

© Л. В. Топчиева, В. В. Белкин,
Н. Л. Рендаков, И. Е. Малышева,
С. Н. Коломейчук

Федеральное государственное
бюджетное учреждение науки
Институт биологии Карельского
научного центра Российской ака-
демии наук

✿ Средние значения показателей H_o и H_e для зайцев, обитающих на территории Карелии оказались $0,43 \pm 0,2$ и $0,71 \pm 0,15$ соответственно. Среднее значение аллельного разнообразия составило $6,25 \pm 3,46$. Статистика Райта $F_{st} = 0,133$, рассчитанная для животных из разных районов, указывает на их генетическую дифференциацию, что позволяет выделить в популяции зайца-беляка субпопуляционные группы.

✿ **Ключевые слова:** генетика популяций; генетическое разнообразие; микросателлитные повторы; характеристики популяции; биоразнообразие; заяц-беляк.

УРОВЕНЬ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ ПОПУЛЯЦИИ ЗАЙЦА-БЕЛЯКА *LEPUS TIMIDUS* В КАРЕЛИИ

ВВЕДЕНИЕ

Заяц-беляк — один из основных ресурсных видов на Европейском Севере России, изучению биологии и экологии которого уделялось много внимания. Он имеет широкое распространение и в Карелии относится к номинальному подвиду *Lepus timidus timidus* L., 1758 (Ивантер, 1969; Белкин, 1982). По среднему многолетнему уровню численности вида и своеобразному характеру ее колебаний по годам Т. П. Томилова (1975) группирует зайцев Карелии, Коми, Мурманской, Архангельской и Вологодской областей отдельно от зайцев Ленинградской, Новгородской и Псковской областей, что можно рассматривать как попытку выделения популяционной структуры вида. Ранее выполненные исследования по краниометрии зайца-беляка (Белкин, 1981 а) показали, что в пределах подвида на Европейском Севере России черепа зайцев из Карелии достоверно отличаются от таковых из Ленинградской, Архангельской и Мурманской областей по 2–4 признакам из 5, а в отдельных случаях демонстрируют различия и по коэффициенту вариации. Это может служить одним из критериев выделения самостоятельной субпопуляции беляка в исследуемом регионе.

Однако по отдельным фенотипическим и некоторым популяционным характеристикам трудно разделить население зайца-беляка на субпопуляционные группы. Считается, что во многих случаях генетические данные могут наиболее достоверно отражать процесс дифференциации группировок (Рожков и др., 2005).

Для зайца-беляка лесной зоны, в отличие от тундры и лесотундры, не характерны массовые перекочевки (Огнев, 1940; Павлинин, 1971). По результатам тропления животных, их животолова, мечения и радиослежения они ведут оседлый образ жизни, занимают ограниченные участки обитания и имеют небольшой радиус расселения (Иванов, Приклонский, 1968; Dahl, Willebrand, 2005; Myrberget, 1975; Kauhala, 1998; Kauhala et al., 2005a). В этом случае можно говорить об изоляции расстоянием, что может привести к снижению интенсивности потока генов и генетической дифференциации природных популяций (Алтухов, 2003).

Естественные барьеры, такие как водоразделы, а также относительно оседлый образ жизни зайца-беляка могут способствовать фрагментации популяции, усилению инбридинга и снижению генетического разнообразия. Следует отметить, что данные литературы, посвященные изучению генетической структуры популяций зайца-беляка с использованием ДНК-маркеров, весьма малочисленны (Andersson et al., 1999; Hamill et al., 2006), а оценка уровня полиморфизма и степень дифференциации этого вида на территории Европейского Севера России с помощью молекулярно-генетических методов вообще не проводилась. Цель исследования — изучение генетической структуры популяции зайца-беляка на территории Карелии с использованием микросателлитных последовательностей ДНК. Для анализа использованы также сборы проб из Финляндии (губерния Похьейс-Карьяла) и из Тверской области, любезно предоставленные нам К. Nygren и В. Поповым.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследовании использованы образцы мышечной ткани зайцев, добытых в разных районах республики Карелия (о. Валаам в Ладожском озере

Поступила в редакцию 06.07.2012
Принята к публикации 03.09.2012



Рис. 1. Места сбора биологического материала. Обозначения: 1 — Прионежский р-н РК, 2 — Пудожский р-н РК, 3 — о. Валаам, 4 — п. Иломантси, Финляндия

$n = 10$, Пудожский район $n = 11$, Прионежский район $n = 30$, а также в Финляндии ($n = 10$) и Тверской области ($n = 8$) (рис. 1).

