

Молекулярно-генетическая верификация, контроль достоверности происхождения и генетическая идентификация домашнего яка (*Bos grunniens*) на основе анализа микросателлитов

В. В. ВОЛКОВА, В. Р. ХАРЗИНОВА, А. Э. ИЛЬИНА

Федеральный исследовательский центр ВИЖ им. Л.К. Эрнста, пос. Дубровицы, 60, городской округ Подольск, Московская обл., 142132, Российская Федерация

Резюме. Як (*Bos grunniens*), адаптировавшийся к суровым холодам и низкому уровню кислорода, – наиболее важное домашнее животное для людей, живущих на больших высотах. Особенности его содержания, скрещивание с крупным рогатым скотом, сокращение поголовья, а также отсутствие специфичных микросателлитных маркеров ставит под угрозу сохранение генетического разнообразия этих уникальных животных. Цель исследований – оценка разработанной специфичной мультиплексной STR-панели для индивидуальной генетической идентификации и повышения уровня контроля происхождения яка домашнего. Изучаемая выборка яка включала 119 животных из двух регионов: Республика Киргизия (n=49) и Республика Тыва (n=70). Разработанная мультиплексная STR-панель позволяет анализировать 13 локусов: HEL1, SPS113, TGLA53, ETH152, SPS115, INRA037, INRA032, TGLA122, CSSM66, ETH10, ETH225, INRA063, INRA23. В процессе исследования отработывали протокол проведения ПЦР-реакции и температурно-временной режим, оценивали воспроизводимость, функциональные и потребительские свойства тест-системы. В исследуемых локусах выявлено 86 аллелей, что на 13 аллелей больше, чем в стандартной 12-локусной панели. Генетическая изменчивость составила от 5 до 9 аллелей на локус. Эффективное число аллелей на локус варьировало от 2,216 до 4,427. Все локусы имели значения наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности выше 0,5. Выявлены 5 локусов, характеризующихся смещением равновесия в сторону избытка гетерозигот (SPS115, INRA037, TGLA122, INRA063, INRA23). В трех локусах отмечено смещение равновесия в сторону недостатка гетерозигот с варьированием от 0,102 (локус ETH10) до 0,170 (локус INRA032). Оценка воспроизводимости показала 100 %-ное совпадение STR-генотипов каждого индивидуума. Вероятность совпадения генотипа одного индивидуума с генотипом другого составила $1,55 \cdot 10^{-11}$. Точность подтверждения происхождения по обоим родителям (P1X) – 99,95 %, по одному родителю (P2X) – 98,48 %; точность исключения обоих родителей (P3X) – 99,99 %. Представленная тест-система может быть применима для оценки популяционно-генетических параметров различных выборок яка.

Ключевые слова: як домашний, микросателлиты, STR, тест-система, достоверность происхождения, аллельное разнообразие

Сведения об авторах: В. В. Волкова, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник (e-mail: moonlit_elf@mail.ru); В. Р. Харзинова, кандидат биологических наук, руководитель лаборатории; А. Э. Ильина, магистрант

Для цитирования: Волкова В. В., Харзинова В. Р., Ильина А. Э. Молекулярно-генетическая верификация, контроль достоверности происхождения и генетическая идентификация домашнего яка (*Bos grunniens*) на основе анализа микросателлитов // Достижения науки и техники АПК. 2025. Т. 39. № 7. С. 67–72. doi: 10.53859/02352451_2025_39_7_67

Molecular genetic verification, validation of origin, and genetic identification of domestic yak (*Bos grunniens*) based on microsatellite analysis

V. V. Volkova, V. R. Kharzinova, A. E. Il'ina

Ernst Federal Science Center for Animal Husbandry, pos. Dubrovitsy, 60, gorodskoi okrug Podol'sk, Moskovskaya obl., 142132, Russian Federation

