

УДК 599.742.21

НОВЫЕ ДАННЫЕ О ФИЛОГЕОГРАФИИ И ГЕНЕТИЧЕСКОМ РАЗНООБРАЗИИ БУРОГО МЕДВЕДЯ *Ursus arctos* Linnaeus, 1758 СЕВЕРО-ВОСТОЧНОЙ ЕВРАЗИИ (АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА КОНТРОЛЬНОГО РЕГИОНА мтДНК)

© 2014 г. В. В. Саломашкина*, М. В. Холодова*, О. Ю. Тютеньков**,
Н. С. Москвитина**, Н. Г. Ерохин***

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, 119071 Москва, Ленинский просп., 33

**Национальный исследовательский томский государственный университет, 634050 Томск, просп. Ленина, 36

***Институт экологии растений и животных УрО РАН, 620144 Екатеринбург, ул. 8 Марта, 202

E-mail: v-salomashk@yandex.ru

Поступила в редакцию 28.01.2013 г.

Проведен анализ полиморфизма фрагмента контрольного региона митохондриальной ДНК 53 образцов тканей бурого медведя *Ursus arctos* из ряда регионов восточной части России. Установлено, что большинство описанных гаплотипов относятся к наиболее распространенному в Евразии кластеру 3а и не формируют регионально-специфичных гаплогрупп. Однако среди медведей из Западной и Восточной Сибири, а также с о-ва Кунашир выявлено три гаплотипа, близких к гаплогруппе, характерной для медведей Восточного Хоккайдо. Сделано предположение о существовании на территории Восточной Сибири и Дальнего Востока одного или нескольких плейстоценовых рефугиумов.

DOI: 10.7868/S000233291401010X

Бурый медведь (*Ursus arctos*) — крупный хищник, характеризующийся широким гомарктическим ареалом, включающим в себя значительные части Евразии и Северной Америки. Западно-европейский ареал медведя в течение последних столетий подвергся значительному сокращению и сейчас представлен несколькими изолированными популяциями, в то время как в Восточной Европе и России медведь населяет обширные пространства (Барышников, 2007). Для бурого медведя характерна высокая индивидуальная изменчивость морфологических признаков, что вызывает затруднения при выделении подвидов (Гептнер и др., 1967) и установлении степени обособленности и статуса отдельных региональных группировок. Поэтому генетические исследования на внутривидовом уровне представляют особую ценность. В работах по изучению генетической структуры среди хищных млекопитающих Гомарктики бурый медведь занимает одно из первых мест.

Результаты генетических исследований, в том числе анализа полиморфизма митохондриальной ДНК (мтДНК), используются для оценки генетического разнообразия и описания филогеографической структуры вида, реконструкции истории ареала медведей, оценки влияния глобальных климатических изменений и деятельности человека на эти характеристики (Taberlet *et al.*, 1998;

Korsten *et al.*, 2009; Davison *et al.*, 2011). Особое значение эти данные имеют для сохранения изолированных и малочисленных популяций этого вида (Taberlet, Bouvet, 1994; Taberlet *et al.*, 1997; Calvignac *et al.*, 2009). Весомый вклад в понимание закономерностей формирования внутривидовой структуры внесли результаты изучения древней ДНК бурых медведей (Leonard *et al.*, 2000; Willerslev, Cooper, 2005; Rohland, Hofreiter, 2007; Calvignac *et al.*, 2009).

Полученные к настоящему времени данные по изменчивости мтДНК позволили выделить в составе вида шесть основных генетических клад. Гаплотипы мтДНК, входящие в первую кладу, встречаются у медведей Западной Европы, во вторую — у бурых медведей островов арх. Александра (ABC-Islands), а также у белых медведей. Наиболее широко на ареале вида представлены гаплотипы третьей клады. Внутри этой клады обычно выделяют два кластера, в которые входят бурые медведи Северной и Восточной Европы, Сибири и Дальнего Востока России, о-ва Хоккайдо, арх. Кодьяк, западной части Аляски и Канады (кластер 3а), а также восточной части Аляски и Канады, о-ва Хоккайдо, Дальнего Востока России (кластер 3б). Гаплотипы мтДНК, входящие в четвертую кладу, описаны для медведей о-ва Хоккайдо, Южной Канады и США. Пятая кладу объединяет гаплотипы мтДНК медведей Тибета

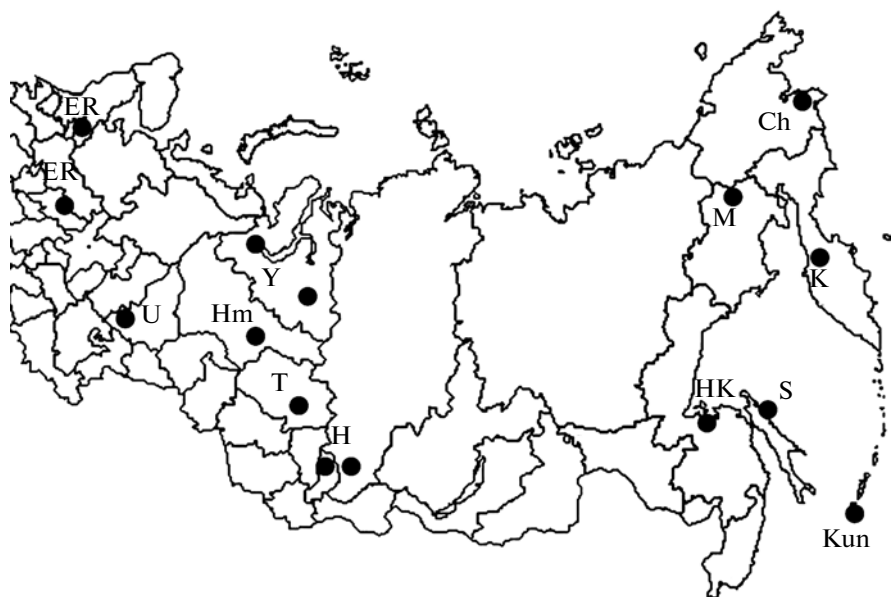


Рис. 1. Места сбора образцов: К – Камчатка ($n = 5$), U – Свердловская обл. ($n = 9$), Т – Томская обл. ($n = 16$), Н – Хакасия и юг Красноярского края ($n = 3$), Hm – Ханты–Мансийская АО ($n = 1$), Y – Ямало–Ненецкий АО ($n = 2$), НК – Хабаровский край ($n = 8$), Ch – Чукотка ($n = 3$), М – Магаданская обл. ($n = 1$), ER – европейская часть России ($n = 3$), S – Сахалин ($n = 1$), Kun – Кунашир ($n = 1$).

