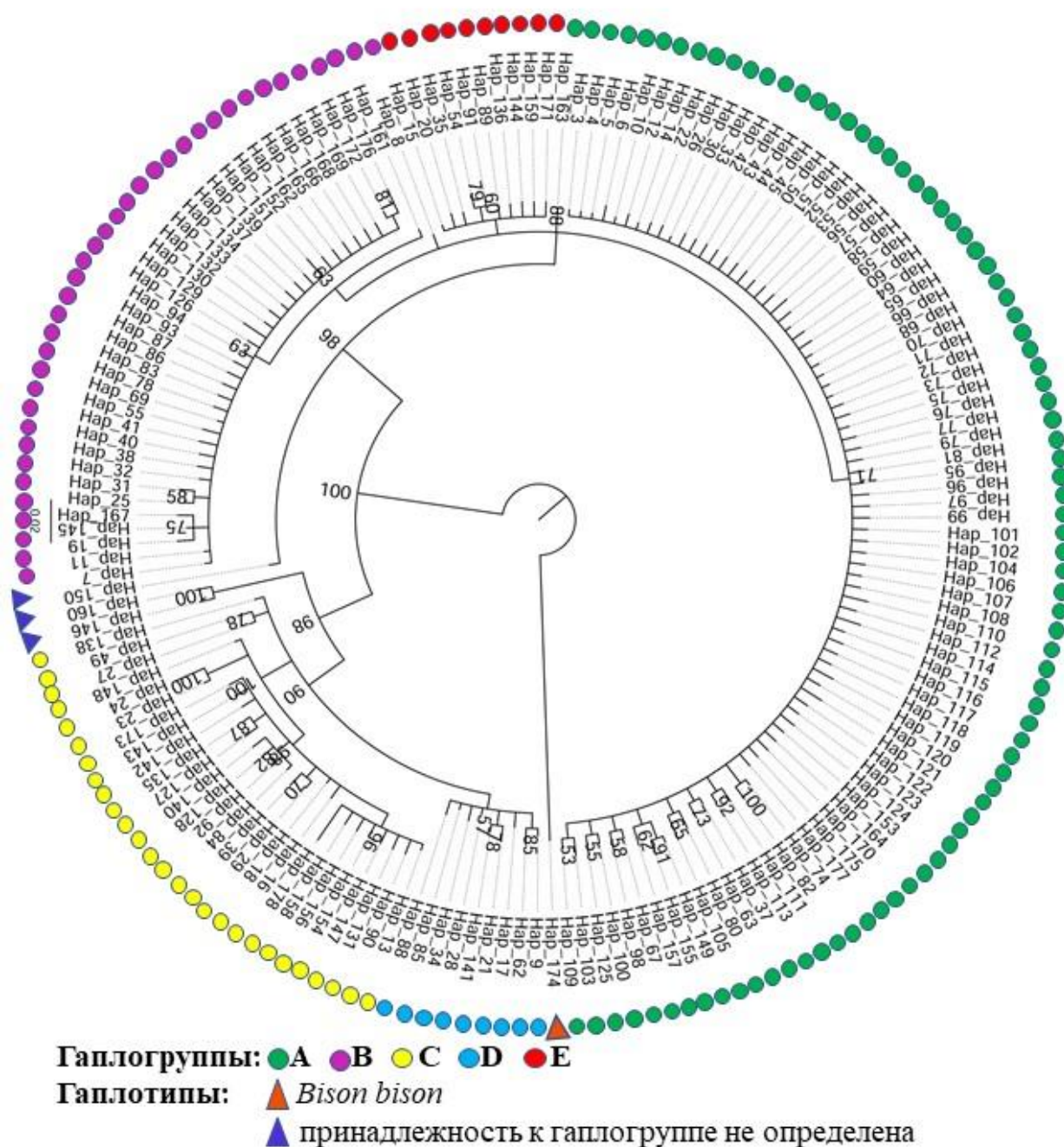


Рисунок 3. Дерево гаплотипов мтДНК *Bos grunniens*.

В связи с тем, что разнообразие гаплотипов в гаплогруппах различается, была дана оценка частоты гаплогрупп в породах и географических изолятах Тувы, Монголии и Китая (рис. 4). По нашим данным, значительно отличаются по частоте гаплогрупп яки тувинской породы Сарлык и Тяньчжу (точный тест Фишера). Поскольку в породе сарлык не обнаружена гаплогруппа С, привлечение большего объема выборки позволит делать выводы о наличии или отсутствии данной гаплогруппы у яков Тувы. В целом отмечена тенденция преобладания гаплогрупп А, В, D во всех 6 исследованных выборках. По результатам подсчёта частоты гаплогрупп китайских исследователей, в целом наблюдалась схожая картина [Wang, 2010].