Abstract. The yak (*Bos grunniens*), having adapted to the harsh cold and low oxygen levels, is the most important animal for people living at high altitudes. The peculiarities of yak breeding, interbreeding with cattle, the reduction of livestock and the lack of specific microsatellite markers threaten the preservation of the genetic diversity of these unique animals. The aim of the work is evaluation of the developed specific multiplex STR panel for individual genetic identification and increasing the level of control over the origin of domestic yak. The yak sample included 119 animals from two regions: the Republic of Kyrgyzstan (n=49) and the Republic of Tyva (n=70). The developed multiplex STR panel analyzes 13 loci: HEL1, SPS113, TGLA53, ETH152, SPS115, INRA037, INRA032, TGLA122, CSSM66, ETH10, ETH225, INRA063, INRA23. In the course of the study, the protocol of the PCR reaction and the temperature-time regime were worked out. The reproducibility, functional and consumer properties of the developed test system are evaluated. 86 alleles were identified in the studied loci, which is 13 alleles more than in the standard 12-locus panel. The genetic variation ranged from 5 to 9 alleles per locus. The values of the effective number of alleles per locus ranged from 2,216 to 4,427. All loci had values of observed and expected heterozygosity above 0.5. Analysis of the fixation index values revealed five loci characterized by a shift in equilibrium towards an excess of heterozygotes (SPS115, INRA037, TGLA122, INRA063, INRA23). In three loci, there was a shift in equilibrium towards a lack of heterozygotes with a variation from 0.102 (ETH10 locus) to 0.170 (INRA032 locus). The reproducibility assessment showed a 100% match of the STR genotypes of each individual. The probability of matching the genotype of one individual with the genotype of another was $1,55 \cdot 10^{-11}$. P1X – 99,95%, P2X – 98,48%; P3X – 99,99 %. In addition, the presented test system can be used to evaluate the population and genetic parameters of various yak samples.

Keywords: yak, microsatellites, STR, test system, reliability of origin, allelic diversity

Author Details: V. V. Volkova, Cand. Sc. (Biol.), senior research fellow (e-mail: moonlit_elf@mail.ru); V. R. Kharzinova, Cand. Sc. (Biol.), head of laboratory; A. E. Il'ina, master's student

For citation: Volkova VV, Kharzinova VR, Il'ina AE. [Molecular genetic verification, validation of origin, and genetic identification of domestic yak (*Bos grunniens*) based on microsatellite analysis]. Dostizheniya nauki i tekhniki APK. 2025;39(7):67–72. Russian. doi: 10.53859/02352451_2025_39_7_67

В последние годы растет интерес к исследованию генетического разнообразия домашнего скота с использованием различных молекулярно-генетических методов. Як (*Bos grunniens*), успешно адаптировавшийся к суровым холодам и низкому уровню кислорода, – наиболее важное домашнее животное для

людей, живущих в горной местности на высотах более 2500 м. Наибольшая численность одомашненного яка отмечена в районах Цинхай-Тибетского нагорья, Западного Китая, Монголии, а также странах, расположенных на территории Гималаев. Яководство в России сосредоточенно преимущественно в высокогорных

районах Алтая, Тувы, Бурятии, Кавказа и Забайкалья. Способность яка выживать в суровой природной среде обусловлена его разнообразными поведенческими, физиологическими и генетическими адаптациями, а сложная, длительная история домостикации и особенности мест обитания, определяют генетическое разнообразие современных популяций этих животных [1,2].

Яки, обычно, круглый год содержатся на свободном выгуле. В таких условиях трудно контролировать спаривание, что влияет на точность определения родословной. Кроме того, возможны ошибки при искусственном осеменении и ведении записей. Практика скрещивания яка с крупным рогатым скотом для получения молока или повышения выхода мяса при откорме, а также сокращение поголовья как домашних, так и диких яков, внесённых в Красную книгу, из-за климатических изменений, экономических трудностей и депопуляции горных сёл, ставит под угрозу не только хозяйственную устойчивость, но и сохранение генетического разнообразия этих уникальных животных [3]. Таким образом, точные записи о родословной, составленные в том числе путем тестирования происхождения и индивидуальной идентификации, необходимы для генетического улучшения и создания надежных программ разведения.

Один из методов идентификации поголовья и проверки происхождения основан на анализе микросателлитов (Simple Tandem Repeats, STR). Микросателлиты – тандемные повторы ДНК с размером мономерного звена от одного до десяти нуклеотидов – были впервые предложены Tautz D. в 1989 г. для установления личности, популяционных исследований, анализа сцепления и картирования генома. Высокая степень полиморфизма, менделевский тип наследования, равномерное распределение по всему геному, возможность проведения мультиплексных ПЦР, частичная автоматизация генотипирования с помощью фрагментного анализа на капиллярных секвенаторах и доступность для рутинного использования, привели к тому, что микросателлитные маркеры стали наиболее широко используемым типом ДНК-маркеров для контроля достоверности происхождения сельскохозяйственных животных.

В 2009 г. Комитет Продовольственной и сельскохозяйственной организации Объединённых Наций (FAO) разработал стандартный список микросателлитных локусов для 9 видов сельскохозяйственных животных: крупный рогатый скот, буйволы, овцы, козы, лошади, ослы, верблюды, свиньи и куры [4]. Вместе с тем, микросателлитные маркеры находят применение и в других областях. Например, 12-локусная тест-система STR-маркеров служит надежным инструментом для проверки достоверности происхождения аквакультурной стерляди [5]. Панели для северного оленя позволили исследователям разных стран не только впервые описать уровень генетического разнообразия различных его форм, но и определить долю интрогрессии между популяциями, охарактеризовать их структуру и оценить степень дифференциации [6]. Использование микросателлитных маркеров дало возможность оценить генетическое разнообразие популяций зубров – вида с низкой генетической вариабельностью [7]. Такие исследования необходимы для разработки стратегий сохранения животных.

