

Генетическая характеристика кодарского снежного барана по SNP маркерам

Д. Г. МЕДВЕДЕВ^{1,2}, А. В. ДОЦЕВ², И. М. ОХЛОПКОВ^{2,3}, Т. Е. ДЕНИСКОВА², Х. РЕЙЕР⁴, К. ВИММЕРС⁴, Г. БРЕМ^{2,5}, В. А. БАГИРОВ², Н. А. ЗИНОВЬЕВА²

¹ Фонд изучения, сохранения снежного барса (ирбиса) и редких видов горной фауны
664011, Иркутск, ул. Пролетарская, 9
E-mail: dmimedvedev@yandex.ru

² Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства
им. академика Л. К. Эрнста
142132, Дубровицы, 60
E-mail: n_zinovieva@mail.ru

³ Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН
677890, Якутск, просп. Ленина, 41
E-mail: imo-ibpc@yandex.ru

⁴ Институт геномной биологии института биологии домашних животных Лейбница,
18196, Думмерсторф, Вильгельм-Стахл-Аллее, 2
E-mail: wimmers@fhn-dummerstorf.de; reyer@fhn-dummerstorf.de

⁵ Институт животноводства и генетики ветеринарно-медицинского университета
Вена, А-1210, Ветеринарплац, 1
E-mail: gottfried.brem@agrobiogen.de

Статья поступила 06.04.2017

Принята к печати 12.04.2017

АННОТАЦИЯ

Впервые выполнено исследование полиморфизма ядерной ДНК у особи кодарского снежного барана, KOD (*Ovis nivicola kodarensis*) – представителя изолированной малочисленной локальной популяции азиатского снежного барана (*Ovis nivicola* Eschscholtz, 1829), имеющей “точечный” ареал на хр. Кодар (Иркутская обл., Забайкальский край). Проведено сравнение с географически наиболее близким якутским подвидом (*Ovis nivicola lydekkeri*). У кодарского барана установлен практически в 10 раз более низкий уровень генетического разнообразия, оцененного по показателям мультилокусной гетерозиготности – MLH (0,027 у KOD против 0,215–0,270 – у индивидуумов якутского подвида) и стандартизированной MLH – stMLH (0,116 против 0,910–0,147). По результатам многомерного шкалирования (MDS), генетических дистанций Нея (D_N) и STRUCTURE-анализа показана четкая генетическая дифференциация кодарского барана от особей якутского подвида. Полученные данные являются первым шагом в понимании демографической истории самобытной кодарской популяции снежного барана.

Ключевые слова: снежный баран, кодарский, генетический анализ, SNP.

© Медведев Д. Г., Доцев А. В., Охлопков И. М., Денискова Т. Е., Рейер Х., Виммерс К., Брем Г., Багиров В. А., Зиновьева Н. А., 2017

Азиатский снежный баран (*Ovis nivicola* Eschscholtz, 1829) относится к приоритетным видам для сохранения биологического разнообразия России как эндемик горных систем Восточной Сибири и севера Дальнего Востока. Он населяет горные системы Якутии, Приохотья, Камчатки, Корякского нагорья, Чукотки, плато Путорана [Железнов-Чукотский, 1994]. В настоящее время это животное признается как четко очерченный вид, в котором, чаще всего, выделяются 3–5 подвидов, из них наиболее обособлены номинативный *O. n. nivicola* – Камчатка, *O. n. lydekkeri* – Якутия, *O. n. borealis* – плато Путорана [Павлинов, 2012]. Систематическое разделение подвидов от номинативного вида в основном базируется на различиях в окраске, положении и величине околостовного пятна и пропорциях тела баранов. Вместе с тем начиная с конца XIX в. ряд авторов указывают на существование еще одной изолированной популяции снежного барана на хр. Кодар [Поляков, 1873; Скалон, 1935, 1949, 1951; Павлов, 1949; Водопьянов, 1971; Сопин, Ермолин, 1986, 1988; Ревин и др., 1988], хотя о ней не упоминается в известных сводках по географическому распространению рода *Ovis* (горные и снежные бараны) [Северцов, 1873; Дорогостайский, Насонов, 1915; Насонов, 1923]. Кодарский снежный баран (*O. n. kodarensis* Medvedev, 1994) (рис. 1) впер-



Рис. 1. Кодарский снежный баран.

Два взрослеющих самца (перелинявшие, в летнем наряде) на платообразном участке – “столе” в междуречье рек Апсат и Средний Сакукан (щебнистая горная тундра, высота 2650 м над ур. м. Фото Д. Г. Медведева, 28 июля 2016 г.)

вые описан Д. Г. Медведевым [1994] по результатам проведенных экспедиционных исследований в Северном Забайкалье. В последующем использование фото- и видеорегистраторов позволили провести мониторинговые исследования и запечатлеть уникальное поведение каменного угля этими редкими животными. Кодарский снежный баран занесен в Красные книги Иркутской обл. [Красная книга..., 2010] и Забайкальского края [Красная книга..., 2012], является кандидатом для внесения в Красную книгу Российской Федерации.

