

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

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

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

### ВВЕДЕНИЕ

✿ 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.

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.

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

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

Поступила в редакцию 06.07.2012  
Принята к публикации 03.09.2012

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



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'-cagcggtaagagtggagaac и 5'-tccccataacaagaagagg; для локуса 5L1C11—5'-gctgctttgctcctaattgtgt и 5'-cttaccgggaaatctctgacct; для локуса 5L1E8—5'-ccagctggtaatagtagaga и 5'-aaggcatttgggagtga; для локуса 6L3B4—5'-cgagctccttctgcatgac и 5'-agggcgaccagcggcttat 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).

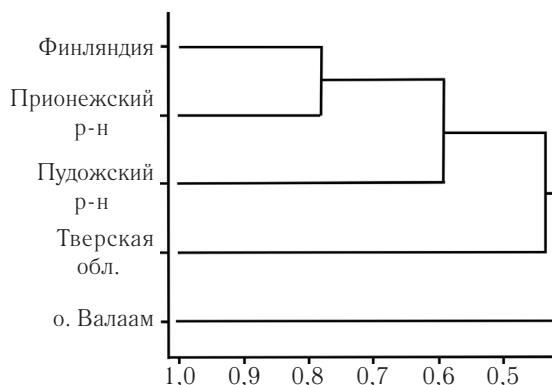


Рис. 2. Дендрограмма генетического сходства зайцев из разных районов Карелии, Тверской области и Центральной Финляндии

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<sub>st</sub>*, 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  $H_0$  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.