

ИЗУЧЕНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ГЕНОМОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ИЗ АРХЕОЛОГИЧЕСКИХ НАХОДОК НА ТЕРРИТОРИИ ЯРОСЛАВЛЯ (XIII–XIV вв.)

© 2024 г. А. С. Абдельманова^{1, *}, М. С. Форнара¹, Н. Ф. Бакоев¹, Е. Е. Антипина^{1, 2},
Л. В. Яворская^{1, 2}, А. В. Доцев¹, Н. А. Зиновьева¹

¹Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста,
Московская область, пос. Дубровицы, 142132 Россия

²Институт археологии Российской академии наук, Москва, 117292 Россия

*e-mail: abdelmanova@vij.ru

Поступила в редакцию 04.04.2024 г.

После доработки 10.06.2024 г.

Принята к публикации 27.06.2024 г.

В ходе эволюционных процессов и селекционной работы сформировались разнообразные массивы местных популяций скота, приспособленных к конкретным природно-климатическим условиям. Повышение селекционного давления и концентрация на нескольких высокопродуктивных породах привели к эрозии генетических ресурсов по всему миру. Одним из эффективных подходов к оценке генетического разнообразия является исследование полиморфизма митохондриальной ДНК (мтДНК), которая демонстрирует высокий уровень изменчивости и характеризуется отсутствием рекомбинации, что позволяет исследовать генетические связи между породами и отслеживать как древние, так и относительно недавние эволюционные события. Изучение эволюции и демографической истории пород сельскохозяйственных животных становится возможным благодаря вовлечению в исследования исторических и археологических образцов. Цель нашей работы состояла в выявлении наиболее эффективного способа исследования мтДНК, извлеченной из археологических образцов, позволяющего проводить анализ популяционно-генетических параметров. В исследование включены образцы, датированные концом XIII–XIV вв., обнаруженные при раскопках центральной части средневекового кремля в границах современного Ярославля. Для исследования материнской изменчивости крупного рогатого скота, разводившегося в лесной зоне Русской равнины, использованы методы полногеномного секвенирования и секвенирования фрагментов мтДНК по Сэнгеру. Дендрограмма на основе генетических дистанций полной митохондриальной последовательности по методу Neighbor-Joining выявила кластеризацию археологических образцов в группах современного ярославского и холмогорского скота, что может указывать на общих предков всех трех популяций. При подробном рассмотрении некоторых областей митогенома обнаружено, что для археологических образцов успешно генотипированными оказались последовательности, незначительно перекрывающиеся между собой, в связи с чем была разработана система генотипирования гиперварибельного участка D-петли с помощью секвенирования целевого фрагмента по Сэнгеру. Проведенный анализ нуклеотидного и гаплотипического разнообразия выявил в группе археологических образцов минимальные значения этих показателей. Построенная медианная сеть гаплотипов позволила отнести археологические образцы к гаплогруппе T3, наиболее распространенной в европейских породах скота. Анализ полученных данных позволяет предполагать происхождение изучаемых археологических образцов от особей местной группы скота, разводимой в окрестностях средневекового г. Ярославля в XIII–XIV вв.

Ключевые слова: митохондриальная ДНК, гаплогруппы, крупный рогатый скот, археологические образцы, древняя ДНК.

DOI: 10.31857/S0016675824110041 **EDN:** WBLCGQ

Одомашнивание животных было важным шагом в демографическом и культурном развитии человечества. Вместе с окультуриванием растений

оно заложило основу сельского хозяйства, каким мы его знаем сегодня [1]. В ходе естественных эволюционных процессов и направленной селекции

сформировалось огромное разнообразие местных популяций. В течение последних десятилетий разработка и усиленное внимание к более эффективным программам селекции ускорили генетическое улучшение ряда пород.

В результате такой сельскохозяйственной практики высокопродуктивные породы вытеснили местные во всем мире [2, 3]. Такое развитие событий привело к растущей обеспокоенности по поводу эрозии генетических ресурсов [4, 5].

Эффективное управление генетическими ресурсами сельскохозяйственных животных (FAnGR) требует всесторонних знаний о характеристиках пород, включая данные о размере и структуре популяции, географическом распределении, производственной среде, а также внутрипородном и межпородном генетическом разнообразии [6].

Получение новых знаний о геноме животных, совершенствование методических подходов, развитие высокопроизводительных технологий геномного анализа и создание современного аналитического оборудования сделали возможным использование различных генетических маркеров для идентификации и изучения аллелофондов [7].

На сегодняшний день одним из эффективных подходов к оценке генетического разнообразия является исследование полиморфизма митохондриальной ДНК (мтДНК), которая демонстрирует высокий уровень изменчивости и характеризуется отсутствием рекомбинации, что позволяет исследовать генетические связи между породами и отслеживать как древние, так и относительно недавние эволюционные события [8–11].

Митохондриальный геном представляет собой одну кольцевую молекулу ДНК. Исключением являются некоторые кишечнополостные, водоросли, грибы и одноклеточные эукариоты, для которых характерна линейная структура мтДНК [12]. Для млекопитающих типичный размер митохондриального генома составляет 16–18 тпн. [13]. На протяжении тысячелетий проходило формирование митохондриального генома, который приобретал свои особенности, и согласно им образовались определенные гаплогруппы. Гаплогруппы — это одна из главных популяционно-генетических характеристик митогенома, используемых для определения происхождения скота. В мировой практике для крупного рогатого скота определены следующие шесть гаплогрупп — макрогруппа Т, которая включает в себя: Т, Т1, Т2, Т3, Т4, Т5 [14–16], I (*Bos indicus*) [17–19], Р (наиболее часто встречалась у ископаемых туров) [16, 20–22], Q (близка к гаплогруппе Т, возникла уже в процессе одомашнивания скота), R (далека от всех предшествующих гаплогрупп, в настоящее время встречается у итальянских пород скота) и Е (отсутствует у современных животных) [21]. А для овец, основываясь

на анализе контрольной области мтДНК, исследователи идентифицировали семь гаплогрупп, две из которых (F и G) к настоящему времени исчезли, а пять (A, B, C, D, E) продолжают существовать в современных породах [23, 24].