Кодарская популяция – это малочисленная, локальная исключительно самобытная популяция снежного барана, имеющая “точечный” ареал только на хр. Кодар – высочайшем в Витимо-Олекминском нагорье. Ее общая численность по разным сезонам и годам учета оценивается от 270 до 400–500 особей и является относительно стабильной по годам [Медведев, 2003]. Ареал кодарского снежного барана начинается несколько восточнее 117° в. д. в бассейне р. Сюльбан и достигает в крайней восточной точке высокогорной области Кодара, ограниченного р. Чара 119° в. д. Крайняя южная точка ареала находится южнее 56°40′ (между 56°40′ и 56°30′) в горах, окружающих р. Сюльбан. Северная граница ареала проходит от района оз. Ничатка по направлению к р. Чара между 57°50′ и 57°30′ с. ш. или несколько южнее [Medvedev, 2009]. Считается, что кодарская популяция сохранилась благодаря высоте хр. Кодар, крутизне его склонов и наличию “ледникового щита” – обилию разнообразных по площади, форме и положению комплекса глетчеров, за что эта территория получила название “Кодарский ледниковый район” [Преображенский, 1960; Данилкин, 2005]. Именно эта совокупность природных условий, наличие свойственных только хр. Кодар геобиоценозов вместе с климатическими особенностями (малоснежье) явилось определяющим фактором сохранения в этих местах снежного барана. Собственно хр. Кодар и обитающая в его границах реликтовая популяция снежного барана являются уникальной природной экологической моделью, на примере изучения которой можно выявить возможные причины сокращения, дробления исторического ареала азиатского снежного

барана и выработать механизмы его реконструкции и восстановления. Если морфологические признаки этого животного описаны достаточно подробно [Медведев, 1994, 2003; Medvedev, 2009], то его генетические особенности до настоящего времени остаются неизученными.

Секвенирование полных геномов и создание на их основе матриц однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) средней и высокой плотности открыло новые возможности в понимании генетики видов животных. Для немодельных организмов (т. е. тех, чей геном еще не секвенирован) находит применение использование SNP-матриц, разработанных для близкородственных видов [Seeb et al., 2011]. Так, BovineSNP50K BeadChip, разработанный для домашнего крупного рогатого скота, использовался для характеристики структуры популяции Европейского бизона (*Bison bonasus*) [Tokarska et al., 2009], дифференциации эндемичных видов оленей Северной Америки – чернохвостого (*Odocoileus hemionus*) и белохвостого (*O. virginianus*) [Haynes, Latch, 2012], оценки биоразнообразия северных оленей (*Rangifer tarandus*) [Kharzinova et al., 2015, 2016]. С использованием OvineSNP50K BeadChip, разработанного для домашних овец, изучена генетическая структура популяции канадского толсторога (*O. canadensis*) и баранов Далла (*O. dalli*) [Miller et al., 2011], а также якутской популяции снежного барана [Deniskova et al., 2016]. Несмотря на то, что доля полиморфных SNP снижается с увеличением генетических дистанций между исследуемым немодельным видом и видом, для которого разработана ДНК-матрица, достигая лишь 5 % для видов, которые разошлись три миллиона лет назад [Miller et al., 2011], получаемая информация имеет неоценимое значение в генетической характеристике организмов, для которых собственные ДНК-матрицы пока отсутствуют.

Цель настоящей работы – генетическая характеристика и оценка степени дивергенции кодарского снежного барана от наиболее географически близкого подвида – якутского снежного барана с использованием ДНК-чипа средней плотности Ovine SNP50 BeadChip.

Материалом для исследований служил образец ткани кодарского снежного барана (*O. n. kodarensis* Medvedev, 1994), отобранный в 2016 г. от взрослого самца, павшего в результате схода лавины (KOD). Геномную ДНК выделяли с помощью колонок Nexttec (Nexttec Biotechnologie GmbH, Германия) в соответствии с рекомендациями производителя. Скрининг SNP проводили с использованием чипа Illumina OvineSNP50 BeadChip (Illumina Inc., San Diego, CA, США), включающего 54241 SNP. Стенерированный SNP-профиль кодарского барана встраивали в матрицу данных, содержащую полученные ранее SNP-профили индивидуумов пяти различных географических группировок якутского снежного барана (*O. n. lydekkeri*, Kowarzik, 1913): Хараулахский хребет, Тикси (ТИК, $n = 5$), хр. Орулган (ORU, $n = 5$), Центральное Верхоянье (VER, $n = 5$), хр. Сунтар-Хаята, SKH, $n = 5$), Момский хребет (МОМ, $n = 5$). Географическая карта с обозначенной локализацией исследованных образцов приведена на рис. 2.

Контроль качества генотипирования проводили с помощью программного обеспечения



Рис. 2. Географические точки отбора образцов, используемых в исследовании.