На сегодняшний день микросателлиты изучены и описаны не полностью, что открывает новые возможности для практического применения маркеров такого типа. Для идентификации и подтверждения происхож-

дения свиней (*Sus scrofa*) и крупного рогатого скота (*Bos taurus*) также использовали однонуклеотидные полиморфизмы (SNP), а в недавних исследованиях были выявлены высокоинформативные SNP для надежной дифференциации геномов домашнего яка и коровы [8]. Хотя в исследованиях Kaiser S. с соавт. [9] обсуждался вопрос использования SNP вместо микросателлитов для проверки происхождения, следует учитывать, что для уменьшения количества ложноотрицательных результатов необходимо использовать не менее 200 SNP, а для полного исключения ложноположительных результатов – не менее 700 SNP [10]. Кроме того, анализ происхождения на основе SNP имеет ряд статистических проблем, которые необходимо тщательно рассмотреть и соответствующим образом оценить, прежде чем заменять классический STR подход [11]. Кроме того, согласно данным Кипень В.Н. и Снытков Е.В., некоторые ключевые SNP у гибридов могут быть триаллельными, что также требует учета при анализе образцов из регионов возможной гибридизации [8]. По этим причинам в современных условиях микросателлиты остаются более предпочтительными для тестирования происхождения.

В то же время микросателлиты, рекомендованные ISAG (International Society for Animal Genetics) и используемые при тестировании крупного рогатого скота, не могут быть применены для идентификации яка из-за того, что не понятно дадут ли эти локусы желаемый результат. С другой стороны, микросателлитные локусы крупного рогатого скота представляют собой важный источник полиморфных маркеров для яка, так как уровень ожидаемой гетерозиготности у этих видов аналогичен [12].

Таким образом, существует потребность поиска микросателлитных маркеров, которые подходят для точной индивидуальной идентификации и тестирования происхождения яка.

Цель исследований – оценка разработанной специфичной мультиплексной STR-панели для индивидуальной генетической идентификации и повышения уровня контроля происхождения яка домашнего.

Условия, материалы и методы. Работу выполняли в лаборатории ДНК-технологий в животноводстве ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста с использованием оборудования Центра коллективного пользования научным оборудованием «Биоресурсы и биоинженерия сельскохозяйственных животных» ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста. В исследованиях использовали образцы (фрагмент уха, кровь, шерсть), взятые из УНУ «Банк генетического материала домашних и диких видов животных и птицы» в составе сетевой биоресурсной коллекции сельскохозяйственных животных, птиц, рыб и насекомых (соглашение с Минобрнауки России № 075-15-2021-1037 от 28 сентября 2021 г.), созданной и поддерживаемой в ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста. Выборка яка включала 119 не родственных между собой особей из двух регионов: Республика Киргизия (n=49) и Республика Тыва (n=70). Проверку родственных связей отобранных для исследований животных проводили с использованием программы ML-RELATE.

Выделение геномной ДНК осуществляли с помощью коммерческих наборов ДНК-Экстракт-2 (ООО «НПФ СИНТОЛ», Россия) и CoDIS SPRINT (ООО «Гордиз», Россия), согласно протоколу фирмы-изготовителя. Качественную оценку ДНК во всех образцах проводили методом электрофореза в 1 %-ном агарозном геле ($I \approx 100 \text{ mA}$, $U \approx 120 \text{ V}$), а ее концентрацию измеряли на

флуориметре Qubit 4 (Thermo FS, США). Для ПЦР отбирали пробы с концентрацией не менее 10 нг/мкл.

ПЦР-амплификацию проводили по стандартным методикам на ДНК-амплификаторе MiniAmp Plus (Thermo FS, США). Результаты амплификации оценивали на 24-канальном капиллярном генетическом анализаторе Honor-1624/1824 (ООО «Компания Хеликон», Россия). Выбранные праймеры мечены четырьмя флуоресцентными красителями, детектируемыми в каналах Blue (FAM), Green (R6G), Yellow (TAMRA), Red (ROX). Стандарт длины амплифицированных фрагментов детектируется в канале Orange, что позволяет одновременно детектировать продукты ПЦР и стандарт длин в одном капилляре. Стандарт содержит 24 фрагмента ДНК разной длины: 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 230, 240, 260, 280, 300, 320, 340, 360, 380, 400, 420, 440 и 450 н.п. Стандарт длины использовали на этапе капиллярного электрофореза и вносили одновременно с исследуемым образцом. Он служил опорным внутренним стандартом для построения кривой подвижности амплифицированных фрагментов исследуемого образца. Длину аллелей определяли с использованием программного обеспечения GeneMapper v4.0.