Благодаря вовлечению в исследование исторических, археологических и ископаемых образцов становится возможным изучение эволюции и демографической истории пород сельскохозяйственных животных. Полученные данные могут быть использованы в качестве эталона при определении генофондного статуса современных популяций скота, а также для идентификации среди них особей — носителей уникальных аллелей или аллельных сочетаний, свойственных историческим образцам и отсутствующих у большинства животных современных популяций. Информация о генотипах исторических образцов может быть использована при проведении полногеномных ассоциативных исследований (genome wide association study, GWAS), а также при определении мишеней для геномного редактирования [25].

В качестве материала для такого рода исследований традиционно изучаются исторические черепа и их части, сохраняемые в музейных коллекциях [26, 27], а также полученные в ходе археологических исследований [28]. Вместе с тем использование черепов из краниологических коллекций в качестве источника ДНК осложняется тем, что их подготовка к депонированию включает ряд агрессивных химических воздействий, что приводит к существенной деградации нуклеиновых кислот. Особенно критично получение достаточного количества ядерной ДНК, представленной всего двумя копиями на клетку, в отличие от митохондриальной, количество копий которой в одной клетке составляет от 100 до 10000 [29]. Поэтому мы обратили внимание прежде всего на мтДНК и включили в исследование не только целые черепа, но и другие скелетные элементы (отдельные кости черепа, рога, зубы и метаподии).

Цель настоящей работы состояла в том, чтобы выявить наиболее эффективный способ исследования митохондриальной ДНК, извлеченной из археологических образцов, позволяющий проводить анализ популяционно-генетических параметров.

В проведенной работе впервые в России для изучения археологических образцов средневекового крупного рогатого скота были использованы методы полногеномного секвенирования и секвенирования по Сэнгеру, которые показали свою эффективность при исследовании материнской изменчивости. Удалось дать оценку генетическому разнообразию и определить гаплотипическую принадлежность коров, содержащихся на территории средневекового Ярославля в XIII–XIV вв.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены археологические образцы, полученные при раскопках на Волжской набережной в самом центре Ярославского кремля и датированные XIII–XIV вв. Выбранные в качестве образцов кости (фрагменты черепов, рога и пясти) происходят от взрослых особей, которые по размерным характеристикам несомненно относятся к разводимой в то время на территории центральной части Русской равнины местной популяции крупного рогатого скота [30–32]. Что касается половой принадлежности, то по морфологическим параметрам эти скелетные элементы были оценены как принадлежавшие коровам, что не противоречит данным секвенирования полного генома.

Исследование археологических образцов проводили в специализированной лаборатории ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, оборудованной для работы с древней ДНК [1].

В качестве материала для выделения ДНК был использован порошок, получаемый с помощью вибрационной шаровой мельницы MIXERMILL-MM 400 (Retsch GmbH, Германия) из фрагментов костей, предварительно очищенных от механических примесей, обработанных детергентом и ультрафиолетовым облучением для предотвращения контаминации образца экзогенной ДНК. Выделение ДНК проводили с помощью набора COrDISExtractDecalcine (ООО «Гордис», Россия) в соответствии с инструкциями производителя с модификацией условий лизиса (56°C, на ночь) и объема растворов (2,5 объема лизирующего и промывающего буферов). Для оценки количественных характеристик ДНК проводили измерение концентрации двухцепочечной ДНК с использованием флуориметра Qubit™ (Invitrogen, Life Technologies, Waltham, MA, США).

Исследование современных образцов проводили на базе ЦКП «Биоресурсы и биоинженерия сельскохозяйственных животных» ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста. Поскольку предварительные исследования показали сложность амплификации нуклеотидных последовательностей длиной более 400–500 пар нуклеотидов (п. н.) из археологических образцов, для получения последовательности полного митохондриального генома, насчитывающего более 16 тпн, было принято решение провести полногеномное секвенирование (Whole genome sequencing, WGS) археологических образцов и далее с помощью биоинформационных методов получить последовательность мтДНК.

Минимальное количество ДНК при создании библиотек для секвенирования составляет 3 мкг, поэтому пороговое значение концентрации препаратов получаемой ДНК было установлено на уровне 30 нг/мкл при объеме не менее 100 мкл. При получении ДНК более низкой концентрации

проводили повторное выделение ДНК с увеличением количества исходного материала, используемого для анализа, и/или концентрирование ДНК с использованием вакуумного центрифужного концентратора. В случаях отсутствия дополнительных навесок костного порошка, принимая во внимание уникальность исследуемых образцов, для создания библиотек использовались также образцы с количеством ДНК менее 1 мкг. Для таких образцов дополнительное концентрирование препаратов ДНК не проводилось.

Полногеномное секвенирование выполнялось на секвенаторе NovaSeq 6000 (2x 150 bp), библиотеки были подготовлены с использованием наборов TruSeqDNANanoLibraryPrepkit (Illumina) и Accel-NGS® 2SPlusDNALibraryKit (IDT).