та, шестая – медведей Пакистана и пустыни Гоби (Leonard *et al.*, 2000; Miller *et al.*, 2006; Korsten *et al.*, 2009). Помимо описанных выше шести клад выделяют отдельную группу иранских гаплотипов и группу гаплотипов ископаемых медведей с гор Атласа (Северная Африка), филогенетическое положение которых до сих пор неясно (Miller *et al.*, 2006; Calvignac *et al.*, 2008, 2009; Davison *et al.*, 2011). На основании сходства между гаплотипами мтДНК, описанных для разных регионов, было предложено несколько сценариев расселения вида по ареалу в конце плейстоцена–начале голоцена. Однако до сих пор открытым остается вопрос о том, происходила ли последняя, постледниковая волна колонизации из одного рефугиума, находящегося на территории Европы, или же существовало несколько альтернативных рефугиумов на территории Сибири или Урала (Korsten *et al.*, 2009; Davison *et al.*, 2011).

Несмотря на множество публикаций по генетическому разнообразию и филогеографии *U. arctos*, самая многочисленная и географически протяженная популяция медведей восточной части России несравнимо менее изучена, чем популяции из Европы, Северной Америки и Японии (Servheen, 1990; Davison *et al.*, 2011). Между тем увеличение числа исследованных образцов бурого медведя из разных северо-восточных частей Евразии является ключевым для уточнения региональной представленности и структурированности описанных мировых генетических клад, более глубокого изучения закономерностей формирова-

ния пространственного распределения различных генетических линий, обнаружения следов существования гипотетических древних рефугиумов в современной филогеографической структуре вида.

Цель работы – на основании анализа полиморфизма контрольного региона мтДНК оценить генетическое разнообразие бурого медведя северо-восточной части России и уточнить пути формирования филогеографической структуры вида в Евразии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проанализировано 53 образца тканей (кусочки заспиртованных мышц, сухих шкур, зубов и костей) бурого медведя из разных частей евразийского ареала (рис. 1), собранных нашими коллегами во время экспедиционных работ, а также из коллекций Зоомузея МГУ (№ S-177769, S-159008) и Музея ИЭРиЖ УрОРАН (№ 355837; 355119.3; 355839; 355872; 355870; 355871; 355838; 52304; 52300, 452480).

Тотальную ДНК выделяли из мышечных образцов и шкур с использованием набора Diatom DNA Prep 100 (ООО “Лаборатория “Изоген”, Москва) согласно инструкции производителя; из костных образцов – с помощью набора QIAquick PCR purification kit (QIAGEN, Германия) по методике Янга с соавт. (Yang *et al.*, 1998). Для анализа был выбран наиболее изменчивый участок мтДНК – контрольный регион. Амплификация

проводилась с помощью праймеров BED1 (прямого, 5'-AGCAACAGCTCCACTACCAG-3') и D4 (обратного, 5'-AGGCATTTTCAGTGCCT-TGCTTTG-3') (Matsuhashi *et al.*, 1999). Помимо этого для ДНК, полученной из костных образцов, использовались праймеры для амплификации более короткого участка: L1 (прямого, 5'-AGAGTCTTTGTAGTATATTAATTAACCTTTGG-3') и H674 (обратного, 5'-TGTCCTGTAAACCAT-TGACTGA-3') (Рожнов и др., 2010). Полимеразная цепная реакция (ПЦР) проводилась согласно протоколам, описанным в этих статьях с использованием набора MasterMix×5 (Диалат, Москва) и Hot Taq-полимеразы (Диалат), очистка продуктов ПЦР – методом осаждения ДНК смесью ацетата аммония и 96%-ного спирта с последующим промыванием 70%-ным этанолом. Нуклеотидные последовательности определяли на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 3130 (Applied Biosystems, США) с применением набора BigDye Terminator v.3.1. (Applied Biosystems) с прямыми и обратными праймерами, использованными при проведении ПЦР.

Выравнивание и редактирование последовательностей проводили вручную в программе Bioalign (Hall, 2001), анализ данных и реконструкцию филогенетических связей – с помощью программ MEGA 5.1 (Tamura *et al.*, 2011) и Network 4.6.1 (Bandelt *et al.*, 1999). Расчет генетического разнообразия и дистанций выполняли в программах MEGA 5.1 и Arlequin 3.5.1.2 (Excoffier, Lischer, 2010). Степень родства между медведями из различных региональных группировок оценивали на основании расчета средневзвешенной генетической дистанции (Net distance) в программе MEGA 5.1. Для построения филогенетических деревьев в программе MEGA 5.1 были использованы алгоритмы ближайшего связывания (Neighbor-Joining (NJ)) и максимального правдоподобия (Maximum likelihood (ML)) с эволюционной моделью Tamura-Nei. γ -дистанция вычислялась отдельно для каждой выборки в программе MEGA 5.1 перед построением дерева. Для вычисления генетической дистанции и внутригрупповой изменчивости также использовалась модель Tamura-Nei. Для сравнительного анализа в исследовании были включены представленные в международной базе GenBank (ncbi.nlm.nih.gov) гомологичные последовательности бурого медведя: EU526765–EU526814 (Korsten *et al.*, 2009), AB013040–AB013070 (Matsuhashi *et al.*, 1999), FN292970–FN292982 (Calvignac *et al.*, 2009), X75862–X75866, X75868, X75877, X75878 (Taberlet, Bouvet, 1994), AB010725–AB010728 (Masuda *et al.*, 1998), DQ914292–DQ914294, DQ914296–DQ914298, DQ914308, DQ914330, DQ914409–DQ914410, EF033869–EF033874, EF033893, EF033895 (Miller *et al.*, 2006). В качестве внешней группы при построении филогенетических деревьев использо-

вали размещенные гомологичные последовательности гималайского медведя *Ursus thibetanus* (AB-101525) и американского черного медведя *Ursus americanus* (NC_003426.1).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Длина полученного фрагмента контрольного региона мтДНК составила 763 п.н., однако в ряде случаев успешно амплифицировать удалось только более короткие фрагменты (700 или 571 п.н.). Поэтому при анализе были сформированы две выборки, одна из которых включала в себя 40 последовательностей длиной 763 п.н., а другая – 53 последовательности длиной 571 п.н.

