

© А.В. Доцев¹, П.В. Аксенова^{2, 3},
В.В. Волкова¹, В.Р. Харзинова¹,
О.В. Костюнина¹, Р.А. Мнацеканов³,
Н.А. Зиновьева¹

¹ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства имени академика Л.К. Эрнста», Московская область;

²ФГБОУ ВО «Донской государственный технический университет», Ростов-на-Дону;

³Всемирный фонд дикой природы (WWF России)

Выполнено исследование аллелофонда и генетической структуры популяции *Bison bonasus* кавказско-беловежской линии, составляющей «селекционное ядро» российского генофонда зубров ($n = 26$). Из десяти микросателлитов *Bos taurus* восемь локусов оказались полиморфными. Выявлены аллели, специфические для кавказско-беловежской линии. Установлены относительно высокий уровень инбридинга ($F_{IS} = 0,091$) и крайне низкий показатель эффективной численности ($N_e = 1,8$; 95 % CI s; Parametric 1, 1–2,9). Показано наличие двух генетически различающихся исходных групп, принимавших участие в формировании аллелофонда исследуемой популяции зубра. Полученные данные показывают необходимость разработки программ разведения, направленных на снижение степени инбридинга и повышение уровня генетического разнообразия в популяции зубров.

✿ **Ключевые слова:** европейский бизон; *Bison bonasus*; микросателлиты; аллелофонд.

Поступила в редакцию 06.02.2017
Принята к публикации 05.05.2017

ИССЛЕДОВАНИЕ АЛЛЕЛОФОНДА И ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ РОССИЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ ЗУБРОВ (*BISON BONASUS*) КАВКАЗСКО-БЕЛОВЕЖСКОЙ ЛИНИИ

ВВЕДЕНИЕ

Зубр (*Bison bonasus*) — единственный дикий бык Европы, сохранившийся до наших дней. Все современные зубры произошли от 12 животных-основателей — 4 самцов и 8 самок [1], что обуславливает существенно более низкий уровень генетического полиморфизма и высокую степень инбридинга [2]. В исследованиях W. Olech [3] коэффициент инбридинга мировой популяции зубра оценивался на уровне $F = 0,201$, в том числе в беловежской линии — $F = 0,324$, в кавказско-беловежской линии — $F = 0,193$. Последующие исследования того же автора показали еще более высокий коэффициент инбридинга — соответственно $F = 0,439$ и $F = 0,263$ [4].

В 1996 г. WWF России приступил к созданию вольно живущей популяции зубров в лесах европейской части России путем формирования отдельных группировок вида в Орловской, Брянской, Калужской и Владимирской областях [5]. Для снижения инбридинга на территорию европейской части России завозились животные, выращенные не только в питомниках страны, но и полученные из зарубежных центров воспроизводства зубров. Численность популяции, обитающей на территории Орловской, Калужской и Брянской областей, к началу 2016 г. достигла 450 особей. Вместе с тем, учитывая тот факт, что все поголовье зубров в мире происходит от ограниченного числа особей, можно ожидать высокую степень ее инбредности, что может стать причиной снижения общей жизнеспособности животных и даже привести к вымиранию популяции в целом.

Развитие методов молекулярной генетики открыло новые возможности в оценке генетического разнообразия, популяционной структуры, контроле степени инбридинга. Для генетической характеристики популяций зубра было выполнено исследование генов каппа-казеина и главного комплекса гистосовместимости [6], митохондриальной ДНК [7].

Высокоинформативным типом ДНК-маркеров для этих целей являются микросателлиты, или STR-маркеры [8]. Мультиплексные панели микросателлитных маркеров, разработанные для домашних животных, могут быть с успехом использованы для оценки их диких сородичей [9, 10]. В ряде исследований было подтверждено, что гетерологичные микросателлиты домашнего крупного рогатого скота (*Bos taurus*) могут применяться для характеристики популяционной структуры и генеалогических связей различных видов трибы быков (*Bovini*) [11–14]. Так, 117 из 131 STR-маркера (94,3 %) оказались полиморфны у 10 особей домашнего яка (*Poephagus grunniens*) [12], у 11 особей гаура 117 из 130 STR были кросс-амплифицированы (*Bos gaurus*) и 68 локусов (58,1 %) оказались полиморфны [13]. Исследование 34 STR у 6 горалов (*Nemorhaedus caudatus*) позволило успешно амплифицировать 29 локусов, из которых 16 (55,2 %) оказались полиморфными [11].