Биоинформационная обработка данных проводилась в среде R с использованием дополнительных пакетов. Выравнивание сиквенсов выполняли с помощью инструментов bwa-mem2 [33] и SAMtools [34] на референсный геном крупного рогатого скота по сборке ARS_UMD 3.1.1 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCF_000003055.6/).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведено полногеномное секвенирование 10 археологических образцов, после чего из полногеномных данных получены полные последовательности митохондриальной ДНК и проведена оценка качества выравнивания для этого участка последовательности (табл. 1).

Как видно из табл. 1, археологические образцы крупного рогатого скота характеризовались достаточно низким покрытием генома, что не противоречит аналогичным показателям в исследованиях для других видов животных и человека. В дальнейшем анализ были включены только шесть образцов, для которых покрытие митохондриального генома составляло более 30%.

На основании полных последовательностей была определена гаплогрупповая принадлежность для трех археологических образцов с наибольшим покрытием генома (выделены жирным шрифтом). В трех других образцах успешно секвенированные последовательности не попадали в области митогенома, позволяющие сделать однозначный вывод о гаплогрупповой принадлежности.

В качестве групп сравнения были использованы полные митохондриальные геномы современных представителей холмогорского, ярославского и голштинского скота, а также последовательности митогенома крупного рогатого скота, принадлежащие к разным гаплогруппам, загруженные из общедоступных источников (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Дополнительно были загружены митогеномы яков (*Bos grunniens*), овец (*Ovis aries*) и туров

Таблица 1. Характеристика исследуемых археологических образцов

Номер образца	Среднее количество ДНК в одной аликвоте, мкг	Средняя концентрация одной аликвоты, нг/мкл	% покрытия генома	Среднее покрытие генома
AR6	1.670	16.7	8.96	0.18
AR8	0.487	21.2	39.31	0.76
AR9	0.417	18.2	30.25	0.69
AR12	0.843	24.1	15.42	0.52
AR27	2.500	25.0	23.72	0.60
AR29*	0.096	3.1	54.45	8.55
AR32*	0.104	1.8	51.42	2.00
AR34	2.220	22.2	36.52	1.10
AR35*	0.597	10.3	17.12	0.64
AR38	1.650	16.5	41.64	0.97

Примечание. * — не проводилось концентрирование раствора ДНК из нескольких аликвот. Курсивом выделены образцы, включенные в дальнейший анализ.

(*Bos primigenius*) для исключения неверной видовой идентификации костных останков.

С использованием программы MitoToolPy [35] была определена гаплогрупповая принадлежность исследуемых животных на основании набора данных из 153 полных последовательностей. Выявлено, что исследуемые археологические образцы принадлежат к гаплогруппе T3, наиболее распространенной в Центральной Европе и на Балканах.

С использованием программы UGENE [36] построена дендрограмма на основании генетических дистанций по методу Neighbor-Joining (рис. 1) для археологических образцов и современных представителей холмогорской и ярославской пород.

Как видно из рис. 1, современные образцы холмогорской и ярославской пород в основном образуют группы в соответствии с породной принадлежностью. Археологические образцы AR8, AR9, AR38 расположились в кластерах современного ярославского скота. Образцы AR29, AR32, AR34 образовали единую группу с современными животными холмогорской породы.

Распределение средневековых образцов по кластерам холмогорской и ярославской пород может свидетельствовать о предковых компонентах, вероятнее всего, общих для группы северного европейского скота. Кроме того, при объяснении такого распределения необходимо учитывать предположение о существовании на территории древнерусского государства двух групп скота, что по археозоологическим данным маловероятно [30–32], а также направление современной селекционной работы для двух пород черно-пестрого корня, допускающее их взаимное скрещивание.

Поскольку у археологических образцов нуклеотидная последовательность была определена фрагментарно, дополнительно была исследована область D-петли как наиболее полиморфная часть митохондриального генома. Построена дендрограмма генетических дистанций для археологических образцов (AR) по отношению к современным представителям ярославской (YR) и холмогорской (KH) пород (рис. 2).

При анализе последовательностей D-петли образец AR29 показал значительное отличие от других образцов, сформировав длинную ветвь, в то время как другие образцы кластеризовались вблизи современных ярославских и холмогорских образцов.

Однако, поскольку для разных образцов в исследуемых областях генома успешно генотипированными оказались последовательности, незначительно перекрывающиеся между собой, представленные данные следует интерпретировать с осторожностью. Надежные результаты могут быть получены при выполнении следующих условий: включение в выборку возможно большего количества образцов и успешное генотипирование одинаковых областей генома у этих образцов.

Поскольку генотипирование фрагментов ДНК длиной более 400–500 пн для археологических образцов сопряжено с трудностями ввиду сильной деградации ДНК, нами была разработана система генотипирования гипервариабельного участка D-петли длиной 375 пн с помощью ПЦР с последующим секвенированием целевого фрагмента по Сэнгеру.

Апробация разработанной тест-системы проведена на новых препаратах ДНК тех же образцов,