Популяции снежного барана: KOD – хр. Кодар, ТИК – Хараулахский хребет, Тикси, ORU – хр. Орулган, VER – Центральное Верхоянье, SKH – хр. Сунтар-Хаята, MOM – Момский хребет

PLINK 1.07. В финальный набор маркеров отбирали SNP, генотипированные не менее чем у 90 % индивидуумов с GenCall Score > 0.5, имеющие частоту минорного аллеля (MAF) > 1 % и находящиеся в равновесии по Харди – Вайнбергу ($p < 1e - 6$). Генетическое разнообразие оценивали по показателям мультилокусной гетерозиготности (MLH) и стандартизированной MLH (stMLH) с использованием R пакета “inbreedR” [Stoffel et al., 2016]. MLH рассчитывали как отношение полиморфных локусов к общему количеству генотипированных локусов у индивидуума, stMLH – как отношение количества полиморфных локусов у индивидуума к наблюдаемой гетерозиготности в исследуемой популяции. С целью оценки точности предсказания индивидуальной гетерозиготности на геномном уровне с применением отобранного набора маркеров рассчитывали ожидаемую корреляцию (r^2). Многомерное шкалирование (MDS), основанное на дистанциях идентичности по состоянию (IBS, identical-by-state) проводили, используя PLINK 1.07 (—cluster, —mds-plot 4) и визуализировали с помощью R пакета “ggplot2” [Wickham, 2009]. Популяционную структуру оценивали, используя адмикс-модель в программе STRUCTURE 2.3.4 [Pritchard et al., 2000]. Анализ осуществляли для числа K (число предполагаемых популяций) от 1 до 6, со следующими установками: длина burn-in периода – 100 000 и модель Марковских цепей Монте Карло (MCMC) – 100 000 повторов. Для каждого значения K выполняли 10 итераций. Визуализацию результатов программы STRUCTURE проводили с помощью R пакета “pophelper” [Francis, 2016]. Попарные генетические дистанции $M. Nei (D_N)$ [Nei, 1972] рассчитывали в программе GENETIX 4.05 [Belkhir et al., 2004]. Расчет попарных значений индекса фиксации (F_{st}) [Weir, Cockerham, 1984] проводили в R пакете “diversity” [Keenan et al., 2013]. Укорененное дерево строили по D_N [Nei, 1972], применяя метод ближайших соседей, в программе Neighbour пакета Phylip 3.695 [Felsenstein, 1993] и визуализировали, используя FigTree 1.4.2 [http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/]. В качестве корня (аут-группы) брали собственные данные полногеномного SNP генотипирования архара (*Ovis ammon*), полученные с применением анало-

гичной матрицы. Карта с нанесенными точками, отображающими места отбора образцов, составлена с помощью R пакета ggmap [Kahle, Wickham, 2013]. Для создания исходных файлов использовали программное обеспечение R 3.2.3 [R Core Team, 2012].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Финальный набор маркеров, отобранный по результатам контроля качества генотипирования, включал 1030 SNP. Установлен практически в 10 раз более низкий уровень генетического разнообразия, оцененного по показателю MLH, у кодарского снежного барана в сравнении с особями якутского подвида: 0,027 у KOD против $0,215 \pm 0,007$, $0,241 \pm 0,008$, $0,254 \pm 0,008$, $0,270 \pm 0,005$ и $0,241 \pm 0,008$ у ТИК, ORU, VER, SKH и MOM соответственно. Аналогичная закономерность выявлена и по показателю stMLH (рис. 3). Значение stMLH у кодарского снежного барана составило 0,116, в то время как минимальное значение данного показателя у индивидуумов якутского подвида составило 0,839 (ТИК). В группах ТИК, ORU, VER, SKH и MOM средние значения stMLH составили, соответственно, $0,910 \pm 0,028$, $1,022 \pm 0,034$, $1,077 \pm 0,032$, $1,147 \pm 0,022$ и $1,021 \pm 0,037$. Расчет ожидаемой корреляции показал, что значения MLH и stMLH достаточно точно отражают индивидуальную гетерозиготность на геномном уровне ($r^2 = 0,936$). Существенно более низкий уровень генетического разнообразия KOD по сравнению с индивидуумами якутского подвида указывает на высокую степень инбредности кодарской попу-

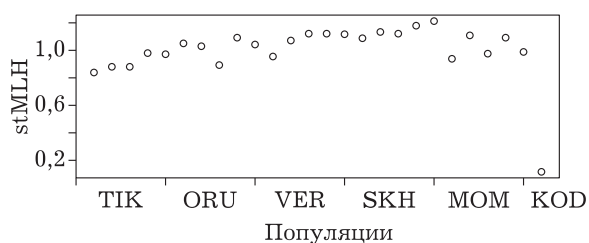


Рис. 3. Стандартизированная индивидуальная гетерозиготность у кодарского снежного барана в сравнении с якутским снежным бараном.