При сравнении двух выборок было обнаружено влияние размера исследуемого фрагмента на показатели генетического разнообразия. Гаплотипическое разнообразие выборки из 40 последовательностей длиной 763 п.н. составило 0.979 ± 0.0125 , нуклеотидное – 0.010 ± 0.0054 ; при укорочении этой же выборки до 570 п.н. эти показатели уменьшились до 0.927 ± 0.026 и 0.004 ± 0.0024 соответственно. Однако при включении в укороченную выборку 13 дополнительных последовательностей значение нуклеотидного разнообразия возросло и составило 0.006 ± 0.0032 . Таким образом, в нашем случае изменение длины исследуемого фрагмента оказывает заметное влияние на показатели генетического разнообразия, при этом нуклеотидное разнообразие сильнее зависит от длины последовательностей, чем гаплотипическое. Соответственно, укорочение фрагментов уменьшает и число выделяемых гаплотипов. По более длинному фрагменту описано 29 гаплотипов, из которых 8 обнаружены в нескольких образцах (2–5), остальные уникальные. При укорочении этой же выборки до 570 п.н. число выделяемых гаплотипов уменьшается до 17, при этом 10 из них представлены более чем одним образцом. Поскольку ряд коротких сиквенсов существенно расширяет региональный охват исследованных образцов, в данной статье в ряде случаев приводятся результаты, полученные для фрагментов разной длины. Включение в выборку более коротких последовательностей дополнительных образцов ($n = 13$) увеличило число описанных гаплотипов до 22. Полученные гаплотипы были депонированы в международную базу данных GenBank (№ KF563082–KF563087, KF545625–KF545643). Значения характеристик генетического разнообразия для нуклеотидных последовательностей разной длины как для общих выборок, так и для отдельных региональных групп приводятся в таблице.

Филогенетические отношения между гаплотипами, выделяемыми на основании анализа фрагмента контрольного региона мтДНК длиной 763 п.н., представлены в виде медианной сети гаплотипов,

Показатели генетического разнообразия бурых медведей исследованных регионов Северо-Восточной Евразии

Показатель	Длина фрагмента, п.н.	Регионы				
		вся выборка	U, Y	T, H, Hm	K, Ch, M	Hk, S, Kun
nh/N*	763	29/40	4/4	13/19	6/7	7/8
	571	22/53	7/11	11/20	4/9	7/10
Общее число замен	763	39	15	11	11	14
	571	22	3	15	3	14
Среднее число замен на сиквенс	763	7.5 ± 3.58	11.2 ± 6.49	5.0 ± 2.56	5.1 ± 2.83	6.0 ± 3.20
	571	7.0 ± 6.96	2.8 ± 1.62	4.5 ± 2.29	2.1 ± 1.27	4.8 ± 2.55
Нуклеотидное разнообразие (π)	763	0.010 ± 0.005	0.008 ± 0.0046	0.008 ± 0.0046	0.006 ± 0.0040	0.009 ± 0.0053
	571	0.006 ± 0.003	0.001 ± 0.001	0.007 ± 0.004	0.002 ± 0.002	0.010 ± 0.006
Гаплотипическое разнообразие (H)	763	0.98 ± 0.012	1.00 ± 0.177	0.94 ± 0.047	0.95 ± 0.096	0.96 ± 0.077
	571	0.93 ± 0.026	0.87 ± 0.089	0.92 ± 0.041	0.75 ± 0.110	0.91 ± 0.077

Примечание. K – Камчатка, U – Свердловская обл., T – Томская обл., H – Хакасия и юг Красноярского края, Hm – Ханты-Мансийская АО, Y – Ямало-Ненецкий АО, HK – Хабаровский край, Ch – Чукотка, M – Магаданская обл., S – Сахалин, Kun – Кунашир. * nh – число гаплотипов, N – число образцов.

длина ветвей которой пропорциональна числу мутаций, а диаметр кругов – числу особей, представляющих данный гаплотип (рис. 2). На ней отсутствуют четко обособленные гаплогруппы, что соответствует слабой выраженности филогеографической структуры. Четыре гаплотипа были общими для особей из различных регионов Евразии: Камчатки и Хабаровского края (HK_4UR), Томской и Магаданской областей (T_7), Хакасии и Свердловской обл., Хакасии (H_335) и европейской части России (H_336). Отдельно следует отметить гаплотип T_12, описанный для медведя из Томской обл., который существенно (на 14–27 п.н.) отличался от всех остальных гаплотипов. Топология филогенетических деревьев гаплотипов, построенных методами NJ и ML, в целом соответствовала структуре медианной сети гаплотипов. Деревья, на которых в качестве внешней группы выступали гомологичные последовательности американского черного и гималайского медведей и было выявлено всего несколько узлов со значением бутстреп-поддержки >50%, в статье не приводятся.

Для более полного анализа филогеографической структуры бурого медведя из Северо-Востока Евразии было проведено сравнение наших данных (n = 53) и гомологичных последовательностей мтДНК *U. arctos* из евразийской части ареала, депонированных в базе данных GenBank, (Korsten *et al.*, 2009, n = 50). Все сравниваемые последовательности были обрезаны до одинаковой длины (570 п.н.). Медианная сеть гаплотипов (рис. 3) в целом показала отсутствие четкого разделения между выборками из Сибири и европейской части России: большинство гаплотипов из Европы и Сибири не формируют отдельных груп-

пировок. Кроме того, были выявлены два гаплотипа, общих для европейской части России, Урала и Сибири. На медианной сети хорошо заметны две звездообразные структуры, центральные гаплотипы которых различаются на один нуклеотид. Один из центральных гаплотипов обнаружен среди образцов из Западной Сибири и о-ва Сахалин, а родственные гаплотипы, формирующие его лучи, – среди образцов с Камчатки и из европейской части России. Второй центральный гаплотип самый распространенный, он описан для медведей из разных частей ареала – европейской части России, Урала, Западной и Центральной Сибири, Камчатки, Чукотки, Магаданской обл. и Хабаровского края.