Матрицу полученных микросателлитных генотипов формировали в программе Microsoft Excel. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета MS Excel 2007 с плагином GenAlEx v. 6.5.1.

Для оценки функциональных характеристик разработанной системы определяли информативность (среднее (N_A) и эффективное (N_E) число аллелей на

локус), наблюдаемую (H_O) и ожидаемую (H_E) гетерозиготность, коэффициент инбридинга (F_{IS}).

Для оценки потребительских свойств разработанной тест-системы использовали следующие критерии: возможность применения для генетической паспортизации яка домашнего (расчет вероятности совпадения генотипов индивидуумов (PI)).

возможность определения происхождения по трем частным случаям: точность подтверждения происхождения по обоим родителям (P1X); точность подтверждения происхождения по одному родителю, когда недоступен генотип другого (P2X); точность исключения обоих ошибочно записанных родителей (P3X).

На первоначальном этапе проводили фрагментный анализ выборки яка домашнего с использованием 12 микросателлитов крупного рогатого скота, утвержденных в документе «Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 2 июня 2020 г. N 74» (TGLA227, BM2113, TGLA53, ETH10, SPS115, TGLA122, INRA23, TGLA126, BM1818, ETH3, ETH225, BM1824), и оценивали потребительские свойства 12-локусной панели на основе расчета параметров PI, P1X, P2X и P3X.

На следующем этапе по результатам анализа литературных данных (102 источника) были отобраны 16 потенциальных локусов, специфичных для яка: SPS113 [4], MGTG4B, ETH152 [12], CSRM60, CSSM66, ETH185, HEL1, HEL9, INRA005, INRA032, INRA037, INRA063 [13, 14], CSSM33, CSSM45, ILSTS34, INRA035 [15]. При определении спектра локусов учитывали их полиморфный характер, а также возможность проведения мультимаркерного анализа.

Таблица 1. Характеристика микросателлитных маркеров

Наименование локуса	Диапазон длин по литературным данным	Диапазон длин по собственным данным	Хромосома	Флуоресцентная метка по собственным данным	Температурный режим по собственным данным
HEL1	99-119 [4] 106-116 [13]	96-124	15	FAM	60
SPS113	279-307 [4]	125-145	10	FAM	60
TGLA53	143-191 [4] 154-178 [13] 148-170 [14] 128-170 [15]	150-180	16	FAM	60
ETH152	181-211 [4] 196-208 [13] 199-211 [14]	190-210	5	FAM	60
SPS115	234-258 [4] 245-253 [13] 232-260 [14]	230-250	15	FAM	60
INRA037	112-148 [4] 124-137 [13]	120-140	10	R6G	60
INRA032	160-204 [4] 171-194 [13]	168-196	11	R6G	60
ETH225	131-159 [4] 140-158 [13] 140-162 [14] 128-170 [15]	133-159	9	ROX	60
INRA063	167-189 [4] 177-183 [13] 160-184 [15]	170-185	18	ROX	60
INRA23	195-225 [4] 198-216 [13]	192-218	3	ROX	60
TGLA122	136-184 [4] 142-162 [13] 144-166 [14] 137-169 [15]	142-172	21	TAMRA	60
CSSM66	171-209 [4] 176-196 [13] 171-191 [14] 153-217 [15]	173-199	14	TAMRA	60
ETH10	207-231 [4] 205-227 [13] 205-221 [15]	201-227	5	TAMRA	60

Таблица 2. Итоговое количество праймеров, подобранных для 24-канального капиллярного генетического анализатора Hopen-1624 (ООО «Компания Хеликон», Россия)

Локус	Количество, мкл
HEL1	0,4
SPS113	0,09
TGLA53	0,55
ETH152	0,35
SPS115	0,4
INRA037	0,2
INRA032	0,2
ETH225	0,3
INRA063	0,55
INRA23	0,5
TGLA122	0,4
CSSM66	0,25
ETH10	0,5

типлексной реакции (близкие температуры плавления праймеров). Однако отсутствия сцепления маркеров в связи с их расположением на одной хромосоме избежать не удалось в виду специфичности объекта исследования. В качестве флуоресцентной метки для первичной отработки панели и установления диапазонов потенциальных локусов был выбран краситель FAM.

В процессе исследования локусы MGTG4B, CSRM60, CSSM33, CSSM45, ETH185, ILSTS34, ILSTS005 и INRA035 не вошли в разрабатываемую тест-систему в виду отсутствия стабильной амплификации, высокой температуры плавления праймеров или низкого уровня полиморфности (менее 4 аллелей на локус).