Опубликован ряд работ по кросс-амплификации STR *Bos taurus* у зубра. T. Roth et al. [15] применили набор из 11 STR для исследования 35 зубров беловежской линии. Все локусы были успешно амплифицированы, число аллелей на локус варьировало от 2 до 4, степень наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности составила соответственно 0,086–0,629 и 0,288–0,621.

М. Tokarska et al. [16] исследовали 276 беловежских зубров с использованием 20 STR, 17 из которых оказались полиморфными. Число аллелей на локус варьировало от 2 до 5 и в среднем составило 3,06. Ожидаемая гетерозиготность изменялась в пределах от 0,008 до 0,654 и в среднем составила 0,31. Сравнительный анализ показал, что гетерозиготность у зубров беловежской линии ($H_e = 0,31$) была наполовину меньше, чем аналогичный показатель у североамериканских бизонов и домашнего крупного рогатого скота ($H_e = 0,67-0,70$), рассчитанный с использованием аналогичной панели микросателлитов [16]. Зубры российской популяции кавказско-беловежской линии до настоящего времени по микросателлитам не исследовались.

В связи с этим целью настоящей работы явилось исследование аллелофонда и генетической структуры популяции *Bison bonasus* кавказско-беловежской линии двух зубровых питомников, составляющих «селекционное ядро» российского генофонда зубров.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Материалом для исследований служили образцы биоматериала (образцы крови или кожи) 26 зубров кавказско-беловежской линии, содержащихся в Центральном зубровом питомнике Приокско-Террасного заповедника (PTZ, $n = 18$), в зубровом питомнике Окского заповедника (OKZ, $n = 7$), и потомка зубров, завезенных в XX веке при формировании вольно живущей группировки в Тебердинском заповеднике (КСН, $n = 1$). Образцы для исследований были предоставлены WWF России.

Для выделения ДНК использовали колонки Nexttec (Nexttec Biotechnologie GmbH, Мюнхен, Германия) и набор «ДНК-Экстрен» (ЗАО «Синтол», Россия). Выполняли мультиплексную амплификацию 10 STR-локусов крупного рогатого скота (TGLA227, BM2113, ETH10, SPS115, TGLA122, INRA23, TGLA126, BM1818, ETH225, BM1824). Реакции проводили в конечном объеме 10 мкл в ПЦР-буфере с 200 мМ dNTPs, 1,0 мМ $MgCl_2$, 0,5 мМ смеси праймеров, 1 ед. Taq-полимеразы («Диалат Лтд», Россия) и 50–100 нг геномной ДНК. После начальной денатурации (95 °С, 4 мин) проводили 35 циклов в следующем температурно-временном режиме: 95 °С, 20 с; 63 °С, 30 с; 72 °С, 1 мин. Фрагментный анализ выполняли на генетическом анализаторе ABI3130xl (Applied Biosystems, США) с использованием программного обеспечения Gene Mapper v.4 (Applied Biosystems, США). Длины аллелей микросателлитов были стандартизированы по ISAG.

Программа GenAlEx 6.5 [17] была использована для расчета среднего числа аллелей на локус (N_a). Ожидаемая (H_e) и наблюдаемая (H_o) гетерозиготность, U_{H_e} — объективно ожидаемая степень гетерозиготности, коэффициент инбридинга (F_{is}) и показатель аллельного разнообразия (A_r) были рассчитаны с помощью *R*-пакета

diversity [18]. Определение эффективной численности проводилось в программе NeEstimator.v.2 [19] методом неравновесия по сцеплению (linkage disequilibrium) [20].

Анализ главных компонент (Principal Component Analysis, PCA) был выполнен с помощью *R*-пакета adegenet [21] и визуализирован в *R*-пакете ggplot2 [22].