До сих пор считалось, что медведи с Камчатки генетически относительно своеобразны. В работе Корстена с соавт. (Korsten *et al.*, 2009) был описан только один гаплотип, общий для Камчатки и континента, и два камчатских гаплотипа, близких к континентальным. Этот общий гаплотип был обнаружен и в нашей выборке с Камчатки. Кроме того, один гаплотип, описанный в работе Корстена с соавт. только для Камчатки, был выявлен в нашей выборке из Хабаровского края, а другой, ранее обнаруженный этими авторами в Красноярском крае, был описан нами для медведей с Камчатки. Таким образом, можно предполагать, что при расширении выборки медведей из Евразии будут выявлены и другие гаплотипы, общие для полуострова и континента. Однако существует альтернативная вероятность того, что при увеличении длины исследуемого фрагмента ДНК имеющиеся гаплотипы распадутся на несколько гаплотипов, лучше соответствующих происхождению образцов. Ввиду крайне низкой изученно-

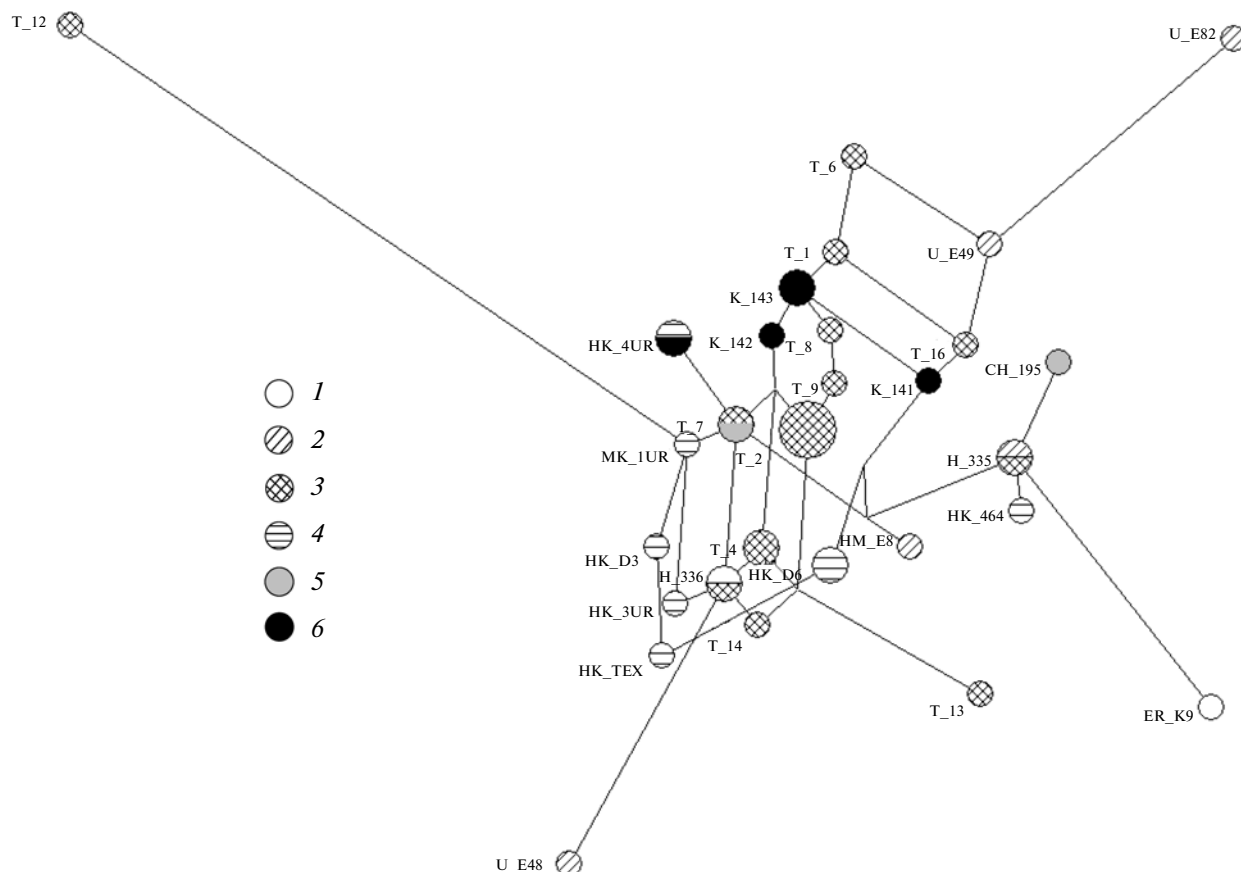


Рис. 2. Медианная сеть гаплотипов контрольного региона мтДНК (763 п.н.) бурых медведей из ряда регионов Северо–Восточной Евразии. Места сбора образцов: 1 – европейская часть России; 2 – Свердловская обл., ХМАО; 3 – Томская обл., Хакасия и Красноярский край; 4 – Хабаровский край; 5 – Чукотка и Магаданская обл.; 6 – Камчатка. Буквы (см. рис. 1) и цифры – гаплотипы.

сти бурого медведя из северо-восточной материковой части Евразии предположим, что расширение выборки поможет выявить более четкие филогеографические закономерности. Большинство описанных нами гаплотипов относились к наиболее широко распространенной третьей мировой кладе, кластеру За.

На медианной сети (рис. 3) обращают на себя внимание гаплотипы T_12 (Томская обл.), Kun (о-в Кунашир) и H_337 (юг Красноярского края), формирующие отдельную митохондриальную линию, существенно дистанцированную от остальных гаплотипов бурых медведей материковой Евразии. Филогенетические деревья не приводятся, так как в предыдущем случае не показали значимых статистических поддержек большинства узлов ветвления, за исключением высокой (>80%) бутстреп-поддержки обособления группы, объединяющей эти гаплотипы. В ходе сравнения наших данных с данными Корстена с соавт. (Korsten *et al.*, 2009) среди медведей Евразии не было выявлено гаплотипов, близких к полученным нами гаплотипам T_12, Kun и H_337. Для

установления генетического сходства этих гаплотипов было проведено сравнение наших данных с размещенными в GenBank дополнительными гомологичными последовательностями бурого медведя из различных частей ареала. Приведенное на рис. 4 дерево гаплотипов показывает, что выявленные в настоящей работе гаплотипы T_12, H_337 и Kun, далекие от основной евразийской группы, оказались родственными гаплогруппе, ранее описанной для бурых медведей о-ва Хоккайдо (Matsuhashi *et al.*, 1999). В данной работе среди медведей с о-ва Хоккайдо были выявлены три значительно различающиеся гаплогруппы, одна из которых (группа А, Центральный Хоккайдо) входит в состав общемировой клады За, широко распространенной на территории Евразии, вторая (группа В, Восточный Хоккайдо) близка к гаплогруппе, встречающейся в восточной части Аляски, а третья (группа С, Южный Хоккайдо) родственна гаплогруппе, описанной для медведей центральных частей Северной Америки (Miller *et al.*, 2006; Korsten *et al.*, 2009). На рис. 4 видно, что описанные нами гаплотипы оказались близки к выявленной на Восточном Хок-