В результате проведенной работы была сформирована мультиплексная STR-панель, позволяющая анализировать 13 локусов (табл. 1). Выбор флуоресцентной метки микросателлитных локусов проводили с учетом отсутствия пересечений их диапазонов между собой.

ПЦР-амплификацию проводили по стандартному протоколу. Общий объем реакционной смеси (9 мкл) включал 2,0 мкл 5x LAMP-буфер с добавлением 25 mM MgSO₄ (АО «СинГен», Россия), 1,0 мкл 2 mM раствора dNTPs, 0,5 мкл 100 mM MgCl₂, 0,1 мкл ДНК-полимеразы Smart Taq («Диалат Лтд» ПКЗАО, Россия) и 1 мкл ДНК-матрицы. Рабочая концентрация праймеров – 10 pmol/μL. Количество праймеров в реакционной смеси для мультиплексной ПЦР подбирали в зависимости от уровня флуоресценции ампликонов (высоты пиков на графике фрагментного анализа). Концентрацию каждого праймера, начиная с 0,5 мкл, увеличивали или уменьшали с шагом 0,01, пока не достигли оптимального свечения во всех локусах (табл. 2). Режим ПЦР-амплификации: первичная денатурация – 10 минут, t = 95 °C; далее – 35 циклов, включающих денатурацию (t = 95 °C, 30 с), отжиг праймеров (t = 60 °C, 40 с), элонгацию цепей ДНК (t = 72 °C, 1 минута); финальная элонгация – 15 минут, t = 72 °C.

Результаты и обсуждение. По результатам анализа 12 микросателлитов (табл. 3) было выявлено 73 аллеля. Наименьшим уровнем полиморфности (4 аллеля на локус и менее) характеризовались локусы TGLA227, BM1818, BM1824 и ETH3, что свидетельствует об их недостаточной специфичности для контроля происхождения яка. Наибольший полиморфизм отмечен для локуса TGLA53, в котором детектировано 10 аллелей. Изменчивость остальных локусов варьировала от 5 до 8 аллелей.

Эффективное число аллелей на локус (нижняя оценка числа аллелей, одновременно присутствующих в популяции, при условии, что генетический дрейф и мутагенез уравновешены) варьировало от 1,424 в локусе BM1818 до 4,509 в локусе TGLA53. В 4 локусах (TGLA126, BM1818, BM1824, ETH3) из 12 наблюдаемая гетерозиготность была ниже 0,5. При этом в локусах BM1818 и BM1824 ожидаемая гетерозиготность также была ниже 0,5.

Анализ коэффициента инбридинга выявил в локусе TGLA126 высокое смещение равновесия в сторону недостатка гетерозигот (0,464). Локусы TGLA227, SPS115, TGLA122, INRA23, ETH225 характеризуются смещением равновесия в сторону избытка гетерозигот.

По результатам оценки потребительских свойств 12-локусной панели для крупного рогатого скота (табл. 4) точность подтверждения происхождения по одному ро-

Таблица 3. Оценка информативности 12 микросателлитных локусов КРС для всей исследуемой выборки яка домашнего

Наименование локуса	N_A^*	N_E	H_o	H_E	F_{is}
TGLA227	3	2,032	0,521	0,508	-0,026
BM2113	7	3,259	0,677	0,693	0,023
TGLA53	10	4,509	0,656	0,778	0,157
ETH10	7	3,058	0,615	0,673	0,087
SPS115	7	3,343	0,719	0,701	-0,025
TGLA122	8	4,228	0,823	0,764	-0,078
INRA23	7	2,663	0,625	0,625	-0,001
TGLA126	5	2,951	0,354	0,661	0,464
BM1818	3	1,424	0,292	0,298	0,021
ETH225	8	2,785	0,667	0,641	-0,040
BM1824	4	1,885	0,458	0,470	0,024
ETH3	4	2,455	0,479	0,593	0,192

* N_A – среднее число аллелей на локус; N_E – эффективное число аллелей на локус; H_o – наблюдаемая гетерозиготность; H_E – ожидаемая гетерозиготность; F_{is} – коэффициент инбридинга.

дителю (P2X) составила всего 96,16 %, что в небольших группах животных, разводимых в себе, может привести к не верному определению происхождения.

Исходя из результатов тестирования видно, что стандартной 12-локусной панели, применяемой для тестирования крупного рогатого скота, не достаточно для проведения анализа контроля происхождения яка.