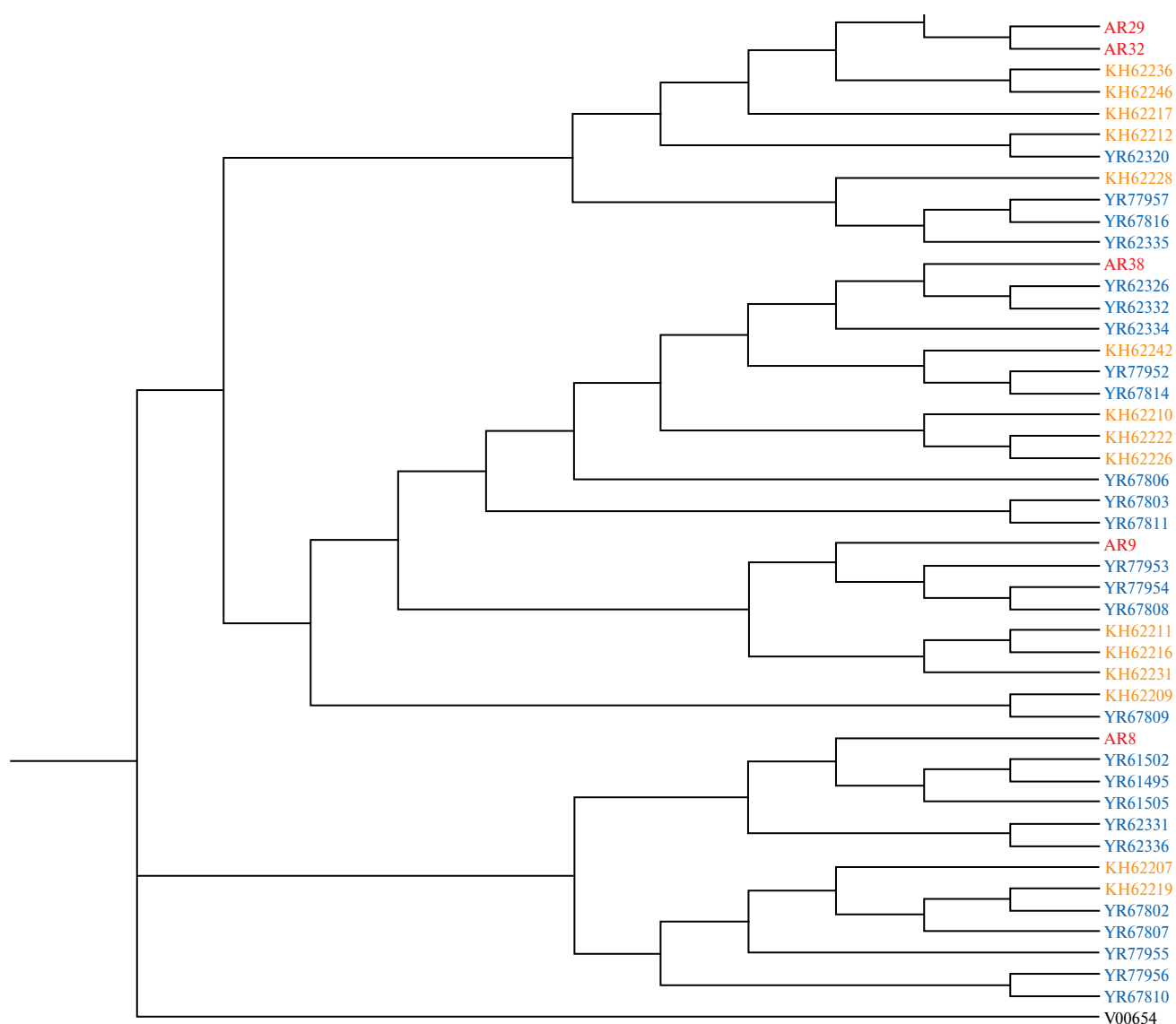


Рис. 1. Дендрограмма Neighbor-Joining на основании генетических дистанций полной митохондриальной последовательности крупного рогатого скота. AR — археологические образцы; современные образцы: YR — ярославская порода, KH — холмогорская порода.

для которых ранее было проведено полногеномное секвенирование (AR9, AR12, AR29, AR32, AR35).

Нами был сформирован объединенный набор последовательностей короткого гипервариабельного участка мтДНК, полученных с помощью секвенирования по Сэнгеру пяти образцов (AR9, AR12, AR29, AR32, AR35) и одного образца AR8, извлеченных из полногеномных последовательностей.

На объединенном наборе данных построена медианная сеть для археологических образцов в сравнении с современными холмогорскими и ярославскими образцами, а также с загруженными из общедоступных баз данных последовательностей с известными гаплогруппами (рис. 3).

Археологические образцы, как было показано на результатах полногеномных последовательностей, кластеризовались совместно с образцами, принадлежащими к гаплогруппе T3, к которой также относились большинство образцов современной ярославской, холмогорской и голштинской пород.

С использованием программы DnaSP 6.12.01 [37] был проведен анализ нуклеотидного и гаплогруппного разнообразия (табл. 2), который выявил минимальные значения показателей в группе археологических образцов ($0,00119 \pm 0,00031$ и $0,333 \pm 0,088$ соответственно). Стоит учитывать, что количество образцов в современной холмогорской породе почти в 3, а в ярославской — в 4 раза больше, чем в группе археологических образцов,

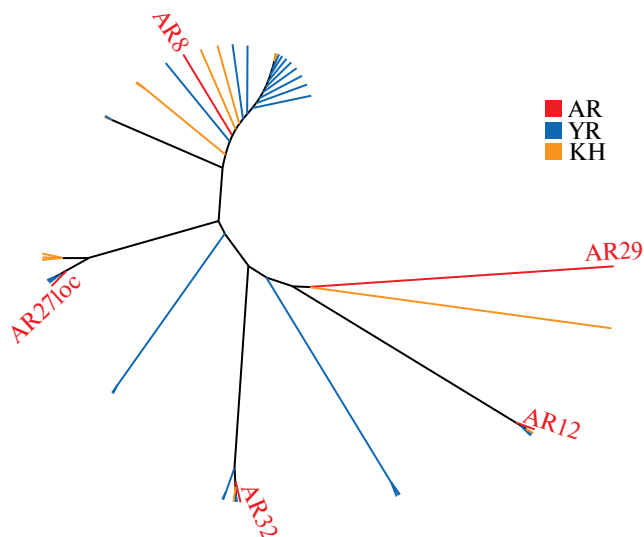


Рис. 2. Взаимосвязь археологических и современных образцов ярославской и холмогорской пород на основании анализа полиморфизма D-петли последовательности мтДНК. AR — археологические образцы; современные образцы: YR — ярославская порода, KH — холмогорская порода.