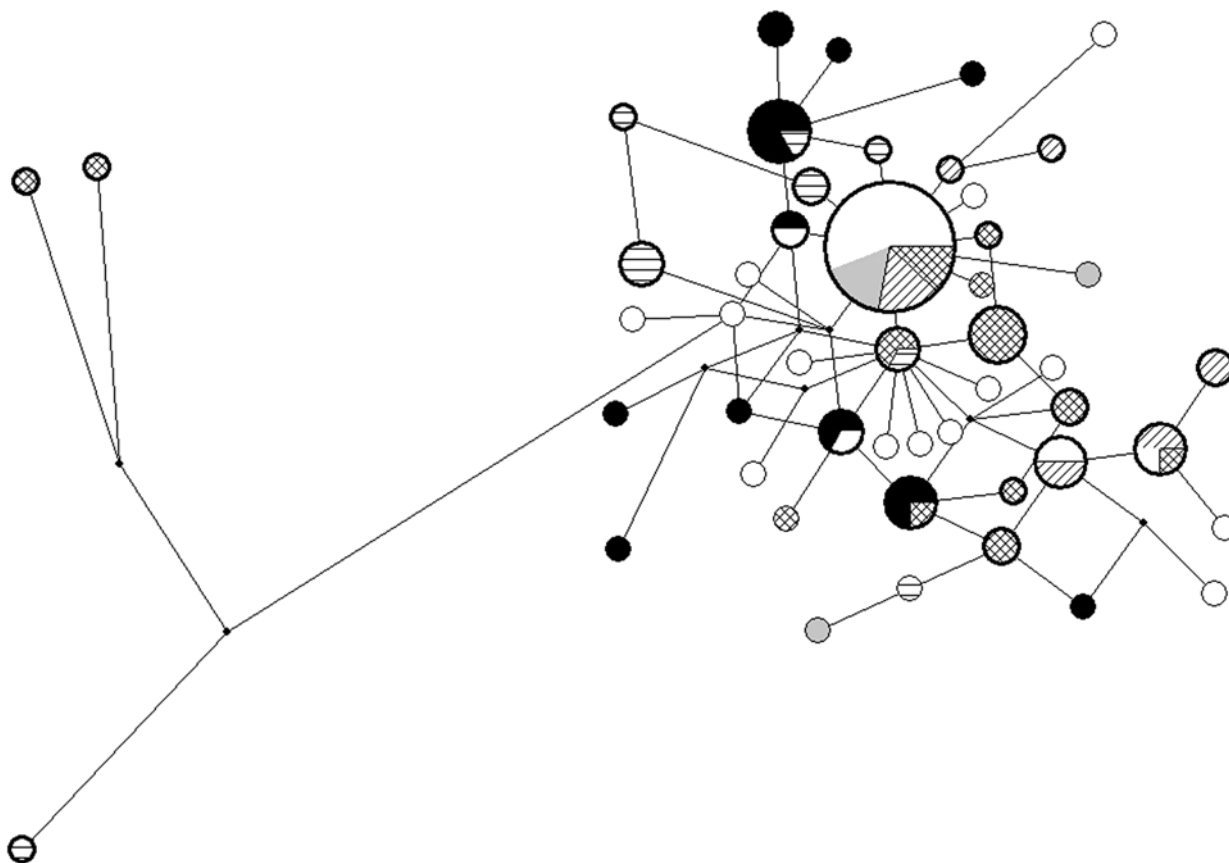


Рис. 3. Медианная сеть гаплотипов контрольного региона мтДНК (570 п.н.) бурых медведей из разных частей Евразии. Места сбора образцов (см. рис. 2). Гаплотипы, полученные в настоящем исследовании, обведены черным.

кайдо группе В, не встреченной до этого на материковой части Евразии. Поскольку при выравнивании всех имеющихся на настоящий момент в базе GenBank последовательностей длина общего фрагмента составила всего 230 п.н., был проведен дополнительный анализ более длинного фрагмента отдельно для наших данных и данных Матсухашаи с соавт. (Matsuhashi *et al.*, 1999). В анализ были включены только последовательности длиной 700 и 763 п.н. (47 последовательностей); длина общего фрагмента составила 680 п.н. Результаты данного анализа приведены в виде медианной сети гаплотипов, на которой четко видно сходство гаплотипов T_12, H_337 и Kun и Восточного Хоккайдо (рис. 5). Обычно эту группу гаплотипов относят к кластеру 3b (Korsten *et al.*, 2009).

Это родство также подтверждается значениями генетических дистанций: генетическое расстояние между гаплотипами T_12, Kun и H_337 и гаплогруппой Восточного Хоккайдо составляет $0.51 \pm 0.26\%$ при внутригрупповом разнообразии гаплогруппы В $0.2 \pm 0.14\%$, в то время как между этими же гаплотипами и основной сибирско-европейской гаплогруппой генетическое расстояние составляет $2.67 \pm 1.26\%$ при внутригрупповом

разнообразии $0.16 \pm 0.09\%$. Интересно, что в работе по определению изменчивости более консервативного участка мтДНК-гена цитохрома *b* у медведей Сихотэ-Алиня (Дальний Восток России) также были выявлены гаплотипы, родственные гаплотипам японских медведей, относящихся к этому же кластеру (3b) (Гуськов и др., 2012). Эти данные свидетельствуют о наличии достаточно большого числа носителей “японских” митохондриальных гаплотипов кластера 3b в составе сибирской и приморской популяций бурого медведя. В статье, основанной на анализе полного митохондриального генома бурых медведей с о-ва Хоккайдо и ряда образцов из других частей ареала (Hirata *et al.*, 2013) также показано, что медведи с островов Кунашир и Итуруп близки к медведям Восточного Хоккайдо. Однако для материковой части Евразии не было описано ни одного гаплотипа, сходного с восточной гаплогруппой с о-ва Хоккайдо. Это может объясняться как недостаточностью исследованной выборки, так и различием в частотах встречаемости гаплотипов в разных регионах.