С использованием 13 микросателлитов разработанной специализированной тест-системы было выявлено 86 аллелей (табл. 5), что на 13 аллелей больше, чем при использовании стандартной 12-локусной панели. В целом по исследуемой выборке наименьший поли-

Таблица 4. Результаты оценки 12-локусной панели крупного рогатого скота для генетической экспертизы (паспортизации) яка домашнего

Параметр	Результаты оценки
Вероятность совпадения генотипов индивидуума (PI)	1,52 E ⁻⁹
Точность подтверждения происхождения по обоим родителям (P1X, %)	99,78
Точность подтверждения происхождения по одному родителю (P2X, %)	96,16
Точность исключения обоих родителей (P3X, %)	99,99

Таблица 5. Оценка информативности микросателлитных локусов для всей исследуемой выборки яка домашнего

Наименование локуса	N_A^*	N_E	H_O	H_E	F_{IS}
HEL1	5	3,193	0,630	0,687	0,082
SPS113	7	4,427	0,655	0,774	0,153
TGLA53	9	4,403	0,706	0,773	0,087
ETH152	6	2,401	0,538	0,584	0,078
SPS115	7	3,279	0,706	0,695	-0,016
INRA037	5	2,216	0,580	0,549	-0,057
INRA032	5	3,688	0,605	0,729	0,170
TGLA122	8	3,671	0,765	0,728	-0,051
CSSM66	7	3,557	0,672	0,719	0,065
ETH10	7	2,751	0,571	0,636	0,102
ETH225	7	2,575	0,588	0,612	0,038
INRA063	6	3,326	0,723	0,699	-0,033
INRA23	7	2,632	0,672	0,620	-0,084

* N_A – среднее число аллелей на локус; N_E – эффективное число аллелей на локус; H_O – наблюдаемая гетерозиготность; H_E – ожидаемая гетерозиготность; F_{IS} – коэффициент инбридинга.

морфизм составляет 5 аллелей на локус. Наибольший полиморфизм, как и в варианте с 12-локусной панелью, отмечен для локуса TGLA53, в котором детектировано 9 аллелей. В остальных локусах размах изменчивости составлял от 6 до 8 аллелей на локус.

Эффективное число аллелей на локус варьировало от 2,216 (INRA037) до 4,427 (SPS113), что также больше, чем при использовании 12-локусной панели. При этом у всех локусов наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность превышала 0,5.

Результаты анализа коэффициента инбридинга свидетельствуют, что 5 локусов (SPS115, INRA037, TGLA122, INRA063, INRA23) характеризуются смещением равновесия в сторону избытка гетерозигот. В 3 локусах отмечены положительные величины этого показателя с варьированием от 0,102 (локус ETH10) до 0,170 (локус INRA032). В остальных локусах индекс фиксации был близок к нулю (F_{IS} от 0,038 до 0,087).

Выявленное смещение генетического равновесия в сторону недостатка гетерозигот (F_{IS} от 0,102 до 0,170) может быть следствием, как инбридинга, так и популяционной субструктуры (эффект Валунда). Учитывая, что исследуемая выборка включает животных из двух географически разобщенных регионов (Республика Киргизия и Республика Тыва), наиболее вероятно именно наличие скрытой популяционной субструктуры. Предположительно, в выборку могли попасть животные, происходящие от общих предков, несущих гомозиготные генотипы в локусах. В свою очередь, отрицательные значения F_{IS} (от -0,084 до -0,016), могут свидетельствовать об аутбридинге (избегании инбридинга) или действии балансирующего отбора. Полученные данные свидетельствуют о вероятной генетической структурированности исследуемой выборки, что важно учитывать при дальнейших исследованиях.

Оценка воспроизводимости разработанной тест-системы, проведенная посредством постановки всех образцов в двух повторах, показала 100 %-ное совпадение STR-генотипов каждого индивидуума. Вероятность совпадения генотипа одного индивидуума с генотипом другого составила $1,55 \cdot 10^{-11}$, то есть практически исключена, что гораздо ниже, чем при тестировании на стандартной 12-локусной панели. Это указывает на большую разрешающую способность созданной панели. Точность подтверждения происхождения по обоим родителям (P1X) составила 99,95 %, по одному родителю (P2X) – 98,48 %; точность исключения оши-

бочно записанных родителей (P3X) – 99,99 %, что свидетельствует об информативности разработанной тест-системы анализа полиморфизма яка домашнего для контроля достоверности происхождения (паспортизации) племенных особей.

В перспективе, на основе разработанной тест-системы будут продолжены исследования увеличенной выборки яка домашнего, включая расширение географического ареала, с целью оценки происхождения, характеристики ге-

нетической структуры и установления генетических взаимоотношений различных популяций, разводимых на территории России.

Выводы. В результате проведенных исследований создана мультиплексная тест-система, которая позволяет проводить анализ 13 STR-локусов. Несмотря на наличие сцепленных маркеров (что может влиять на точность комбинированных вероятностных расчетов, основанных на предположении о независимом наследовании) она имеет преимущества перед стандартной 12-локусной панелью. При использовании разработанной тест-системы выявлено на 13 аллелей больше и установлено большее эффективное число аллелей на локус.