ДНК из мышечной ткани навеской 50 мг выделяли с помощью набора Axyprep Multisource Genomic DNA Kit (Axugen). Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в амплификаторе iCycler iQ5 (Bio-Rad), используя набор для ПЦР (Силекс). Микросателлитный анализ проводили по четырем локусам. Праймеры: для амплификации локуса 5L1C3—5'-cagcggttaagagtggagaac и 5'-tccccataacaagaagagg; для локуса 5L1C11—5'-gctgctttgctcctaattgtgt и 5'-cttaccgggaaatctctgacct; для локуса 5L1E8—5'-ccagctggttaatagtagaga и 5'-aaggcatttgggagtga; для локуса 6L3B4—5'-cgagctccttctgcatgac и 5'-agggcgaccagcggtctat соответственно, прямой и обратный.

Разделение и определение микросателлитных фрагментов осуществляли на приборе CEQ 8000 Genetic Analysis System (Beckman Coulter) с помощью набора GenomeLab Fragment Analysis (Beckman Coulter).

Таблица 1
Средние значения показателей генетического разнообразия зайца-беляка по четырем микросателлитным локусам

| Локус | № доступа в базе данных NCBI | H_o | H_e |
|--------|------------------------------|-------|-------|
| 5L1C3 | AF421908 | 0,21 | 0,67 |
| 5L1E8 | AF421912 | 0,31 | 0,50 |
| 6L3B4 | AF421922 | 0,45 | 0,84 |
| 5L1C11 | AF421910 | 0,58 | 0,68 |

Наблюдаемую гетерозиготность определяли как долю особей, гетерозиготных по данному локусу (Животовский, 1991). Ожидаемую гетерозиготность рассчитывали как ожидаемую по Харди-Вайнбергу долю гетерозигот (Nei, 1975). При проведении кластерного анализа в программе Gendist из пакета программ Phylip 3.63 рассчитывали генетическое расстояние Nei (Nei, 1972) между особями. Объединение особей в кластеры и построение дендрограмм осуществляли в программе GenStat 7.0 по методу ближайшего соседа.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из таблицы 1, наибольшие значения наблюдаемой гетерозиготности (H_o) выявляются для локуса 5L1C11, а ожидаемой гетерозиготности (H_e) — для локуса 6L3B4. Наименьшие значения наблюдаемой гетерозиготности обнаружены для локуса 5L1C3, а ожидаемой гетерозиготности — для локуса 5L1E8. Средние значения показателей H_o и H_e для зайцев, обитающих на территории Карелии оказались $0,43 \pm 0,2$ и $0,71 \pm 0,15$ соответственно. Среднее значение аллельного разнообразия составило $6,25 \pm 3,46$.

Результаты микросателлитного анализа выборок зайца-беляка с территорий Карелии, Тверской области и Центральной Финляндии показали, что население зайца-беляка Прионежского района и о. Валаам характеризовалось наибольшим уровнем генетического разнообразия (табл. 2). Можно предположить, что

Таблица 2
Средние значения показателей генетического разнообразия зайца-беляка, обитающего в разных районах Карелии, Центральной Финляндии и Тверской области

| Регион | A | SD | H_o | SD | H_e | SD | |
|-----------------------|-----------------|------|-------|------|-------|------|------|
| Центральная Финляндия | 5 | 3,46 | 0,20 | 0,21 | 0,60 | 0,29 | |
| Республика Карелия | Пудожский р-н | 4,25 | 1,89 | 0,38 | 0,19 | 0,65 | 0,14 |
| | о. Валаам | 5,25 | 2,63 | 0,47 | 0,24 | 0,74 | 0,11 |
| | Прионежский р-н | 9,25 | 5,85 | 0,43 | 0,22 | 0,73 | 0,21 |
| Тверская область | 4,50 | 2,38 | 0,39 | 0,30 | 0,66 | 0,13 | |

H_o — наблюдаемая гетерозиготность, H_e — ожидаемая гетерозиготность, A — аллельное разнообразие, SD — стандартное отклонение

расстояние в 20 км от материка до о. Валаам с чередой промежуточных островов значительно меньшего размера не является изолирующей преградой для вида в зимний период и происходит приток животных на остров из Питкярантского района с высокой численностью беляка. Другое, менее правдоподобное, предположение высокого генетического разнообразия вида на о. Валаам — несанкционированные выпуски 50 животных из Якутии, которые были проведены несколько лет назад в Лахденпохском районе на западном побережье Ладожского озера.