Ось X – популяции снежного барана: ТИК – Хараулахский хребет, Тикси, ORU – хр. Орулган, VER – Центральное Верхоянье, SKH – хр. Сунтар-Хаята, MOM – Момский хребет, KOD – хр. Кодар

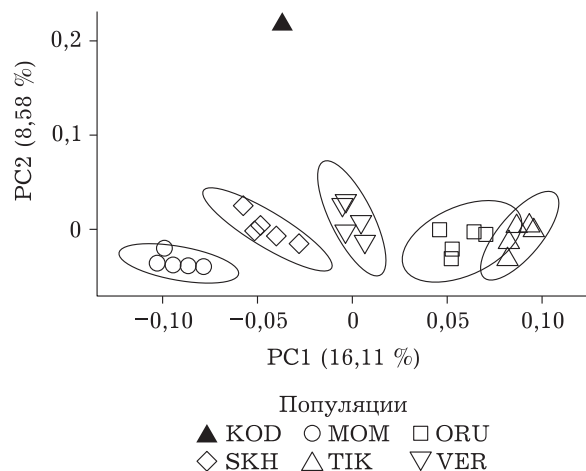


Рис. 4. Генотипическая изменчивость кодарского снежного барана в сравнении с индивидуумами якутского подвида по 1030 SNP, основанная на результатах многомерного шкалирования (MDS).

Ось X – главная компонента 1 (PC1), ось Y – главная компонента 2 (PC2); популяции снежного барана: KOD – хр. Кодар; популяции якутского подвида: TIK – Хараулахский хребет, Тикси, ORU – хр. Орулган, VER – Центральное Верхоянье, SKH – хр. Сунтар-Хаята, MOM – Момский хребет

ляции, что, вероятно, обусловлено ее длительной изоляцией и малой численностью.

Результаты MDS представлены на рис. 4. Первая компонента (PC1) отвечает за 16,11% генотипической изменчивости и отделяет географические группировки якутского подвида друг от друга. Согласно с G. McVean [2009]

первая главная компонента может интерпретироваться как более далекое событие коалесценции на дереве. Проекция индивидуумов на эту ось показывает расположение особи KOD в области, соответствующей популяции SKH. Это может обуславливаться тем, что популяция SKH, локализованная в Южном Верхоянье, является географически наиболее близкой к кодарской, что предполагает наличие обмена генами между ними до момента географической изоляции KOD. Вторая главная компонента (PC2) отвечает за 8,58% изменчивости генотипов и однозначно отделяет KOD от всех географических группировок якутского подвида, что указывает на генетическую изолированность кодарского барана.

Анализ структуры кладограммы, построенной по D_N (рис. 5), показывает, что уже в первом узле ветвления происходит разделение KOD от клады, объединяющей особей якутского подвида. Средние значения D_N между KOD и группами якутского подвида составили, соответственно, $0,216 \pm 0,006$, $0,202 \pm 0,007$, $0,181 \pm 0,005$, $0,176 \pm 0,006$ и $0,196 \pm 0,008$ для TIK, ORU, VER, SKH и MOM, что существенно выше, чем между группами внутри якутского подвида (от $0,016 \pm 0,002$ до $0,078 \pm 0,002$).

Анализ STRUCTURE (рис. 6) показывает, что при $K = 2$, TIK и KOD + MOM распре-

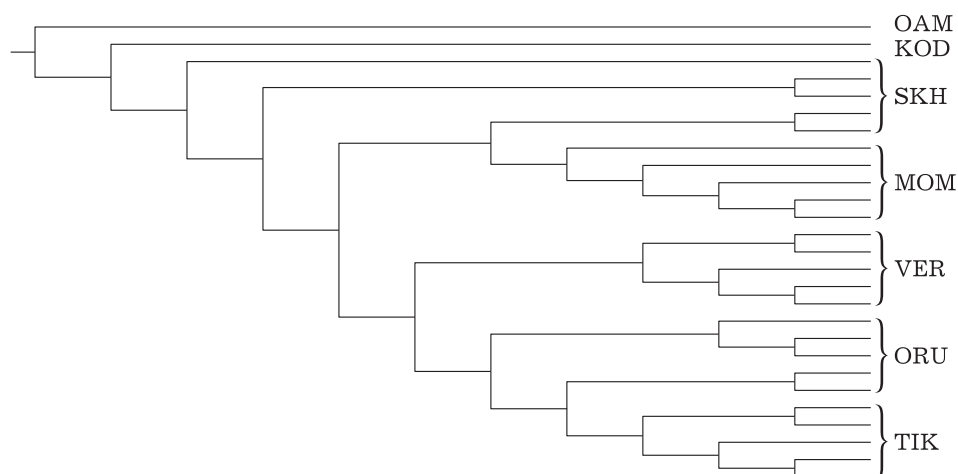


Рис. 5. Укорененное филогенетическое дерево, построенное на основании несмещенных генетических дистанций Нея [Nei, 1972] методом ближайшего соседства.

Популяции снежного барана: KOD – хр. Кодар; популяции якутского подвида: TIK – Хараулахский хребет, Тикси, ORU – хр. Орулган, VER – Центральное Верхоянье, SKH – хр. Сунтар-Хаята, MOM – Момский хребет; OAM – *Ovis ammon* (аутгруппа)