Обнаружение на территории Северо-Восточной России материнских линий бурого медведя, значительно отличающихся от основной группи-

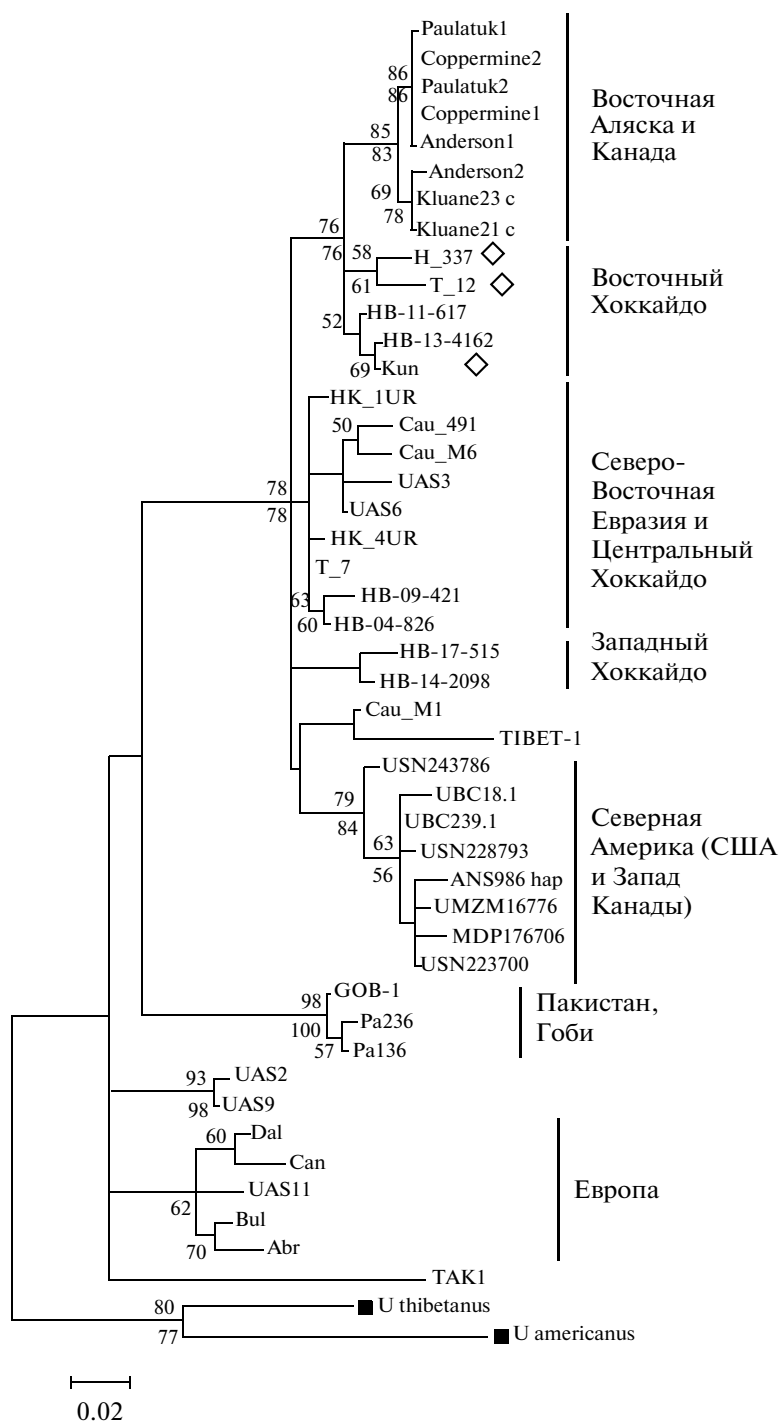


Рис. 4. Филогенетическое (ML) древо гаплотипов контрольного региона мтДНК (230 п.н.) бурых медведей из разных частей мирового ареала. В узлах дерева показаны значения бутстреп-поддержки (1500 повторов): под узлом – для древа ML, над узлом – для древа NJ, значения >50% не показаны. ◇ – гаплотипы T_12, Kun, H_337.

ровки и близких к линиям медведей Хоккайдо, может иметь различные объяснения. С одной стороны, подобная гетерогенность может быть унаследована современными медведями от предковой популяции, реколонизировавшей территории Сибири после последнего оледенения. С

другой стороны, это может свидетельствовать о наличии одного или нескольких альтернативных плейстоценовых рефугиумов. В статье Хираты с соавт. предположено происхождение медведей с островов Итуруп и Кунашир от медведей о-ва Хоккайдо, мигрировавших через сухопутный мост

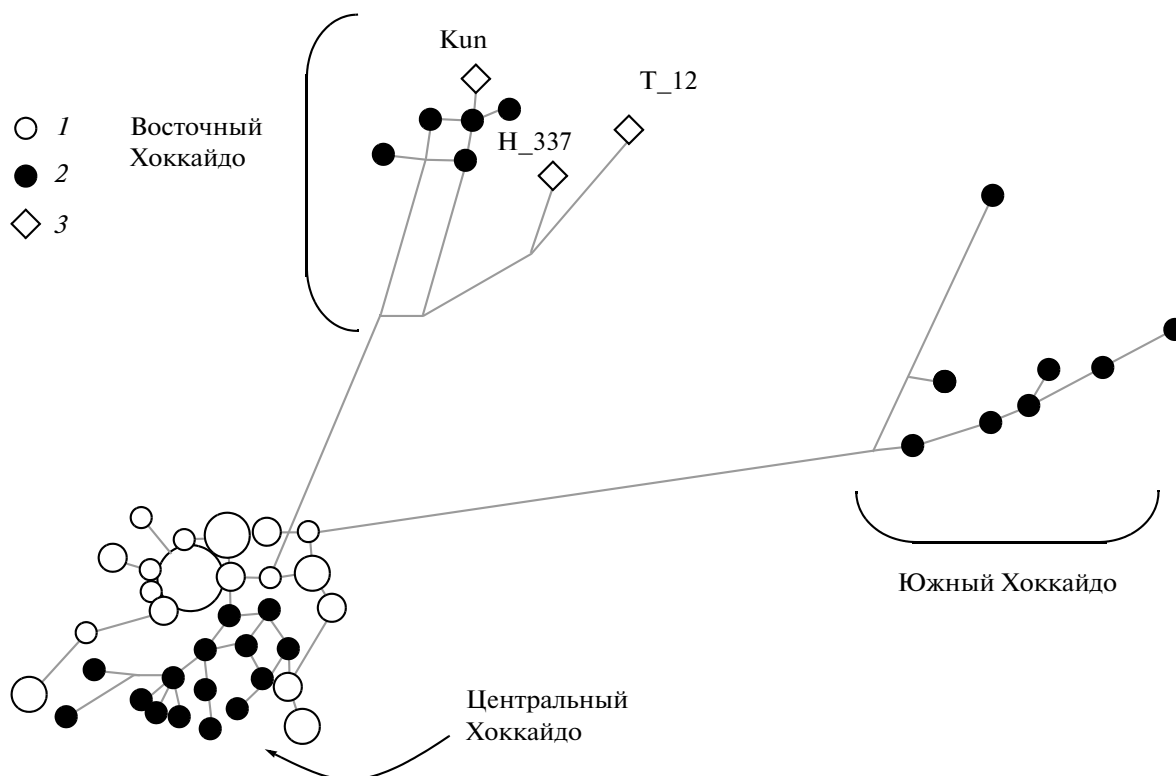


Рис. 5. Медианная сеть гаплотипов фрагмента контрольного региона мтДНК (681 п.н.) бурых медведей Северо-Восточной Евразии и о. Хоккайдо. Места сбора образцов: 1 – Северо-Восточная Евразия; 2 – Хоккайдо; 3 – гаплотипы T_12, Kun, H_337.