Наименьшие значения наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности характерны для животных, обитающих в восточной части Центральной Финляндии (губерния Похьейс-Карьяла, окрестности п. Иломантси). Возможно, это связано с тем, что при отборе образцов мышечной ткани для анализа попали животные с ограниченной территории из нескольких близкородственных выводков.

Уровень генетического полиморфизма зайцев в Пудожском районе и Тверской области оказался меньше, чем у животных из Прионежского района. Одним из объяснений этому могут служить значительные различия показателя численности вида за последние 20 лет: в Прионежском районе он составил 12,0 а в Пудожском — 7,9 следа на 10 км маршрута. В 1964–1990 гг. эти различия были еще выше — 18,1 и 10,7 следа на 10 км соответственно. В Тверской области в последнее десятилетие также наблюдается снижение численности вида почти в 2 раза (Молочаев, 2007).

Сопоставление результатов наших исследований с данными литературы (Hammil et al., 2006; Thulin et al., 2006) показало, что популяция зайца-беляка в Карелии характеризуется более низкими показателями генетического разнообразия, чем популяции этих животных в Финляндии, Швеции и Норвегии (табл. 3), что можно объяснить различиями в их численности. Например, в Карелии численность вида за последние 20 лет в 2–3 раза ниже, чем в Северной и Южной Финляндии — 7,6, 16,3 и 23,3 следа на 10 км, соответственно (Данилов и др., 2002, 2010; Kauhala et al., 2005b). В состоянии длительной депрессии численность беляка находится не только в Карелии, но и в целом на Европейском Севере России (Белкин, 2009, 2010).

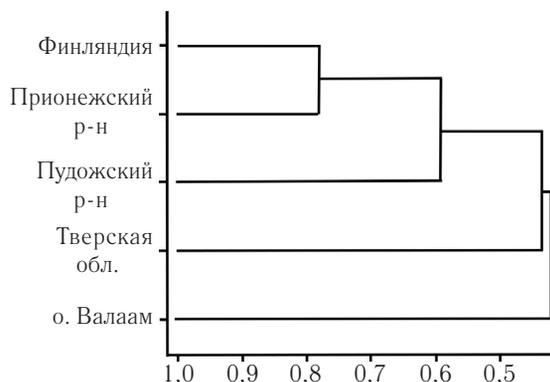


Рис. 2. Дендрограмма генетического сходства зайцев из разных районов Карелии, Тверской области и Центральной Финляндии

При этом для зайца-беляка в Карелии характерна конгрегационность распределения по территории, которая усиливается в годы низкой численности вида (Белкин, 1981 б).

Анализ степени генетической подразделенности изучаемых популяций, проведенный с помощью статистик генного разнообразия S. Wright (1951) показал, что большую часть генного разнообразия составляет внутривидовая компонента (86,7%), что характерно для панмиктических популяций. Однако существенная величина Fst (13,3%), рассчитанная для животных из разных районов Карелии, может свидетельствовать об их генетической дифференциации, что дает основания к выделению в популяции зайца-беляка субпопуляционных групп.

Дендрограмма генетического сходства, построенная по данным микросателлитного анализа, показала значительные генетические различия между животными, обитающими в разных районах Карелии, а также в Тверской области и Центральной Финляндии (рис. 2). Наиболее генетически близки между собой зайцы из Прионежского района РК и Центральной Финляндии. Эти группы не разобщены непреодолимыми водными или другими естественными преградами. Зайцы из Пудожского района составляют общий кластер с животными из Прионежского района и Центральной Финляндии, однако они ха-

Таблица 3

Значения показателей генетического разнообразия зайца-беляка, обитающего в Северной Европе и в Республике Карелия

| Регион | H_o | H_e |
|----------------------|-------|-------|
| Северная Финляндия * | 0,73 | 0,70 |
| Южная Финляндия * | 0,62 | 0,67 |
| Северная Швеция * | 0,65 | 0,70 |
| Центральная Швеция * | 0,73 | 0,75 |
| Норвегия * | 0,71 | 0,72 |
| Республика Карелия | 0,43 | 0,71 |

* — Hammil et al., 2006

рактируются между собой небольшим генетическим сходством (0,6). Генетически наиболее удалены от этих групп особи из Тверской области и о. Валаам, что может быть следствием их географической или природной разобщенности.

