

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ И ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ
МЕДИЦИНЫ
СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

КУСЛИЙ МАРИЯ АЛЕКСАНДРОВНА

НАУЧНЫЙ ДОКЛАД
об основных результатах выполненной
научно-квалификационной работы

**Генетическое разнообразие древних лошадей Алтая и
сопредельных территорий**

Направление подготовки науки	06.06.01 Биологические
Направленность биология	03.01.03 Молекулярная

Аспирант _____ М. А. Куслий
Научный руководитель _____ д.б.н. А. С. Графодатский

Новосибирск – 2020

Работа выполнена в лаборатории цитогенетики животных ФГБУН Института молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, Россия.

Научный руководитель: **Графодатский Александр Сергеевич**, доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, заведующий отделом разнообразия и эволюции геномов и лабораторией цитогенетики животных Института молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск, Россия.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. Исследования древней ДНК выявляют генетическую изменчивость популяций лошадей в пространстве и времени, помогающие лучше понять эволюционную историю популяций лошадей в разных частях мира [Orlando, 2018]. В отличие от собак или свиней, скелет рода *Equus* не отличается пластичностью, и из-за этого даже такие разные виды, как зебры и ослы, практически нельзя отличить по костям, поэтому палеонтологи испытывают трудности при изучении эволюционной истории лошадей [Mashkour, 2002]. В такой ситуации молекулярно-генетический анализ является важным инструментом в определении статуса археозоологических остатков лошадей.

Недавние исследования раскрыли неожиданное разнообразие вымерших генетических линий лошадей, существовавших до начала одомашнивания и на его ранних этапах [Fages и др., 2019; Gaunitz и др., 2018; Librado и др., 2015; Librado и др., 2017; Schubert и др., 2014a]. В то время в Алтайском регионе России, на территории юго-западной Сибири, существовало, как минимум, четыре типа генетических линий лошадей. Во-первых, вид *Equus lenensis*, который был распространён на территориях Таймырского полуострова, Республики Якутия и Республики Тыва во время верхнего палеолита и, по крайней мере, до конца четвертого тысячелетия до нашей эры [Fages и др., 2019; Librado и др., 2015; Librado и др., 2017]. Во-вторых, вид *Equus ovodovi*, который присутствовал на Алтае во времена верхнего палеолита и существовал, по крайней мере, до 10 тысячелетия до н.э. в северо-восточном Китае [Eisenmann, Sergej, 2011; Orlando и др., 2006; Plasteeva и др., 2019]. В-третьих, линия, ведущая к современным лошадям Пржевальского, возможно, присутствовала в этом регионе, так как остатки лошадей из памятника Борлы 4 (Borly4) в северо-восточном Казахстане принадлежат потомкам ботайских лошадей, и по радиоуглероду этот памятник датируется началом третьего тысячелетия до н.э. [Gaunitz и др., 2018]. Наконец, линия современных домашних лошадей была, в значительной степени, доминирующей во время железного века до настоящего времени [Librado и др., 2017]. Поскольку все четыре вида могут быть идентифицированы генетически [Fages и др., 2019], анализ древней ДНК помогает в определении распространения

представителей этих вымерших видов в древних популяциях разных археологических культур Алтая, их генетический вклад в генофонд популяций домашних лошадей, и их эволюционную историю.

Размеры тела лошадей в результате одомашнивания не изменились, в отличие от других домашних видов [Levine, 2005]. В последнее десятилетие при помощи анализа древней ДНК было полностью переосмыслено понимание процесса одомашнивания лошадей, начиная с самых ранних до самых современных этапов [Orlando, 2020]. Однако многие геномные изменения, лежащие в основе как ранних, так и поздних стадий одомашнивания лошади, остаются в значительной степени неизвестными [Librado и др., 2017]. Хотя происхождение домашних лошадей является центральным вопросом многих мультидисциплинарных исследований, выводы остаются противоречивыми [Bendrey, 2018]. В целом, эти исследования показали, что время и географическое местоположение центра одомашнивания лошадей остаются неизвестными [Fages и др., 2019; Gaunitz и др., 2018; Librado и др., 2015; Librado и др., 2017; Schubert и др., 2014a]. Самые ранние археологические свидетельства обуздания, доения и содержания в загонах лошадей были описаны для энеолитического поселения Ботай на севере центрального Казахстана [Gaunitz и др., 2018; Olsen, 2006; Outram и др., 2009]. Недавнее секвенирование полных геномов древних лошадей показало, что ботайские лошади являлись не предками современных домашних лошадей, а предками современных лошадей Пржевальского [Gaunitz и др., 2018]. Генетическое родство ботайским лошадям, обнаруженное у современных домашних лошадей (в среднем приблизительно 3%), доказывает возможность того, что лошади были одомашнены независимо во второй раз. Географическое местоположение этого предполагаемого второго центра одомашнивания в настоящее время неизвестно, и Пиренейский полуостров может быть исключён [Fages и др., 2019]. Филогеографические исследования древних энеолитических популяций лошадей должны привести к определению центра одомашнивания лошадей, древней популяции, которая дала начало всем одомашненным.

Русскими археологами собраны огромные коллекции костных остатков лошадей, обнаруженных при раскопках разных археологических памятников на территории Сибири в позднем плейстоцене (11.7—126 тыс. лет назад) и голоцене

(11.7 тыс. лет назад – до настоящего времени) [Tishkin, Plasteeva, Sablin, 2020]. За некоторыми исключениями, собранные коллекции на уровне древней ДНК практически не исследованы, однако молекулярно-генетическая информация позволяет понять, по каким признакам проводилась селекция лошадей древними людьми, характер взаимоотношений между разными археологическими культурами, миграционные пути древних народов, что является довольно важными и спорными вопросами в современной археологии, требующими однозначных ответов.

Цель и задачи исследования. Целью данной работы является исследование генетического состава и филогеографии древних популяций лошадей Алтая и сопредельных территорий

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

1. Проанализировать последовательности фрагмента гипервариабельного района I (HVR I) митохондриального генома у лошадей современных и древних популяций Алтая для выяснения происхождения алтайской породы, реконструкции филогеографических связей между популяциями, динамики изменения популяций во времени.

2. Исследовать полные митохондриальные геномы у древних лошадей пазырыкской, скифской и тюркской культур Алтая и культуры "оленных" камней и херексуров и хуннуской культур Монголии для определения взаимоотношений и преемственности этих культур посредством определения родственности древних популяций лошадей, ассоциированных с ними.

3. Провести полногеномный анализ древних популяций лошадей Алтая и сопредельных территорий разных геологических и исторических эпох для определения соотношения полов в исследуемых популяциях, характеристики их фенотипического и генетического состава, реконструкции их филогеографии, возможных эволюционных корней и выявления новых альтернативных вымерших ветвей эволюции на ранних этапах одомашнивания.

Научная новизна. Лошадь до сих пор играет важную роль в традиционной культуре алтайцев и монголов [Мендешева, 2008]. Алтай является одним из центров коневодства в России. Морфологически выделяют две популяции лошадей алтайской породы: наиболее крупные животные в центральной части, и наиболее мелкие – на востоке [Лобанова, Трушников, 2005]. Считается, что такое отличие связано с происхождением восточных алтайских лошадей от монгольских, а также их обитание на более или менее высокогорных территориях, однако генетически эта гипотеза о происхождении алтайских лошадей не была исследована.

Несмотря на то, что количество полученных древний полных геномов лошадей составляет около 200, эти данные не позволяют сделать окончательные выводы, поскольку часто ограничены несколькими образцами на археологический памятник, регион и / или периоды времени. Эти ограничения особенно актуальны для лошадей пазырыкского времени железного века, по которому только для одного археологического памятника было проведено глубокое геномное исследование (памятник Берель, Казахстан, Алтай) [Librado и др., 2017]. Однако, из-за жертвенных погребальных ритуалов количество костных остатков лошадей, найденных в пазырыкских курганах, является значительным и заслуживает большего внимания. Совсем небольшое количество исследований посвящено анализу ДНК древних лошадей разных археологических культур Алтая. По гипервариабельному району были определены митотипы трёх древних лошадей археологических памятников Олон-Курин-Гол-6 и 10 (Olon-Kurin-Gol 6 и 10) пазырыкской культуры раннего железного века Алтайских гор в северо-западной Монголии [Pіlipenko и др., 2010]. В недавнем полногеномном исследовании было определено, что домашние лошади пазырыкской скифской и хуннской степных археологических культур железного века, по всей видимости, родственны лошадям карасукской культуры позднего бронзового века Южной Сибири. Эта линия лошадей просуществовала, по крайней мере, до 8-го века в Центральной Азии, что доказывает расположение на филогенетическом древе в том же кластере древней лошади из могильника Боз-Адыр Кыргызстана. Было определено, что древние лошади Великой Монгольской (XIII в. н.э.) и Уйгурской (VII-IX вв. н.э.) империй являются близкородственными с лошадьми

археологических памятников Григорьевка 4 и Иссук 1 Казахстана (IX в. н.э.), и что на филогенетическом древе они расположены в одной группе, происходящей от двух персидских сасанидских лошадей [Fages и др., 2019].

Исходя из вышеизложенной информации можно заключить, что были проведены исследования древних лошадей гор Алтая в Казахстане и Монголии [Keyser-Tracqui и др., 2005; Librado и др., 2017; Pilipenko и др., 2010], а также популяций древних людей курганной культуры Южной Сибири [Keyser и др., 2009], однако древние популяции лошадей, обитавших непосредственно в горах Алтая на территории современной России, практически не были исследованы.

Теоретическая и практическая значимость.

В данном исследовании были определены генетическая структура и филогеография древних популяций Алтая и сопредельных территорий разных археологических культур, происхождение и преемственность популяций древних лошадей. Полученные результаты помогли решить некоторые вопросы в области археологии, связанные с определением типа хозяйственного устройства энеолитических поселений, благодаря выяснению, являлись ли древние лошади дикими или одомашненными, выяснить признаки, по которым проводился естественный отбор лошадей у разных древних народов, а также характер взаимоотношений между разными археологическими культурами и пути их миграций. Результаты исследования имеют теоретическую, культурно-историческую и эволюционно-биологическую значимость.

Апробация работы. Публикации. По результатам и проблематике настоящего исследования опубликовано 7 работ, из них 3 статьи в рецензируемых изданиях рекомендованного перечня ВАК и 4 тезисов конференций:

1. Kusliy M. A. et al. Genotyping and coat colour detection of ancient horses from Buryatia //Тsitologiya. – 2016. – V. 58. – №. 4. – P. 304-308.
2. Kusliy M. A. et al. Genotyping of ancient horses of the Yaloman-II archaeological site //High-throughput Sequencing in Genomics. – 2017. – P. 72-72.

3. Vorobieva N. V., Makunin A. I., Druzhkova A. S., Kusliy M. A., Trifonov V. A., Popova K. O., Polosmak N. V., Molodin V. I., Vasiliev S. K., Shunkov M. V., Graphodatsky A. S. High genetic diversity of ancient horses from the Ukok Plateau //PLoSOne. – 2020. In edition.

4. Kusliy M. A., Vorobieva N. V., Druzhkova A. S., Tishkin A. A., Iderkhangai T. -O., Makunin A. I., Popova K. O., Trifonov V. A., Graphodatsky A. S. Genotyping of ancient horses of arzhan-mayemir and hunny time Mongolian archaeological sites //Genetica. – 2020. In edition.

5. Kusliy M. A. Genotyping and coat colour detection of ancient horses from Altai and Buryatia: comparison with modern populations //Abstracts at the conference «Symbiosis-Russia 2015» (October 5-9, 2015, NSU, Novosibirsk, Russia).

6. Kusliy M. A. Horses of the Xiongnu people: genotyping and color color determination //Abstracts at the conference "Lomonosov 2016" (April 11-15, 2016, MSU, Moscow, Russia).

7. Kusliy M. A. et al. Molecular genetic analysis of ancient horse bone samples from the Botai circle site of Novoilinka-III (Kulunda Steppe) // Abstracts at the international conference «Botai culture and other Eneolithic monuments of Central Asia » (April 4-6, 2019, Almaty, Kazakhstan).

Вклад автора. Основная часть работы была выполнена автором самостоятельно, в частности, все лабораторные эксперименты и биоинформатический анализ на уровне полных митохондриальных геномов. Анализ полных ядерных геномов проводился совместно с кандидатом биологических наук Алексеем Игоревичем Макуниным (лаборатория цитогенетики животных ИМКБ СО РАН, Новосибирск, Россия), профессором Людовиком Орландо и PhD Пабло Либрадо (лаборатория молекулярной антропологии Университета имени Поля Сабатье, Тулуза, Франция).

Благодарности. Автор выражает глубокую благодарность своему научному руководителю, д.б.н. Александру Сергеевичу Графодатскому,

к.б.н. Надежде Валентиновне Воробьевой, Анне Сергеевне Дружковой за помощь на всех этапах выполнения работы, д.б.н. Владимиру Александровичу Трифонову за помощь в обсуждении результатов, к.б.н. Алексею Игоревичу Макунину, профессору Людовику Орландо и PhD Пабло Либрадо за помощь в биоинформатическом анализе данных, а также всем сотрудникам отдела разнообразия и эволюции геномов ИМКБ СО РАН и лаборатории молекулярной антропологии Университета имени Поля Сабатье за постоянную поддержку.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

В исследовании фрагмента гипервариабельного района митохондриального генома современных лошадей были применены следующие методы: выделение современной ДНК из волосяных луковиц и волос по протоколу DNeasy® Blood & Tissue (Qiagen), амплификация фрагмента контрольного района митохондриальной ДНК, используя специфичные пары праймеров, автоматизированное секвенирование по методу Сэнгера. Биоинформатический анализ включал определение молекулярной межпопуляционной и внутривидовой изменчивости (Analysis of MOlecular VAriance, AMOVA), степени дифференциации популяций (F_{st}), популяционной структуры, метод главных компонент (principal component analysis, PCA), а также построение филогенетической сети. Индекс фиксации Райта (F_{st}), отражающий меру дифференциации популяций (эволюционная дистанция Nei, 10000 перестановок), а также генетическое и гаплотипическое разнообразие, среднее количество попарных генетических различий внутри и между популяциями были вычислены с использованием программы Arlequin 3.5.2.2. [Excoffier, Lischer, 2010]. Анализ молекулярной межпопуляционной и внутривидовой изменчивости (AMOVA) проводили в программе Arlequin 3.5., статистическую значимость P -значений оценивали путем перестановочных тестов с использованием 1023 повторов. Внутривидовые, а также межпопуляционные сравнения были выполнены, основываясь на количестве попарных различий между последовательностями и представлены в виде диаграмм с использованием интегрированного в программу Arlequin R-скрипта (<http://www.rproject.org/>). Филогенетическая сеть была построена на основе медианного графа в программе NETWORK 5.0 (Fluxus Technology Ltd). Метод главных компонент (principal

component analysis, PCA) был проведён с использованием программы jalview (версия 2.11.0) [Waterhouse и др., 2009].