Популяционную структуру оценивали, используя адмикс-модель, в программе STRUCTURE 2.3.4 [23]. Анализ проводили для числа предполагаемых популяций $K = 2$, используя следующие установки: длина burn-in-периода — 100 000 и модель марковских цепей Монте Карло (MCMC) — 100 000 повторов. Для каждого значения K выполняли 10 итераций. Для каждого кластера проводили расчет среднего значения коэффициента подобия Q в i -м кластере для общего числа кластеров k (Q_i/k).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из 10 исследованных STR-локусов 8 (за исключением TGLA227 и INRA23) оказались полиморфными. Следует отметить, что локусы INRA23 и TGLA227 были также мономорфны у зубров польской популяции беловежской линии [24]. Интересно, что у зубров беловежской линии в локусах TGLA227 и INRA023 фиксированы соответственно аллели 74 и 194 [24], а у исследованных нами зубров кавказско-беловежской линии — аллели 69 и 192 (табл. 1). У зубров из зоопарков Германии, которые преимущественно являются представителями кавказско-беловежской линии, аллели 69 и 192 также встречались, однако их частота была относительно невысокой — соответственно 0,17 и 0,21 [15]. Информативным является полиморфный локус SPS115: у исследованных нами кавказско-беловежских зубров с высокой частотой (0,904) встречался аллель 258, который был также выявлен в зоопарковой популяции зубров Германии (частота составила 0,75) [15], но отсутствовал в беловежской популяции [24].

Всего в российской популяции зубров кавказско-беловежской линии нами было выявлено 28 аллелей в 10 изученных локусах. Число аллелей в локусах варьировало от 1 до 5 и в среднем составило $2,80 \pm 0,47$. Для корректности сравнения мы выполнили расчет среднего числа аллелей по 9 STR-локусам, исследованным также в польской популяции беловежской линии [24] и в популяции зубров из зоопарков Германии [15]. Значения данного показателя составили соответственно $1,89 \pm 0,26$ и $2,33 \pm 0,24$ против $2,67 \pm 0,47$ в исследованной нами выборке кавказско-беловежской линии. В исследованиях выборки 30 животных польской и 70 животных белорусской популяций с использованием девяти STR [25] было выявлено 22 и 26 аллелей, при этом среднее количество аллелей на локус оказалось 2,4 и 2,9. Значения данного показателя, рассчитанные по семи общим STR, составили соответственно $2,57 \pm 0,28$ и $3,00 \pm 0,29$

Таблица 1

Сравнительный анализ полиморфизма микросателлитных локусов у *Bison bonasus* кавказско-беловежской и беловежской линий
Comparative analysis of microsatellite DNA polymorphisms in *Bison bonasus* of Lowland-Caucasian and Lowland lines

Локус	Аллель	Частота аллелей в линиях <i>B. bonasus</i>					
		Кавказско-беловежская, $n = 26$, РФ ¹				Беловежская, $n = 22$, Польша [24]	Популяция из зоопарков, $n = 35$, Германия [15]
		всего	в том числе				
			PTZ, $n = 18$	OKZ, $n = 7$	KCH, $n = 1$		
TGLA227	69	1,000	1,000	1,000	1,000	—	0,17
	71	—	—	—	—	—	0,83
	74	—	—	—	—	1,000	—
BM2113	125	—	—	—	—	—	0,31
	127	0,977	0,972	1,000	1,000	1,000	0,69
	131	0,023	0,028	—	—	—	—
ETH10	211	0,192	0,194	0,214	—	0,273	0,39
	213	0,192	0,083	0,500	—	0,091	0,01
	215	0,615	0,722	0,286	1,000	0,636	0,60
SPS115	244	0,038	0,056	—	—	—	0,13
	250	0,038	0,056	—	—	—	—
	252	0,019	0,028	—	—	0,341	0,06
	254	—	—	—	—	—	0,06
	256	—	—	—	—	0,659	—
	258	0,904	0,861	1,000	1,000	—	0,75
TGLA126	109	0,058	0,056	0,071	—	—	—
	111	—	—	—	—	0,182	—
	113	0,596	0,611	0,500	1,000	—	0,67
	115	—	—	—	—	0,682	—
	119	0,288	0,250	0,429	—	—	0,33
	121	0,038	0,056	—	—	0,136	—
	123	0,019	0,028	—	—	—	—
TGLA122	137	0,038	0,056	—	—	—	—
	141	0,788	0,750	0,857	1,000	0,841	0,61
	147	0,038	0,056	—	—	—	—
	163	0,135	0,139	0,143	—	—	0,39
	165	—	—	—	—	0,159	—
INRA023	190	—	—	—	—	—	0,79
	192	1,000	1,000	1,000	1,000	—	0,21
	194	—	—	—	—	1,000	—
ETH225	156	0,135	0,111	0,214	—	0,477	0,34
	158	0,865	0,889	0,786	1,000	0,523	0,66
BM1818	250	0,019	0,028	—	—	—	не исследовался
	260	0,058	0,083	—	—	—	
	262	0,596	0,611	0,500	1,000	0,619	
	264	—	—	—	—	0,381	
	266	0,327	0,278	0,500	—	—	
BM1824	178	0,404	0,417	0,429	—	—	0,36
	180	0,596	0,583	0,571	1,000	0,250	0,64
	182	—	—	—	—	0,750	—

Примечание: ¹ собственные исследования; исследуемые группы зубра: PTZ — Приокско-Тerrasная, OKZ — Окская, KCH — Карачаево-Черкесская.