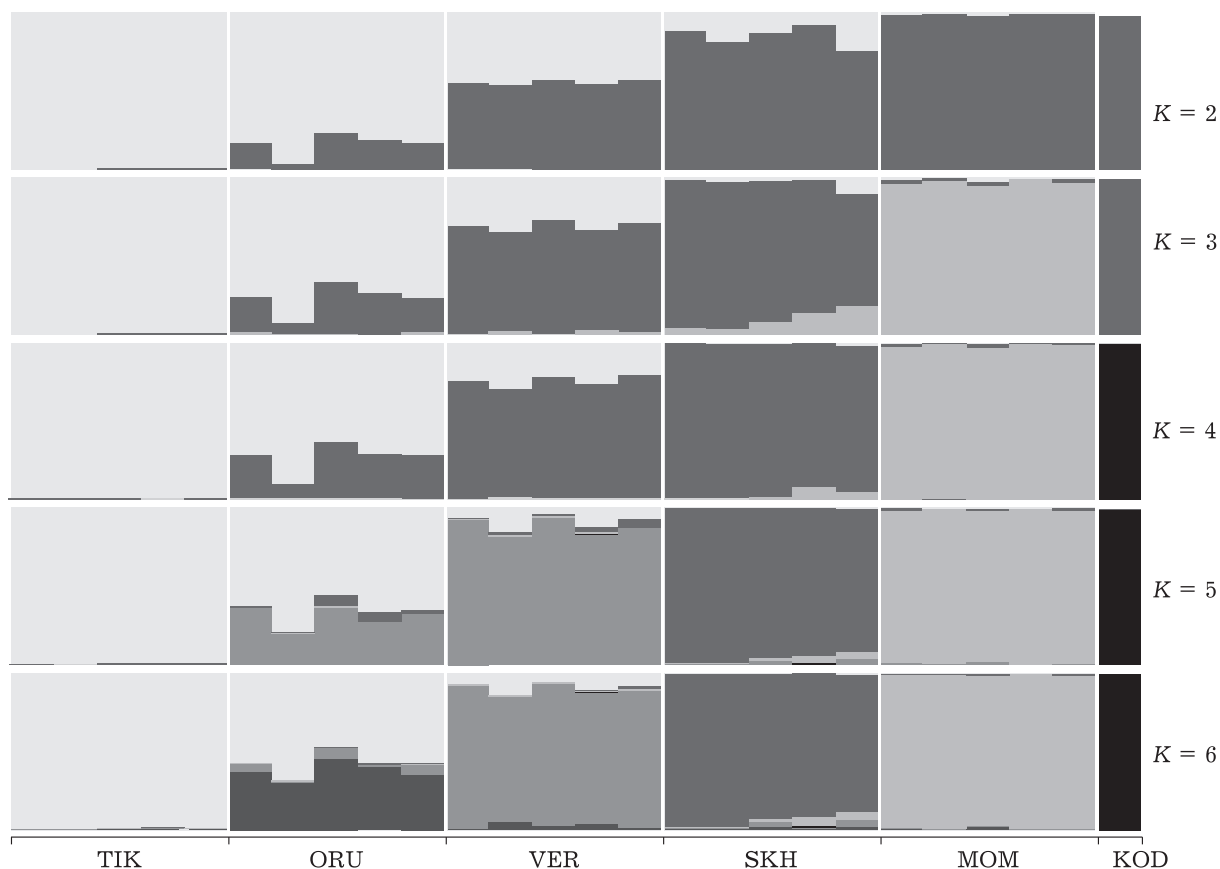


Рис. 6. Популяционная принадлежность 26 особей на основании анализа 1030 маркеров, оцененная с использованием STRUCTURE [Pritchard, 2000].

Популяции снежного барана: KOD – хр. Кодар; популяции якутского подвида: TIK – Хараулахский хребет, Тикси, ORU – хр. Орулган, VER – Центральное Верхоянье, SKH – хр. Сунтар-Хаята, MOM – Момский хребет; индивидуумы представлены в виде вертикальных полос с долей различных оттенков серого, отражающих их предполагаемое происхождение от различных популяций. Популяции обозначены аббревиатурой внизу рисунка

деляются между двумя различными кластерами с высокой долей членства в собственных кластерах, в то время как особи ORU, VER и SKH проявляют различную степень адмиксии. При $K = 3$, KOD и MOM формируют собственные кластеры, при этом в группах ORU, VER и SKH проявляются сигналы адмиксии KOD. При $K = 4$ кодарский баран формирует свой собственный кластер, который сохраняется при дальнейшем увеличении K до 6. Сигналы адмиксии KOD в группировках якутского подвида при K от 4 до 6 отсутствуют.

ОБСУЖДЕНИЕ

Развитие молекулярной генетики открыло новые возможности в понимании эволюции, оценки биоразнообразия и степени ди-

вергенции видов и более мелких таксономических единиц. Более того, существует мнение, что только молекулярные маркеры дают возможность проследить генеалогию отдельных семей, популяций и т. д. [Абрамсон, 2009]. Однако на характер выявляемых с их помощью филогенетических связей значительное влияние оказывает тип молекулярного маркера, неправильный выбор которого может привести к необоснованной филогенетической и таксономической схеме [Абрамсон, 2007; Patwardhan et al., 2014]. Наиболее распространенным типом ДНК-маркеров, используемым в исследованиях диких *Ovis*, до недавнего времени оставалось исследование полиморфизмов мтДНК. Маркеры на их основе использованы для уточнения таксономии диких *Ovis*, сопоставления данных молекулярной филогении с биогеографиче-