Рисунок 4. Встречаемость гаплогрупп мтДНК в породах и географических популяциях яка *Bos grunniens* России, Монголии и Китая.

Генетическая изменчивость исследуемых микросателлитных локусов

Для оценки изменчивости используемых в работе микросателлитных локусов, разработанных для КРС, проведён анализ показателей генетического разнообразия (табл. 1).

В результате выявлено, что наиболее информативными для популяционных исследований яка являются локусы *CSSM66*, *INRA023*, *SPS115*, *TGLA53*, *CSRM60*, *BM2113*, которые характеризуются наиболее высокими значениями средней эффективной численности, потока генов и индекса полиморфности *PI*.

Таблица 1. Показатели аллельного и генетического разнообразия, индексы полиморфности, фиксации и инбридинга, рассчитанные для каждого микросателлитного локуса

Локус	N	$Mean Na$	$Mean N_E$	$Mean H_O$	H_e	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}	Nm	PIC
Eth3	361	3.000	2.012	0.538	0.499	-0.079	-0.052	0.025	9.719	0.512
Cssm66	363	5.500	3.349	0.693	0.687	-0.009	0.043	0.052	4.570	0.724
Inra023	363	5.625	3.304	0.715	0.688	-0.039	-0.001	0.036	6.609	0.714
BM1818	364	2.875	1.277	0.153	0.183	0.167	0.223	0.067	3.462	0.197
Ilsts006	364	2.250	1.791	0.428	0.435	0.015	0.069	0.055	4.266	0.460
Tgla227	364	2.750	1.947	0.525	0.485	-0.082	-0.043	0.036	6.695	0.503
Tgla126	361	3.250	1.988	0.471	0.463	-0.018	0.041	0.058	4.075	0.492
Tgla122	360	7.000	3.716	0.670	0.714	0.061	0.117	0.059	3.968	0.759
Sps115	364	5.750	2.886	0.665	0.643	-0.035	0.000	0.033	7.272	0.665
Eth225	361	4.625	2.961	0.538	0.652	0.175	0.222	0.057	4.162	0.691
Tgla53	360	7.250	4.072	0.813	0.752	-0.081	-0.039	0.039	6.112	0.783
Csrm60	364	4.625	3.525	0.710	0.714	0.005	0.046	0.041	5.844	0.744
Bm2113	360	4.000	2.895	0.649	0.649	-0.001	0.035	0.035	6.794	0.673
Bm1824	363	4.375	2.267	0.548	0.548	-0.001	0.039	0.040	6.037	0.570
Eth10	364	3.625	2.177	0.528	0.529	0.003	0.042	0.040	6.010	0.551
Всего	362.4	4.433 ± 0.398	2.67 ± 0.211	0.57 ± 0.041	0.576 ± 0.039	-0.001 ± 0.019	0.049 ± 0.021	0.044 ± 0.003	5.706 ± 0.428	

Обозначение. N – объём выборки, $Mean Na$ – среднее эффективное число аллелей, $Mean N_E$ – средняя эффективная численность, $Mean H_O$ – средняя наблюдаемая гетерозиготность, H_e – ожидаемая гетерозиготность, F_{IS} – коэффициент инбридинга особей в субпопуляциях, F_{IT} – коэффициент инбридинга особей в популяции в целом, F_{ST} – коэффициент инбридинга субпопуляций относительно всей популяции, Nm – поток генов, PIC – показатель полиморфного информационного содержания. Наиболее высокие значения $Mean N_E$, Nm , PIC показаны синим цветом.

Анализ генетического разнообразия на основе микросателлитных локусов

На основе 15 микросателлитных локусов исследовано генетическое разнообразие в популяциях яка Тувы, Алтая и Монголии. Общий объём выборки составил 364 особи из 8 яководческих хозяйств.

Было установлено, что во всех популяциях довольно низкое эффективное число аллелей (табл. 2). Среднее число уникальных аллелей в тувинских выборках существенно ниже, чем в алтайской и монгольских популяциях. Показатель гетерозиготности довольно низкий, в пределах 0.53-0.63 и значимо не отличается между выборками. В хозяйстве Сайзырал отмечен самый высокий коэффициент инбридинга и самое низкое значение гетерозиготности, а в выборке Малчын – самый низкий коэффициент инбридинга и самое высокое значение гетерозиготности. При этом в стаде хозяйства Малчын не было выявлено уникальных аллелей, и наблюдалось отклонение от равновесия Харди-Вайнберга.

