

ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЛОСЕЙ ПО ЛОКУСАМ МИКРОСАТЕЛЛИТОВ

¹Марзанов Н.С., ²Девришов Д.А., ²Марзанова С.Н.,
³Ситникова О.Н., ¹Марзанова Л.К.

¹Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ имени Л.К. Эрнста, Подольск-Дубровицы Московской области; ²Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина, Москва; ³Костромской государственной университет имени Н.А. Некрасова, Кострома, Российская Федерация.

Цель исследования – разработка генодиагностики и характеристика популяционно-генетической структуры лосей по 6 локусам микросателлитов в условиях Сумароковской лосефермы Костромского государственного природного заказника. Процесс одомашнивания лосей в Костромской области проводится в течение длительного времени. Применяется полувольный выпас – лоси, в основном, кормятся в лесу, недалеко от фермы, а в загон самки приходят рожать. В настоящее время в лосеферме находится около 40 животных. В выборке из 24 животных изучен аллелофонд по 6 локусам микросателлитов. Нарушение генетического равновесия показано у пяти из шести микросателлитных локусов (BM6438, CSSM43, ETH225, BM1225, CSRM60). Наибольший процент гомозиготности из 6 исследованных локусов был показан в ETH225 (62,5%), CSRM60 (58,3%) и TGLA53 (41,7%). Наименьший показатель числа действующих аллелей N_a установлен по локусу CSRM60 (1,83). Поскольку повышение уровня гомозиготности может приводить к ухудшению многих физиологических признаков, необходимо уточнить причины дефицита гетерозигот, которыми могут быть закрытость и немногочисленность популяции, смешение в выборке особей из генетически различающихся групп и другие факторы. Налаживание системы контроля разведения с использованием современных методов генодиагностики и популяционно-генетического анализа – это необходимый инструмент такого исследования.

Ключевые слова: лось, доместикация, микросателлиты, гетерозиготность, генетическое равновесие

Проблемы биологии продуктивных животных, 2018, 1: 75-82

Введение

Под генетическими ресурсами понимают меж- и внутривидовое генетическое разнообразие данного вида. Генетические ресурсы включают в себя как существующие популяции, так и законсервированный племенной материал: семя, яйцеклетки и эмбрионы. Поддержание генетических ресурсов у различных видов животных является важной мировой проблемой (Данилкин, 1999; Марзанов, Саморуков, 2003; Simianer, 2005; Wilson, Reeder, 2005; Столповский, 1997; 2010; Kholodova, 2014; Bruford et al., 2015; Hidasi-Neto et al., 2015; Kangas, 2015; Марзанов и др., 2017).

Практическими целями сохранения генетических ресурсов являются поддержание высокого уровня генетического разнообразия видов, сохранения своеобразия популяций, выживание определенной группы животных без потерь внутривидового разнообразия и одновременного ухода от инбридинга. Генетическое разнообразие многих видов животных изучены с помощью маркеров, принадлежащих к повторяющейся фракции геномной ДНК – микросателлитам, которые наследуются как менделирующие признаки и обладают необычайно

высоким уровнем полиморфизма. Аналогичные задачи преследуют в процессе продолжающего одомашнивания различных видов диких животных.

В этом отношении менее изучены лоси (*Alces alces*) – самый крупный вид семейства оленевых. В настоящее время создание лосевых ферм и разведение лосей представляется многообещающей отраслью в сельском хозяйстве, в основном, с целью производства лосиного молока, обладающего высокими диетическими и лечебными свойствами. В отличие от традиционно используемых видов сельскохозяйственных животных, популяционно-генетические характеристики популяций лоса исследованы недостаточно.

Цель исследования – разработка генодиагностики и характеристика популяционно-генетической структуры лосей по 6 локусам микросателлитов в условиях Сумароковской лосефермы Костромского государственного природного заказника*.

Материал и методы

Материалом для исследований служили образцы луковиц шерсти от 24 различных половозрастных групп лосей из Сумароковской лосефермы Костромской области*.

Волосы выщипывали от 24 лосей из боковой стенки живота. От каждого животного брали от 25 до 30 волос с хорошо видимыми луковицами. Образцы волос для выделения ДНК хранили до момента их использования в условиях комнатной температуры. Луковицы помещали в 1,5 мл центрифужные пробирки типа Эппендорф, содержавшие 300 мкл лизирующего раствора и лизировали при комнатной температуре в течение 24 ч. Лизис считался завершённым, если в пробирках Эппендорфа не видны были кусочки ткани. Затем, после тщательного перемешивания пробирки прогревали при температуре 65°C в течение 5 минут (Марзанова, 2012).