Note: ¹ own research; investigated groups of wisent: PTZ — Prioksko-Terrasny, OKZ — Oksky, KCH — Karachaevo-Cherkessky

Таблица 2

Основные популяционно-генетические параметры, рассчитанные по десяти STR-локусам
The main population genetic parameters, based on 10 STR markers

Pop*	n	Ho	He	UHe	F _{IS}	Ar
PTZ	18	0,244 ± 0,060	0,293 ± 0,070	0,302 ± 0,072	0,135	2,270 ± 0,302
OKZ	7	0,343 ± 0,105	0,276 ± 0,082	0,297 ± 0,088	-0,259	1,800 ± 0,249
Всего**	26	0,262 ± 0,066	0,293 ± 0,073	0,298 ± 0,075	0,091	2,141 ± 0,271

Примечание: *так как группа КСН была представлена одной особью, показатели генетического разнообразия для нее отдельно не определялись; **показатели определены для выборки в целом, включая КСН.
Note: *since one individual represented the KCH group, its genetic diversity indicators were not calculated; **the numbers are given for the entire sample, including the KCH individual

против $3,14 \pm 0,43$ у исследованных нами зубров кавказско-беловежской линии.

Как показано в таблице 2, наблюдается тенденция более высокой степени гетерозиготности в группе OKZ по сравнению с PTZ. Следует отметить существенно меньший уровень ожидаемой гетерозиготности российской популяции кавказско-беловежской линии ($He = 0,262$) по сравнению с белорусской и польской популяциями беловежской линии зубров, в которых данный показатель составил соответственно $He = 0,421$ и $He = 0,522$ [25]. У зубров из зоопарков Германии значение He по 11 STR составило 0,447. В группе PTZ установлен дефицит гетерозигот ($F_{IS} = 0,135$), в то время как в группе OKZ, напротив, отмечен избыток гетерозигот ($F_{IS} = -0,259$). Для сравнения значения коэффициента инбридинга у зубров беловежской линии были близки к нулю и составили $-0,066$ и $+0,058$ в польской и белорусской популяциях соответственно [25], однако авторы отмечают, что полученные значения не отражают дейст-

вительный уровень инбридинга из-за малого количества аллелей микросателлитных локусов.

Важным показателем для видов, прошедших через бутылочное горлышко, является эффективный размер популяции (Ne). Значение Ne для зубров российского селекционного ядра в наших исследованиях составило 1,8 (95 % CIs, Parametric 1,1–2,9). Для сравнения значение Ne у зубров беловежской линии было равно 9,9 и 10,7 в польской и белорусской популяциях соответственно [25]. Низкие значения Ne и возможность потери ценных генотипов в результате дрейфа генов обуславливают снижение эволюционного потенциала популяции. Это означает, что в случае изменения факторов внешней среды в исследованной популяции может не оказаться животных, способных приспособиться к новым условиям.

Как показано на рис. 1, 24 из 26 исследованных особей формируют единый кластер, что указывает на общность их генетического происхождения. Два животных