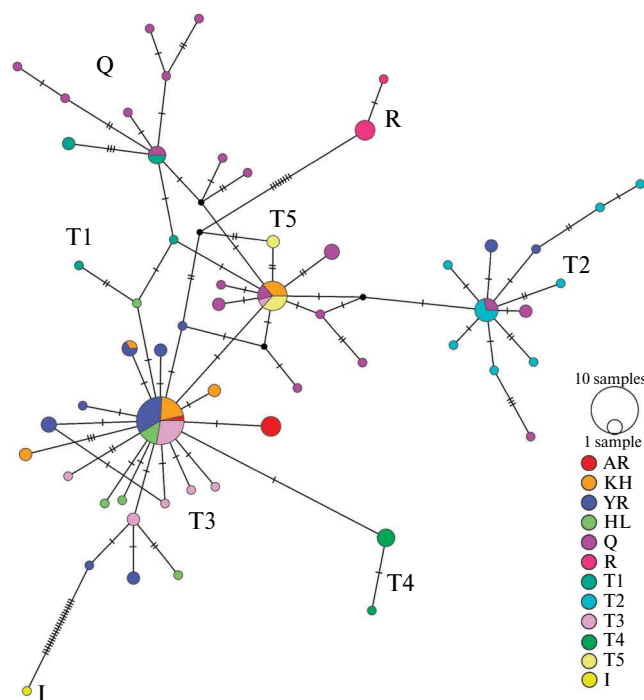


Рис. 3. Медианная сеть гаплотипов крупного рогатого скота на основании последовательности гипервариабельного участка D-петли.

что может влиять на расчет показателей разнообразия. Так, среднее число нуклеотидных различий и нуклеотидное разнообразие в современной холмогорской породе почти в 6, а в современной

ярославской — почти в 8 раз выше, чем у археологических образцов, в то время как показатель гаплотипического разнообразия возрос только в 2,7 раза для обеих современных пород. Таким образом, низкие показатели генетического разнообразия могут свидетельствовать об однородности исследуемой группы крупного рогатого скота с территории кремля Ярославля XIII–IV вв.

Результаты анализа дивергенции последовательностей мтДНК между парами исследуемых групп на основании количества сайтов, полиморфных только для одной группы из сравниваемой пары, приведены в табл. 3.

При попарном сравнении популяций в современной ярославской породе выявлено наибольшее количество полиморфных сайтов. Среди археологических образцов выявлен один сайт, который был полиморфным как по отношению к ярославской, так и по отношению к холмогорской породе. В современной ярославской популяции выявлено наибольшее количество полиморфных сайтов как по отношению к археологическим ($n = 14$), так и по отношению к современным холмогорским ($n = 11$) образцам. Таким образом, митогеном археологических образцов выглядит более консолидированным, чем у современных пород.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время значительная часть мировых генетических исследований древних образцов крупного рогатого скота с использованием митохондриальной ДНК направлена на уточнение истории происхождения и перемещения различных групп скота в процессе доместикиации, а также предковых линий в местных породах и отродях.

По-видимому, наиболее полно исследованы широко распространенные популяции крупного рогатого скота тауринного типа макрогаплогруппы Т. Изучение митохондриальной ДНК образцов крупного рогатого скота, датированных различными эпохами, выявило преобладание гаплогруппы Т3 в европейских и ближневосточных популяциях [38]. Однако изучение археологических памятников, расположенных на территории северного Китая и Республики Бурятия, возрастом от позднего неолита до династий Цинь и Хань (примерно 2500 г. до н.э. — 350 г. н.э.), показало преобладание среди археологических образцов крупного рогатого скота с гаплогруппами Т3, Т2 и Т4. Предполагается, что гаплогруппы Т2, Т3 и Т4 распространялись в ходе торговых и военных взаимодействий между регионами Китая и народами Великой степи [39]. Исследование современных образцов турано-монгольского скота выявило преобладание опять же гаплогрупп Т3, Т4 и Т2, однако у казахского и монгольского скота встречались гаплогруппа Т1 и даже I, характерная для *B. indicus* [40].

Таблица 2. Показатели генетического разнообразия археологических и современных образцов крупного рогатого скота на основании анализа нуклеотидной последовательности гипервариабельного региона D-петли

Группа	<i>n</i>	<i>S</i>	<i>K</i>	<i>H</i>	<i>h</i> ±SE	π ±SE
AR	6	1	0.333	2	0.333 ± 0.088	0,00119 ±0.00031
КН	15	10	2.190	8	0.905 ± 0.013	0,00709 ±0.,00029
YR	25	17	2.727	12	0.917 ± 0.007	0.00882 ±0.00024

Примечание. *n* – количество образцов; *S* – количество полиморфных сайтов; *K* – среднее число нуклеотидных различий; *H* – количество гаплотипов; *h* – гаплотипическое разнообразие; π – нуклеотидное разнообразие; SE – ошибка среднего.

Таблица 3. Оценка дивергенции последовательностей мтДНК при попарном сравнении пород

Группа 2	Группа 1		
	AR	КН	YR
AR		7	14
КН	1		11
YR	1	4	

Примечание. Над диагональю указано количество сайтов, полиморфных в первой группе, но мономорфных во второй. Под диагональю указано количество сайтов, полиморфных во второй группе, но мономорфных в первой.