По результатам оценки вероятности совпадения генотипов и исключения ошибочно указанного родителя (родителей) можно заключить, что созданная мультилокусная тест-система – надежный инструмент для проверки достоверности происхождения яка домашнего. Вероятность совпадения генотипа одного индивидуума с генотипом другого при ее использовании ниже показателей стандартной 12-локусной панели на $1,50 \cdot 10^{-9}$, а точность подтверждения происхождения по одному родителю выше на 2,32 %.

Разработанная тест-система может быть применена для оценки популяционно-генетических параметров различных выборок яка. Потенциальные потребители результатов ее использования – организации по племенному животноводству, занимающиеся разведением и сохранением яка домашнего.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа финансировалась за счет средств Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках выполнения задания FGGN-2024-0018 Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста». Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Проведение исследований с использованием животных было одобрено Комиссией по биоэтике ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, протокол № 2 от «24» февраля 2025 г.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Литература

1. Анализ генетического разнообразия и популяционной структуры яка (*Bos grunniens*) саяно-алтайского региона / Н. Ю. Оюн, Е. А. Коноров, А. В. Урум и др. // Генетика. 2018. Т. 54. № 10. С. 1188–1199.
2. Bioactive potential of yak's milk and its products; pathophysiological and molecular role as an immune booster in antibiotic resistance / M. Fakhar-e-Alam Kulyar, W. Yao, Y. Ding, et al. // Food Bioscience. 2021. Vol. 39. Article 100838. URL: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2212429220311767?via%3Dihub> (дата обращения: 12.05.2025). doi: 10.1016/j.fbio.2020.100838.
3. Каноол Б. К. Современное состояние, тенденция численности и распространения яков в Республике Тыва // Инновационная наука. 2016. № 9 (21). С. 100–102.
4. Molecular genetic characterization of animal genetic resources. FAO Animal Production and Health Guidelines. No. 9. Rome: FAO, 2011. 88 p.
5. Разработка мультилокусной STR-панели и оценка достоверности происхождения аквакультурной стерляди (*Acipenser ruthenus*) / В. И. Никипелов, В. Р. Харзинова, В. В. Волкова и др. // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: Наука и высшее профессиональное образование. 2024. № 3 (75). С. 273–283.
6. Харзинова В. Р., Зиновьева Н. А. Применение микросателлитов в популяционно-генетических исследованиях северного оленя (*Rangifer tarandus*) (обзор) // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2024. Т. 25. № 4. С. 525–537.
7. Применение микросателлитного анализа в генетических исследованиях европейского зубра (*Bison bonasus*) / Н. А. Чурбакова, В. Р. Харзинова, О. А. Кошкина и др. // Генетика и разведение животных. 2024. № 1. С. 5–17.
8. Кипень В. Н., Снытков Е. В. Однонуклеотидный полиморфизм для дифференциации *Bos taurus* и *Bos grunniens* по данным биоинформатического анализа геномов // Молекулярная и прикладная генетика. 2025. Т. 38. С. 123–132.
9. A comparative assessment of SNP and microsatellite markers for assigning parentage in a socially monogamous bird / S. Kaiser, S. Taylor, N. Chen, et al. // Molecular Ecology Resources. 2017. Vol. 17. No. 2. P. 183–193. doi: 10.1111/1755-0998.12589.
10. How many markers are enough? Factors influencing parentage testing in different livestock populations / E. M. Strucken, S. H. Lee, H. K. Lee, et al. // Journal of Animal Breeding and Genetics. 2016. Vol. 133. No. 1. P. 13–23. doi: 10.1111/jbg.12179.
11. Amorim A., Pereira L. Pros and cons in the use of SNPs in forensic kinship investigation: a comparative analysis with STRs // Forensic Science International. 2005. Vol. 150. No. 1. P. 17–21. doi: 10.1016/j.forsciint.2004.06.018.
12. Genetic diversity and differentiation of Mongolian and Russian yak populations / Q. Xuebin, H. Jianlin, B. Lkhagva, et al. // Anim Breed Genet. 2005. Vol. 122. No. 2. P. 117–126. doi: 10.1111/j.1439-0388.2004.00497.x.
13. Application of bovine microsatellite markers for genetic diversity analysis of swiss yak (*Poephagus grunniens*) / T. T. Nguyen, S. Genini, F. Menetrey, et al. // Animal Genetics. 2005. Vol. 36. No. 6. P. 484–489. doi: 10.1111/j.1365-2052.2005.01357.x.
14. Phenotypic and genetic diversity of domestic yak (*Bos grunniens*) in high-altitude rangelands of Gilgit-Baltistan, Pakistan / A. Hameed, E. Schlecht, M. Tariq, et al. // Anim Breed Genet. 2022. Vol. 139. No. 6. P. 723–737. doi: 10.1111/jbg.12730.
15. Cattle microsatellite markers successfully established diversity status of Arunachali yak (only registered yak breed of India) / H. Sharma, R. Sharma, S. Ahlawat, et al. // Indian Journal of Animal Sciences. 2018. Vol. 88. No. 9. P. 1051–1057. doi: 10.56093/ijans.v88i9.83553.