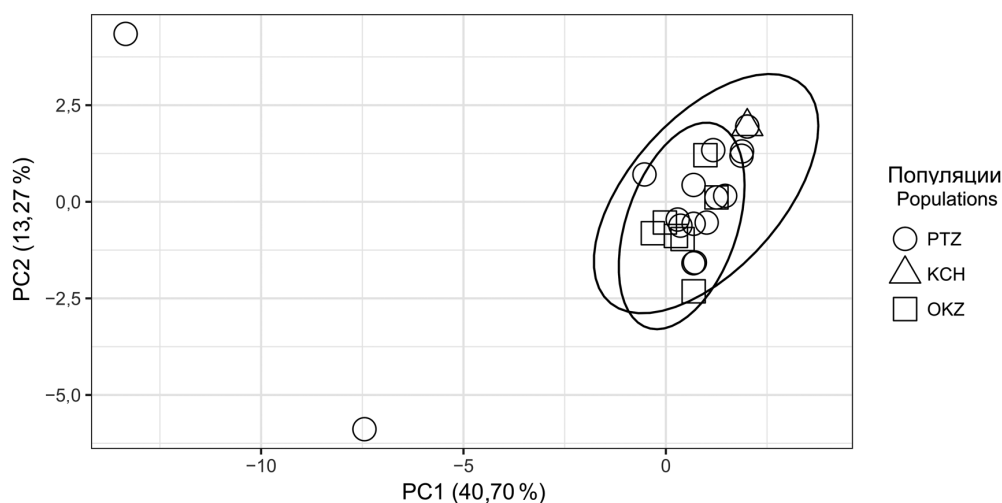


Рис. 1. Генотипическая изменчивость 26 особей российской популяции зубра, генотипированных по десяти STR, основанная на результатах анализа главных компонент (PCA): ось X — главная компонента 1 (PC1), ось Y — главная компонента 2 (PC2); исследуемые группы зубра: PTZ — Приокско-Тerrasная, КСН — Карачаево-Черкесская, ОКЗ — Окская

Fig. 1. Genotypic variability in 26 individuals of the Russian wisent population, genotyped by ten STR markers, based on principal component analysis (PCA): the X axis is the principal component 1 (PC1), the Y axis is the principal component 2 (PC2); investigated groups of wisent: PTZ — Prioksko-Terrasny, KCH — Karachaevo-Cherkessky, OKZ — Oksky

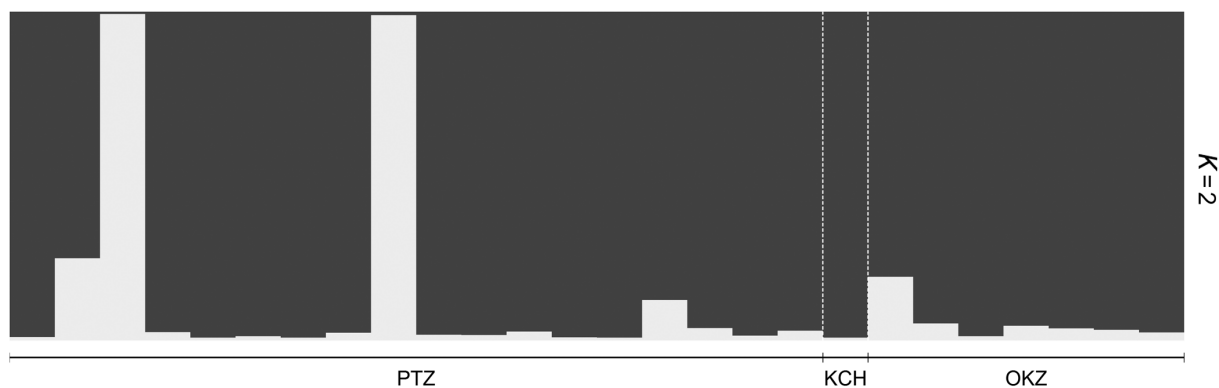


Рис. 2. Популяционная принадлежность 26 особей зубра на основании анализа 10 STR-маркеров, оцененная с использованием STRUCTURE: исследуемые группы зубра: PTZ — Приокско-Тerrasная, KCH — Карачаево-Черкесская, OKZ — Окская; ось X — индивидуумы (представлены в виде тонких вертикальных полос с долей различных оттенков серого, отражающих их предполагаемое происхождение от различных популяций); ось Y — коэффициент членства Q [23]

Fig. 2. Population affiliation of 26 wisent individuals based on the analysis of 10 STR-markers estimated by STRUCTURE software: Investigated groups of wisent: PTZ – Prioksko-Terrasny, KCH – Karachaevo-Cherkessky, OKZ – Oksky; X axis – individuals (presented as thin vertical bars with fractions of different shades of gray, reflecting their alleged origin from different populations); Y axis – coefficient of membership Q

из группы PTZ имеют генетически отличное происхождение, что требует более тщательного изучения их генотипов.