В исследовании фрагмента гипервариабельного района митохондриального генома и полного митохондриального генома древних лошадей были применены следующие методы: выделение древней ДНК по ранее опубликованному методу [Druzhkova и др., 2013], приготовление геномных библиотек фрагментов древней ДНК по методу TruSeq® Nano DNA Sample Preparation (Illumina) с небольшими изменениями, обогащение библиотек по ранее опубликованному методу [Maricic, Whitten, Pääbo, 2010]. Для обработки данных секвенирования полных митохондриальных геномов древних лошадей была использована PALEOMIX BAM Pipeline v1.2.13.2 [Schubert и др., 2014b]. Прочтения были обрезаны и сколапсированы (AdapterRemoval v. 2.2.2). В дополнении к референсному полному митохондриальному геному лошади (GenBank: NC_001640) в качестве альтернативного референса для определения человеческой контаминации был использован полный митохондриальный геном человека (GenBank: HQ287897). Выравнивание было выполнено с использованием программы bwa 0.7.17 со следующими параметрами: алгоритм mem, минимальное качество картирования 25, FilterUnmappedReads. Улучшение выравнивания включало удаление ПЦР дубликатов, построение модели посмертных повреждений ДНК (mapDamage v. 2.0.8) и indel realignment (GATK v. 2.6.5-gba531bd). Для удаления контаминации ДНК человека использовали скрипт `contam_filter.py` из программы `DOPseq_analyzer` v. 1.0.0-alpha (https://github.com/ilyakichigin/DOPseq_analyzer). Картирование ридов на референсный геном (NC_001640.1), получение консенсусных последовательностей митохондриальных геномов древних лошадей и определение глубины и ширины покрытия геномов производилось в программе `geneious` 10.0.5 (<https://www.geneious.com>). Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей проводилось в программе `mafft` [Rozewicki и др., 2019]. С помощью программы `partitionfinder` [Lanfear и др., 2012] мы выделили 3 части в митохондриальном геноме, которые по-разному эволюционируют, и определили эволюционную модель нуклеотидных замен для каждой части: для вторых кодонов белок-кодирующих генов использовали модель

НКУ+G, для РНК-кодирующих генов, первых и третьих кодонов белок-кодирующих генов — НКУ+G+I, а для гипервариабельных районов - GTR+G+I. Для построения филогенетического дерева использовали Байесовский метод (программа mrbaies [Ronquist, Huelsenbeck, 2003]): 10 млн. поколений Марковской цепи, частота взятия образцов – 1000, первые 25 % деревьев отбрасываются.

Полногеномное исследование древней ДНК было проведено в лаборатории молекулярной антропологии и машинной графики AMIS (CNRS UMR 5288, Тулуза, Франция) с современным оборудованием и со всеми степенями защиты от возможной контаминации. Выделение древней ДНК проводилось по оптимизированному нами и изменённому Гамбой (2016) методу Янга [Gamba и др., 2016]. Выделенная ДНК была подвергнута мягкой ферментативной обработке смесью урацил-ДНК-гликозилазы и ДНК гликозилазы-лиазы для частичного устранения влияния посмертного повреждения ДНК на последующие анализы [Rohland и др., 2015]. Были приготовлены библиотеки ДНК с тремя индексами по методу [Meuer, Kircher, 2010], их парноконцевое неглубокое секвенирование было проведено на секвенаторах Illumina. Последовательности ДНК были выровнены на референсный геном лошади EquCab3 [Kalbfleisch и др., 2018], используя программу Paleomix [Schubert и др., 2014b] и оптимальные условия картирования Шуберта и соавторов [Schubert и др., 2012]. Фракция последовательностей ДНК, которая может быть уверенно каптирована на референсный геном лошади, предоставила оценку содержания эндогенной ДНК, которая является показателем общего уровня сохранности ДНК, была построена модель посмертных повреждений ДНК (программа mapDamage v. 2.0.8 [Jónsson и др., 2013]). Данные неглубокого секвенирования были подвергнуты конвейерной обработке последовательностей через Zonkey [Schubert и др., 2017], подтверждая, что все проанализированные образцы принадлежат лошадям. Полногеномный анализ включал филогенетические реконструкции и анализ предковости, определение Менделевских признаков, популяционной структуры и смешения, определение родственности популяций методом главных компонент, следуя уже опубликованной методологии [Meisner, Albrechtsen, 2018]. В заключении, уже

имеющиеся данные секвенирования подвергались автоматической конвейерной обработке metaBIT, предназначенной для определения метагеномного содержимого выделенной ДНК [Louvel и др., 2016].

Результаты

Анализ гипервариабельного района митохондриального генома древних и современных популяций лошадей Алтая и сопредельных территорий

Анализ последовательностей

Нами была определена генетическая структура трёх популяций современных алтайских лошадей, одной восточной, рядом с селом Кош-Агач (популяция Кош-Агача является более высокогорной) и двух центральных, рядом с селом Улаган, а также митохондриальные гаплотипы древних лошадей из пяти археологических памятников Алтая и двух памятников Монголии на основании анализа фрагмента длиной 594 п.н. из гипервариабельного района I (HVR I) митохондриального генома.

По результатам анализа однонуклеотидных замен во фрагменте 246 п.н. контрольного района митохондриального генома, современные лошади популяций Улагана и Кош-Агача были отнесены к 19 митотипам по классификации Сизлак и соавторов [Cieslak и др., 2010], относящимся к 10 гаплогруппам, если не учитывать замены нуклеотидов в горячих точках мутаций. Мы обнаружили 6 новых митохондриальных гаплотипов, отличающихся от тех, которые приведены в классификации Сизлак и соавторов [Cieslak и др., 2010]. Это еще раз доказывает разнообразие митохондриальной ДНК алтайских лошадей и перспективность исследований популяций Алтая.

Состав гаплогрупп популяций современных лошадей алтайской породы приведён в таблице 1, в скобках указано количество лошадей, относящихся к каждому гаплотипу.

Таблица 1. Состав гаплогрупп в популяциях современных лошадей Алтая.

Название гаплогруппы	Гаплотипы (Улаган, генофондная популяция)	Гаплотипы (Улаган, смешанная популяция)	Гаплотипы (Кош-Агач, генофондная популяция)	Число особей в гаплогруппе
A	A+652 (2)	A+652 (3)	-	5
B	B1 (3)	-	B1 (4)	7
D	-	D2 (1), D2+596 (1)	-	2
F	F (3), F+584 (1)	-	F (1)	5
I	-	I (2)	-	2
K	K (4), K2 (2), K2b (1)	K (4), K2 (2), K2b (1)	K (2)	16
K3	K3 (13), K3a (2)	K3 (2)	K3 (2)	19
X2	X2 (3), X2b (8),	X2 (1), X2+528(1)	X2 (4), X2+521 (3)	20
X3	X3c1 (4)	X3c1+632 (2)	-	6
X4	-	X4a (4)	X4a (2)	6

Исходя из данных, представленных в таблице, можно сделать вывод, что самые многочисленные гаплогруппы среди современных лошадей Алтая – это гаплогруппы K, K3 и X2, при этом гаплогруппа K3 является также наиболее распространённой среди современных популяций монгольских лошадей. K3 – самый распространённый гаплотип среди современных лошадей алтайской породы. В Улагане самые распространённые гаплотипы: K, K3, X2b, в Кош-Агаче - X2, X2+521. Общие гаплотипы для двух популяций алтайских лошадей: B1, F, K, K3, X2, X4a, при чём в популяции Кош-Агача нет гаплотипов, кроме X2+521, которые бы не встречались в популяции Улагана. Из этих данных можно сделать вывод, что популяция Улагана имеет большее генетическое разнообразие. Гипотеза о том, что популяция современных лошадей восточных районов Горного Алтая (Кош-Агач) по митохондриальной ДНК ближе к монгольским популяциям,

не подтвердилась. Среди определённых митотипов этой популяции есть только один гаплотип (X4a), который был распространён среди древних популяций монгольских лошадей железного века, при этом он присутствует также в популяциях Улагана, и 4 митотипа (B1, K, K3, X2) из гаплогрупп, распространённых в современных популяциях монгольских лошадей. Исходя из данных по митотипам, можно сделать вывод, что лошади популяций Улагана на генетическом уровне более близки монгольским лошадям, поскольку в этих популяциях встречаются 4 митотипа, распространённых среди древних монгольских лошадей, и 7 митотипов из гаплогрупп, распространённых в современных популяциях монгольских лошадей. В популяциях Улагана более ярко прослеживается общее с монгольскими лошадьми происхождение, причем берущее своё начало в бронзовом веке, при этом направление миграции было двустороннее, в большей степени из Западной Сибири в Монголию.

По данным секвенирования обогащённых библиотек древней ДНК было определено, каким митотипам принадлежали древние лошади Алтая и Монголии. Результаты приведены в таблице 2. Были исследованы древние лошади 7 археологических памятников Алтая (HD2 (Алтайский край, Денисова пещера), HUK1 (Ак-Алаха 1, IV-III вв. до н.э.), HUK2 (Верх-Кальджин 1, IV-III вв. до н.э.), HUK3, HUK4, HUK6 (Ак-Алаха 2, VII в. до н.э.)) и 3 археологических памятников Монголии (Gan (Ганга цагаан эрэг, 1-я треть I тыс. до н.э.), Er (Эрээн хайлаас (I в. до н.э. - I в. н.э.)).

Таблица 2. Митотипы древних лошадей Алтая и Монголии.

Название образца	Место	Однонуклеотидные полиморфизмы не в горячих позициях мутаций	Однонуклеотидные полиморфизмы в горячих позициях мутаций	Митотип
HD2	Алтай	495C, 497T, 526C, 536C, 566C, 602T, 709T, 720A	597G 495C 526C 566C 602T 649G 720A	X- 11+497+536+709- 649 (~X11-group)
HUK1	Алтай	495C, 538G, 602T, 709T, 720A	585A, 650G	I

HUk2	Алтай	495C, 601C, 602T, 703C, 720A	-	F+703, K+601
HUk3	Алтай	495C, 602T, 703C, 720A, 740G	604A	K2
HUk4	Алтай	495C	-	D2
HUk6	Алтай	495C, 602T, 703C, 720A	585A, 597G	K
Bi2	Алтай	494C, 495C, 496G, 534T, 603C, 649G, 720A	585A	X2b
Bi3	Алтай	495C, 521A, 596G, 602T, 720A		G1
Bi4	Алтай	495C, 538G, 602T, 709T, 720A	597G, 650G	I
Er-1	Монголия	495C, 542T, 602T, 635T, 666A, 703C, 720A	585A, 597G, 650G	X3c1
Ush-7	Монголия	495C, 720A		D
Ush-8	Монголия	494C, 495C, 496G, 534T, 603C, 649G, 720A	585A	X2b

Ush-10	Монголия	495С, 602Т, 709Т, 720А	597G, 650G	A+709Т
Gan-1	Монголия	495С, 602Т, 617С, 659С, 720А		B1
Gan-3	Монголия	495С, 602Т, 617С, 659С, 720А		B1
Gan-11	Монголия	495С, 542Т, 602Т, 635Т, 666А, 703С, 720А	585А, 597G, 650G	X3c1
Gan-14	Монголия	494С, 495С, 496G, 534Т, 602Т, 603С, 649G, 720А	585А, 604А	X2
Gan-18	Монголия	494С, 495С, 496G, 534Т, 603С, 649G, 720А	585А, 604А	X2b

Анализ ДНК древних лошадей показал, что лошадь из Денисовой пещеры (10 тыс. лет) ближе всего к гаплогруппе древних диких лошадей. В популяции лошадей памятников Алтая Ак-Алаха-I, Ак-Алаха-II, Верх-Кальджин 1 (Горный Алтай, скифо-сакское время, VII-III вв. до н.э.) были выявлены митотипы, более характерные для бронзового, чем для железного века, а также митотипы, характерные для железного века для этой территории. В популяции лошадей, представленной на памятниках Алтая пазырыкского времени Бике-II и Бике-III (V-III вв. до н.э.) встречался как характерный специфичный для синхронных

памятников Алтая того времени и места митотип, так и митотип, который был в железном веке наиболее распространён в Европе, Малой Азии и Армении. Данный факт дополнительно свидетельствует о миграции населения из Малой Азии на Алтай. Лошадь с памятника Алтая тюркского времени Бике-IV (Горный Алтай, вторая половина V – XI вв. н.э.) была отнесена к митотипу, который был широко распространён в Западной и Южной Сибири в бронзовом и железном веках., однако в Средние века этот гаплотип очень часто встречался в Европе, Малой Азии, Армении, поэтому данное обстоятельство также косвенно может указывать на исторические реалии, связанные с военными походами тюрков на запад. Говорить о преемственности популяций древних лошадей Алтая, относящихся к археологическим культурам разного времени, довольно сложно из-за недостаточности выборки. Исходя из результатов нашей работы, мы можем заключить, что в исследуемых популяциях лошадей памятников разного времени встречались не похожие друг на друга гаплотипы. Анализ главных компонент выявил, что обобщённая древняя популяция Алтая, исследуемая в этой работе, генетически не близка ни с какой из популяций, взятых для сравнения.