References

1. Oyun NYu, Konorov EA, Urum AV, et al. [Analysis of genetic diversity and population structure of the yak (*Bos grunniens*) of the Sayan-Altai region]. *Genetika*. 2018;54(10):1188-99. Russian.
2. Fakhar-e-Alam Kulyar M, Yao W, Ding Y, et al. Bioactive potential of yak's milk and its products; pathophysiological and molecular role as an immune booster in antibiotic resistance. *Food Bioscience* [Internet]. 2021 [cited 2025 May 12];39: Article 100838. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2212429220311767?via%3Dihub>. doi: 10.1016/j.fbio.2020.100838.
3. Kanoool BK. [Current status, population trends and distribution of yaks in the Republic of Tyva]. *Innovatsionnaya nauka*. 2016;(9):100-2. Russian.
4. Molecular genetic characterization of animal genetic resources. FAO Animal Production and Health Guidelines. Rome: FAO; 2011. no. 9, 88 p.
5. Nikipelov VI, Kharzinova VR, Volkova VV, et al. [Development of a multilocus STR panel and assessment of the origin validity of aquaculture sterlet (*Acipenser ruthenus*)]. *Izvestiya Nizhnevolzhskogo agrouniversitetskogo kompleksa: Nauka i vysshee professional'noe obrazovanie*. 2024;(3):273-83. Russian.
6. Kharzinova VR, Zinov'eva NA. [Application of microsatellites in population genetic studies of reindeer (*Rangifer tarandus*) (review)]. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka*. 2024;25(4):525-37. Russian.
7. Churbakova NA, Kharzinova VR, Koshkina OA, et al. [Application of microsatellite analysis in genetic studies of the European bison (*Bison bonasus*)]. *Genetika i razvedenie zhivotnykh*. 2024;(1):5-17. Russian.
8. Kipen' VN, Snytkov EV. [Single nucleotide polymorphism for differentiation of *Bos taurus* and *Bos grunniens* based on bioinformatic analysis of genomes]. *Molekulyarnaya i prikladnaya genetika*. 2025;38123-32. Russian.
9. Kaiser S, Taylor S, Chen N, et al. A comparative assessment of SNP and microsatellite markers for assigning parentage in a socially monogamous bird. *Molecular Ecology Resources*. 2017;17(2):183-93. doi: 10.1111/1755-0998.12589.
10. Strucken EM, Lee SH, Lee HK, et al. How many markers are enough? Factors influencing parentage testing in different livestock populations. *Journal of Animal Breeding and Genetics*. 2016;133(1):13-23. doi: 10.1111/jbg.12179.
11. Amorim A, Pereira L. Pros and cons in the use of SNPs in forensic kinship investigation: a comparative analysis with STRs. *Forensic Science International*. 2005;150(1):17-21. doi: 10.1016/j.forsciint.2004.06.018.
12. Xuebin Q, Jianlin H, Lkhagva B, et al. Genetic diversity and differentiation of Mongolian and Russian yak populations. *Anim Breed Genet*. 2005;122(2):117-26. doi: 10.1111/j.1439-0388.2004.00497.x.
13. Nguyen TT, Genini S, Menetrey F, et al. Application of bovine microsatellite markers for genetic diversity analysis of swiss yak (*Poephagus grunniens*). *Animal Genetics*. 2005;36(6):484-9. doi: 10.1111/j.1365-2052.2005.01357.x.
14. Hameed A, Schlecht E, Tariq M, et al. Phenotypic and genetic diversity of domestic yak (*Bos grunniens*) in high-altitude rangelands of Gilgit-Baltistan, Pakistan. *Anim Breed Genet*. 2022;139(6):723-37. doi: 10.1111/jbg.12730.
15. Sharma H, Sharma R, Ahlawat S, et al. Cattle microsatellite markers successfully established diversity status of Arunachali yak (only registered yak breed of India). *Indian Journal of Animal Sciences*. 2018;88(9):1051-7. doi: 10.56093/ijans.v88i9.83553.

Поступила в редакцию 10.06.2025 После доработки 28.06.2025 Принята к публикации 23.07.2025