STRUCTURE-анализ (рис. 2) подтверждает наличие двух генетически различающихся исходных групп, принимавших участие в формировании аллелофонда исследуемой популяции зубра. При $K = 2$, 21 из 26 индивидуумов, в том числе 15 особей PTZ, 1 особь KCH и 6 особей OKZ, формируют первый кластер со средним значением членства $Q_{1/2} = 0,978 \pm 0,003$ и вариациями от 0,948 до 0,991. Две особи, представляющие группу PTZ, характеризуются высоким значением членства во втором кластере ($Q_{1/2} = 0,993$ и 0,990), что указывает на их иное происхождение. Кроме того, в исследованной выборке выделяются 3 особи (2 из группы PTZ и 1 из группы OKZ), генетически более близкие особям первого кластера ($Q_{1/2} = 0,750$; 0,877 и 0,806), однако проявляющие сигналы адмиксии аллелей второго кластера ($Q_{2/2} = 0,250$; 0,123 и 0,194).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наличие уникальных аллелей микросателлитных локусов у кавказско-беловежских зубров, в частности в мономорфных локусах TGLA227 (69) и INRA023 (192) и полиморфном локусе SPS115 (258), может подтверждать наличие в их происхождении кавказского зубра. Данные аллели были описаны ранее в популяции зубров из зоопарков Германии, являющихся преимущественно представителями кавказско-беловежской линии, но отсутствовали в польской популяции зубров беловежской линии. Также в генетической структуре популяции предварительно определены два кластера, которые могут

свидетельствовать о наличии двух генетически различающихся исходных групп.

Кроме того, исследования показали, что зубры российского генофонда кавказско-беловежской линии, несмотря на более выгодные исходные данные (происхождение от 12 зубров-основателей, в отличие от зубров беловежской линии, которые произошли от 5 зубров-основателей), имеют значительно более высокий уровень инбридинга и крайне низкий показатель эффективной численности. Это делает популяцию уязвимой к любым изменениям внешней и внутренней среды и возможной потере генотипов в результате дрейфа генов, что крайне неблагоприятно для ее эволюционного потенциала. В этой связи необходима разработка принципиально новых программ разведения зубров, направленных на снижение степени инбридинга в популяции и повышение уровня ее генетического разнообразия.

БЛАГОДАРНОСТИ

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

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Slatis MA. An analysis of inbreeding in the European bison. *Genetics*. 1960;45:275-287.
2. Pucek Z, Bielousova IP, Krasnińska M, et al. European bison. Status survey and conservation action plan.