В одной древней популяции памятников Монголии хуннуского времени (II в. до н.э. – I в. н.э., Эрээн хайлаас) и двух древних популяциях аржано-майэмирского времени (начало I тыс. до н.э., Ушкийн-Увэр, Ганга цагаан эрэг) преимущественно встречались митотипы, характерные для раннего железного века Монголии. Однако для памятника Ушкийн-Увэр был определён один нехарактерный гаплотип, а для памятников Ганга цагаан эрэг – гаплотипы, которые в железном веке были распространены в Европе, Малой Азии, Армении, Западной и Южной Сибири, Казахстане, Китае. Кажется необычным присутствие этих митотипов в монгольской популяции, однако аржано-майэмирское время характеризуется активными миграциями ранних кочевников, что могло отразиться на формировании популяций лошадей в разных регионах Евразии.

Филогенетический анализ

На основе выравнивания последовательностей фрагмента 246 п.н. из гипервариабельного района I митохондриального генома исследуемых нами древних (HD2, HUK1, HUK2, HUK3, HUK4, HUK6, Bi2, Bi3, Bi4) и современных лошадей Алтая и древних лошадей Монголии (Ush-7, Ush-8, Ush-10, Gan-3, Gan-

11, Gan-14, Gan-18, Eg-1), а также древних и современных лошадей Монголии и Западной Сибири, исследованных в статье Сизлак и соавторов [Cieslak и др., 2010] была построена филогенетическая сеть (рисунок 1) на основе медианного графа в программе NETWORK 5.0.

Рисунок 1. Филогенетическая сеть современных и древних лошадей Западной Сибири и Монголии. Названия вершин сети соответствуют названиям гаплотипов по классификации Сизлак и соавторов [Cieslak и др., 2010]. Размер кругов пропорционален числу особей, относящихся к определённому гаплотипу. Секторы кругов разных цветов обозначают популяции лошадей из разных районов и относящиеся к разному времени. Светло-зелёным цветом обозначены лошади современных популяций Монголии, тёмно-зелёным цветом – лошади древних популяций Монголии, голубым цветом обозначены лошади современных популяций Западной Сибири, синим цветом – лошади древних популяций Западной Сибири, жёлтым цветом обозначены исследованные нами современные лошади Алтая. Названия, выделенные оранжевым цветом, обозначают исследуемых нами древних лошадей. Цифры на ветвях сети соответствуют позиции однонуклеотидной замены от начала 15000 п.н. в референсной последовательности митохондриального генома (X79547).

По филогенетической сети видно, что современные алтайские популяции лошадей крайне гетерогенны по митохондриальному составу. Популяции древних лошадей Алтая и Монголии также имели достаточно разнообразный гаплотипический состав. Как видно по сети, между популяциями лошадей из археологических памятников Монголии и Алтая существовал поток генов, у них был определен 1 общий митотип: X2b, гаплотипы древних лошадей Алтая в настоящее время очень распространены в популяциях алтайских лошадей, а гаплотипы древних лошадей Монголии встречаются чаще в популяциях современных лошадей Алтая, чем Монголии.

Популяционный анализ

Вывод о том, что популяции Улагана на генетическом уровне более близки монгольским лошадям, подтверждается и результатами анализа главных компонент, который также показал, что популяции современных лошадей Улагана, а не Кош-Агача, являются более родственными с популяциями современных лошадей Монголии. Большое родство генофондной и смешанной популяций Улагана, и их дифференциация с генофондной популяцией Кош-Агача поддерживают результаты нескольких анализов (PCA, Fst, AMOVA).

Чтобы графически отобразить филогенетические взаимосвязи между анализируемыми популяциями, мы выполнили анализ главных компонент (principal component analysis, PCA) - метод, который рассматривает каждую гаплогруппу, как дискретную переменную, и позволяет обобщить исходный набор данных в главные компоненты (ГК). После сокращения переменных до ГК (частоты гаплогрупп на основе состава гаплотипов) координаты наблюдений для девяти популяций были представлены на двумерном графике (рисунок 2), представляющим генетический ландшафт Западной Сибири и Монголии в настоящее время и в прошлые исторические эпохи.

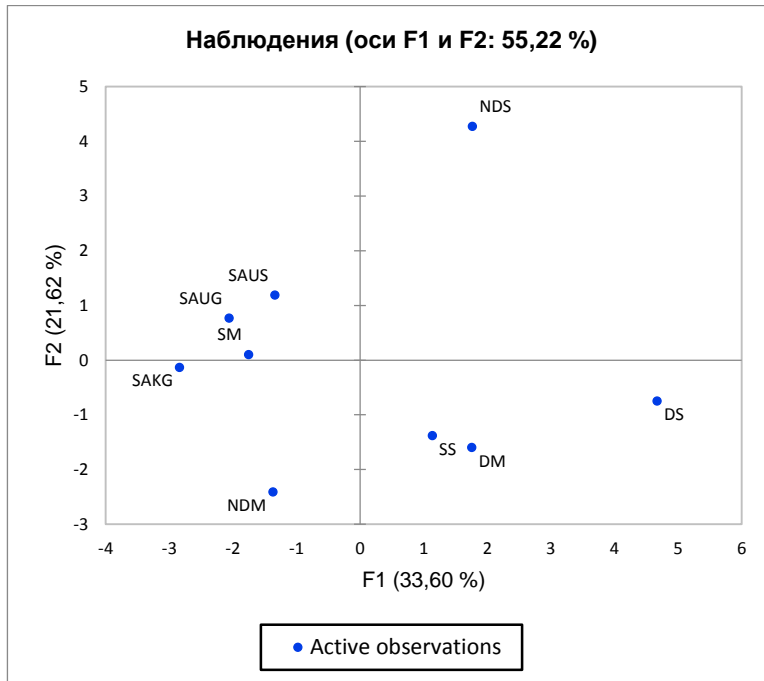


Рисунок 2. Двумерный популяционный би-график профилей гаплогрупп мтДНК из 5 популяций, анализируемых в данном исследовании, и 4 популяций, проанализированных в ранее опубликованной работе [Cieslak и др., 2010]. 3 современные популяции Алтая: SAUS (смешанная популяция Улагана), SAUG (генофондная популяция Улагана), SAKG (генофондная популяция Кош-Агача); NDS, NDM – древние обобщённые популяции Алтая и Монголии, соответственно, анализируемые в данном исследовании; SS и SM – современные популяции Западной Сибири и Монголии, соответственно, из вышеупомянутой статьи Сизлак и соавторов; DS и DM – древние популяции Западной Сибири и Монголии, соответственно, из вышеупомянутой статьи Сизлак.

Как видно по графику, вдоль первой главной компоненты популяции современных лошадей Улагана находятся ближе к популяции современных лошадей Монголии, а вторая главная компонента показывает родство древней популяции Монголии, исследуемой в этой работе, и древней популяцией Монголии из статьи Сизлак и соавторов [Cieslak и др., 2010]. Древняя популяция Алтая, исследуемая в этой работе, не близка ни с какой из популяций, взятых для анализа, ни по одной из главных компонент. Смешанная и генофондная современные популяции Алтая расположены ближе друг к другу, чем к генофондной популяции Кош-Агач, вдоль обеих компонент.

Индекс фиксации Райта F_{st} , отражающий меру дифференциации популяций, был рассчитан для исследуемых современных популяций Алтая (SAUG, SAUS и SAKG). Наиболее разобшённые популяции это SAKG и SAUS ($F_{st}= 0.08262$), также дифференцированные популяции, но в меньшей степени, это SAUG и SAKG ($F_{st}= 0.07008$), наиболее родственные популяции это SAUG и SAUS ($F_{st}=0.02012$), однако P -

значение для этого F_{st} не является значимым (P -значение > 0.05). Значения F_{st} поддерживают дифференциацию между популяциями SAKG и SAUS и SAUG и SAKG. Нуклеотидное и гаплотипическое разнообразие анализируемых популяций представлено в таблице 3, по данным таблицы видно, что оно является достаточно высоким для всех популяций.

Таблица 3. Нуклеотидное и гаплотипическое разнообразие анализируемых популяций лошадей Алтая.

Название популяции	Кол-во особей	Кол-во гаплотипов	Гаплотипическое разнообразие	Кол-во полиморфных сайтов	Нуклеотидное разнообразие
SM	20	16	0.9474 +/- 0.0435	24	0.018822 +/- 0.010778
DM	12	10	0.9545 +/- 0.0569	20	0.019579 +/- 0.011591
NDM	9	6	0.9167 +/- 0.0725	13	0.022862 +/- 0.013756
SS	48	17	0.9371 +/- 0.0131	26	0.018004 +/- 0.010047
DS	9	9	1.0000 +/- 0.0524	17	0.019433 +/- 0.011905
NDS	9	8	0.9722 +/- 0.0640	18	0.020348 +/- 0.012399
SAUG	81	13	0.8846 +/- 0.0197	21	0.017838 +/- 0.009879
SAUS	29	12	0.9310 +/- 0.0199	23	0.019096 +/- 0.010733
SAKG	18	8	0.8889 +/- 0.0416	16	0.021410 +/- 0.012152

Мы изучили возможные популяционные структуры, сравнивая разные группы популяций Алтая, искусственно организованные нами на основе различий в природных факторах среды обитания лошадей (более высокогорные районы и менее высокогорные) и характеристик селекции в популяциях (генофондные и смешанные хозяйства). Иерархический анализ распределения генетической изменчивости по априорно

сформированным группам (AMOVA) показал, что большая доля генетического разнообразия связана с различиями между лошадьми внутри популяций (92.49% и 96.1%). Однако процент генетической изменчивости между популяцией Кош-Агач и другими исследованными популяциями Алтая является достаточно высоким (5.71%), правда *P*-значение индекса фиксации не является значимым ($F_{ST}=0.05711$, $P\text{-значение}>0.1$), поэтому мы можем сделать только предположительный вывод о том, что популяции лошадей Кош-Агача и Улагана относятся к разным группам популяций. Значимые *P*-значения индекса фиксации генетической изменчивости мы получили между отдельными лошадьми внутри популяций ($F_{ST}=0.07514$, $P\text{-значение}\leq 0.01$; $F_{ST}= 0.03899$, $P\text{-значение}<0.02$), а также между смешанной популяцией лошадей Улагана и генофондной популяцией лошадей Кош-Агача ($F_{SC}= 0.09088$, $P\text{-значение}<0.03$, процент генетической изменчивости между этими популяциями - достаточно высокий (9.61%)), и между генофондными популяцией лошадей Улагана и популяцией лошадей Кош-Агача ($F_{SC}= 0.06936$, $P\text{-значение}<0.02$, процент генетической изменчивости между этими популяциями - достаточно высокий (7.21%)), следовательно только для этих популяций генетическая разобщённость является достоверно значимой. Мы определили средний уровень дифференциации между этими популяциями. Отрицательные значения компоненты изменчивости между группами указывают на отсутствие генетической структуры в этой группе.

Таблица 4. Иерархическое распределение генетической изменчивости по результатам AMOVA (сравнение более и менее высокогорных популяций).

Источник разнообразия	d.f. (число степеней свободы)	Компоненты изменчивости	Генетическая изменчивость (%)	Индекс фиксации	<i>P</i> -значение
Между групп*	1	0.13958 Va	5.71	$F_{ST}=0.05711$	0.33822+- 0.01681
Между популяций внутри групп	1	0.04407 Vb	1.80	$F_{SC}=0.01912$	0.09971+- 0.00834
Внутри популяций	125	2.26056 Vc	92.49	$F_{ST}=0.07514$	0.00684+- 0.00271

* Группа 1: популяция лошадей Кош-Агача

Группа 2: популяции лошадей Улагана (генофондная и смешанная)

FST – межпопуляционная изменчивость,

F_{SC} – изменчивость, связанная с различием популяций внутри априорно сформированных групп,

F_{CT} – изменчивость, связанная с межгрупповыми различиями

Таблица 5. Иерархическое распределение генетической изменчивости по результатам AMOVA (сравнение генофондной популяции Улагана с остальными популяциями).

Источник разнообразия	d.f. (число степеней свободы)	Компоненты изменчивости	Генетическая изменчивость (%)	Индекс фиксации	P-значение
Между групп*	1	-0.13427 Va	-5.71	$F_{CT}=-$ 0.05708	1.00000+- 0.00000
Между популяций внутри групп	1	0.22599 Vb	9.61	$F_{SC}=-$ 0.09088	0.01857+- 0.00437
Внутри популяций	125	2.26056 Vc	96.10	$F_{ST}=-$ 0.03899	0.00978+- 0.00326

* Группа 1: генофондная популяция лошадей Улагана

Группа 2: смешанная популяция лошадей Улагана и генофондная популяция лошадей Кош-Агача

F_{ST} – межпопуляционная изменчивость,

F_{SC} – изменчивость, связанная с различием популяций внутри априорно сформированных групп,

F_{CT} – изменчивость, связанная с межгрупповыми различиями

Таблица 6. Иерархическое распределение генетической изменчивости по результатам AMOVA (сравнение генофондных популяций со смешанной популяцией).