После кратковременного центрифугирования на вортексе добавляли тщательно ресуспендированный сорбент в пробирки по 30 мкл, перемешивали на центрифуге типа вортекс и оставляли в штативе на 2 мин, вторично перемешивали и снова оставляли на 2 мин. Центрифугировали пробирки 30 с при 5 тыс/об. Удаляли надосадочную жидкость с помощью вакуумного отсасывателя с колбой-ловушкой и отдельным наконечником.

После серии отмывок от белков, полисахаридов и солей сорбент подсушивали в термостате при 65°C в течение 15 мин., к осадку добавляли 100 мкл элюирующего раствора, перемешивали и прогревали при 65°C 5 мин. Центрифугировали пробирки при 13 тыс/об в течение 2 мин. Надосадочную, жидкость содержащую очищенную ДНК переносили в чистую пробирку.

*Сумароковская лосиная ферма в Костромской области начала заниматься одомашниванием лосей с 1963 года. В сотрудничестве с рядом научных учреждений были разработаны технология выращивания молодняка и содержания взрослых животных, машинного доения лосих, получен ценный материал по биологии лося: поведению, размножению, морфологии; изучались физиологические и биологические показатели, гельминтозные заболевания и другие вопросы. С 2015 г лосиная ферма имеет статус областного государственного бюджетного учреждения «Государственный природный заказник «Сумароковский». В настоящее время в заказнике живёт около 40 животных. Привозить на ферму веточный корм невыгодно, поскольку лоси съедают лишь небольшую часть древесины. Поэтому лоси, в основном, кормятся в лесу, недалеко от фермы, а в загон самки приходят рожать. <https://www.trip-guide.ru/page_21095.htm>. Имеющийся мировой опыт показывает, что разведение мясных лосей на полувольном выпасе экономически нецелесообразно, однако производство диетических и лечебных продуктов из лосиного молока имеет большие перспективы. <<https://tetatet-club.ru/reserve/elk-farm>>. <https://www.trip-guide.ru/page_21095.htm>.

Выделение ДНК проводили с помощью сорбентного метода, в соответствии с инструкциями производителя. Концентрацию выделенной ДНК и содержание белка в образцах измеряли на биофотометре GeneQuant (RNA/DNA calculator) фирмы Pharmacia Biotech (Швеция). Для работы, выделенную ДНК доводили до концентрации 10 нг/мкл пропорциональным добавлением деионизированной воды.

Концентрацию выделенной ДНК и содержание белка в образцах измеряли на биофотометре GeneQuant (RNA/DNA calculator) фирмы Pharmacia Biotech (Швеция). Образцы с низкой концентрацией ДНК или высокой концентрацией белка доводили до рабочей кондиции, т.е. лишний белок удаляли. В случае недостаточного для работы содержания ДНК в выделенном субстрате, дополнительно выделяли его из имеющихся луковиц. Далее пробы ДНК замораживали и хранили при температуре – 16°C для дальнейшей работы.

Электрофоретическое разделение фрагментов ДНК методом капиллярного электрофореза проводили по методологии ООО «ГОРДИЗ» в модификации ООО «СИНТОЛ» (г. Москва). Поскольку компьютерный анализ иногда дает некорректное отображение величины аллелей, последующие исправления проводили вручную, согласно размерам аллелей ДНК референтных животных для исследуемых локусов микросателлитов.

Исследования проводили по трём микросателлитным локусам лосей (BM6438; CSSM43; BM1225) и по трём – крупного рогатого скота (ETH225; TGLA53; CSRM60), адаптированным для данных исследований. В данном случае мы применяли наиболее отработанные микросателлиты КРС. Впервые были использованы диады (мать-потомок) и триады (отец-мать-потомок). Как показали эксперименты, наблюдалось чёткое наследование аллелей и формирование генотипов в родственных группах. В данном опыте использование праймеров показало, что есть гомологичные участки ДНК у двух видов жвачных животных – лосей и КРС.