(Hirata *et al.*, 2013). Однако приведенная на рис. 5 медианная сеть гаплотипов не позволяет исключить вероятность различного происхождения зверей, несущих “японские” линии на Курильских о-вах и на материке, поскольку они имеют различную степень родства с медведями Восточного Хоккайдо.

Необходимо отметить, что в составе как современной, так и исторической популяции бурого медведя из Европы не было выявлено гаплотипов, близких к гаплогруппе Хоккайдо В или к близкородственной ей гаплогруппе, выявленной среди медведей Аляски (Taberlet, Bouvet, 1994; Kohn, Knauer, 1998; Waits *et al.*, 2000; Valdiosera *et al.*, 2008; Calvignac *et al.*, 2009; Korsten *et al.*, 2009; Murtskhvaladze *et al.*, 2010). Это позволяет с большой долей уверенности отказаться от варианта развития событий, при котором последняя волна колонизации Зауралья европейскими медведями уже несла в себе особей с “японскими” гаплотипами. Более вероятным представляется сценарий существования на территории Северо-Восточной Азии одного или нескольких альтернативных рефугиумов.

Предполагается, что колонизация медведями о-ва Хоккайдо происходила в два или три этапа, причем каждая волна колонизации приносила на

остров особей, принадлежащих к новой генетической группировке (Davison *et al.*, 2011). Вероятно, волны колонизации Хоккайдо могли коррелировать с аналогичными волнами колонизации медведем Северной Америки через Берингов прол. В составе одного или нескольких гипотетических азиатских рефугиумов могли сохраниться потомки зверей, входивших в состав более ранних волн колонизации Северной Америки и о-ва Хоккайдо. Предположения о существовании подобного рефугиума выдвигались и раньше (Korsten *et al.*, 2009; Davison *et al.*, 2011), однако ввиду крайне низкой изученности сибирской популяции медведя они имели гипотетический характер. Исследования палеоклимата показывают, что в отличие от Европы, где во время последнего оледенения ледник закрывал значительную часть суши, восточнее Урала ледниковый щит занимал только северные территории, при этом на большей части региона были расположены приледниковые степи и тундра, а в юго-восточной части современной России – также и лиственные леса (Hewitt, 2000; Kuzmin, 2008). Предположение о существовании плейстоценовых рефугиумов, пригодных для обитания бурых медведей на территории Южной Сибири или Приморья во время последнего ледникового максимума, поддерживается и палеонтологическими данными. Останки бурых мед-

ведей, возраст которых составлял 18–20 тыс. лет, были обнаружены в верховьях Енисея и в Забайкалье (Kuzmin, 2008). В Томском Приобье ископаемые бурые медведи известны начиная с эпохи среднего неоплейстоцена до голоцена (Шпанский, Черноус, 2012а, б). При этом во время последнего ледникового максимума в позднем неоплейстоцене в отличие от смежных областей на данной территории, вероятно, преобладали лесотундровые ландшафты, служившие рефугиумом не только для бурого медведя, но и для целого ряда других лесных видов – лося *Alces alces* L., россомахи *Gulo gulo* L., бобра *Castor fiber* L., барсука *Martes sp.* (Шпанский, 2000).

Таким образом, появилась возможность с большей уверенностью предполагать существование одного или нескольких ледниковых рефугиумов на палеоарктической части Евразии, однако определить их местонахождение с помощью полученных результатов не удастся. Решение этого вопроса требует дальнейшего исследования генетического разнообразия медведей, обитающих восточнее Уральского хребта, и, вероятно, привлечения палеонтологических данных.

Авторы благодарны О.А. Шпак, С.А. Тишкевичу, Д. Н. Бондарь, Г.И. Гончаровой, А.А. Данилкину, Н.П. Кораблеву, В.В. Рожнову, А.Б. Савиенцкому, О.А. Крылович, Е.Е. Сыроечковскому, Ф.В. Казанскому, А.В. Малеву, А.М. Адаму, Д.О. Замятину и другим коллегам, предоставившим образцы для генетических исследований, а также коллективам Зоологического музея МГУ и Музея ИЭРиЖ УрОРАН за помощь в организации работы с коллекциями.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты 10-04-01351а и мол_рф_нр 12-04-90837) и подпрограммы “Динамика и сохранение генофондов” Программы фундаментальных исследований Президиума РАН “Живая природа: современное состояние и проблемы развития”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Барышников Г.Ф. Семейство Медвежьи (Carnivora, Ursidae). Фауна России и сопредельных стран. Млекопитающие. Т. 1. Вып. 5. СПб.: Наука, 2007. С. 338–375.
- Гептнер В.Г., Наумов Н.П., Юргенсон П.Б. и др. Млекопитающие Советского Союза. Т. 2. Ч. 1. Морские коровы и хищные / Под ред. Гептнера В.Г., Наумова Н.П. М.: Высш. шк., 1967. С. 397–478.
- Гуськов В.Ю., Шереметьева И.Н., Крюков А.П. Молекулярно-генетические особенности бурого медведя *Ursus arctos* Linnaeus, 1758 Сихотэ-Алиня // Матер. междунар. мол. конф. “Генетика животных и растений – фундаментальные проблемы и современные экспериментальные подходы”. (Томск, 24–27 сентября 2012). Томск, 2012. С. 38–44.
- Рожнов В.В., Мещерский И.Г., Пищулина С.Л., Симакин Л.В. Генетический анализ популяций соболя (*Martes zibellina*) и лесной куницы (*M. martes*) в районах совместного обитания на Северном Урале // Генетика. 2010. Т. 46. № 4. С. 553–557.
- Шпанский А.В. Копытные средне-позднего плейстоцена юго-востока Западно-Сибирской равнины (стратиграфическое значение, палеоэкология и палеозоогеография): Автореф. дис. канд. геол.-мин. наук. Томск: Томск. ун-т, 2000. 28 с.
- Шпанский А.В., Черноус А.В. Ископаемые медведи (Carnivora, Ursidae) из месторождения Красный Яр (Кривошеинский район, Томская область). 1. Краниальные остатки // Вестн. Томск. ун-та. 2012а. № 358. С. 232–238.
- Шпанский А.В., Черноус А.В. Ископаемые медведи (Carnivora, Ursidae) из месторождения Красный Яр (Кривошеинский район, Томская область). 2. Посткраниальные остатки и вопросы палеоэкологии // Вестн. Томск. ун-та. 2012б. № 362. С. 197–202.
- Bandelt H.J., Forster P., Rohl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // Mol. Biol. Evol. 1999. V. 16. № 1. P. 37–48.
- Calvignac S., Hughes S., Hänni C. Genetic diversity of endangered brown bear (*Ursus arctos*) populations at the crossroads of Europe, Asia and Africa // Diversity Distrib. 2009. V. 15. P. 742–750.
- Calvignac S., Hughes S., Tougaard C. et al. Ancient DNA evidence for the loss of a highly divergent brown bear clade during historical times // Mol. Ecol. 2008. V. 17. P. 1962–1970.
- Davison J., Ho S.Y.W., Bray S.C. et al. Late-Quaternary biogeographic scenarios for the brown bear (*Ursus arctos*), a wild mammal model species // Quaternary Sci. Rev. 2011. V. 30. P. 418–430.
- 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. Res. 2010. V. 1. P. 564–567.
- Hall T.A. Biolign alignment and multiple contig editor. 2001. <http://en.bio-soft.net/dna/BioLign.html>.
- Hewitt G. The genetic legacy of the Quaternary ice ages // Nature. 2000. V. 405. P. 907–913.
- Hirata D., Mano T., Abramov A.V. et al. Molecular phylogeography of the Brown bear (*Ursus arctos*) in North-eastern Asia based on analyses of complete mitochondrial DNA sequences // Mol. Biol. Evol. 2013. V. 30. № 7. P. 1644–1652.
- Kohn M.H., Knauer F. Phylogeography of brown bears in Europe and excremental PCR – the new tool in the genetic analysis of animal in the wild // Ursus. 1998. V. 10. P. 315–321.
- Korsten M., Ho S.Y.W., Davison J. et al. Sudden expansion of a single brown bear maternal lineage across northern continental Eurasia after the last ice age: a general demographic model for mammals? // Mol. Ecol. 2009. V. 18. P. 1963–1979.
- Kuzmin Y.V. Siberia at the last glacial maximum: environment and archaeology // Archaeol. Res. 2008. V. 16. P. 163–221.