Источник разнообразия	d.f. (число степеней свободы)	Компоненты изменчивости	Генетическая изменчивость (%)	Индекс фиксации	P-значение
Между групп*	1	-0.09135 Va	-3.91	$F_{CT}=-$ 0.03907	0.66080+- 0.01542
Между	1	0.16849 Vb	7.21	$F_{SC}=-$	0.01466+-

популяций внутри групп				0.06936	0.00340
Внутри популяций	125	2.26056 V_c	96.70	$F_{ST} =$ 0.03300	0.00587+- 0.00219

* Группа 1: смешанная популяция лошадей Улагана

Группа 2: генофондные популяция лошадей Улагана и популяция лошадей Кош-Агача

F_{ST} – межпопуляционная изменчивость,

F_{SC} – изменчивость, связанная с различием популяций внутри априорно сформированных групп,

F_{CT} – изменчивость, связанная с межгрупповыми различиями

Анализ митохондриальных геномов древних популяций Алтая и сопредельных территорий

Исследования полных митохондриальных геномов древних лошадей Монголии

Нами был проведён филогенетический анализ митохондриальных геномов древних монгольских лошадей из жертвенников Ганга цагаан эрэг и кургана Эрээн хайлаас, аржано-майэмирского и хуннского времени, соответственно. Определение гаплогрупп древних лошадей было проведено по классификации Ачилли и соавторов [Achilli и др., 2012].

Были получены консенсусные последовательности митохондриальных геномов для 6 древних лошадей Монголии, характеристики геномов приведены в таблице 7.

Таблица 7. Характеристики митохондриальных геномов древних лошадей Монголии.

Название образца	Кол-во ридов, картированных на мит. ДНК	Ширина покрытия мит. генома, %	Глубина покрытия мит. генома, раз	Средняя длина фрагментов библиотек	% конечного дезаминирования фрагментов
Er-1	917	97.3	6.7+-4.4	122	14.49
Gan-1	3146	99.1	18.6+-9.4	100	24.31
Gan-3	6947	99.8	42+-17.7	102	25.88
Gan-11	13900	99.7	86+-31.5	104	28.51

Gan-14	11643	99.8	66.7+-27.1	96	33.77
Gan-18	3799	99.5	21.3+-15.6	95	25.26

Gan – образцы из памятника Ganga Tsagaan ereg;

Er – образцы из памятника Ereen hailaas;

На основе последовательностей митохондриальных геномов исследованных нами 6 древних лошадей Монголии и 83 современных лошадей из статьи Ачилли и соавторов [Achilli и др., 2012] было построено филогенетическое дерево (рисунок 3).

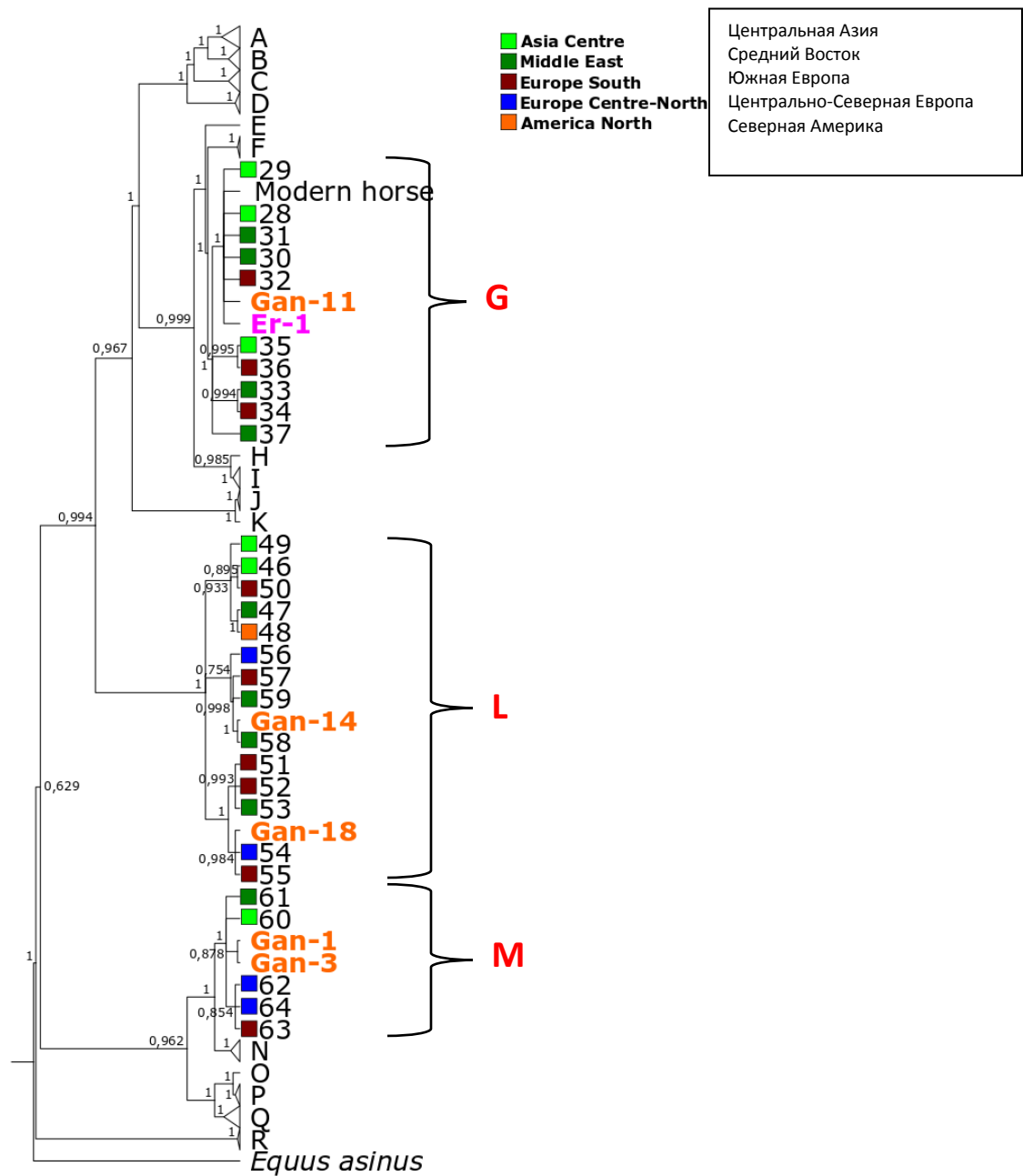


Рисунок 3. Филогенетическое дерево современных лошадей из разных районов мира и древних лошадей Монголии. Древние лошади Монголии из памятника Ганга цагаан эрэг

(аржано-майэмйское время) обозначены оранжевым цветом, из памятника Эрэн хайлаас (хуннское время) – светло-фиолетовым цветом. Цветные квадраты обозначают географическую принадлежность митотипов: светло-зелёный – Центральная Азия, тёмно-зелёный – Средний Восток, бордовый – Южная Европа, синий – Центральная и Северная Европа, оранжевый – Северная Америка. A-R – названия митохондриальных гаплогрупп по классификации Ачилли и соавторов [Achilli и др., 2012], гаплогруппы, к которым относятся древние лошади Монголии выделены красным цветом, цифры в окончании ветвей древа – название гаплотипов. Цифры возле разветвлений (узлов) древа обозначают апостериорную вероятность топологии, полученную Байесовским методом.

Древние лошади из памятника Ганга цагаан эрэг (аржано-майэмйское время) относятся к гаплогруппам G, L, M, эта популяция является гетерогенной по митохондриальному составу, а древняя лошадь из памятника Эрэн хайлаас (хуннское время) – к гаплогруппе G, следовательно, эта гаплогруппа присутствовала в древних популяциях лошадей Монголии, как в аржано-майэмйское, так и в хуннское время. Кажется необычным, что некоторые древние лошади из памятника Ганга цагаан эрэг и лошадь из памятника Эрэн хайлаас генетически наиболее близки к митохондриальному гаплотипу, который в настоящее время встречается на юге Европы, это митотип породы лошадей Giara Horse, коренной породы острова Сардиния (Италия). Некоторые древние лошади памятника Ганга цагаан эрэг родственны гаплотипу иранской породы лошадей со Среднего Востока и гаплотипу породы Ольденбургских лошадей из Северной Европы. Две древние лошади памятника Ганга цагаан эрэг относятся к гаплогруппе M, которая была более распространена среди древних лошадей, но не близки ни одному из её гаплотипов.

Поскольку Ачилли и соавторы [Achilli и др., 2012] исследовал немногие азиатские породы лошадей, было принято решение построить ещё одно филогенетическое древо и включить в него последовательности митохондриальных геномов лошадей, обитающих или обитавших в Монголии и на близлежащих к Монголии территориях Восточной, Центральной и Северной Азии. На основе последовательностей митохондриальных геномов, исследованных нами 6 древних лошадей Монголии и 71 современных и 4 древних лошадей из базы данных NCBI было построено филогенетическое древо (рисунок 4). Из базы данных NCBI были выбраны последовательности митохондриальных геномов лошадей, принадлежащих породам, родственным монгольской породе (Тувинская, Юннаньская, Японская и Чеджудо), а также лошадей, обитающих или обитавших на близких к современной Монголии территориях.

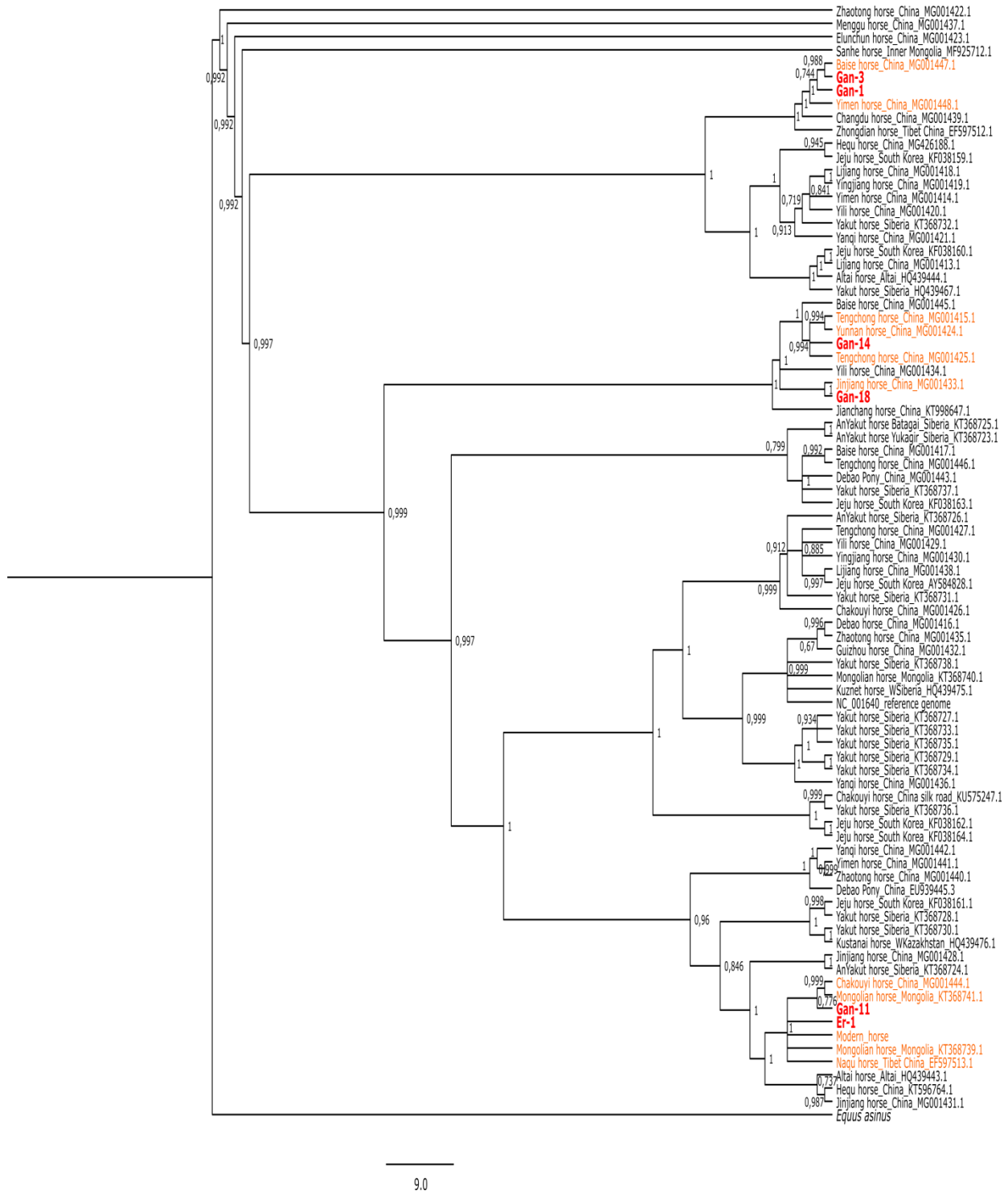


Рисунок 4. Филогенетическое древо современных и древних лошадей Азии и исследованных нами древних лошадей Монголии.

Древние лошади из памятника Ганга цагаан эрэг (аржано-майэмирское время) Gan-1, Gan-3, Gan-14, Gan-18 наиболее родственны лошадям разных пород Китая.

По результатам филогеографического анализа на основе последовательностей митохондриальных геномов современных и древних лошадей разных пород Восточной, Центральной и Северной Азии, можно сделать выводы, что две лошади памятника Ганга цагаан эрэг наиболее генетически близки китайским лошадям пород Гуансийская (Baise)

	ний		й	ий	ий			рования	ого 1X
HUK1	836239	265330	2628	0.31	1175	8.28	117.40	8.81	99.59
HUK2	872737	683393	20725	2.37	8150	75.08	153.48	7.69	99.99
HUK3	492871	443296	25358	5.14	23245	83.42	59.79	10.53	98.99
HUK4	434700	403635	5635	1.30	5393	18.03	55.68	11.93	91.19
HUK5	438645	409881	22175	5.06	21228	85.78	67.32	5.00	99.80
HUK6	504377	456988	17145	3.40	15160	60.03	65.96	7.42	97.89
HD2	566163	488158	20700	3.66	16564	63.46	63.83	22.87	99.18
Moder n	1215576	1164672	220697	18.16	212153	1553.94	122.03	0.42	100.00
Moder n_un/e n	70843	57920	2054	2.90	2035	19.06	156.01	2.03	99.09

Филогенетический анализ

Используя семь митохондриальных геномов исследуемых древних лошадей и набор геномов лошадей современных пород [Achilli и др., 2012], мы построили филогенетическое древо (рисунок 5).