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют об относительно низком уровне генетического разнообразия зайцев, обитающих на территории Карелии, Тверской области и Центральной Финляндии по сравнению с популяциями зайца-беляка Северной Европы (Hammil et al., 2006; Thulin et al., 2006). Статистика Райта *F_{st}*, рассчитанная для изученных нами популяций, указывает на их генетическую подразделенность, что, вероятно, может быть следствием наличия изолирующих естественных барьеров.

Работа выполнена при финансовой поддержке грантов РФФИ 10-04-00913, ФЦП № г. р. 02.740.11.0700, Программы Президиума РАН «Живая природа» № г. р. 01201262113.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алтухов Ю. П., 2003. Генетические процессы в популяциях. М.: Академкнига. 431 с.
2. Белкин В. В., 1981 а. Морфологические особенности зайца-беляка в Карелии // Вопросы экспериментальной ботаники и зоологии. Петрозаводск. С. 5–7.
3. Белкин В. В., 1981 б. К изучению пространственной структуры популяции зайца-беляка в южной Карелии // Экология наземных позвоночных Северо-Запада СССР. Петрозаводск. С. 143–148.
4. Белкин В. В., 1982. Биология, состояние запасов и хозяйственное использование зайца-беляка в Карелии. Автореф. дисс. канд. биол. наук. Свердловск. 22 с.
5. Белкин В. В., 2009. Особенности флуктуации численности зайца-беляка на Европейском Севере России // Экология, эволюция и систематика животных. Матер. Всерос. н-пр. конф. Рязань. С. 178–179.
6. Белкин В. В., 2010. Биологические предпосылки освоения ресурсов зайца-беляка на Европейском Севере России // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. Т. 12(33), № 1(5). Самара. С. 1267–1270.
7. Данилов П. И., Белкин В. В., Федоров Ф. В. и др., 2010. Ресурсные виды // Мониторинг и сохранение биоразнообразия таежных экосистем Европейского Севера России. Петрозаводск. С. 195–260.
8. Данилов П. И., Хелле Р., Белкин В. В. и др., 2002. Распределение и численность охотничьих зверей и теревинных птиц в Восточной Фенноскандии // Петрозаводск. РИЦ «Реклама -График». 18 с.
9. Животовский Л. А., 1991. Популяционная биометрия. М.: Наука. 271 с.
10. Иванов Ф. В., Приклонский С. Г., 1968. К экологии зайца-беляка (по материалам отлова и кольцевания) // Миграции животных. Наука, № 5. Л. С. 161–168.
11. Молочаев А. В., 2007. Заяц-беляк, заяц-русак // Состояние ресурсов охотничьих животных в Российской Федерации в 2003–2007 гг. М. С. 112–116.
12. Огнев С. И., 1940. Звери СССР и прилежащих стран. Т. 4 М.-Л. 720 с.
13. Павлинин В. Н., 1971. Заяц-беляк // Тр. Ин-та экологии растений и животных. УрНЦ АН СССР. Вып. 80. С. 75–106.
14. Рожков Ю. И., Холодова М. В., Давыдов А. В. и др., 2005. Пространственная дифференциация европейского лося (*Alces alces alces* L.) по результатам анализа мтДНК // Вестник охотоведения. Т. 2, № 3. С. 287–290.
15. Томилова Т. П., 1975. Численность и использование зайца-беляка // Охота и охотничье хозяйство. № 11. С. 19–21.
16. Хедрик Ф., 2003. Генетика популяций. Москва: Техносфера. 591 с.
17. Andersson A.-C., Thulin C.-G., Tegelström H., 1999. Applicability of rabbit microsatellite primers for studies of hybridization between an introduced and a native hare species // Hereditas. Vol. 130. P. 309–315.
18. Dahl F., Willebrand T., 2005. Natal dispersal, adult home ranges and site fidelity of mountain hares *Lepus timidus* in the boreal forest of Sweden // Wildl. Biol. Vol. 11, N 4. P. 309–317.
19. Hamill R. M., Doyle D., Duke E. J., 2006. Spatial patterns of genetic diversity across European subspecies of the mountain hare, *Lepus timidus* L. // Heredity. Vol. 97. P. 355–365.
20. Kauhala K., 1998. Metsäjäniksen salat paljastuvat // Metsästäjä. N 6. P. 22–24.
21. Kauhala K., Helle P., Hiltunen M., 2005a. Population dynamics of mountain hare *Lepus timidus* populations in Finland // Wildl. Biol. Vol. 11, N 4. P. 299–307.
22. Kauhala K., Hiltunen M., Salonen T., 2005b. Home ranges and site fidelity of mountain hares *Lepus timidus* in the boreal forest of Finland // Wildl. Biol. Vol. 11, N 3. P. 193–200.
23. Myrbert S., 1975. Merking av hare I Norge // Fauna. Vol. 28. P. 44–46.
24. Nei M., 1972. Genetic distance between populations // Amer. Natur. Vol. 106, N 949. P. 283–292.
25. Nei M., 1975. Molecular population genetics and evolution. Amsterdam. Noth-Holland. 278 p.
26. Thulin C.-G., Stone J., Tegelström H., Walker C. W., 2006. Species assignment and hybrid identification among Scandinavian hares *Lepus europaeus* and *L. timidus* // Wildl. Biol. Vol. 12, N 1. P. 29–38.
27. Wright S., 1951. The genetic structure of populations // Ann. Eugen. Vol. 15. P. 323–354.