Для постановки ПЦР приготавливали раствор объёмом 10 мкл, куда вошли 1-2 мкл ДНК, 1 мкл 10× PCR-буфера, 1 мкл dNTPs (2 mM), 0,4 мкл праймеров (10 мкМ), 0,3-0,6 мкл MgCl₂ (1,5-3,0 mM) и 0,6 мкл ДНК-полимеразы. ПЦР начинали с денатурации ДНК при 94°C в течение 5 мин., затем 35 циклов денатурации 30 с при 94°C, в дальнейшем проводился отжиг 30 с при температуре от 45 до 55°C и синтез, сначала 30 с при 72°C, а затем 7 мин. Концентрация MgCl₂ колебалась от 1,5 mM до 2,0 mM.

Исследования проводили на приборе типа DNA Analyzer (фирмы «Applied Biosystems»). Использованные праймеры для определения аллелей микросателлитов были окрашены в разные цвета. Прямые и обратные праймеры были мечены флуоресцентными красками (FAM, R6G TAMRA и ROX). Одна из вышеуказанных красок добавлялась в реакционную смесь для постановки ПЦР.

Для определения генотипов и аллелей в микросателлитном локусе BM6438, праймеры метили краской FAM, излучавшая синее свечение. Праймеры, предназначенные для микросателлитного локуса CSSM43, метили краской R6G, которая давала зеленое свечение. Что касается праймеров ETH225, TGLA53, BM1225 локусов, то все они метились краской TAMRA и давали желтое свечение. Праймеры для CSNM60 локуса метили краской типа ROX, она давала красное свечение. В процессе проведенных исследований по 6 локусам микросателлитов были получены, как гомозиготные, так и гетерозиготные генотипы.

Таким образом, впервые в условиях Российской Федерации выделена ДНК у лосей. Работа следующего этапа включала проведение характеристики молекулярно-генетической структуры у лосей с целью анализа родства и ДНК-индивидуализации животных на основе мультиплексного ПЦР-анализа 6-ти локусов, содержащих короткие tandemные повторы (STR), известные также как микросателлитные локусы. Для проведения исследований раствор ДНК доводили до концентрации 10 нг/мкл пропорциональным добавлением деионизированной воды.

Разделение фрагментов ДНК методом капиллярного электрофореза проводили на приборе типа DNA Analyzer (фирмы «Applied Biosystems») по методологии ООО «ГОРДИЗ» в модификации ЗАО «СИНТОЛ».

Исследования проводили в 4-х группах: 1, 2 и 4 группы в каждый капилляр помещали смесь продукта амплификации в количестве 1 мкл; для 3 группы микросателлитов, проводили анализ каждого по отдельности.

При подготовке смеси продукта амплификации использовали флуоресцентно-меченые праймеры. Поскольку компьютерный анализ иногда дает некорректное отображение величины аллелей, последующую коррекцию проводили в ручную, согласно референтной длине аллелей ДНК для исследуемых локусов микросателлитов.

По данным анализа микросателлитных локусов рассчитывали индекс фиксации Райта F_{is} – коэффициент инбридинга, показывающий нехватку или избыток фактически наблюдаемой гетерозиготности по исследуемому локусу в сравнении с теоретической оценкой для многочисленной популяции со случайным скрещиванием (коэффициент эксцесса D , Захаров, 2006):

$$F_{is} = (H_o - H_e) / H_e,$$

где H_o – наблюдаемая (*observed*) гетерозиготность, H_e – ожидаемая (*expected*) гетерозиготность.

Ожидаемая по соотношениям Харди-Вайнберга гомозиготность равна $H_o = \sum_{i=1}^n p_i^2$,

где p_i – частота гомозигот по изучаемому локусу. Исходя из этого, ожидаемая гетерозиготность равна (Nei, 1975):

$$H_e = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

Нарушение генетического равновесия оценивали по методу χ^2 (Животовский, 1991):

$$\chi^2 = \sum \frac{(f - F)^2}{F},$$

где f – наблюдаемое число генотипов; F – ожидаемое число генотипов. Уровень значимости отклонения от соотношений Харди-Вайнберга для полиаллельных локусов определяли по полученной величине обычным сравнением с χ^2 -распределением при числе степеней свободы $\nu = \frac{n(n-1)}{2}$, где n – число аллелей.