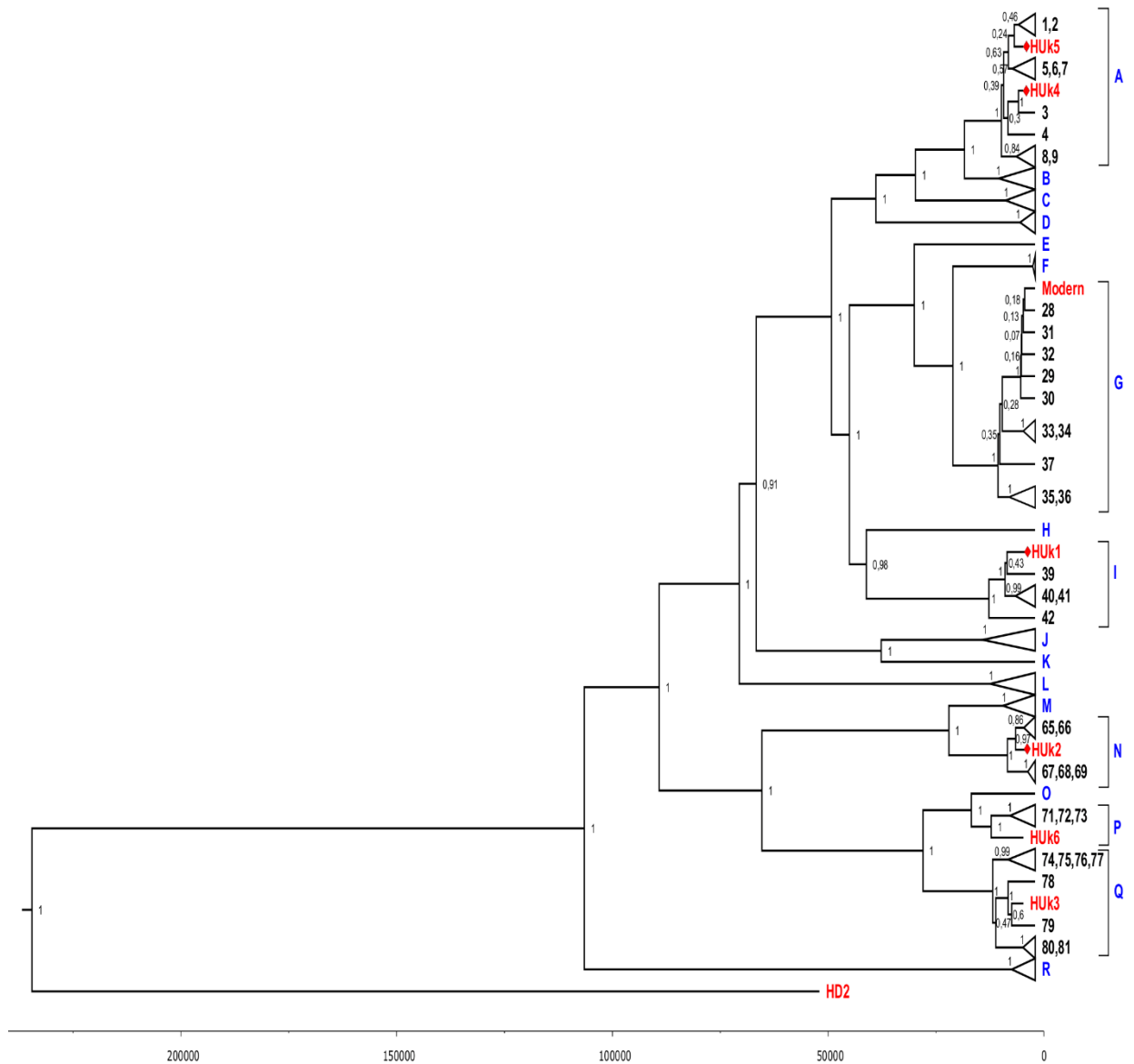


Рисунок 5. BEAST Байесовское филогенетическое дерево полных митохондриальных геномов древних лошадей Алтая и современных лошадей из разных частей мира. Дерево было построено для исследованных древних лошадей (выделены красным цветом) и опубликованных геномов современных лошадей из разных регионов мира [Achilli и др., 2012]. Синим цветом выделены митохондриальные гаплогруппы A-R по классификации Ачилли и соавторов [Achilli и др., 2012]. Опубликованный митохондриальный геном осла (*Equus asinus*) (NC_001788.1) используется в качестве внешней аутгруппы (не отображён на рисунке). Цифры возле узлов ветвей дерева обозначают апостериорную вероятность топологии, полученной байесовским методом. Шкала в нижней части рисунка является шкалой времени, где даты отмечены в годах до настоящего времени. Время расхождения почти для всех гаплогрупп находится в пределах последних ста пятидесяти тысяч лет, в то время как гаплотип HD2 дикой лошади отделился от всех других гаплогрупп около 255 ± 128 тысяч лет назад. Филогенетический анализ показал, что митогеном HD2 дикой лошади не принадлежит ни одной из современных гаплогрупп, и занимает базальное

положение по отношению к другим геномам. Очевидно, что такое положение по отношению к современным лошадям доказывает то, что эта генетическая линия была утеряна и отсутствует в современных популяциях. Палеонтологические данные показывают, что многие материнские линии лошадей, широко распространенные в позднем плейстоцене, не пережили сильных климатических изменений последнего ледникового максимума [Achilli и др., 2012].

Было выяснено, что образцы Укока демонстрируют поразительное разнообразие: 6 лошадей принадлежат к пяти разным гаплогруппам - A, I, N, P и Q. Мы также определили филогенетическое положение современной лошади, ДНК которой была использована для обогащения геномных библиотек. Она принадлежит гаплогруппе G, к которой не относятся другие исследованные древние лошади, что подтверждает отсутствие контаминации в процессе обогащения.

Построение филогенетического дерева с уже опубликованными митохондриальными геномами древних лошадей, полученными ранее [Gaunitz и др., 2018], обеспечивает некоторый дополнительный контекст (рисунок 6). Дикая лошадь из Денисовой пещеры образовала кладу вместе с 33-тысячным образцом из Новосибирских островов.

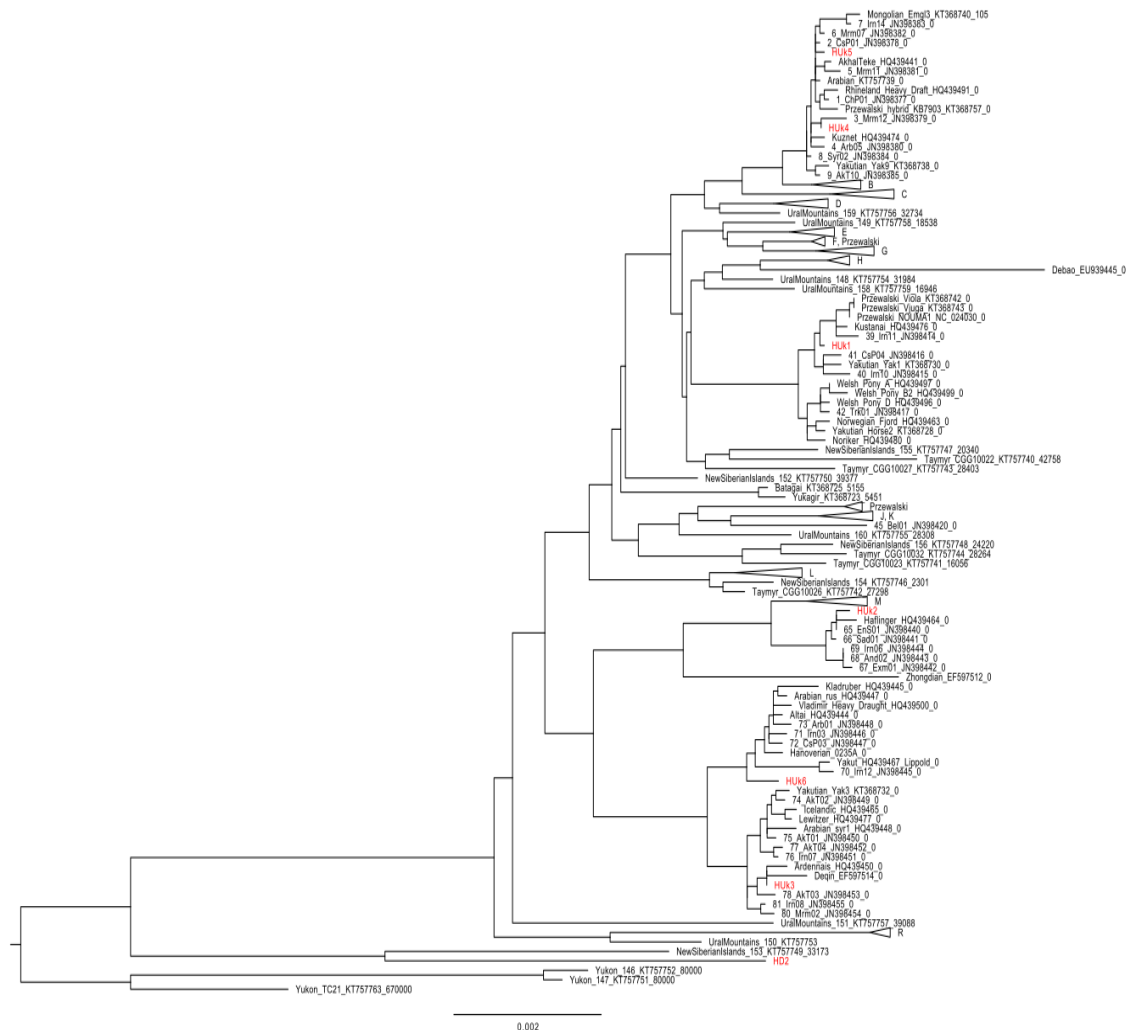


Рисунок 6. Филогенетическое древо исследуемых древних лошадей Алтая и исследованных ранее древних лошадей из разных частей мира [Gaunitz и др., 2018]. Древо построено методом максимального правдоподобия в программе RAxML v8.2.12 [Stamatakis, 2014] с моделью GTR + G для всех частей с разной скоростью эволюции в геноме и стратегией быстрой поддержки («-f a») с 1000 повторений.

Полногеномное исследование популяций древних лошадей Алтая и сопредельных территорий

Был проведён скрининг содержания эндогенной ДНК в 207 костных образцах древних лошадей из 26 археологических памятников России, 9 памятников Монголии и 1 памятника в Китае и Таджикистане, относящихся к 14 разным археологическим культурам и датированные начиная от палеолита и заканчивая Средневековьем. Наша коллекция включает в себя 13 различных типов костных остатков лошадей. По морфологии остеологического материала древних лошадей, найденного на энеолитических поселениях Новоильинка-III и Новоильинка-VI в Кулундинской степи Алтайского края в России, сложно определить пол лошадей, а также степень их одомашнивания.

Было выявлено, что во многих археологических памятниках костные образцы обладают высокими уровнями посмертной сохранности ДНК. Соотношения полов в популяциях лошадей, как правило, не сбалансированы, и, чаще всего, в пользу жеребцов. Предварительный анализ полногеномных паттернов вариации ДНК у пяти образцов показывает отсутствие географической и / или временной дифференциации среди исследованных домашних лошадей. В заключении, уже имеющиеся данные секвенирования были подвергнуты автоматической конвейерной обработке metaBIT, предназначенной для определения метагеномного содержимого выделенной ДНК [Louvel и др., 2016]. Данные секвенирования метагеномов небольшой выборки образцов были предварительно отнесены к известным паразитам и / или патогенам лошади. У древней лошади из памятника Моностой-Нуга раннего железного века (Монголия) была обнаружена болезнетворная для домашних животных бактерия *Erysipelothrix rhusiopathie*, которая ранее была идентифицирована в образце лошади Пржевальского, погибшей в Галле (Германия) в начале 20-го века [Sarkissian Der и др., 2015]. В популяции лошадей памятника монгольского времени Зоолонгийн ам (Монголия) был обнаружен бактериальный патоген животных и эпизодически людей *Staphylococcus lentus*. В последнем памятнике и в памятнике Шохидон раннего Средневековья (Таджикистан) встречались лошади, заражённые простейшими *Eimeria tenella*. Этот паразит принадлежит к типу простейших *Apicomplexa phylum*, который включает в себя важных паразитов

животных, в том числе у лошадей, у которых, как сообщается, представители рода *Eimeria* вызывают инфекцию [Dubey, Bauer, 2018]. Было обнаружено, что в одном образце зуба из Новоильинки-VI преобладает ДНК *Erysipelothrix tonillarum*, которая относится к патогенному роду, вызывающему заболевания у экономически важных домашних животных, в основном у свиней. Необходима дальнейшая работа, чтобы выяснить, могла ли эта инфекция вызвать гибель животного, и как бактериальный геном отличается от генома современных представителей линии *Erysipelothrix*. Полученные результаты способствуют дальнейшей характеристике болезней и эпидемий в популяциях древних лошадей.