скими, морфологическими и кариотипическими критериями и формирования современного взгляда на историю эволюции рода *Ovis* [Hiendleder et al., 2002; Bunch et al., 2006; Rezaei et al., 2010; Sanna et al., 2015]. С другой стороны, исследование внутривидовых структур рода *Ovis* с использованием мтДНК не выявило четкой связи между филогенетическими и биогеографическими данными [Boyce et al., 1999; Кузнецова и др., 2005]. В последнее десятилетие разработка и совершенствование высокопроизводительных методов генотипирования SNP привели к революции в использовании их в качестве молекулярных маркеров, в том числе для исследований диких *Ovis* [Снежный баран..., 2016]. Проведенный полногеномный SNP-анализ пока только одной единственной особи кодарского снежного барана является первым шагом в понимании демографической истории этой некогда распространенной в Прибайкалье и Забайкалье, а ныне исчезнувшей на подавляющей части территории предковой формы снежного барана, встречавшейся здесь, вероятно, еще со времен существования мамонтовой фауны. Значение кодарского барана в плане сохранения биоразнообразия Российской Федерации трудно переоценить.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное впервые полногеномное исследование SNP-профиля особи кодарского снежного барана (*Ovis nivicola kodarensis*) – представителя изолированной малочисленной локальной популяции азиатского снежного барана, имеющей “точечный” ареал на хр. Кодар (Иркутская обл., Забайкальский край) выявило наличие высоко консервативного уникального генотипа, существенно отличающегося от генотипов географически наиболее близкого якутского подвида снежного барана (*O. n. lydekkeri*). Установлен низкий уровень генетического разнообразия в 10 и более раз, что делает популяцию уязвимой к изменениям внешних факторов и может привести к потере генотипов в результате дрейфа генов. Для понимания демографической истории самобытной кодарской популяции снежного барана необходи-

мо проведение дополнительных исследований на расширенной выборке.

Исследования выполнены при поддержке Российского научного фонда, проект № 14-36-00039.

ЛИТЕРАТУРА

- Абрамсон Н. И. Молекулярные маркеры, филогеография и поиск критерия разграничения видов // Тр. зоол. ин-та РАН. 2009. Прил. № 1. С. 185–198.
- Абрамсон Н. И. Филогеография: итоги, проблемы, перспективы // Вестн. ВОГиС. 2007. Т. 11, № 2. С. 307–331.
- Водопьянов Б. Г. Снежный баран в северном Забайкалье и возможности его хозяйственного использования // Пути повышения эффективности охотничьего хозяйства. Иркутск, 1971. Ч. 1. С. 55–57.
- Данилкин А. А. Млекопитающие России и сопредельных регионов. Половогие (Bovidae). М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2005. 550 с.
- Дорогостайский В. Ч., Насонов Н. В. Предварительный отчет о поездке в Яблонный хребет, совершенный по поручению Академии наук в 1914 г. // Изв. АН. 1915. Сер. VI. С. 32–37.
- Железнов-Чукотский Н. К. Экология снежных баранов Северной Азии. М.: Наука, 1994. 256 с.
- Красная книга Иркутской области. Животные // Иркутск: Изд-во “Время странствий”, 2010. 480 с.
- Красная книга Забайкальского края. Животные // Новосибирск: “Новосибирский издательский дом”, 2012. 344 с.
- Кузнецова М. В., Шемякин О. А., Медведев Д. Г., Данилкин А. А. Филогенетическая реконструкция эволюции снежных баранов: анализ мтДНК // Копытные в зоопарках и питомниках: межвед. сб. науч. и науч.-метод. тр. Моск. зоопарк, 2005. С. 75–79.
- Медведев Д. Г. Новый подвид снежного барана на хребте Кодар (Витимо-Оленекское нагорье) // Байкал – природная лаборатория для исследований изменения окружающей среды и климата. Иркутск: Изд-во ЛИСНА, 1994. Т. 5. С. 37–38.
- Медведев Д. Г. Снежный баран хребта Кодар и перспективы его охраны // Охрана и рациональное использование растительных ресурсов России: мат-лы Междунар. науч.-практ. конф., 28 мая – 1 июня 2003 г. Иркутск: Облмашинформ, 2003. С. 437–441.
- Насонов Н. В. Географическое распространение диких баранов Старого света. Пг.; Изд-во АН, 1923. С. 124–138.
- Павлинов И. Я. Отряд Artiodactyla. Млекопитающие России: систематико-географический справочник / под ред. И. Я. Павлинова, А. А. Лисовского М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2012. С. 472–473. (Сб. тр. Зоологического музея МГУ. Т. 52).
- Павлов Е. И. Промысловые звери Читинской области. Чита: Обл. издат., 1949. 188 с.
- Поляков И. С. Географическое распространение животных в юго-восточной части Ленского бассейна // Зап. Рус. геогр. об-ва общей географии. СПб., 1873. Т. 3. С. 3–81
- Преображенский В. С. Кодарский ледниковый район (Гляциологические исследования в период МГТ). М.: АН СССР, 1960. Вып. 4. 72 с.