Таблица 2. Объём выборок, эффективное число аллелей и число уникальных аллелей

Выборка	N	N_a	N_e	$Mean\ N\ Private\ Alleles$	H_o	H_e	F_{IT}	F_{IS}	p значение отклонения от HWE
Арыг-Хем	60	4.6	2.68	0.07 ± 0.067	0.56	0.57	0.01 $\pm .033$	0.124	0.0601
Адарган	58	3.9	2.57	0.00 ± 0.000	0.53	0.55	0.02 ± 0.024	0.033	0.3124
Сайзырал	69	4.8	2.86	0.27 ± 0.153	0.53	0.59	0.10 ± 0.037	0.137	0.0567
Малчын	59	3.9	2.67	0.00 ± 0.000	0.63	0.59	-0.08 ± 0.060	-0.052	0.0000
Моген-Б.	58	4.3	2.61	0.13 ± 0.133	0.58	0.57	-0.01 ± 0.023	0.160	0.0000
Гоби	20	4.9	2.54	0.47 ± 0.165	0.60	0.57	-0.03 ± 0.047	-0.021	0.3851
Хубсугул	20	5.1	2.84	0.40 ± 0.163	0.59	0.58	-0.01 $\pm .040$	0.008	0.1371
Алтай	20	4.1	2.67	0.20 ± 0.107	0.59	0.60	-0.01 ± 0.051	0.030	0.2552
Всего	364	4.4 ± 0.16	2.68 ± 0.084		0.58 ± 0.017	0.58 ± 0.015			

Обозначения: N – объём выборки, N_a – эффективное число аллелей, N_e – эффективная численность, $Mean\ N\ Private\ Alleles$ – среднее число уникальных аллелей, H_o – наблюдаемая гетерозиготность, H_e – ожидаемая гетерозиготность, F_{IS} – коэффициент инбридинга особей в субпопуляциях, F_{IT} – коэффициент инбридинга особей в популяции в целом.

Графическое представление распределения аллелей в выборках позволяет визуализировать уникальные и общие аллели (рис. 5).

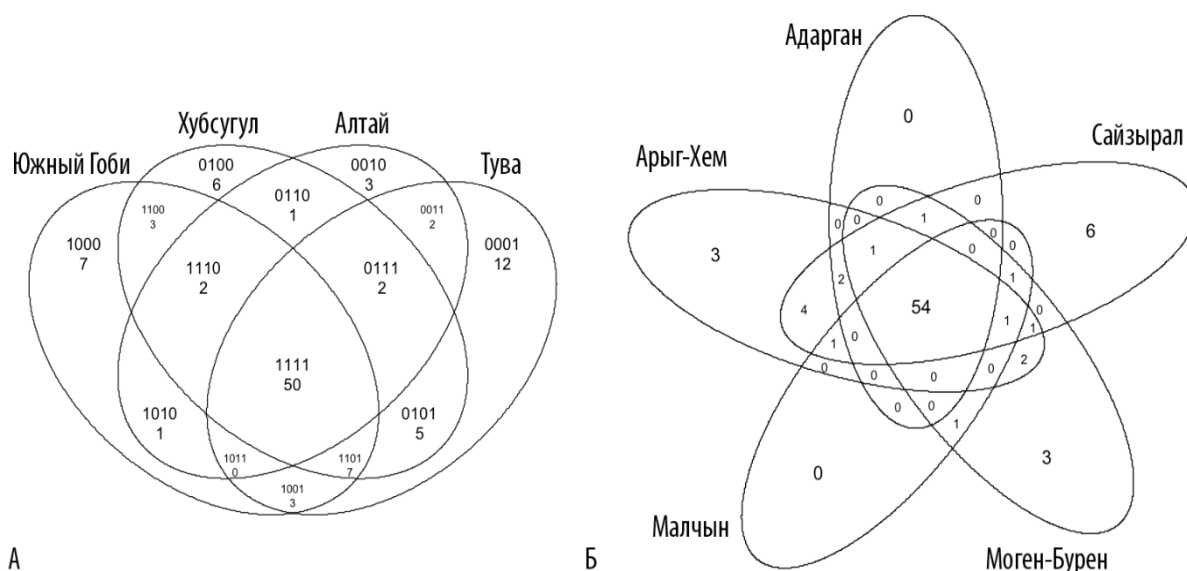


Рисунок 5. Графическое представление распределения аллелей в исследуемых выборках. А – распределение аллелей в выборках Гоби, Хубсугул, Алтай и Тува; Б – распределение аллелей в выборках из Тувы.

На рис. 5 каждый овал соответствует конкретной выборке. В определенную область вписаны числа: верхние из них обозначают четырехзначный код выборки, а нижние – количество уникальных аллелей. Наибольшее количество уникальных аллелей выявлено в популяциях яка Тувы (12), далее в выборках Гоби (7), Хубсугул (6) и Алтай (3). На пересечении двух и более областей верхние числа являются составным кодом входящих в них выборок, а нижние показывают количество общих аллелей. Для тувинских популяций с Гоби обнаружено 3 общих аллеля, с Хубсугул – 5 аллелей, с Алтаем – 2 аллеля. Общими для всех выборок являются 50 аллелей.