Результаты неглубокого секвенирования (low-depth sequencing) образцов показали, что, как и ожидалось, пирамидальные части височной кости показали в целом более высокую степень сохранности ДНК, чем другие типы костных образцов. Тем не менее, некоторые зубы, а также кости, такие как лучевая, сесамовидная и верхняя челюсть, показали отличную сохранность ДНК, содержание эндогенной ДНК варьирует в пределах 50-75%. Отдельные памятники содержат исключительно хорошо сохранившийся остеологический материал (например, среднее содержание эндогенной ДНК в зубах и пирамидальных частях височной кости лошадей памятника пазырыкской культуры Алтая среднего железного века Ханкаринский дол равно $\sim 70.2\%$, количество образцов = 23), сохранность ДНК в других памятниках является умеренной (например, среднее содержание эндогенной ДНК в зубах и пирамидальных частях височной кости в памятнике культуры "оленных" камней и херексуров раннего железного века Монголии Ганга цагаан эрэг равно $\sim 7.3\%$, количество образцов = 18). Хотя подтверждёнными движущими силами посмертной деградации ДНК являются факторы окружающей среды, наши результаты указывают на многообещающие возможности для дальнейшего геномного анализа остеологических материалов по всему исследованному региону, поскольку не менее чем 28 памятников содержат костные образцы с содержанием эндогенной ДНК, превышающим 25%.

Анализ эндогенного содержания ДНК в образцах из энеолитических памятников Новоильинка-III и Новоильинка-VI показал, что в то время как одна проанализированная пирамидальная часть височной кости показала самое высокое содержание эндогенной ДНК ($\sim 76.2\%$), некоторые исследуемые зубы также обладают отличной сохранностью с содержанием эндогенной лошадиной ДНК примерно 39.3%-46.1%. Не было обнаружено различий в сохранности ДНК между образцами зубов лошадей из памятников Новоильинка-III и Новоильинка-VI.

Процентное содержание эндогенной ДНК в образцах древних лошадей показано на рисунках 7 и 8.

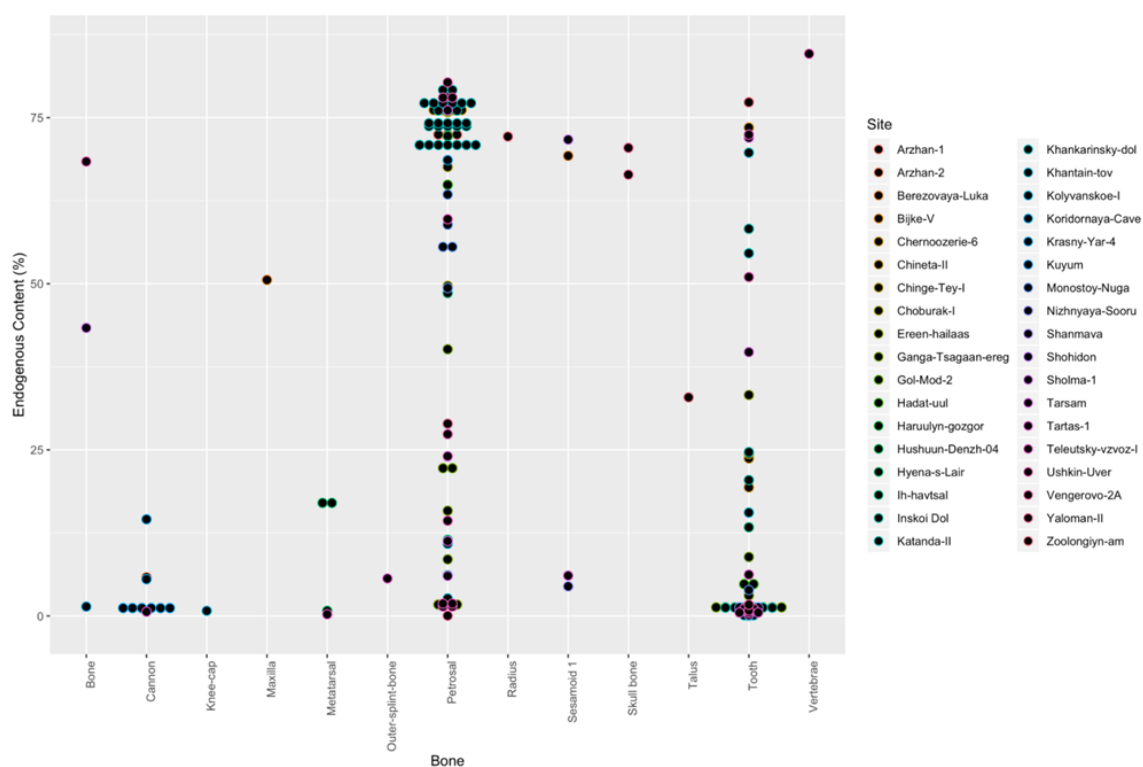


Рисунок 7. Содержание эндогенной ДНК в остеологическом материале из 36 археологических памятников (количество образцов = 170). В общей сложности 13 различных типов остеологического материала были подвергнуты неглубокому секвенированию дробовика, чтобы оценить содержание эндогенной ДНК. Различные цвета ассоциированы с 36 разными исследованными археологическими памятниками.

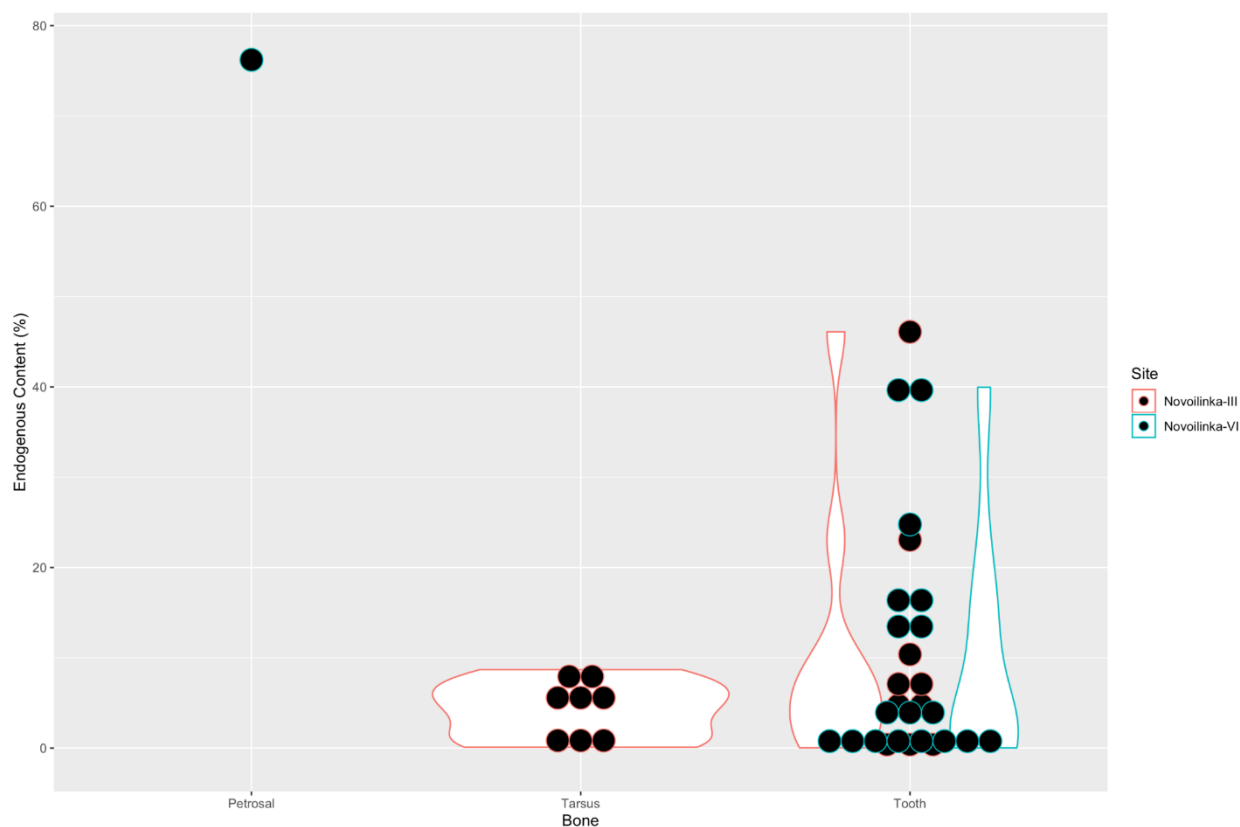


Рисунок 8. Содержание эндогенной ДНК в остеологическом материале памятников Новоильинка-III и Новоильинка-VI.

Данные неглубокого секвенирования были подвергнуты конвейерной обработке последовательностей через Zonkey [Schubert и др., 2017], подтверждая, что все проанализированные образцы принадлежат лошадям. Кроме того, фракция прочтений, выровненных на аутосомы и X-хромосомы, помогла оценить пол 113 проанализированных лошадей. Интересно, что во всех популяциях преобладали жеребцы, в среднем $\sim 2,6$ жеребцов приходилось на каждую кобылу. Соотношение полов имело выраженные географические закономерности, а большинство памятников, в которых значительные количества материала были генетически исследованы, расположены в Монголии (количество образцов > 6 , Хантайн Тов и Моностой-Нуга (ранний железный век, Монголия)). Необходима дальнейшая работа, чтобы установить, отражают ли эти результаты конкретные стратегии управления стадом и / или неоднородность выборок образцов в разных памятниках. Интересно, что в популяциях памятников Новоильинка-III и Новоильинка-VI преобладали кобылы, которые встречались в два раза чаще, чем жеребцы, в обоих памятниках. Определённый нами факт может указывать на то, что люди в поселениях Новоильинка-III и Новоильинка-VI либо предпочитали охотиться на кобыл, либо на стадные популяции (табуны), включающие больше кобыл, чем жеребцов.

Дальнейшее секвенирование генома методом дробовика или случайного фрагментирования было проведено, для того чтобы охарактеризовать полногеномные вариации ДНК у 44 образцов, которые имеют высокое содержание эндогенной ДНК. Полученных данных секвенирования было достаточно, чтобы собрать полные геномы лошадей со средней глубиной покрытия, приблизительно $\sim 0,25X$ (раз). Хотя секвенирование ДНК исследуемых образцов ещё продолжается, большой объём собранной информации позволяет нам сделать предварительный вывод о том, что исследуемые лошади не из памятников Новоильинка не принадлежали к линии *Equus lenensis* (к которой по уже опубликованным данным относится древний образец возрастом ~ 24 тыс. лет из памятника Мерзлы Яр (Merzly Yar) [Fages и др., 2019], что позволяет нам предположить, что эта древняя линия лошадей, вероятно, исчезла к концу бронзового и железного веков. Ни один из этих образцов не попал в пределы кластера или рядом с кластером другой ныне вымершей древней линии лошадей, существовавшей на Пиренейском полуострове [Fages и др., 2019] или с кластером энеолитических лошадей из Ботая или Борлы 4 (Borly4) (Казахстан). Таким образом, вероятно, все исследованные образцы относятся к современной линии одомашненных лошадей. Исходя из полученных данных секвенирования, не было обнаружено никаких сильных географических и / или временных различий между памятниками. Это было особенно верно для лошадей памятника среднего железного века пазырыкской культуры Алтая Катанда II, которые перекрывают весь диапазон анализа главных компонент, занятого образцами из всех других исследуемых археологических памятников. Однако это может быть связано с ограниченной разрешающей способностью нашего текущего набора последовательностей, который включает только 33 260 однонуклеотидных полиморфизмов, охватываемых по меньшей мере половиной образцов с минимальной частотой аллелей 5%. Прежде чем делать окончательные выводы, необходимо провести дальнейшее секвенирование древней ДНК образцов. Наша текущая цель состоит в том, чтобы охарактеризовать последовательности полного генома 44 образцов с минимальной средней глубиной покрытия 1-2 раза.

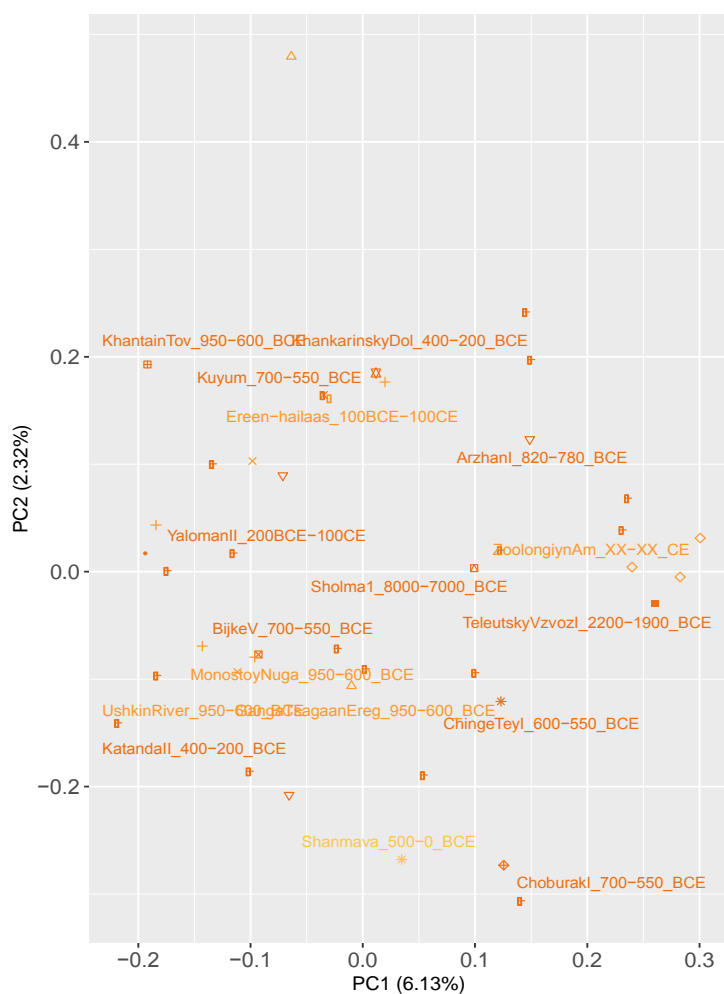
Анализ главных компонент показал, что исследуемые лошади из поселений Новоильинка-III и Новоильинка-VI в значительной степени отличались от линий современных домашних лошадей и лошадей Пржевальского, архаичных лошадей, которые жили в Иберии в третьем тысячелетии до нашей эры, а также от линии *Equus lenensis* [Fages и др., 2019]. Они не кластеризуются по поселениям, что свидетельствует о наличии практически идентичных популяций лошадей, и они оказались ближе к ботайским лошадям по главным компонентам 2 и 3. Однако мы отмечаем, что они также

проецируются относительно близко к венгерской лошади Дунайварош (Dunaújváros) по всем трем главным компонентам, образец которой датируется концом третьего тысячелетия, и, как было предположено ранее, представляет собой смесь предковых линий, включающих линии ботайскую и современных одомашненных лошадей [Gaunitz и др., 2018].