- Ревин Ю. В., Сопин Л. В., Железнов Н. К. Снежный баран. Новосибирск: Наука, 1988. 191 с.
- Северцов Н. А. Архары // Природа. СПб., 1873. Кн. 1. С. 144–245.
- Скалон В. Н. Некоторые материалы к фауне млекопитающих Витимо-Олекминского национального округа // Изв. гос. противочумного ин-та Сибири и Дальнего Востока. 1935. Т. 2. С. 118–130.
- Скалон В. Н. Об организации Витимского заповедника // Охрана природы. 1949. Вып. 8. С. 118–121.
- Скалон В. Н. О некоторых промысловых млекопитающих Бодайбинского района Иркутской области // Бюл. МОИП. Отд. Биол. 1951. Т. 56, вып. 1. С. 27–32.
- Снежный баран Якутии: генетическое разнообразие и пути сохранения генофонда / под ред. В. А. Багирова, И. М. Охлопкова, Н. А. Зиновьевой. Дубровицы: ВИЖ им. Л. К. Эрнста, 2016. 270 с.
- Сопин Л. В., Ермолин А. Б. Снежный баран в Забайкалье может исчезнуть // Природа. 1986. № 7. С. 78–79.
- Сопин Л. В., Ермолин А. Б. Состояние и перспективы сохранения кодарского снежного барана // Редкие наземные позвоночные Сибири. Новосибирск: Наука, 1988. С. 222–225.
- Belkhir K., Borsa P., Chikhi L., Raufaste N., Bonhomme F. GENETIX 4.05, logiciel sous Windows TM pour la génétique des populations. Laboratoire Génome, Populations, Interactions, CNRS UMR 5171. 1996–2004. Université de Montpellier II, Montpellier (France).
- Boyce W. M., Ramey R. R., Rodwell T. C., Rubin E. S., Singer R. S. Population subdivision among desert bighorn sheep (*Ovis canadensis*) ewes revealed by mitochondrial DNA analysis // Molec. Ecol. 1999. Vol. 8, N 1. P. 99–106.
- Bunch T. D., Wu C., Zhang Y.-P., Wang S. Phylogenetic analysis of snow sheep (*Ovis nivicola*) and closely related taxa // J. Heredity. 2006. Vol. 97. P. 21–30.
- Deniskova T. E., Okhlopov I. M., Sermyagin A. A., Gladyr E. A., Bagirov V. A., Sölkner J., Mamaev N. V., Brem G., Zinovieva N. A. Whole-genome SNP scanning of snow sheep (*Ovis nivicola*) // Dokl. Biochem. Biophys. 2016. Vol. 469, N 5. P. 288–293.
- Felsenstein J. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.5c. Distributed by the author. Seattle: Department of Genetics, University of Washington, 1993.
- FigTree. Available: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- Francis R. M. pophelper: An R package and web app to analyse and visualise population structure // Molec. Ecol. Res. 2016. Vol. 17 (1). P. 27–32.
- Haynes G. D., Latch E. K. Identification of novel single nucleotide polymorphisms (SNPs) in deer (*Odocoileus* spp.) using the BovineSNP50 BeadChip // PLoS ONE. 2012. Vol. 7, N 5. e36536.
- Hiendleder S., Kaupe B., Wassmuth R., Janke A. Molecular analysis of wild and domestic sheep questions current nomenclature and provides evidence for domestication from two different subspecies // Proc. Royal Soc. of London Ser. B: Biol. Sci. 2002. Vol. 269. P. 893–904.
- Kahle D., Wickham H. ggmap: Spatial Visualization with ggplot2 // The R Journ. 2013. Vol. 5 (1). P. 144–161.
- Keenan K., McGinnity P., Cross T. F., Crozier W. W., Prodohl P. A. diveRsim: An R package for the estimation of population genetics parameters and their associated errors // Methods in Ecology and Evolution. 2013. Vol. 4, N 8. P. 782–788.
- Kharzinova V. R., Sermyagin A. A., Gladyr E. A., Okhlopov I. M., Brem G., Zinovieva N. A. A study of applicability of SNP chips developed for Bovine and Ovine species to whole-genome analysis of reindeer *Rangifer tarandus* // J. Heredity. 2015. Vol. 106, N 6. P. 758–761.
- Kharzinova V. R., Dotsev A. V., Okhlopov I. M., Layshchik 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. Animal Sci. 2016. Vol. 94 (s5). P. 162.
- McVean G. A genealogical interpretation of principal components analysis // PLoS Genet. 2009. Vol. 5 (10). e1000686.
- Medvedev D. G. The problem of preservation of population of the Kodar snow sheep (*Ovis nivicola kodarensis* Medvedev, 1994) in the northern Transbaikalia // XXIX Int. union of game biologists' cong. (IUGB, 2009, Russia). Book of abstracts, August 17–22, 2009. Moscow: MAI-Print, 2009. Part 2. P. 312–315.
- Miller J. M., Poissant J., Kijas J. W., Coltman D. W. The International Sheep Genomics Consortium. A genome-wide set of SNPs detects population substructure and long-range linkage disequilibrium in wild sheep // Molec. Ecol. Res. 2011. Vol. 11 (2). P. 314–322.
- Nei M. Genetic distance between populations // Amer. Naturalist. 1972. Vol. 106. P. 283–392.
- Patwardhan A., Ray S., Roy A. Molecular Markers in Phylogenetic Studies: A Review // J. Phylogen. Evolution Biol. 2014. Vol. 2 (2). e1000131.
- Pritchard J. K., Stephens M., Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data // Genetics. 2000. Vol. 155. P. 945–959.
- R Core Team. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria, 2012. URL: <http://www.R-project.org>.
- Rezaei H. R., Naderia S., Chintauan-Marquiera I. C., Taberleta P., Virk A. T., Naghasha H. R., Rioux D., Kabolie M., Pompanona F. Evolution and taxonomy of the wild species of the genus *Ovis* (Mammalia, Artiodactyla, Bovidae) // Molec. Phylogen. Evolution. 2010. Vol. 54. P. 315–326.
- Sanna D., Barbato M., Hadjisterkotis E., Cossu P., Decandia L., Trova S., Pirastru M., Leoni G. G., Naitana S., Francalacci P., Masala B., Manca L., Mereu P. The first mitogenome of the Cyprus Mouflon (*Ovis gmelini* ophion): New insights into the phylogeny of the genus *Ovis* // PLoS ONE. 2015. Vol. 10 (12). e0144257.
- Seeb J. E., Carvalho G., Hauser L., Naish K., Roberts S., Seeb L. Single-nucleotide polymorphism (SNP) discovery and applications of SNP genotyping in non-model organisms // Molec. Ecol. Res. 2011. Vol. 11 (s1). P. 1–8.
- Stoffel M. A., Esser M., Kardos M., Humble E., Nichols H., David P., Hoffman J. I. inbreedR: An R package for the analysis of inbreeding based on genetic markers // Methods in Ecol. and Evolution. 2016. Vol. 7, N 11. P. 1331–1339.
- Tokarska M., Marshall T., Kowalczyk R., Wojcik J. M., Pertoldi C., Kristensen N., Loeschcke V., Greger-