Аналогичный расчёт проведен для пяти выборок из Тувы (рис. 5Б), в результате которого выявлено 54 общих аллеля. Уникальные аллели обнаружены в выборках из яководческих хозяйств Сайзырал (6), Арыг-Хем (3), Моген-Бурен (3).

Таким образом, в результате микросателлитного анализа было установлено, что аллельное разнообразие в тувинских популяциях в значительной степени ниже, чем в алтайской и монгольских. Это можно объяснить как их положением на краю ареала вида (*Bos grunniens*), так и резким сокращением численности в конце XX в. То, что этот эффект не был замечен на материале D-петли мтДНК, мы склонны объяснять низким объемом выборки и достаточно низкой силой самого эффекта trade-off. Однако отсутствие снижения аллельного разнообразия у яков Алтая по микросателлитным локусам требует отдельного изучения.

Анализ генетической структуры популяций яка *Bos grunniens* на основе полиморфизма микросателлитных локусов

Анализ генетической структуры популяций яка на основе 15 микросателлитных локусов выявил наличие трёх генетических кластеров $K=3$. На рисунке 6 вероятность принадлежности особи к определенному кластеру показана цветом.

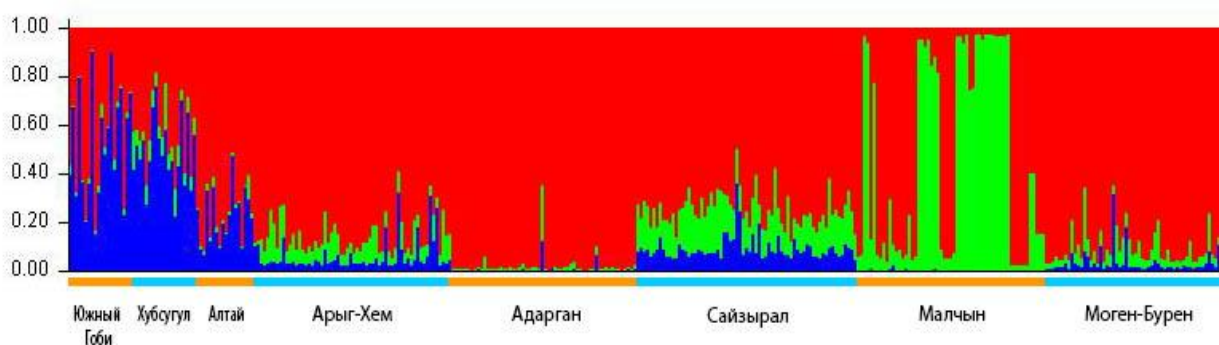


Рисунок 6. Генетическая структура популяций яка Монголии и России

Для проверки корректности полученных результатов были проведены аналогичные расчеты с исключением локусов, для которых была показана

повышенная частота нуль-аллелей. В итоге принципиальных изменений в кластеризации не выявлено.

Как видно на рисунке, четкого разделения на субпопуляции не наблюдается. Генетическая структура популяций яка России и Монголии не выражена. Выборки из Тувы характеризуются единой генетической общностью, при этом в хозяйстве Малчын у части особей проявляется второй генетический кластер. Возможно, данная выборка несет в себе следы гибридизации с популяцией, не охваченной в данном исследовании. Структура популяций яка Алтая и Монголии не выражена, поскольку часть особей отнесена к красному кластеру, а другая часть – к синему. В связи с этим невозможно определить точную принадлежность к конкретной генетической группе.

Определены генетические различия между популяциями (табл. 3). Все значения невелики и статистически значимы ($p < 0.05$). F_{ST} и генетические дистанции показывают, что выборки генетически дифференцированы друг от друга слабо, при этом относительно далекими от остальных являются выборки Гоби и Алтай.

Таблица 3. F_{ST} между популяциями и время в поколениях (выше диагонали), рассчитанное через дистанции Нея

	Гоби	Хубс	Алтай	Арыг	Адар.	Сайз.	Малч.	Моген
Гоби	-	32	46	37	43	37	36	43
Хубсугул	0.027	-	40	22	27	25	36	37
Алтай	0.046	0.036	-	27	28	33	41	31
Арыг-Хем	0.044	0.020	0.027	-	19	19	30	20
Адарган	0.057	0.032	0.033	0.025	-	18	36	21
Сайзырал	0.042	0.022	0.033	0.025	0.023	-	26	25
Малчын	0.041	0.038	0.044	0.040	0.051	0.032	-	31
Моген-Бурен	0.052	0.043	0.033	0.025	0.030	0.032	0.041	-

На основе числа мигрантов на поколение (Nm) построена модель направленных относительных миграций (рис. 7). Для построения модели проводится определение гипотетического пула мигрантов для всех пар популяций и оценка Nm между каждой из двух популяций и гипотетическим пулом. Далее проводится оценка уровней относительной миграции между двумя популяциями на основе направленной генетической дифференциации.