Величина Na , обратная степени гомозиготности полиаллельных генотипов, названная А. Робертсоном уровнем полиморфности или показателем числа действующих аллелей локуса (Меркурьева, 1977):

$$Na = \frac{1}{Ca} = \frac{1}{\sum_{i=1}^n p_i^2}$$

где Ca – уровень гомозиготности по исследуемому локусу.

Коэффициент V , означающий возможную степень реализации генетической изменчивости (по А. Робертсону, цит. по: Меркурьева, 1977) определяли по формуле:

$$V = \left(\frac{1 - Ca}{1 - \frac{1}{N}} \right) \times 100$$

где N – число исследованных животных, Ca – уровень гомозиготности.

Результаты и обсуждение

Сравнительный анализ фактической с теоретически рассчитанной гетерозиготностью проводили по шести локусам микросателлитов (BM6438, CSSM43, BM1225, ETH225, TGLA53, CSRM60) (табл. 1). Уровень наблюдаемой гетерозиготности (H_o) варьировал от 0,375 до 0,985, а показатель ожидаемой гетерозиготности (H_e) – от 0,455 до 0,751. Меньше всего аллелей оказалось в двух локусах микросателлитов: TGLA53 и CSRM60 ($n=3$). Сопоставление фактического и ожидаемого уровня гетерозиготности показало, что в трех локусах микросателлитов (BM6438, CSRM60 и ETH225) у изучаемой популяции лосей отмечался относительный дефицит гетерозигот, что видно из данных по коэффициенту эксцесса (F_{is}). Он был наименьшим в локусе BM6438 (4,8%), затем в CSRM60 (8,4%) и очень высоким в локусе ETH225 (45%).

Таблица 1. Число аллелей на локус, уровень наблюдаемой, ожидаемой гетерозиготности и индекс фиксации Райта (коэффициент эксцесса) по исследованным локусам микросателлитов у лосей

Локусы микросателлитов	Число аллелей на локус	H_o	H_e	F_{is}
BM6438	5	0,708	0,744	-0,048
CSSM43	10	0,917	0,751	0,221
BM1225	8	0,985	0,679	0,411
ETH225	5	0,375	0,683	-0,45
TGLA53	3	0,583	0,457	0,276
CSRM60	3	0,417	0,455	-0,084
В среднем	5,67	0,664	0,628	0,057

Наоборот, значительный избыток гетерозигот был выявлен у исследованных лосей в локусах CSSM43 (22,1%), TGLA53 (27,6%), BM1225 (41,1%). Превышение средней наблюдаемой гетерозиготности в сравнении с ожидаемой составило 3,6% при среднем значении коэффициента эксцесса F_{is} по всем локусам, равном 5,7%. В табл. 2 приведены численные значения, а также отношение числа гетерозиготных и гомозиготных генотипов (K).

Таблица 2. Показатели популяционно-генетической структуры лосей из Сумароковской фермы Костромской области ($n=24$)

Локус	Гт	Генетические показатели						Генетическое равновесие	% гомозиготности
		Число гетерозиготных генотипов	Число гомозиготных генотипов	K	Ca	V	Na		
BM6438	H	17	7	2,43	0,256	77,7	3,91	Нет	29,2
	O	17,86	6,14	2,91					
CSSM43	H	22	2	11	0,233	80,1	4,29	Нет	8,3
	O	18,03	5,97	3,02					
ETH225	H	9	15	0,6	0,317	71,3	3,15	Нет	62,5
	O	16,38	7,62	2,15					
TGLA53	H	14	10	1,4	0,543	47,7	1,84	Есть	41,7
	O	10,97	13,03	0,8					
BM1225	H	23	1	23	0,322	71	3,11	Нет	4,2
	O	16,3	7,7	2,12					
CSRM60	H	10	14	0,714	0,545	47,5	1,83	Нет	58,3
	O	10,92	13,08	0,835					

Примечания: Гт – генотип; H – наблюдаемое число генотипов; O – ожидаемое число генотипов; K – отношение числа гетерозиготных и гомозиготных генотипов; Ca – коэффициент гомозиготности; V – показатель возможной степени реализации изменчивости; Na – показатель числа эффективных аллелей.

Наибольший коэффициент отношения гетерозиготных генотипов к гомозиготным установлен в локусах BM1225 (23) и CSSM43 (11), во всех остальных, полученные данные колебались от 0,6 до 2,43.