**THE LEVEL OF GENETIC DIVERSITY AND
DIFFERENTIATION OF MOUNTAIN HARE *LEPUS
TIMIDUS* POPULATION IN KARELIA**

*Topchiyeva L. V., Belkin V. V., Rendakov N. L.,
Malysheva I. Y., Kolomeychuk S. N.*

✿ **SUMMARY:** The level of genetic diversity of mountain hare *Lepus timidus* was assessed in Karelia for the first time. A significant remainder

was revealed after subtraction of H_o value from H_e , which value indicates the predominant selection of homozygotes rather than heterozygotes and the occurrence of inbreeding in the groups under study. The F_{st} value equal to 0.133 was calculated for the animals from different regions and indicates their genetic differentiation, which allows distinguishing subpopulation groups in mountain hare population.

✿ **KEY WORDS:** population genetics; genetic variation; microsatellite repeats; loss of heterozygosity; population characteristics; biodiversity; mountain hare.

✿ Информация об авторах

Топчиева Людмила Владимировна — к. б. н., старший научный сотрудник, ИБ КарНЦ РАН, группа молекулярной биологии. 185910, г. Петрозаводск, Пушкинская ул., д. 11. E-mail: topchiev@krc.karelia.ru.

Белкин Владимир Васильевич — к. б. н., ведущий научный сотрудник, ИБ КарНЦ РАН, лаборатория зоологии. 185910, г. Петрозаводск, Пушкинская ул., д. 11. E-mail: danja@inbox.ru.

Рендаков Николай Львович — к. б. н., старший научный сотрудник, ИБ КарНЦ РАН, группа молекулярной биологии. 185910, г. Петрозаводск, Пушкинская ул., д. 11. E-mail: nrend@mail.ru.

Малышева Ирина Евгеньевна — к. б. н., научный сотрудник, ИБ КарНЦ РАН, группа молекулярной биологии. 185910, г. Петрозаводск, Пушкинская ул., д. 11. E-mail: mal-ir@mail.ru.

Коломейчук Сергей Николаевич — к. б. н., старший научный сотрудник, ИБ КарНЦ РАН, группа молекулярной биологии. 185910, г. Петрозаводск, Пушкинская ул., д. 11. E-mail: sergey_kolomeychuk@rambler.

Topchiyeva Lyudmila Vladimirovna — Ph.D., senior scientist. Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences. 185910, Petrozavodsk, Pushkinskaya st., 11. E-mail: topchiev@krc.karelia.ru.

Belkin Vladimir Vasilyevich — Ph.D., leader scientist. Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences. 185910, Petrozavodsk, Pushkinskaya st., 11. E-mail: danja@inbox.ru.

Rendakov Nikolay Lvovich — Ph.D., senior scientist. Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences. 185910, Petrozavodsk, Pushkinskaya st., 11. E-mail: nrend@mail.ru.

Malysheva Irina Yevgenyevna — Ph.D., scientist. Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences. 185910, Petrozavodsk, Pushkinskaya st., 11. E-mail: mal-ir@mail.ru.

Kolomeychuk Sergey Nikolayevich — Ph.D., senior scientist. Institute of Biology of the Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences. 185910, Petrozavodsk, Pushkinskaya st., 11. E-mail: sergey_kolomeychuk@rambler.