Согласно представленной модели, в выборку Арыг-Хем в одностороннем порядке происходят миграции из хозяйств Моген-Бурен, Сайзырал и Хубсугул. При этом наиболее высокий уровень относительной миграции с вероятностью 1 наблюдается из популяции Моген-Бурен. Отметим, что данный показатель в целом согласуется с генетической структурой Моген-Бурен и Арыг-Хем, которая демонстрирует наибольшее

сходство данных популяций (см. рис. 6). Кроме этого, в Арыг-Хем отмечаются миграции из выборок Сайзырал и Хубсугул с вероятностью 0.84 и 0.79. Наряду с этим, согласно рассматриваемой модели, из популяции Хубсугул с вероятностью 0.46 происходит миграция в Адарган. Сопоставление модели направленных относительных миграций и генетической структуры популяций показывает, что вслед за снижением вероятности миграций между конкретными выборками наблюдается уменьшение их сходства в генетической структуре.

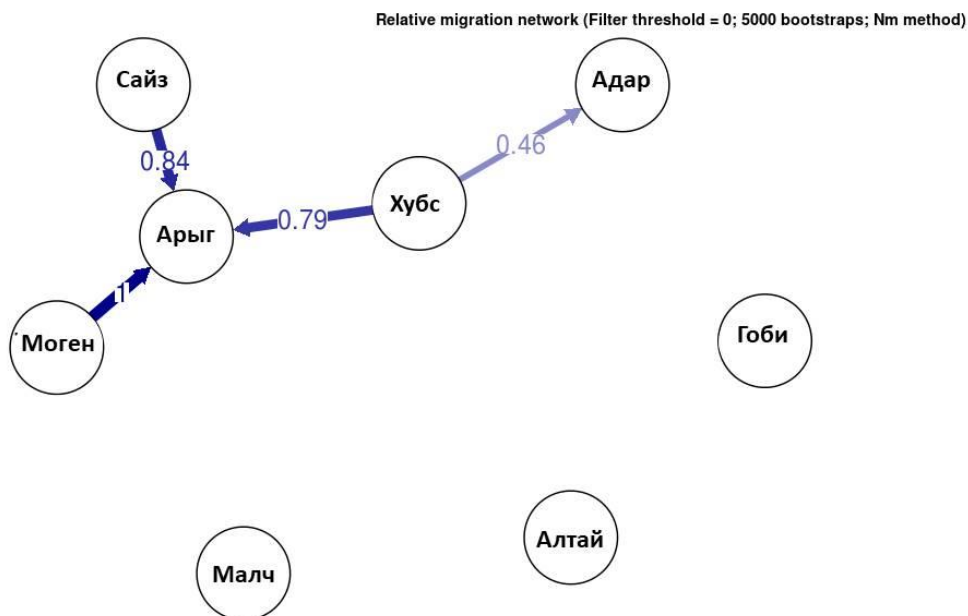


Рисунок 7. Модель направленных относительных миграций между выборками

Цифры над стрелками обозначают уровень относительной миграции.

Таким образом, генетическая структура популяций яка России и Монголии слабо дифференцирована. По своей структуре выборки из Тувы ближе друг к другу, чем к популяциям Алтая и Монголии. Популяция Алтай по структуре имеет больше сходства с монгольскими выборками. При этом все выборки слабо дифференцированы, на что указывают низкие значения F_{ST} .

По сообщениям [Xuebin, 2005; Zhang, 2008], китайские породы, монгольские и бурятские популяции яка разделились относительно недавно, на что указывают низкие значения F_{ST} , отсутствие корреляции между географическим и генетическим расстояниями. Эта особенность отличает домашнего яка от других сельскохозяйственных животных – КРС, коз, свиней, для которых характерны более высокие средние значения F_{ST} и, следовательно, большие генетические различия между породами.

Выявление и анализ частоты SNP $g.8430T>C$ в гене *VEGF-A* у яков Саяно-Алтайского региона

В результате генотипирования 477 яков (357 особей из России и 120 из Монголии) выявлены частоты генотипов и аллелей в позиции $g.8430$ в гене *VEGF-A*, а также показатели генетического разнообразия яка Саяно-Алтайского региона (табл. 4).