Нарушение генетического равновесия отмечали у пяти из шести микросателлитных локусов (BM6438, CSSM43, ETH225, BM1225, CSRM60). Исключением являлся TGLA53 locus, у которого не было отмечено нарушения генного равновесия ($\chi^2=2,42$; $df=3$; $P>0,05$).

Коэффициент гомозиготности C_a оказался наименьшим по следующим микросателлитным локусам: BM6438 (0,256) и CSSM43 (0,233); средним - у ETH225 (0,317) и BM1225 (0,322). Наибольшее значение коэффициента гомозиготности имели два локуса микросателлитов (TGLA53 – 0,543 и CSRM60 – 0,545). Известно, что повышение показателя коэффициента гомозиготности – нежелательное явление, поскольку при этом отмечается тенденция к ухудшению большинства признаков. Поэтому необходим систематический контроль аллелофонда популяции лосей, обитающих на территории Сумароковского заказника, но и живущих в условиях дикой природы Костромской области.

Наибольшие показатели коэффициента V , отражающего возможную степень реализации изменчивости, были получены по микросателлитным локусам CSSM43 (80,06%), BM6438 (77,7%), ETH225 (71,3%) и BM1225 (71%). Наименьшие значения по данному показателю были установлены по локусам: TGLA53 (47,7%) и CSRM60 (47,5%).

Наиболее высокий показатель числа эффективных аллелей N_a (показатель уровня полиморфности локуса) выявлен по локусу CSSM43 (4,29), затем BM6438 (3,906) и далее ETH225 (3,15), BM1225 (3,11), TGLA53 (1,84), наименьший – по локусу CSRM60 (1,83). Наибольший процент гомозиготности из 6 исследованных локусов был установлен в ETH225 (62,5%), CSRM60 (58,3%) и TGLA53 (41,7%), средний показатель – в BM6438 (29,2%), наименьшие показатели – в локусах: BM1225 (4,2%) и CSSM43 (8,3%).

Таким образом, впервые в РФ дана характеристика популяционно-генетической структуры в группе лосей, одомашниваемых в условиях заказника. Определено генетическое разнообразие разводимой популяции по уровню гетерозиготности микросателлитных локусов. Выявлено нарушение генетического равновесия по пяти из шести микросателлитных локусов. В трёх локусах микросателлитов из шести выявлен дефицит гетерозигот. Поскольку повышение уровня гомозиготности может приводить к ухудшению многих физиологических признаков, необходимо уточнить причины дефицита гетерозигот, которыми могут быть закрытость и немногочисленность популяции, наличие в выборке особей из генетически однородных групп и другие факторы. Налаживание системы контроля разведения с использованием современных методов генодиагностики и популяционно-генетического анализа – это необходимый инструмент такого исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Данилкин А.А. Олени (Cervidae) / Млекопитающие России и сопредельных регионов. – М.: ГЕОС, 1999. – 552 с.
2. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. – М.: Наука, 1991. – 271 с.
3. Захаров И.А. (отв. ред.). Генофонды сельскохозяйственных животных. Генетические ресурсы животноводства России. – М.: Наука, 2006. – 468 с.
4. Марзанов Н.С., Саморуков Ю.В. Как нам спасти вымирающие виды животных // Животноводство России. – 2003. – № 3 – С. 8-9.
5. Марзанов Н.С., Фейзуллаев Ф.Р., Марзанова Л.К., Комкова Е.А., Озеров М.Ю., Кантанен Ю., Лазебный О.Е., Марзанова С.Н. Оценка аллелофонда овец полутонкорунных пород по различным типам генетических маркеров. – М.: ЗооВетКнига, 2017. – 67с.
6. Марзанова С.Н. Разработка генодиагностики комплекса аномалий позвоночника [CVM] и иммунодефицита [BLAD] у животных черно-пестрого голштинизированного скота: автореф. дисс. к.б.н. – М., 2012. – 144с.
7. Меркурьева Е.К. Генетические основы селекции в скотоводстве. – М.: изд. «Колос», 1977. – 239 с.