Результаты анализа главных компонент приведены на рисунках 9, 10.



A



Б

Рисунок 9. Анализ главных компонент образцов, для которых были получены полные геномы с $\sim 0.25\times$ глубиной покрытия. **А** - Различные образцы, подвергающиеся дальнейшему секвенированию, показаны в оттенках оранжевого и сравниваются с ранее опубликованными геномами с понижением выборки до образцов с $\sim 1\times$ средней глубиной покрытия [Fages и др., 2019; Gaunitz и др., 2018; Librado и др., 2015; Librado и др., 2017; Schubert и др., 2014a]. Минимальная частота аллелей равна 5%, минимальное качество картирования и оснований равны, соответственно, 25 и 20, в то время как транзиции и триаллельные сайты не учитывались. Анализ включал в себя 33260 аутосомных участка, которые были покрыты по меньшей мере в 50% образцов. *Equus lenensis* = синий. Ботайские лошади = светло-зеленые. Архаичные и вымершие иберийские лошади = розовые. Для ясности, отдельные символы и/или цвета связаны с каждым археологическим объектом и аннотированы только один раз. ARI = Аржан-I. BIV = Бике-IV. CHI = Чинге-Тэй-I. EH = Эрээн хайлаас. GT = Ганга цагаан эрэг. KAI = Катанда-II. KD = Ханкаринский дол. KT = Хантайн тов. KU = Куюм. HL = Логово гиены. MN = Моностой-Нуга. SH = Шохидон. TVI = Телеутский Взвоз-I. UR = Ушкийн-Увэр. YAI = Яломан-II. ZA = Зоолонгийн ам. **Б** - Тот же анализ, ограниченный 44 образцами, охарактеризованными в этом исследовании.

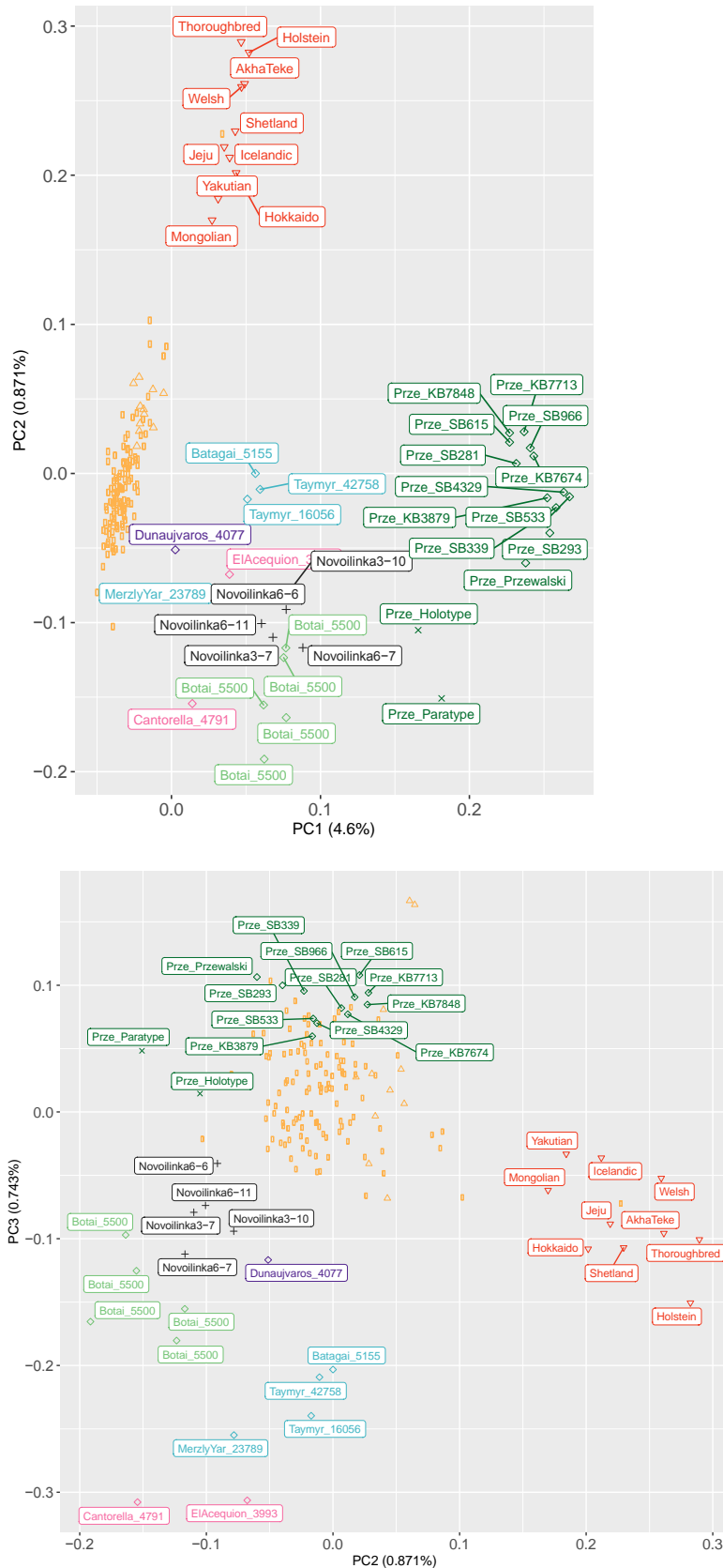


Рисунок 10. Анализ главных компонент 5 образцов из поселения Новоильинка, для которых были получены полные геномы с $\sim 0.25X$ глубиной покрытия. Образцы поселения Новоильинка сравниваются с ранее опубликованными данными секвенированных геномов, с понижением выборки до образцов с $\sim 1X$ средней глубиной покрытия [Librado

и др., 2017; Schubert и др., 2014a]. Минимальная частота аллелей равна 5%, минимальное качество картирования и оснований равны, соответственно, 25 и 20, в то время как транзиции и триаллельные сайты не учитывались. Анализ включал в себя 202 062 аутосомных участка, которые были покрыты по меньшей мере в 75% образцов. Линия *Equus lenensis* = синий. Современные домашние лошади = красные. Древние домашние лошади = оранжевые. Лошади Пржевальского = темно-зеленые. Ботайские лошади = светло-зеленые. Архаичные и вымершие иберийские лошади = розовые. Лошади Новоильинки = черные. Венгерский образец Дунауйварош (Dunaujvaros) (Duk2, [Gaunitz и др., 2018]) показан фиолетовым, чтобы отразить его неопределенное генетическое происхождение.

Целевое обогащение участков генома, ассоциированных с разными мастями, размерами корпуса и скоростью бега [Cruz-Dávalos и др., 2017], помогло определить ключевые фенотипические Менделевские признаки лошадей некоторых исследованных популяций в сравнении с уже полученными ранее геномами памятников Аржан-1 и Берель [Librado и др., 2017]. Был выявлен, в целом, низкий уровень аллелей, связанных с генетическими заболеваниями, за исключением одной лошади из археологического памятника раннего железного века Республики Тува Аржан-1, которая оказалась гомозиготным носителем аллеля, связанного с поликистозом почек. В популяциях выявлено присутствие многих аллелей, связанных с фенотипами эффективности бега и большими размерами тела. Результаты этого анализа визуализированы на рисунке №1. Как видно по рисунку в популяции лошадей Куюма присутствовали аллели карликовости, что объединяет этот памятник с Берелем в Казахстане. Все остальные аллели популяции Куюма ассоциированы с высотой, высотой холки и эффективностью бега, в том числе у жеребцов. То, что отличает исследуемую популяцию от популяций памятников Берель и Аржан-1, это отсутствие аллелей, ассоциированных с разными мастями и заболеваниями, а также отсутствие аллелей большого размера корпуса. В популяции лошадей поселений Новоильинки присутствовали аллели карликовости, что объединяет этот памятник с Берелем в Казахстане. Все остальные аллели популяции Новоильинки-III и VI ассоциированы с высотой, большими размерами корпуса и эффективностью бега. То, что отличает исследуемую популяцию от популяций памятников Берель и Аржан-1, это отсутствие аллелей, ассоциированных с разными мастями и заболеваниями.

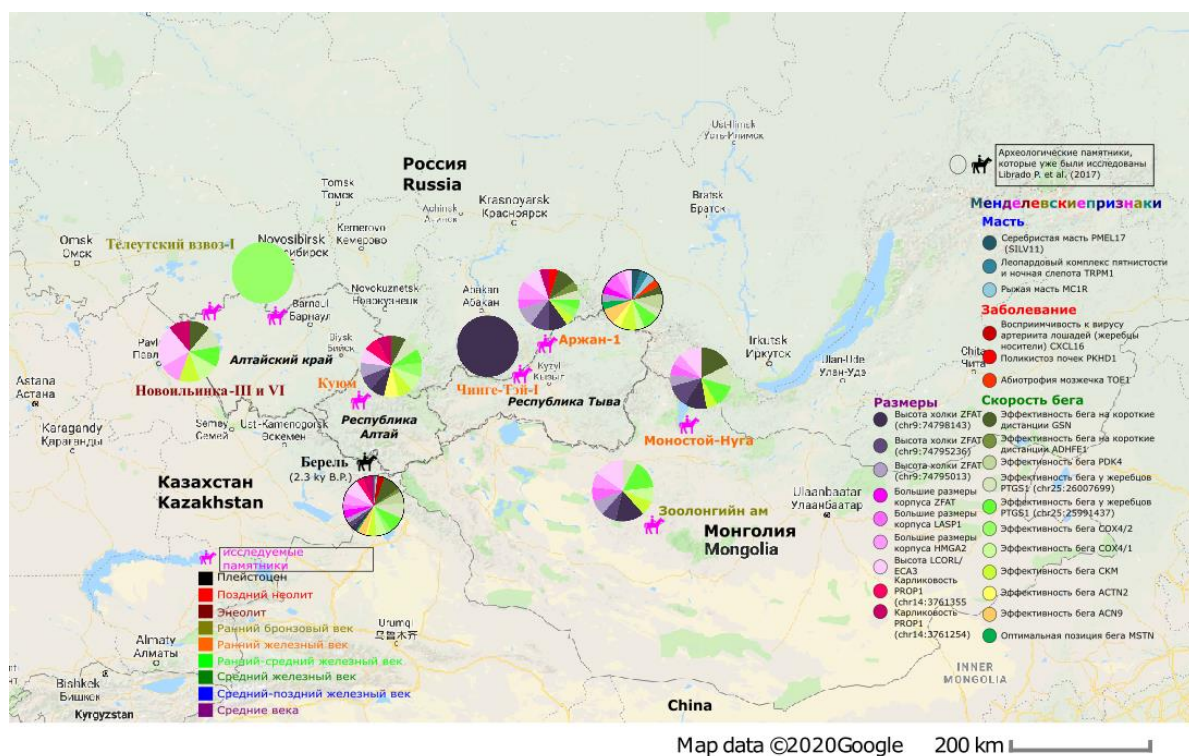


Рисунок 11. Фенотипический состав популяций древних лошадей.

Выводы

1. Анализ фрагмента гипервариабельного района митохондриального генома древних и современных лошадей Алтая и Монголии показал разнообразие митохондриальной ДНК алтайских лошадей, а также что популяции центрального Улагана на генетическом уровне более близки монгольским лошадям и отличаются большим генетическим разнообразием, чем популяции восточного Кош-Агача, данный вывод подтверждается результатами нескольких анализов (филогеографический, PCA, Fst, AMOVA); соотношение митотипов в разных древних популяциях подтвердило миграцию населения из Малой Азии на Алтай в пазырыкское время, и миграцию тюркского народа на запад в тюркское время.
2. Исследование полных митохондриальных геномов древних лошадей аржаномайэмирского и хуннского времени Монголии выявило преимущество популяций, их генетическое разнообразие и родственность современным породам лошадей Китая и Монголии, а также иранской породе лошадей. Исследование полных митохондриальных геномов древних лошадей Алтая выявило наличие вымершей генетической линии, не родственной одомашненным лошадям, в Денисовой пещере.

3. Полногеномное исследование популяций древних лошадей Алтая и сопредельных территорий выявило наличие специфичных болезней, отбор лошадей по скорости бега, высоте и большим размерам тела, за исключением нескольких культур, в которых встречались карликовые лошади, а также наличие энеолитической генетической линии, родственной ботайской, являющейся предками лошадей Пржевальского.

Список использованной литературы

1. Achilli A. и др. Mitochondrial genomes from modern horses reveal the major haplogroups that underwent domestication // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2012.
2. Bendrey R. Domestication of Equids // *The Encyclopedia of Archaeological Sciences.* , 2018.
3. Cieslak M. и др. Origin and history of mitochondrial DNA lineages in domestic horses // *PLoS One.* 2010.
4. Cruz-Dávalos D. I. и др. Experimental conditions improving in-solution target enrichment for ancient DNA // *Mol. Ecol. Resour.* 2017.
5. Druzhkova A. S. и др. Ancient DNA Analysis Affirms the Canid from Altai as a Primitive Dog // *PLoS One.* 2013.
6. Dubey J. P., Bauer C. A review of Eimeria infections in horses and other equids // *Vet. Parasitol.* 2018.
7. Eisenmann V., Sergej V. Unexpected finding of a new Equus species (Mammalia, Perissodactyla) belonging to a supposedly extinct subgenus in late Pleistocene deposits of Khakassia (Southwestern Siberia) // *Geodiversitas.* 2011.
8. Excoffier L., Lischer H. E. L. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows // *Mol. Ecol. Resour.* 2010.
9. Fages A. и др. Tracking Five Millennia of Horse Management with Extensive Ancient Genome Time Series // *Cell.* 2019.
10. Gamba C. и др. Comparing the performance of three ancient DNA extraction methods for high-throughput sequencing // *Mol. Ecol. Resour.* 2016.
11. Gaunitz C. и др. Ancient genomes revisit the ancestry of domestic and Przewalski's horses // *Science* (80-.). 2018.