Таблица 4. Встречаемость генотипов, аллелей в позиции $g.8430$ в гене *VEGF-A* и показатели генетического разнообразия яка Саяно-Алтайского региона

Выборка	Генотипы (%)			Аллели (%)		H_E	H_O	HWE	F_{IS}	Тест Эванса-Ваттерсона	N
	CC	CT	TT	C	T						
Гоби	0.21	0.35	0.44	0.38	0.62	0.35	0.48	$p>0.05$	0.27	$0.025<p<0.975$	43
Хубсугул	0.25	0.39	0.36	0.45	0.55	0.39	0.5	$p>0.05$	0.22	$0.025<p<0.975$	28
Ховд	0.29	0.61	0.1	0.59	0.41	0.61	0.49	$p>0.05$	-0.26	$0.025<p<0.975$	49
Монголия	0.25	0.47	0.28	0.48	0.52	0.47	0.5	$p>0.05$	0.07	0.019	120
Алтай	0.24	0.5	0.26	0.49	0.51	0.5	0.51	$p>0.05$	0.01	$0.025<p<0.975$	34
Бурятия	0.46	0.48	0.06	0.7	0.3	0.48	0.43	$p>0.05$	-0.12	$0.025<p<0.975$	46
Арыг	0.17	0.56	0.27	0.45	0.55	0.57	0.5	$p>0.05$	-0.14	$0.025<p<0.975$	60
Адарган	0.29	0.57	0.14	0.58	0.42	0.57	0.5	$p>0.05$	-0.16	$0.025<p<0.975$	51
Малчын	0.2	0.42	0.38	0.41	0.59	0.33	0.66	0.03	0.29	$0.025<p<0.975$	45
Моген	0.36	0.38	0.26	0.55	0.45	0.38	0.5	$p>0.05$	0.24	0.021	58
Сайзырал	0.33	0.45	0.22	0.56	0.44	0.44	0.5	$p>0.05$	0.11	$0.025<p<0.975$	63
Россия	0.29	0.48	0.23	0.53	0.47	0.46	0.5	$p>0.05$	0.08	0.006	357

где H_E – ожидаемая гетерозиготность, H_O – наблюдаемая гетерозиготность, HWE – отклонение от равновесия Харди-Вайнберга, F_{IS} – коэффициент инбридинга.

В ходе исследования SNP $g.8430T>C$ в гене *VEGF-A* у яков России и Монголии показано, что частоты аллелей T и C в исследованных выборках значимо не отличаются. Суммарное соотношение генотипов CC и TT в среднем почти равное, отмечается преобладание гетерозигот CT . В работе зарубежных авторов [Wu, 2013] при исследовании трёх пород яка, обитающих на разных высотах Цинхай-Тибетского нагорья, было показано, что частоты T и C -аллелей значимо не различаются.

Выявление и анализ частоты SNP $g.14853G>A$ в гене *VEGF-A* у яков Саяно-Алтайского региона

В результате генотипирования 477 яков выявлены частоты генотипов и аллелей в позиции $g.14853$ в гене *VEGF-A*, а также показатели генетического разнообразия яка Саяно-Алтайского региона (табл. 5).

Таблица 5. Встречаемость генотипов, аллелей в позиции *g.14853* в гене *VEGF-A* и показатели генетического разнообразия яка Саяно-Алтайского региона

Выборка	Генотипы (%)			Аллели (%)		H_E	H_O	HWE	F_{IS}	Тест Эванса-Ваттерсона	N
	<i>GG</i>	<i>GA</i>	<i>AA</i>	<i>G</i>	<i>A</i>						
Гоби	0.49	0.42	0.09	0.7	0.3	0.42	0.43	$p>0.05$	0.02	$0.025<p<0.975$	43
Хубсугул	0.43	0.39	0.18	0.63	0.37	0.39	0.48	$p>0.05$	0.18	$0.025<p<0.975$	28
Ховд	0.47	0.49	0.04	0.71	0.29	0.49	0.41	$p>0.05$	- 0.19	$0.025<p<0.975$	49
Монголия	0.47	0.44	0.09	0.69	0.31	0.44	0.43	$p>0.05$	- 0.02	$0.025<p<0.975$	120
Алтай	0.2	0.65	0.15	0.53	0.47	0.65	0.51	$p>0.05$	- 0.28	0.02	34
Бурятия	0.61	0.3	0.09	0.76	0.24	0.3	0.37	$p>0.05$	0.18	$0.025<p<0.975$	46
Арыг	0.42	0.48	0.1	0.66	0.34	0.48	0.45	$p>0.05$	- 0.07	$0.025<p<0.975$	60
Адарган	0.35	0.61	0.04	0.66	0.34	0.61	0.46	0.02	- 0.34	$0.025<p<0.975$	51
Малчын	0.40	0.33	0.27	0.51	0.43	0.24	0.43	0	0.64	$0.025<p<0.975$	45
Моген	0.24	0.59	0.17	0.53	0.47	0.59	0.5	$p>0.05$	- 0.17	$0.025<p<0.975$	58
Сайзырал	0.29	0.54	0.17	0.56	0.44	0.54	0.5	$p>0.05$	- 0.08	$0.025<p<0.975$	63
Россия	0.36	0.50	0.14	0.61	0.39	0.48	0.52	0	0.09	$0.025<p<0.975$	357