8. Столповский Ю.А. Консервация генетических ресурсов сельскохозяйственных животных: проблемы и принципы их решения. – М.: изд. «Эребус», 1997. – 112 с.
9. Столповский Ю.А. Популяционно-генетические основы сохранения ресурсов генофондов domesticiрованных видов животных: автореф. дисс. д.б.н. – М., 2010. – 29 с.
10. Bruford M.W., Ginja C., Hoffmann I., Joost S., Wengel P.O. et al. Prospects and challenges for the conservation of farm animal genomic resources, 2015-2025 // *Frontiers in Genetics*. – 2015. – Vol.6. – Article 314. doi: 10.3389/fgene.2015.00314
11. Hidasi-Neto J., Loyola R., Cianciaruso M.V. Global and local evolutionary and ecological distinctiveness of terrestrial mammals: identifying priorities across scales // *Diversity and Distributions*. – 2015. – Vol. 1-12. doi: 10.1111/ddi.12320
12. Hundertmark K.J., Bowyer R.T. Genetics, evolution and phylogeography of moose // *Alces*. – 2004. – Vol. 40. – P. 103-122.
13. Kangas V.-M. Genetic and phenotypic variation of the moose (*ALCES ALCES*). Academic dissertation to be presented with the assent of the doctoral training committee of technology and natural sciences of the university of Oulu for public defence in Kuusamonsali (YB210). – Oulu: University of Oulu, 2015. – 64 p.
14. Kholodova M.V., Korytin N.S., Bolshakov V.N. The role of the Urals in the genetic diversity of the european moose subspecies (*Alces alces alces*) // *Biology Bulletin*. – 2014. – Vol. 41. – No. 6. – P. 522–528.
15. Nei M. Molecular population genetics and evolution. – Amsterdam, 1975. – 248 p.
16. Simianer H. Conservation programmers for African cattle: design, cost and benefits // *J. Anim. Breed. Genet.* – 2005. – Vol. 122. – P. 5-15.
17. Wilson D.E., Reeder D.M. (Eds). *Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference* (3rd ed.). – Baltimore: Johns Hopkins University Press, 2005. – Vol. 1-2. – 2142 p.

REFERENCES

1. Bruford M.W., Ginja C., Hoffmann I., Joost S., Wengel P.O. et al. Prospects and challenges for the conservation of farm animal genomic resources, 2015-2025. *Frontiers in Genetics*. 2015, 6. Article 314. doi: 10.3389/fgene.2015.00314
2. Danilkin A.A. *Olen'i (Cervidae) / Mlekopitayushchie Rossii i sopredel'nykh regionov* (Mammals of Russia and adjacent regions). Moscow: GEOS Publ., 1999, 552 p.
3. Hidasi-Neto J., Loyola R., Cianciaruso M.V. Global and local evolutionary and ecological distinctiveness of terrestrial mammals: identifying priorities across scales. *Diversity and Distributions*. 2015, 1-12. doi: 10.1111/ddi.12320
4. Hundertmark K.J., Bowyer R.T. Genetics, evolution and phylogeography of moose. *Alces*. 2004, 40: 103-122.
5. Kangas V.-M. *Genetic and phenotypic variation of the moose (ALCES ALCES)*. Academic dissertation to be presented with the assent of the doctoral training committee of technology and natural sciences of the university of Oulu for public defence in Kuusamonsali (YB210). Oulu: University of Oulu, 2015, 64 p.
6. Kholodova M.V., Korytin N.S., Bolshakov V.N. The role of the Urals in the genetic diversity of the european moose subspecies (*Alces alces alces*). *Biology Bulletin*. 2014, 41(6): 522-528.
7. Marzanov N.S., Samorukov U.V. [How can we save endangered species of animals?]. *Zhivotnovodstvo Rossii - Animal Husbandry in Russia*. 2003, 3: 8-9.
8. Marzanov N.S., Feizullaev F.R., Marzanova L.K., Komkova E.A., Ozerov M.Yu., Kantanen Yu., Lazebnyi O.E., Marzanova S.N. *Otsenka allelofonda ovets polutonkorunnykh porod po razlichnym tipam geneticheskikh markerov* (Evaluation of allele pool of sheep semitoncorneous breeds by different types of genetic markers). Moscow: ZooVetKniga Publ., 2017, 67 p.
9. Marzanova S.N. *Razrabotka genodiagnostiki kompleksa anomalii pozvonochnika [CVM] i immunodefitsita [BLAD] u zhivotnykh cherno-pestrogo golshtinizirovannogo skota* (Development of genodiagnosis of the complex vertebral malformation [CVM] and immunodeficiency [BLAD] complex in animals of black-and-white Holsteinized cattle). Extended Abstract of Diss. Cand. Sci. Biol., Moscow, 2012, 28 p.
10. Merkur'eva E.K. *Geneticheskie osnovy selektsii v skotovodstve* (Genetic basis of selection in cattle breeding). Moscow: Kolos Publ., 1977, 239 p.
11. Nei M. *Molecular population genetics and evolution*. Amsterdam, 1975, 248 p.
12. Simianer H. Conservation programmers for African cattle: design, cost and benefits. *J Anim. Breed. Genet.* 2005, 122: 5-15.