12. Guo X. и др. The complete mitochondrial genome of Chakouyi horse (*Equus caballus*) // *Conserv. Genet. Resour.* 2017.
13. Han H. и др. Y-single nucleotide polymorphisms diversity in Chinese indigenous horse // *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 2015.
14. Jónsson H. и др. MapDamage2.0: Fast approximate Bayesian estimates of ancient DNA damage parameters // *Bioinformatics.* , 2013.
15. Kalbfleisch T. S. и др. Improved reference genome for the domestic horse increases assembly contiguity and composition // *Commun. Biol.* 2018.
16. Keyser-Tracqui C. и др. Mitochondrial DNA analysis of horses recovered from a frozen tomb (Berel site, Kazakhstan, 3rd Century BC) // *Anim. Genet.* 2005.
17. Keyser C. и др. Ancient DNA provides new insights into the history of south Siberian Kurgan people // *Hum. Genet.* 2009.
18. Lanfear R. и др. PartitionFinder: Combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses // *Mol. Biol. Evol.* 2012.
19. Levine M. A. Domestication and early history of the horse // *The domestic horse : the evolution, development, and management of its behaviour.* , 2005.
20. Librado P. и др. Tracking the origins of Yakutian horses and the genetic basis for their fast adaptation to subarctic environments // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2015.
21. Librado P. и др. Ancient genomic changes associated with domestication of the horse // *Science (80-.)*. 2017.
22. Ling Y. и др. Identification of y chromosome genetic variations in Chinese Indigenous horse breeds // *J. Hered.* 2010.
23. Ling Y. H. и др. Evaluation of the genetic diversity and population structure of Chinese indigenous horse breeds using 27 microsatellite markers // *Anim. Genet.* 2011.
24. Louvel G. и др. metaBIT, an integrative and automated metagenomic pipeline for analysing microbial profiles from high-throughput sequencing shotgun data // *Mol. Ecol. Resour.* 2016.
25. Ma H. и др. The origin of a coastal indigenous horse breed in China revealed by genome-wide SNP data // *Genes (Basel)*. 2019.
26. Maricic T., Whitten M., Pääbo S. Multiplexed DNA sequence capture of mitochondrial

genomes using PCR products // PLoS One. 2010.

27. Mashkour M. Equids in Time and Space // Proceedings of the 9th Conference of the International Council of Archaeozoology, Durham, August 2002. , 2002.

28. Meisner J., Albrechtsen A. Inferring population structure and admixture proportions in low-depth NGS data // Genetics. 2018.

29. Meyer M., Kircher M. Illumina sequencing library preparation for highly multiplexed target capture and sequencing // Cold Spring Harb. Protoc. 2010.

30. Olsen S. L. Early horse domestication on the Eurasian steppe // Documenting Domestication: New Genetic and Archaeological Paradigms. , 2006.

31. Orlando L. и др. Geographic distribution of an extinct equid (*Equus hydruntinus*: Mammalia, Equidae) revealed by morphological and genetical analyses of fossils // Mol. Ecol. 2006.

32. Orlando L. An Ancient DNA Perspective on Horse Evolution. , 2018.

33. Orlando L. Ancient Genomes Reveal Unexpected Horse Domestication and Management Dynamics // BioEssays. 2020.

34. Outram A. K. и др. The earliest horse harnessing and milking // Science (80-.). 2009.

35. Pilipenko A. S. и др. Mitochondrial DNA studies of the Pazyryk people (4th to 3rd centuries BC) from northwestern Mongolia // Archaeol. Anthropol. Sci. 2010.

36. Plasteeva N. A. и др. Morphological differentiation of equids (*Equus ovodovi*, *Equus hemionus*) and their distribution ranges in Western Siberia in the late Pleistocene // Zool. Zhurnal. 2019.

37. Rohland N. и др. Partial uracil – DNA – glycosylase treatment for screening of ancient DNA // Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 2015.

38. Ronquist F., Huelsenbeck J. P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models // Bioinformatics. 2003.

39. Rozewicki J. и др. MAFFT-DASH: integrated protein sequence and structural alignment // Nucleic Acids Res. 2019.

40. Sarkissian C. Der и др. Evolutionary genomics and conservation of the endangered Przewalski's horse // Curr. Biol. 2015.

41. Schubert M. и др. Improving ancient DNA read mapping against modern reference genomes

// BMC Genomics. 2012.

42. Schubert M. и др. Prehistoric genomes reveal the genetic foundation and cost of horse domestication // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2014a.

43. Schubert M. и др. Characterization of ancient and modern genomes by SNP detection and phylogenomic and metagenomic analysis using PALEOMIX // Nat. Protoc. 2014b.

44. Schubert M. и др. Zonkey: A simple, accurate and sensitive pipeline to genetically identify equine F1-hybrids in archaeological assemblages // J. Archaeol. Sci. 2017.

45. Stamatakis A. RAxML version 8: A tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies // Bioinformatics. 2014.

46. Tishkin A. A., Plasteeva N. A., Sablin M. V. OSTEOLOGICAL COLLECTIONS OF HORSES FROM THE ALTAI ARCHAEOLOGICAL SITES AT THE ZOOLOGICAL INSTITUTE OF THE RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES // Preserv. study Cult. Herit. Altai Territ. 2020. № XXVI. С. 203–208.

47. Waterhouse A. M. и др. Jalview Version 2-A multiple sequence alignment editor and analysis workbench // Bioinformatics. 2009.

48. Yang L. и др. Haplotype diversity in mitochondrial DNA reveals the multiple origins of Tibetan horse // PLoS One. 2018.

49. Yang Y. и др. The origin of Chinese domestic horses revealed with novel mtDNA variants // Anim. Sci. J. 2017.

50. Лобанова Т. В., Трушников В. А. Алтайская лошадь и этапы ее преобразования // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2005. Т. 17. № 1.

51. Мендешева В. М. Конь в традиционной культуре алтайцев // Народы и религии Евразии. 2008. № 2.

Отчет о проверке на заимствования №1



Автор: Куслий Мария Александровна

Проверяющий: Новопашина Дарья Сергеевна (danov@niboch.nsc.ru / ID: 7007712)

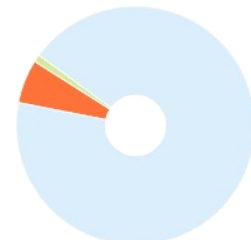
Отчет предоставлен сервисом «Антиплагиат» - <https://users.antiplagiat.ru>

ИНФОРМАЦИЯ О ДОКУМЕНТЕ

№ документа: 11
 Начало загрузки: 10.09.2020 07:06:02
 Длительность загрузки: 00:00:10
 Имя исходного файла: Научный доклад_Куслий.pdf
 Название документа: Научный доклад_Куслий
 Размер текста: 1 кБ
 Символов в тексте: 74016
 Слов в тексте: 9078
 Число предложений: 683

ИНФОРМАЦИЯ ОБ ОТЧЕТЕ

Последний готовый отчет (ред.)
 Начало проверки: 10.09.2020 07:06:12
 Длительность проверки: 00:00:03
 Комментарии: не указано
 Модули поиска: Цитирование, Модуль поиска Интернет



ЗАИМСТВОВАНИЯ

5,89% ■

САМОЦИТИРОВАНИЯ

0% ■

ЦИТИРОВАНИЯ

0,08% ■

ОРИГИНАЛЬНОСТЬ

94,03% ■

ПОДОЗРИТЕЛЬНЫЙ ДОКУМЕНТ

Есть подозрения на следующие группы обходов: ВСТАВКА на страницах: 39, 40, 41

Заимствования — доля всех найденных текстовых пересечений, за исключением тех, которые система отнесла к цитированиям, по отношению к общему объему документа.
 Самоцитирования — доля фрагментов текста проверяемого документа, совпадающий или почти совпадающий с фрагментом текста источника, автором или соавтором которого является автор проверяемого документа, по отношению к общему объему документа.
 Цитирования — доля текстовых пересечений, которые не являются авторскими, но система посчитала их использование корректным, по отношению к общему объему документа. Сюда относятся оформленные по ГОСТу цитаты; общеупотребительные выражения; фрагменты текста, найденные в источниках из коллекций нормативно-правовой документации.
 Текстовое пересечение — фрагмент текста проверяемого документа, совпадающий или почти совпадающий с фрагментом текста источника.
 Источник — документ, проиндексированный в системе и содержащийся в модуле поиска, по которому проводится проверка.
 Оригинальность — доля фрагментов текста проверяемого документа, не обнаруженных ни в одном источнике, по которым шла проверка, по отношению к общему объему документа.
 Заимствования, самоцитирования, цитирования и оригинальность являются отдельными показателями и в сумме дают 100%, что соответствует всему тексту проверяемого документа.
 Обращаем Ваше внимание, что система находит текстовые пересечения проверяемого документа с проиндексированными в системе текстовыми источниками. При этом система является вспомогательным инструментом, определение корректности и правомерности заимствований или цитирований, а также авторства текстовых фрагментов проверяемого документа остается в компетенции проверяющего.

№	Доля в отчете	Источник	Ссылка	Актуален на	Модуль поиска
[01]	0,97%	Download Supplement	http://science.sciencemag.org	17 Июл 2018	Модуль поиска Интернет
[02]	1,4%	Статья	http://tsitologiya.cytspb.rssi.ru	03 Ноя 2018	Модуль поиска Интернет
[03]	0,44%	Ancient and modern DNA reveal dynamics of domestication and cross-continental disp...	http://eprints.nottingham.ac.uk	05 Янв 2017	Модуль поиска Интернет
[04]	0%	Tracking the origins of Yakutian horses and the genetic basis for their fast adaptation t...	https://hal.archives-ouvertes.fr	22 Июл 2019	Модуль поиска Интернет
[05]	0,58%	Mitochondrial phylogenomics of modern and ancient Equids	http://eprints.soton.ac.uk	02 Мая 2017	Модуль поиска Интернет
[06]	0,14%	Ancient DNA analysis identifies marine mollusc shells as new metagenomic archives of t...	https://hal-univ-rennes1.archives-04	04 Мая 2020	Модуль поиска Интернет
[07]	0,15%	[Topics in Current Chemistry Collections] Analytical Chemistry for Cultural Heritage ...	https://doi.org	29 Июл 2018	Модуль поиска Интернет
[08]	0,21%	The prehistoric peopling of Southeast Asia	https://ora.ox.ac.uk	13 Авг 2019	Модуль поиска Интернет
[09]	0%	Mitochondrial d-loop variation and DNA preservation in wild and domestic equids (Equ...	https://edoc.unibas.ch	14 Авг 2019	Модуль поиска Интернет
[10]	0%	Prehistoric genomes reveal the genetic foundation and cost of horse domestication P...	https://pnas.org	18 Мар 2020	Модуль поиска Интернет
[11]	0%	Goth migration induced changes in the matrilineal genetic structure of the central-east ...	https://ncbi.nlm.nih.gov	28 Апр 2020	Модуль поиска Интернет
[12]	0,54%	New insights into the subsistence economy of the Eneolithic Dereivka culture of the Uk...	https://doi.org	11 Мая 2018	Модуль поиска Интернет
[13]	0,49%	ПАЛЕОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ В АРХЕОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ А.С. Пили...	http://bionet.nsc.ru	26 Окт 2017	Модуль поиска Интернет
[14]	0,02%	Microbial Genomics of Ancient Plagues and Outbreaks	https://doi.org	03 Сен 2018	Модуль поиска Интернет
[15]	0%	gkx361.pdf	http://eprints.whiterose.ac.uk	30 Апр 2020	Модуль поиска Интернет
[16]	0,24%	Reassessing the evolutionary history of ass-like equids: Insights from patterns of geneti...	https://doi.org	02 Сен 2018	Модуль поиска Интернет

[17]	0,39%	Edinburgh Research Explorer	http://research.ed.ac.uk	06 Янв 2017	Модуль поиска Интернет
[18]	0,16%	Frontiers Genome-Wide Signatures of Selection in Colletotrichum kahawae Reveal Ca...	https://frontiersin.org	18 Мар 2020	Модуль поиска Интернет
[19]	0,15%	The influence of riverine barriers on phylogeographic patterns of Malagasy reed frogs (...)	https://doi.org	03 Дек 2018	Модуль поиска Интернет
[20]	0%	http://www.agrobiology.ru/articles/4-2017chysyma-rus.pdf	http://agrobiology.ru	08 Фев 2019	Модуль поиска Интернет
[21]	0,08%	не указано	не указано	раньше 2011	Цитирование

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУКИ ИНСТИТУТ ХИМИЧЕСКОЙ БИОЛОГИИ И
ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ МЕДИЦИНЫ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

Отчет о проверке текста научно-квалификационной работы на
объем заимствования

Куслий Мария Александровна

«Генетическое разнообразие древних лошадей Алтая и сопредельных
территорий»

Оригинальность работы составляет ___94.03___ %, что соответствует требованиям порядка и условиям допуска научно-квалификационных работ к защите на итоговом заседании Государственной итоговой аттестации в аспирантуре ИХБФМ СО РАН.

Проверку выполнила секретарь ГЭК - к.х.н. Д.С. Новопашина