В ходе исследования SNP *g.14853G>A* в гене *VEGF-A* было показано, что частота аллеля *A* в российских выборках в среднем значимо выше (0.39), чем в монгольских (0.31). На территории России преобладает генотип *GA* (0.50), в то время как в монгольской популяции наиболее распространен генотип *GG* (0.47). Кроме того, частота генотипа *AA* в популяции яка России (0.14) почти в полтора раза выше по сравнению с яками Монголии, где данный показатель составляет 0.09. Различия частот аллелей и генотипов России и Монголии значимы согласно точному тесту Фишера.

Поиск ассоциаций гена *VEGF-A* с высотой горного рельефа у яков Саяно-Алтайского региона

Для анализа были использованы генотипы двух SNP маркеров (*g.8430T>C* и *g.14853G>A*) и географические высоты местности разведения, h (м над уровнем моря).

Для анализа была применена линейная регрессионная модель с фиксированными эффектами:

$$h = e\mu + G_1\beta_1 + G_2\beta_2 + G_1 * G_2\beta_3 + \varepsilon \quad (1)$$

где n – общий объём выборки; e – $(n \times 1)$ вектор единиц; μ – интерсепт (скаляр); h – $(n \times 1)$ вектор значений высоты над уровнем моря, назначенных для всех особей; G_1 – $(n \times 1)$ вектор генотипов SNP₁ (TT=0, TC=1, CC=2), измеренных у всех особей; G_2 – $(n \times 1)$ вектор генотипов SNP₂ (GG=0, GA=1, AA=2), измеренных у всех особей; β_1 , β_2 и β_3 – регрессионные коэффициенты, характеризующие обратные эффекты высоты над уровнем моря на генотипы G_1 и G_2 и их взаимодействие, соответственно; ε – $(n \times 1)$ вектор случайных значений, имеющий стандартное нормальное распределение с нулевым вектором матожиданий и единичной ковариационной матрицей, $N(0, I)$.

Параметрами интереса модели (1) являются регрессионные коэффициенты β_1 , β_2 и β_3 , относительно которых было проведено тестирование нулевой гипотезы об отсутствии каких-либо ассоциаций, $H_0 (\beta = 0)$, против альтернативной гипотезы $H_1 (\beta \neq 0)$.

Тестирование гипотез было выполнено с помощью критерия Фишера, основанного на F-статистике, имеющей F-распределение со степенями свободы $df_1=n-m-1$ и $df_2=m$:

$$F = \frac{R^2(n-m-1)}{(1-R^2)m}$$

где m – число регрессионных коэффициентов; $R^2 = \frac{\tilde{h}^T G (G^T G)^{-1} G^T \tilde{h}}{n}$ – коэффициент детерминации (здесь « $\sim$ » обозначает стандартизованные значения).

С использованием встроенных функций *anova()* и *cor.test()* из стандартных библиотек R-среды показаны значимая ассоциация между SNP *g.14853G>A* и высотой над уровнем моря (рис. 8) и значимая корреляция между тем же маркером и высотой над уровнем моря (рис. 9).

```
> fit <- glm(h ~ G1 + G2 + G1*G2, family = "gaussian")
> anova(fit, test = 'F')
Analysis of Deviance Table
Model: gaussian, link: identity
Response: h
Terms added sequentially (first to last)
```

		Df	Deviance	Resid. Df	Resid. Dev	F	Pr(>F)
NULL		476	112115014				
G1	1	93768	475	112021246	0.4091	0.5227364	
G2	1	3251028	474	108770218	14.1839	0.0001867 ***	
G1*G2	1	355698	473	108414520	1.5519	0.2134767	

```
---
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Рисунок 8. Результаты *anova()*.

Красным цветом выделено р-значение, показывающее значимую ассоциацию между SNP *g.14853G>A* и высотой над уровнем моря.