13. Stolpovskii Yu.A. *Konservatsiya geneticheskikh resursov sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh: problemy i printsipy ikh resheniya* (Conservation of genetic resources of agricultural animals: problems and principles of their solution). Moscow: Erebus Publ., 1997, 112 p.
14. Stolpovskii Yu.A. *Populacionno-geneticheskie osnovy sokhraneniya resursov genofondov domestizirovannykh vidov zhivotnykh* (Population-genetic bases of conservation of resources of gene pools of domesticated animal species). Extended Abstract of Diss. Dr. Sci. Biol., Moscow, 2010, 29 p.
15. Wilson D.E., Reeder D.M. (Eds). *Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference*. Baltimore: Johns Hopkins University Press Publ., 2005, Vol. 1-2, 2142 p.
16. Zakharov I.A. (Ed.). *Genofondy sel'skokhozyaistvennykh zhivotnykh. Geneticheskie resursy zhivotnovodstva Rossii* (Gene Pools of Farm Animals. Genetic Resources of Russia). Moscow: Nauka Publ., 2006, 468 p.
17. Zhivotovskii L.A. *Populyatsionnaya biometriya* (Population Biometrics). Moscow: Nauka Publ., 1991, 271 p.

Population-genetic characteristics of moose by microsatellite loci

¹Marzanov N.S., ²Devrishov D.A., ²Marzanova S.N.,
³Sitnikova O.N., ¹Marzanova L.K.

¹*Ernst Institute for Animal Husbandry, Podolsk-Dubrovitsy, Moscow oblast;*
²*Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, Moscow;*
³*Nekrasov Kostroma State University, Kostroma, Russian Federation*

ABSTRACT. The aim of the study was the development of genodiagnostics and the characteristics of the population-genetic structure of moose at six loci of microsatellites in the conditions of the Sumarokovskaya moose farm of the Kostroma State Nature Reserve. The process of moose domestication in the Kostroma region has been going on for a long time. It is used a semi-free grazing, moose mostly feed in the forest, not far from the farm, and in the enclosure the females come to give birth. Currently, there are about 40 animals in the moose farm. In a sample of 24 animals, an allelofund was examined for six loci of microsatellites. A violation of genetic equilibrium is shown in five of the six microsatellite loci (BM6438, CSSM43, ETH225, BM1225, CSRM60). The highest percentage of homozygosity from 6 investigated loci was shown in ETH225 (62.5%), CSRM60 (58.3%) and TGLA53 (41.7%). The lowest index of the number of acting alleles N_a was established at the locus CSRM60 (1.83). Since an increase in the level of homozygosity can lead to the deterioration of many physiological signs, it is necessary to clarify the reasons for the heterozygote deficiency, which may be the closeness and scarcity of the population, the mixing in the sample of individuals from genetically different groups and other factors. Establishment of a control system for breeding using modern methods of genodiagnostics and population-genetic analysis is a necessary tool for such a study.

Keywords: moose, domestication, microsatellites, heterozygosity, genetic equilibrium

Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh - Problems of Productive Animal Biology, 2018, 1: 75-82

Поступило в редакцию: 22.11.2017

Получено после доработки: 22.12.2017

Марзанов Нурбий Сафарбиевич, д.б.н., 8(915)353-45-72, nmarzanov@yandex.ru;

Девришов Давуд Абдулсемедович, д.б.н., член-корр. РАН, 8(495)740-24-09,
agrovet@agrovet.ru;

Марзанова Саида Нурбиевна, к.б.н., доц., 8(915)353-45-72, nmarzanov@yandex.ru;

Ситникова Ольга Николаевна, асп.; sitnikova@ksu.edu.ru;

Марзанова Лидия Каплановна, к.б.н., с.н.с., 8(916)794-87-56, nmarzanov@yandex.ru