- IUCN/SSC Bison Specialist Group. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK. 2004:54.
3. Olech W. Analysis of inbreeding in European bison. *Acta Theriologica*. 1987;32:373-387. doi: 10.4098/AT.arch.87-25.
 4. Olech W. The inbreeding of European bison (*Bison bonasus* L.) population and its influence on viability. In: Book of Abstracts of the 49th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Warsaw, Poland, 1998. August 24-27. P. 26.
 5. Зубр. WWF. https://www.wwf.ru/about/what_we_do/species/zubr (cited 04.02.2017).
 6. Удина И.Г. Изучение ДНК-полиморфизма генов kappa-казеина и главного комплекса гистосовместимости у зубров. Материалы 1-го съезда Вавиловского общества генетиков и селекционеров (ВОГиС) // Генетика. — 1994. — Т. 30. — Прил. — С. 161. [Udina IG. Study of DNA polymorphism of genes of kappa-casein and main histocompatibility complex in wisent. *Genetika*. 1994;30(Suppl.):161. (In Russ.)]
 7. Wójcik JM, Kawalko A, Tokarska M, et al. Post-bottleneck mtDNA diversity in a free-living population of European bison: implications for conservation. *J Zoology*. 2009;277(1):81-87. doi: 10.1111/j.1469-7998.2008.00515.x.
 8. Putman AI, Carbone I. Challenges in analysis and interpretation of microsatellite data for population genetic studies. *Ecol Evol*. 2014;4(22):4399-4428. doi: 10.1002/ece3.1305.
 9. Dieringer D, Schlötterer C. Two distinct modes of microsatellite mutation processes: evidence from the complete genomic sequences of nine species. *Genome Research*. 2003;13:2242-2251. doi: 10.1101/gr.1416703.
 10. Chen MH, Dorn S. Cross-amplification of microsatellites from the codling moth *Cydia pomonella* to three other species of the tribe *Grapholitini* (Lepidoptera: Tortricidae). *Molecular Ecology Resource*. 2010;10(6):1034-37. doi: 10.1111/j.1755-0998.2010.02837.x.
 11. Kim KS, Min MS, An JH, et al. Cross-species amplification of Bovidae microsatellites and low diversity of the endangered Korean goral. *J Hered*. 2004;95(6):521-5. doi: 10.1093/jhered/esh082.
 12. Nguyen TT, Genini S, Ménétrey F, et al. Application of bovine microsatellite markers for genetic diversity analysis of Swiss yak (*Poephagus grunniens*). *Animal Genetics*. 2005;36(6):484-489. doi: 10.1111/j.1365-2052.2005.01357.x.
 13. Nguyen TT, Genini S, Bui LC, et al. Genomic conservation of cattle microsatellite loci in wild gaur (*Bos gaurus*) and current genetic status of this species in Vietnam. *BMC Genet*. 2007;6(8):77. doi: 10.1186/1471-2156-8-77.
 14. Аль-Кейси Т.В., Зиновьева Н.А., Гладырь Е.А., и др. Оценка интродукции генофонда исходных видов у гибридов *Bos Taurus* и *Phoephagus grunniens* Монголии с использованием микросателлитов // Проблемы биологии продуктивных животных. — 2011. — № 1. — С. 6–8. [Al'-Keysi TV, Zinovieva NA, Gladyr EA, et al. Evaluation of introduction of gene pool of initial species in *Bos Taurus* and *Phoephagus grunniens* hybrids. *Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh*. 2011;(1):6-8. (In Russ.)]
 15. Roth T, Pfeiffer I, Weising K, et al. Application of bovine microsatellite markers for genetic diversity analysis of European bison (*Bison bonasus*). *J Anim Breed Genet*. 2006;123(6):406-409. doi: 10.1111/j.1439-0388.2006.00613.x.
 16. Tokarska M, Marshall T, Kowalczyk R, et al. Effectiveness of microsatellite and SNP markers for parentage and identity analysis in species with low genetic diversity: the case of European bison. *Heredity*. 2009;103(4):326-32. doi: 10.1038/hdy.2009.73.
 17. Peakall R, Smouse PE. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics*. 2012;28:2537-9. doi: 10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x.
 18. Keenan K, McGinnity P, Cross TF, et al. diveRsity: An R package for the estimation of population genetics parameters and their associated errors. *Methods in Ecology and Evolution*. 2013;4(8):782-788. doi: 10.1111/2041-210X.12067.
 19. Do C, Waples RS, Peel D, et al. NeEstimator v2: re-implementation of software for the estimation of contemporary effective population size (N_e) from genetic data. *Mol Ecol Res*. 2014;14(1):209-214. doi: 10.1111/1755-0998.12157.
 20. Waples RS, Do C. Linkage disequilibrium estimates of contemporary N_e using highly variable genetic markers: a largely untapped resource for applied conservation and evolution. *Evol Appl*. 2010;3(3):244-262. doi: 10.1111/j.1752-4571.2009.00104.x.
 21. Jombart T. ADEGENET: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*. 2008;24(11):1403-1405. doi: 10.1093/bioinformatics/btn129.
 22. Wickham H. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. New York: Springer-Verlag; 2009.
 23. Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*. 2000;155:945-959. Доступно по: http://web.stanford.edu/group/pritchardlab/structure_software/release_versions/v2.3.4/html/structure.html. Ссылка активна на 01.09.2016.
 24. Gralak B, Krasnińska M, Niemczewski C, et al. Polymorphism of bovine microsatellite DNA sequences in the lowland European bison. *Acta Theriologica*. 2004;49:449-456. doi: 10.1007/BF03192589.
 25. Михайлова М.Е., Медведева Ю.В. Сравнение аллельных частот микросателлитных локусов белорусской и польской популяций европейского

зубра (*Bison bonasus*) // Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук. — 2013. — № 2. — С. 47–52. [Mikhaylova ME, Medvedeva YuV. Comparison of allele frequencies of microsatellite loci in Belorussian and Polish population of European bison (*Bison bonasus*). *Vesti Natsyonal'nay akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnykh navuk*. 2013;2:47-52. (In Russ.)]