Зафиксированные археозоологическими методами факты появления крупного рогатого скота на территории центральных лесных регионов Русской равнины относятся к эпохе бронзы (III тыс. до н.э.) и связаны с влиянием экономики западноевропейских племен культурного круга Шнуровой керамики и, вероятно, Триполья, а также миграциями носителей Ямной культурно-исторической общности из восточноевропейских степей [41–43]. Более поздние существенные перемещения домашних животных, в том числе коров, затронувшие южные рубежи лесной зоны, происходили уже с III по VII в. н.э. (Гуннское нашествие и период Великого переселения народов) и отличались более значительной протяженностью и географической разнонаправленностью. С достаточно большой вероятностью влияние на состав древнерусского стада могло происходить в X–XII вв. через экономические связи с государством Волжская Булгария, хозяйственная система которого имела явные юго-восточные традиции в скотоводческом секторе. По морфологическим характеристикам скелетных остатков изучаемого вида из археологических памятников городского и сельского типа древнерусский скот как местная породная группа лесной зоны сформировался еще в домонгольский период [30, 32, 44].

Таким образом, популяция крупного рогатого скота северо-восточной Руси могла иметь разные древние генетические корни – западные и восточные. Однако анализ митохондриального генома археологических образцов XIII–XIV вв. показал, что животные, содержащиеся на территории средневекового Ярославля, относились к группе тауринного скота, в частности к гаплогруппе Т3. Более того, благодаря применению новых методических

подходов обнаружено значительное однообразие ярославских коров. Явных признаков присутствия генного материала популяций скота из восточной части Евразии в изучаемых образцах не обнаружено. Такие результаты хорошо соотносятся с археозоологическими представлениями о местных корнях этой популяции.

Однако для продолжения изучения митохондриального генома древнерусского скота и уточнения его вероятных генетических связей с современной ярославской породой нужны большие серии и включение в анализ других популяционно-генетических параметров.

Проведенные исследования показали, что полногеномное секвенирование с последующей биоинформационной обработкой данных дает возможность определить видовую и гаплогрупповую принадлежность археологических образцов, что позволит делать выводы о перемещении животных в результате торговли, военных действий или иных причин. Однако при анализе большого количества образцов или в случае, когда получение данных о ядерном геноме не входит в задачи исследования, полногеномное секвенирование целесообразнее заменить секвенированием по Сенгеру коротких целевых фрагментов.

Применение новых методических подходов к изучению археологических образцов из средневекового Ярославля позволило достаточно точно отнести их к группе тауринного скота, в частности к гаплогруппе Т3, распространенной в Центральной Европе и на Ближнем Востоке. Отчасти была подтверждена также археозоологическая гипотеза о происхождении изучаемых образцов от особей

из популяции местного скота. Современные образцы ярославского скота показали генетическую близость к археологическим по некоторым кодирующим последовательностям и D-петле, что подтверждает общность происхождения и уникальность породы.

Исследования проведены в рамках выполнения работ по гранту РФФИ № 21-66-00007.

Исследование одобрено этическим комитетом ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста, протокол № 5 от 17.07.2023.

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Diamond J.* Evolution, consequences and future of plant and animal domestication // *Nature*. 2002. V. 418. P. 700–707.
2. *Notter D. R.* The importance of genetic diversity in livestock populations of the future // *J. Anim. Sci.* 1999. V. 77(1). P. 61–69. DOI: 10.2527/1999.77161x
3. *Ajmon M. P.* A global view of livestock biodiversity and conservation – GLOBALDIV // *Anim. Genet.* 2010. V. 41(s1). P. 1–5. DOI: 10.1111/j.1365-2052.2010.02036.x
4. The Second Report on the State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture / Eds edited by Scherf B. D. & Pilling D. FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture Assessments. Rome? 2015. (available at <http://www.fao.org/3/a-i4787e/index.html>).
5. *Loftus R. T., Scherf B.* World Watch List for Domestic Animal Diversity. FAO, Rome. 1993. P. 32–34.
6. *Groeneveld L. F., Lenstra J. A., Eding H. et al.* Genetic diversity in farm animals – a review // *Anim. Genet.* 2010. V. 41. P. 6–31. DOI: 10.1111/j.1365-2052.2010.02038.x
7. *Yang W., Kang X., Yang Q. et al.* Review on the development of genotyping methods for assessing farm animal diversity // *J. Anim. Sci. and Biotechnology*. 2013. V. 4. P. 2–6. DOI: 10.1186/2049-1891-4-2
8. Сулимова Г. Е., Столповский Ю. А., Рузина М. Н., Захаров-Гезехус И. А. Мониторинг генофондов популяций животных в связи с задачами селекции и изучения филогении // Биоразнообразие и динамика генофондов. М.: Наука, 2008. С. 211–214.
9. *Loftus R. T., MacHugh D. E., Bradley D. G. et al.* Evidence for two independent domestications of cattle // *PNAS USA*. 1994. V. 91(7). P. 2757–2761. DOI: 10.1073/pnas.91.7.2757
10. *Loftus R. T., MacHugh D. E., Ngere L. O. et al.* Mitochondrial genetic variation in European, African and Indian cattle populations // *Anim. Genet.* 1994. V. 25. P. 265–271. DOI: 10.1111/j.1365-2052.1994.tb00203.x
11. *Bradley D. G., MacHugh D. E., Cunningham P., Loftus R. T.* Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle // *PNAS USA*. 1996. V. 93. P. 5131–5135. DOI: 10.1073/pnas.93.10.5131
12. *Burger G., Gray M. W., Lang B. F.* Mitochondrial genomes: Anything goes // *Trends in Genetics*. 2003/ V. 19. № 12. P. 709–716. doi.org/10.1016/j.tig.2003.10.012
13. *Frank K., Molnár J., Barta E., Marincs F.* The full mitochondrial genomes of Mangalica pig breeds and their possible origin // *Mitochondrial DNA Part B*. 2017. P. 730–734. DOI: 10.1080/23802359.2017.1390415
14. *Achilli A., Olivieri A., Pellecchia M. et al.* Mitochondrial genomes of extinct aurochs survive in domestic cattle // *Curr. Biol.* 2008. V. 18(4). P. 157–158. DOI: 10.1016/j.cub.2008.01.019
15. *Mannen H., Kohno M., Nagata Y. et al.* Independent mitochondrial origin and historical genetic differentiation in North Eastern Asian cattle // *Mol. Phylogenet. Evol.* 2004. V. 32. P. 539–544. doi.org/10.1016/j.ympev.2004.01.010
16. *Troy C. S., MacHugh D. E., Bailey J. F. et al.* Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle // *Nature*. 2001. V. 410. P. 1088–1091. doi.org/10.1038/35074088
17. *Baig M., Beja-Pereira A., Mohammad R. et al.* Phylogeography and origin of Indian domestic cattle // *Curr. Science*. 2005. V. 89(1). P. 38–40.
18. *Chen S. Y., Lin B. Z., Baig M. et al.* Zebu cattle are an exclusive legacy of the South Asia Neolithic // *Mol. Biol. Evol.* 2010. V. 27. P. 1–6. doi.org/10.1093/molbev/msp213
19. *Magee D. A., Mannen H., Bradley D. G.* Duality in *Bos indicus* mtDNA diversity: Support for geographical complexity in zebu domestication // *The Evolution and History of Human Populations in South Asia: Inter-Disciplinary Studies in Archaeology, Biological Anthropology, Linguistics, and Genetics*. Dordrecht: Springer, 2007. P. 385–392. doi:10.1007/1-4020-5562-5
20. *Bailey J. F., Richards M. B., Macaulay V. A. et al.* Ancient DNA suggests a recent expansion of European cattle from a diverse wild progenitor species // *Proc. Biol. Sci.* 1996. V. 263. P. 1467–1473. doi.org/10.1098/rspb.1996.0214
21. *Edwards C. J., Bollongino R., Scheu A. et al.* Mitochondrial DNA analysis shows a Near Eastern Neolithic origin for domestic cattle and no indication of domestication of European aurochs // *Proc. Biol. Sci.* 2007. V. 274. P. 1377–1385. doi.org/10.1098/rspb.2007.0020