sen V. R., Bendixen C. Effectiveness of microsatellite and SNP markers for parentage and identity analysis in species with low genetic diversity: the case of European bison // *J. Heredity*. 2009. N 103. P. 326–332.

Weir B. S., Cockerham C. C. Estimating F-Statistics for the analysis of population structure // *Evolution*. 1984. Vol. 38 (6). P. 1358–1370.

Wickham H. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. New York: Springer-Verlag, 2009.

Genetic Characteristics of Kodar Snow Heep Using SNP Markers

D. G. MEDVEDEV^{1,2}, A. V. DOTSEV², I. M. OKHLOPKOV^{2,3}, T. E. DENISKOVA², H. REYER⁴,
K. WIMMERS⁴, G. BREM^{2,5}, V. A. BAGIROV², N. A. ZINOVIEVA²

¹ *Fund for studying, preservation of the snow leopard (IRBIS) and the rare species of mountain fauna*
664011, Irkutsk, Proletarskaya str., 9
E-mail: dmimedvedev@yandex.ru

² *L. K. Ernst Institute of Animal Husbandry*
142132, Dubrovitzky, 60
E-mail: n_zinovieva@mail.ru

³ *Institute of biological problems of cryolitozone, SB RAS*
677890, Yakutsk, Lenin ave., 41
E-mail: imo-ibpc@yandex.ru

⁴ *Institute of Genome Biology, Leibniz Institute for Farm Animal Biology Leibniz (FBN),
Dummerstorf, Vilgelm-Stakhl-Allee, 2*
E-mail: wimmers@fbn-dummerstorf.de; reyer@fbn-dummerstorf.de

⁵ *Institute of Animal Breeding and Genetics, University of Veterinary Medicine
Vienna, A-1210, Veterenarplats, 1*
E-mail: gottfried.brem@agrobiogen.de

For the first time polymorphisms in Kodar snow sheep, KOD (*Ovis nivicola kodarensis*) nuclear DNA were studied. KOD is a representative of small isolated population of Asian snow sheep (*Ovis nivicola* Eschscholtz, 1829) inhabiting the Kodar Ridge (Irkutsk Oblast, Transbaikalia Krai). We compared KOD with its geographically closest Yakut subspecies (*Ovis nivicola lydekkeri*). Genome-wide study of single-nucleotide polymorphisms (SNPs) was performed using the Illumina OvineSNP50 BeadChip (Illumina Inc., San Diego, CA, USA). The final set of markers for analysis included 1030 SNPs. We found that Kodar snow sheep had almost 10 times lower level of genetic diversity evaluated by multilocus heterozygosity – MLH (0.027 for KOD – 0.215–0.270 for individuals of Yakut subspecies) and standardized MLH – stMLH (0.116 against 0.910–0.147). The results of multidimensional scaling (MDS), Nei distances calculations (D_N) and STRUCTURE analysis showed a clear genetic differentiation of Kodar snow sheep from Yakut subspecies. Our data represent the first step to understanding of the demographic history of the original Kodar population of snow sheep.

Key words: snow sheep, Kodar, genetic analysis, SNP.