STUDY OF ALLELE POOL AND GENETIC STRUCTURE OF RUSSIAN POPULATION OF LOWLAND-CAUCASIAN LINE OF EUROPEAN BISON (*BISON BONASUS*)

A.V. Dotsev, P.V. Aksenova, V.V. Volkova,
V.R. Kharzinova, O.V. Kostyunina,
R.A. Mnatsekanov, N.A. Zinovieva

For citation: Ecological genetics. 2017;15(2):4-10

☼ **SUMMARY: Background.** The European bison (*Bison bonasus*) is the only wild ox of Europe, survived to our days. Whilst numerous stu-

dies have been undertaken to characterize the Lowland line of European bison, it is little known about allele pool and population genetic structure of the Lowland-Caucasian line of wisent. **Materials and methods.** The samples were collected from twenty-six animals of Russian breeding nucleus of Lowland-Caucasian line. Ten *Bos Taurus* microsatellites (TGLA227, BM2113, ETH10, SPS115, TGLA122, INRA23, TGLA126, BM1818, ETH225, and BM1824) were used for analysis. **Results.** Eight of ten microsatellite loci (excluding TGLA227 and INRA23) were polymorphic. The number of alleles per locus is varied of one to five with average value of 2.80 ± 0.47 . The alleles, which are specific for Lowland-Caucasian line, were identified. We observed relatively high inbreeding level ($F_{is} = 0,091$) and very low effective population size ($N_e = 1.8$, 95% CIs, Parametric 1.1-2.9). We showed that two genetically distinct groups have taken part in formation of allele pool of studied wisent population. **Conclusion.** Our data indicated that the development of breeding program to decrease the inbreeding degree and to increase the level of genetic diversity is necessary.

☼ **KEYWORDS:** European bison; *Bison bonasus*; microsatellites; allele pool.

☼ Информация об авторах

Арсен Владимирович Доцев — канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории популяционной генетики и разведения животных отдела генетики, разведения и технологий в животноводстве. ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства имени академика Л.К. Эрнста», Московская область. E-mail: asnd@mail.ru.

Полина Владимировна Аксенова — канд. биол. наук, профессор кафедры, ведущий научный сотрудник лаборатории популяционной генетики и разведения животных отдела генетики, разведения и технологий в животноводстве. ФГБОУ УВО «Донской государственный технический университет». E-mail: polinax-1@mail.ru.

Валерия Владимировна Волкова — канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярных основ селекции отдела биотехнологии и молекулярной диагностики животных. ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства имени академика Л.К. Эрнста», Московская область. E-mail: moonlit_eli@mail.ru.

Вероника Руслановна Харзинова — канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярных основ селекции отдела биотехнологии и молекулярной диагностики животных. ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства имени академика Л.К. Эрнста», Московская область. E-mail: veronika0784@mail.ru.

Ольга Васильевна Костюнина — канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник, руководитель лаборатории молекулярных основ селекции отдела биотехнологии и молекулярной диагностики животных. ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства имени академика Л.К. Эрнста», Московская область. E-mail: kostolan@mail.ru.

Роман Астакетович Мнацеканов — старший координатор проектов. Всемирный фонд дикой природы, обособленное подразделение «Российский Кавказ», Краснодарский край. E-mail: ramnatsekanov@mail.ru.

Наталья Анатольевна Зинovieва — д-р биол. наук, профессор, академик РАН, директор, руководитель центра биотехнологии и молекулярной диагностики. ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства имени академика Л.К. Эрнста», Московская область. E-mail: n_zinovieva@mail.ru.

☼ Information about the authors

Arsen V. Dotsev — researcher, PhD, Department of animal breeding, selection and technologies. L.K. Ernst Institute for Animal Husbandry, Moscow region, Russia. E-mail: asnd@mail.ru.

Polina V. Aksenova — Dr. biol. sciences, Professor, Department of Biology and general pathology. Don State Technical University, Rostov-on-Don, Russia. E-mail: polinax-1@mail.ru.

Valeriya V. Volkova — researcher, PhD, Department of biotechnology and molecular diagnostics. L.K. Ernst Institute for Animal Husbandry, Moscow region, Russia. E-mail: moonlit_eli@mail.ru.

Veronika R. Kharzinova — researcher, PhD, Department of biotechnology and molecular diagnostics. L.K. Ernst Institute for Animal Husbandry, Moscow region, Russia. E-mail: veronika0784@mail.ru.

Olga V. Kostyunina — researcher, PhD, Department of biotechnology and molecular diagnostics. L.K. Ernst Institute for Animal Husbandry, Moscow region, Russia. E-mail: kostolan@mail.ru.

Roman A. Mnatsekanov — Senior Project Coordinator. WWF Russia, Russian Caucasus regional office, Krasnodar region, Russia. E-mail: ramnatsekanov@mail.ru.

Natalia A. Zinovieva — Head of department, Department of biotechnology and molecular diagnostics. L.K. Ernst Institute for Animal Husbandry, Moscow region, Russia. E-mail: n_zinovieva@mail.ru.