```

> cor.test(h,G2) #SNP2
Pearson's product-moment correlation
data: h and G2
t = -3.6535, df = 475, p-value = 0.0002874
alternative hypothesis: true correlation is not equal to 0
95 percent confidence interval:
-0.25137967 -0.07668589
sample estimates:
cor
-0.1653293

```

Рисунок 9. Результаты *cor.test()*.

Красным цветом выделено р-значение, показывающее значимую корреляцию (<0.05) между SNP *g.14853G>A* и высотой над уровнем моря.

Таким образом, впервые выявлены ассоциация и корреляция между высотой горного рельефа и генотипом SNP *g.14853G>A* гена *VEGF-A* у яков Саяно-Алтайского региона России и Монголии.

Ранее, при исследовании трёх пород яка, обитающих на разных высотах Цинхай-Тибетского нагорья, была отмечена тенденция – с повышением высоты наблюдался рост частоты аллеля *A* в позиции *g.14853* гена *VEGF-A* [Wu, 2013]. Так, у породы Gannan (*h*=3600 м) частота данного аллеля составила 0.303, у породы Datong (*h*=3100 м) – 0.266, а у породы Tianzhu (*h*=2700 м) – 0.146. Однако, в данной работе поиск ассоциаций и корреляций генотипов SNP маркеров с высотой рельефа не проводился.

ВЫВОДЫ

1. Впервые показано, что популяции яка *Bos grunniens* Саяно-Алтайского региона России и Монголии характеризуются высоким гаплотипическим разнообразием мтДНК. Из 17 выявленных нами гаплотипов у яков России и Монголии 4 гаплотипа описано впервые.

2. Филогенетический анализ D-петли мтДНК выявил, что подавляющее большинство гаплотипов встречается как у одомашненных яков различных пород и географических популяций, так и у диких яков. Кроме этого, гаплогруппы образованы гаплотипами, выявленными у одомашненных и диких яков. Таким образом, гаплотипы не ассоциированы ни с формой (дикая или одомашненная), ни с породной или географической принадлежностью яка.

3. Впервые показано, что универсальные микросателлитные локусы *CSSM66*, *INRA023*, *SPS115*, *TGLA53*, *CSRM60* и *BM2113*, разработанные для

КРС, являются также информативными и пригодны для популяционных исследований яка *Bos grunniens*.

4. Впервые показано, что российские и монгольские популяции яка в целом характеризуются достаточно низким аллельным разнообразием микросателлитных локусов и невысоким уровнем генетических различий между популяциями. Генетическая структура яка Саяно-Алтайского региона России и Монголии указывает на слабую дифференциацию данных популяций.

5. Показана общая тенденция повышения частоты аллеля *A* в позиции *g.14853* гена *VEGF-A*, участвующего в механизмах адаптации к высокогорной гипоксии, с ростом высоты горного рельефа.

Список публикаций по теме диссертации Статьи из перечня рецензируемых научных журналов:

1. **Оюн, Н.Ю.** Анализ генетического разнообразия и популяционной структуры яка (*Bos grunniens*) Саяно-Алтайского региона / **Н.Ю. Оюн**, Е.А. Коноров, А.В. Урум, И.В. Артюшин, Г.Р. Свищёва, Ц. Цэндсурен, Ю.А. Столповский // Генетика. – 2018. – Т. 54. – № 10. – С. 1188–1199.

2. **Оюн, Н.Ю.** Исследование генетических основ адаптации яка *Bos grunniens* Саяно-Алтайского региона к условиям высокогорья / **Н.Ю. Оюн**, Е.А. Коноров, И.В. Артюшин, Ю.А. Столповский // Генетика. – 2018. – Т. 54. – Приложение – С. 59-63.

3. **Оюн, Н.Ю.** Генетические исследования яка *Bos grunniens* / **Н.Ю. Оюн** // Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия «Естественные и технические науки». – 2018. – № 10. – С. 17-21.

Тезисы докладов

1. Столповский, Ю.А. Генетическое разнообразие domesticiрованных видов животных *Bos taurus* и *Bos grunniens* Монголии и России / Ю.А. Столповский, Г.Р. Свищёва, **Н.Ю. Оюн**, А.В. Урум, Ц. Цэндсурэн // сборник «Генетика популяций: прогресс и перспективы. Материалы Международной научной конференции, посвященной 80-летию со дня рождения академика Ю.П. Алтухова (1936-2006) и 45-летию основания лаборатории популяционной генетики им. Ю.П. Алтухова ИОГен РАН». – Москва. – 2017. – С. 284-285

2. **Оюн, Н.Ю.** Генетическое разнообразие и дифференциация популяций яка *Bos grunniens* Саяно-Алтайского региона / **Н.Ю. Оюн**, А.В. Урум, Е.У. Мартынова // VII Международная школа молодых учёных по молекулярной генетике «Геномика и биология живых систем». – Москва. – 2016. – С. 49.