- Leonard J.A., Wayne R.K., Cooper A. Population genetics of Ice Age brown bears // Proc. Nat. Acad. Sci. Am. 2000. V. 97. P. 1651–1654.
- Masuda R., Murata K., Aiurzaniin A., Yoshida M.C. Phylogenetic status of brown bears *Ursus arctos* of Asia: A preliminary result inferred from mitochondrial DNA control region sequences // Hereditas. 1998. V. 128. P. 277–280.
- Matsuhashi T., Masuda R., Mano T., Yoshida M.C. Microevolution of the mitochondrial DNA control region in the Japanese brown bear (*Ursus arctos*) population // Mol. Biol. Evol. 1999. V. 16. P. 676–684.
- Miller C.R., Waits L.P., Joyce P. Phylogeography and mitochondrial diversity of extirpated brown bear (*Ursus arctos*) populations in the contiguous United States and Mexico // Mol. Ecol. 2006. V. 15. P. 4477–4485.
- Murtskhvaladze M., Gavashelishvili A., Tarkhishvili D. Geographic and genetic boundaries of brown bear (*Ursus arctos*) population in the Caucasus // Mol. Ecol. 2010. V. 19. P. 1829–1841.
- Rohland N., Hofreiter M. Comparison and optimization of ancient DNA extraction // BioTechniques. 2007. V. 42. № 3. P. 343–352.
- Servheen C. The status and conservation of the bears of the world // Int. Conf. Bear Res. Management Monograph. 1990. Ser. № 2. P. 11–20.
- Taberlet P., Bouvet J. Mitochondrial DNA polymorphism, phylogeography, and conservation genetics of the brown bear *Ursus arctos* in Europe // Proc. Roy. Soc. L. Ser. B-Biol. Sci. 1994. V. 255. P. 195–200.
- Taberlet P., Camarra J.J., Griffin S. et al. Noninvasive genetic tracking of the endangered Pyrenean brown bear population // Mol. Ecol. V. 6. P. 869–876.
- Taberlet P., Fumagalli L., Wust-Saucy A.G., Cosson J.F. Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe // Mol. Ecol. 1998. V. 7. P. 453–464.
- Tamura K., Peterson D., Peterson N. et al. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods // Mol. Biol. Evol. 2011. V. 28. № 10. P. 2731–2739
- Valdiosera C., Garcia-Garitagoitia J.L., Garcia N. et al. Surprising migration and population size dynamics in ancient Iberian brown bears (*Ursus arctos*) // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2008. V. 105. P. 5123–5128.
- Waits L., Taberlet P., Swenson J.E. et al. Nuclear DNA microsatellite analysis of genetic diversity and gene flow in the Scandinavian brown bear (*Ursus arctos*) // Mol. Ecol. 2000. V. 9. P. 421–431.
- Willerslev E., Cooper A. Review Paper. Ancient DNA // Proc. R. Soc. B. 2005. V. 272. P. 3–16.
- Yang D.Y., Eng B., Wayne J.S. et al. Technical Note: Improved DNA Extraction From Ancient Bones Using Silica-Based Spin Columns // Am. J. Phys. Anthropol. 1998. V. 105. P. 539–543.

New Data on the Phylogeography and Genetic Diversity of the Brown Bear *Ursus arctos* Linnaeus, 1758 of Northeastern Eurasia (mtDNA Control Region Polymorphism Analysis)

V. V. Salomashkina^a, M. V. Kholodova^a, O. Yu. Tuten'kov^b, N. S. Moskvitina^b, and N. G. Erokhin^c

^a Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, pr. Leninskii 33, Moscow, 119071 Russia

^b Tomsk State National Research University, pr. Lenina 36, Tomsk, 634050 Russia

^c Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences,
ul. 8 Marta 202, Yekaterinburg, 620144 Russia

e-mail: v-salomash@yandex.ru

An analysis of polymorphism of the fragment of the control region of mitochondrial DNA of 53 tissue samples of the brown bear *Ursus arctos* from several regions of the eastern part of Russia was carried out. It was found that most of the described haplotypes belong to cluster 3a, the most common in Eurasia, and do not form regionally specific haplogroups. However, among the bears from Western and Eastern Siberia, as well as the island of Kunashir, three haplotypes were identified, which are close to the haplogroup typical of Eastern Hokkaido bears. The assumption was made of the existence in Siberia and the Far East of one or more Pleistocene refugia.