22. *Stock F., Edwards C. J., Bollongino R. et al.* Cytochrome b sequences of ancient cattle and wild ox support phylogenetic complexity in the ancient and modern bovine populations // *Anim. Genet.* 2009. V. 40. № 5. P. 694–700.
doi.org/10.1111/j.1365-2052.2009.01905.x
23. *Dymova, M. A., Zadorozhny A. V., Mishukova O. V. et al.* Mitochondrial DNA analysis of ancient sheep from Altai // *Anim. Genet.* 2017. V. 48. № 5. P. 615–618.
DOI:10.1111/age.12569
24. *Meadows J. R., Cemal I., Karaca O. et al.* Five ovine mitochondrial lineages identified from sheep breeds of the near East // *Genetics.* 2007. V. 175. № 3. P. 1371–1379.
DOI:10.1534/genetics.106.068353
25. *Zinovieva N. A., Sermyagin A. A., Dotsev A. V. et al.* Animal genetic resources: Developing the research of allele pool of Russian cattle breeds – minireview // *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*. 2019. V. 54(4). P. 631–641.
doi: 10.15389/agrobiology.2019.4.631eng
26. *Боронецкая О. И., Чукурова Е. А., Нукифоров А. И.* Возникновение и особенности породообразования, и практика сохранения белого паркового скота // *Известия ТСХА.* 2017. Т. 6. P. 68–84.
DOI: 10.26897/0021-342X-2017-6-68-84
27. *Bro-Jørgensen M. H., Caroe C., Vieira F. G. et al.* Ancient DNA analysis of Scandinavian medieval drinking horns and the horn of the last aurochs bull // *J. Archaeol. Sci.* 2018. V. 99. 47–54.
DOI: 10.1016/j.jas.2018.09.001
28. *Delsol N., Stucky B. J., Oswald J. A. et al.* Ancient DNA confirms diverse origins of early post-Columbian cattle in the Americas // *Sci. Rep.* 2023. V. 13(1). P. 12444.
DOI: 10.1038/s41598-023-39518-3
29. *Robin E. D., Wong R.* Mitochondrial DNA molecules and virtual number of mitochondria per cell in mammalian cells // *J. Cell. Physiol.* 1988. V. 136(3). P. 507–513. DOI: 10.1002/jcp.1041360316
30. *Цалкин В. И.* Материалы для истории скотоводства и охоты в Древней Руси // *Материалы и исследования по археологии СССР.* № 51. М.: Наука, 1956. 183 с.
31. *Антипина Е. Е., Лебедева Е. Ю.* Растения и животные. Глава 6 // *Археология древнего Ярославля: загадки и открытия.* 2-е изд., доп. и перераб. М.: ИА РАН, 2012. С. 144–229.
32. *Зиновьев А. В.* Крупный рогатый скот и лошади средневековой Твери (XII–XVI) // *Археология и история Пскова и Псковской земли. Семинар им. акад. В.В. Седова.* Вып. 30. М.: ИА РАН; СПб.: Нестор-История, 2015. С. 240–244.
33. *Vasimuddin M., Misra S., Li H., Aluru S.* Efficient architecture-aware acceleration of BWA-MEM for multicore systems // *IEEE Parallel and Distributed Processing Symposium (IPDPS).* 2019. DOI:10.1109/IPDPS.2019.00041
34. *Danecek P., Bonfield J. K., Liddle J. et al.* Twelve years of SAMtools and BCFtools // *Gigascience.* 2021. V. 10(2).
DOI: 10.1093/gigascience/giab008
35. *Peng M. S., Fan L., Shi N. N. et al.* DomeTree: A canonical toolkit for mitochondrial DNA analyses in domesticated animals // *Mol. Ecol. Res.* 2015. V. 15(5). P. 1238–1242.
DOI: 10.1111/1755-0998.12386
36. *Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M. et al.* Unipro UGENE: A unified bioinformatics toolkit // *Bioinformatics.* 2012. V. 28. № 8. P. 1166–1167.
doi:10.1093/bioinformatics/bts091
37. *Rozas J., Ferrer-Mata A., Sánchez-DelBarrio J. C. et al.* DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets // *Mol. Biol. Evol.* 2017. V. 34 (12). P. 3299–3302.
DOI: 10.1093/molbev/msx248
38. *Lenstra J.A., Ajmone-Marsan P., Beja-Pereira A. et al.* Meta-analysis of mitochondrial DNA reveals several population bottlenecks during worldwide migrations of cattle // *Diversity.* 2014. V. 6. P. 178–187.
DOI:10.3390/d6010178
39. *Zhang N., Shao X., Guo Y. et al.* Ancient mitochondrial genomes provide new clues to the origin of domestic cattle in China // *Genes (Basel).* 2023. V. 14(7).
DOI: 10.3390/genes14071313
40. *Xia X. T., Achilli A., Lenstra J. A. et al.* Mitochondrial genomes from modern and ancient Turano-Mongolian cattle reveal an ancient diversity of taurine maternal lineages in East Asia // *Heredity (Edinb).* 2021. V. 126(6). P. 1000–1008.
DOI: 10.1038/s41437-021-00428-7
41. *Цалкин В. И.* Древнейшие домашние животные Восточной Европы // *Материалы и исследования по археологии СССР.* № 161. М.: Наука, 1970. 280 с.
42. *Антипина Е. Е., Лебедева Е. Ю.* Основные этапы развития комплексной производящей экономики в западной половине Евразии (от эпохи раннего металла до железного века) // *Мегаструктура Евразийского мира: основные этапы формирования: материалы Всероссийской научной конференции.* 2012. М.: ИА РАН, С. 72–76.
43. *Гак Е. И., Антипина Е. Е., Лебедева Е. Ю., Кайзер Э.* Хозяйственная модель поселения среднедонской катакомбной культуры Рыкань-3 // *Российская археология.* 2019. Вып. 2. С. 19–34.
44. *Антипина Е. Е., Яворская Л. В.* Археозоологические материалы из раскопок на территории Московского Кремля: хозяйственные и социальные аспекты повседневной жизни в XII–XVII вв. // *Древности Московского Кремля. Т. 1.* М.: ИА РАН, 2022. С. 309–325.

Study of the Cattle Mitochondrial Genomes from Archaeological Finds on the Territory of Yaroslavl (XIII–XIV Centuries)

A. S. Abdelmanova^{1, *}, M. S. Fornara¹, N. F. Bakoev¹, E. E. Antipina^{1, 2},
L. V. Yavorskaya^{1, 2}, A. V. Dotsev¹, N. A. Zinovieva¹

¹*Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, Moscow oblast, Podolsk, 142132, Russia*

²*Institute of Archaeology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 117292 Russia*

**e-mail: abdelmanova@vij.ru*

Evolutionary processes and selective breeding have developed diverse arrays of local livestock populations adapted to specific natural and climatic conditions. Increased selection pressure and concentration on a few high-yielding breeds have led to the erosion of genetic resources worldwide. One effective approach to assessing genetic diversity is the study of mitochondrial DNA (mtDNA) polymorphism, which exhibits a high level of variability and is characterised by a lack of recombination, allowing the study of genetic relationships between breeds and the tracing of both ancient and relatively recent evolutionary events. The study of the evolution and demographic history of farm animal breeds is made possible by the involvement of historical and archaeological specimens in research. The aim of our work was to identify the most efficient way to investigate mitochondrial DNA extracted from archaeological samples, allowing the analysis of population genetic parameters. The study included samples dating from the late XIII–XIV centuries, discovered during excavations of the central part of the medieval Kremlin within the boundaries of modern Yaroslavl. The methods of full-genome sequencing and Sanger sequencing of mtDNA fragments were used to study the maternal variability of cattle bred in the forest zone of the Russian Plain. A dendrogram based on genetic distances of the complete mitochondrial sequence using the Neighbor-Joining method revealed clustering of archaeological samples in groups of modern Yaroslavl and Kholmogorsk cattle, which may indicate common ancestors of all three populations. A detailed examination of some regions of the mitogenome revealed that the archaeological samples were successfully genotyped with sequences that slightly overlapped with each other. Therefore, a system for genotyping the hypervariable region of the D-loop using Sanger sequencing of the target fragment was developed. The analysis of nucleotide and haplotypic diversity revealed minimal values of these parameters in the group of archaeological samples. The constructed median haplotype network allowed to attribute the archaeological samples to haplogroup T3, the most widespread in European cattle breeds. The analysis of the obtained data allows us to assume the origin of the studied archaeological specimens from individuals of the local group of cattle bred in the vicinity of medieval Yaroslavl in the XIII–XIV centuries.

Keywords: mitochondrial DNA, haplogroups, cattle, archaeological samples, ancient DNA.