

УДК 575.22:599.735.3

РОЛЬ УРАЛА В ФОРМИРОВАНИИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ЕВРОПЕЙСКОГО ПОДВИДА ЛОСЯ (*Alces alces alces*)

© 2014 г. М. В. Холодова*, ***, Н. С. Корягин**, В. Н. Большаков**

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

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

***Томский государственный университет,
634050 Томск, просп. Ленина, 36
E-mail: mvkholod@mail.ru

Поступила в редакцию 11.03.2014 г.

На основании анализа полиморфизма контрольного региона митохондриальной ДНК дана оценка генетического разнообразия уральских лосей и определена роль Урала в формировании филогеографической структуры европейского лося. Для лосей Урала отмечено низкое нуклеотидное и достаточно высокое гаплотипическое разнообразие. Установлено, что в гаплотипическом составе одновременно проявляется как своеобразие митохондриальных линий лосей Урала, так и их связь с представителями *Alces alces alces*, обитающими в европейской части ареала и в Западной Сибири. Структура медианных сетей, территориальное распределение гаплотипов подтверждают предположение о существовании на Урале позднеплейстоценового рефугиума, в котором были сформированы митохондриальные линии, характерные для этой части ареала европейского подвида лося.

DOI: 10.7868/S0002332914060058

Современный уровень генетического разнообразия и особенности филогеографической структуры одновременно являются результатом и отражением эволюционной истории видов, включая динамику популяций, фрагментацию и расширение ареала, процессы расселения и вымирания части видового населения и т.п. (Awise *et al.*, 1987; Awise, 2000; Burbink, 2010). Анализ данных по полиморфизму молекулярных маркеров (ДНК) в определенной степени может пролить свет на важнейшие события прошлого, выявить наиболее значимые для демографической истории популяций и видов экологические факторы (Hewitt, 1996, 2000, 2004; Awise *et al.*, 1998; Taberlet *et al.*, 1998). Кроме того, результаты подобных исследований дают дополнительную информацию для развития знаний в области исторической экологии.

Лось (*Alces alces*) – широкоареальный представитель крупных копытных Голарктики, обитающий в лесных и сопредельных с ними экосистемах Евразии и Северной Америки. Систематика лося, несмотря на большое число публикаций, до сих пор остается предметом для обсуждения. Различия в морфологии, числе хромосом дают основание выделять внутри вида (рода) две формы – европейскую ($2n = 68$) и американскую или американо-сибирскую ($2n = 70$), придавая этим формам различный таксономический статус – видов (Боевский, 2001), рас, полувидов, подвидовых

групп и т.п. (Флеров, 1952; Соколов, 1959; Гептнер и др., 1961; Филонов, 1983; Данилкин, 1999; Рожков и др., 2009). Большинство систематиков придерживаются мнения о монотипичности рода *Alces*. Генетические исследования также поддерживают эту точку зрения (Hundertmark *et al.*, 2002a, b; Hundertmark, Bowyer, 2004). В отличие от лосей, обитающих на территории Дальнего Востока, Восточной Сибири и Северной Америки, у которых выделяют по несколько подвидов, лоси, населяющие Европу, Урал и Западную Сибирь до Енисея, всеми авторами всегда рассматривались в качестве единого таксона независимо от того, какой статус ему придавали. Обычно лосей, обитающих в данной части ареала, относят к европейскому подвиду *A. a. alces* (Данилкин, 1999).

Генетическая изменчивость и филогеография лося достаточно давно привлекали внимание исследователей, однако степень изученности популяций из разных частей ареала различна. В большинстве работ исследовалось генетическое разнообразие лосей, населяющих разные части Северной Америки (Hundertmark *et al.*, 2003; Wilson *et al.*, 2003; Schmidt *et al.*, 2009). Данные, основанные на сравнительно небольших выборках, характеризуют лося восточной части Евразии (Удина и др., 2002; Hundertmark *et al.*, 2002a, b). К настоящему времени исследованиями генетического разнообразия охвачены лоси из разных ча-

Таблица 1. Распределение гаплотипов контрольного региона мтДНК среди лосей Урала

Гаплотип	Число образцов			№ в Gen-Bank
	Свердловская обл. (n = 49)	Пермская обл. (n = 45)	Челябинская обл. (n = 2)	
12-SV	16	16	0	KJ960200
3-SV	12	15	0	KJ960199
14-SV	11	5	0	KJ960201
28-SV	3	0	0	KJ960202
150-SV	3	0	1	KJ960203
326-P	0	4	0	KJ960204
11-SV	1	0	0	KJ960205
VP3-P	0	1	0	KJ960207
80-SV	1	0	0	KJ960206
64-SV	1	0	0	KJ960208
ZL1	0	0	1	KJ960209
560-P	0	1	0	KJ960210
408-P	0	1	0	KJ960211
527-P	0	1	0	KJ960212
LAC-SV	1	0	0	KJ960213
LP4-P	0	1	0	KJ960214

стей ареала *A. a. alces*: Скандинавии, Польши, европейской части России и Западной Сибири (Mikko, Andersson, 1995; Удина и др., 2002; Hundertmark *et al.*, 2002a, b; Холодова и др., 2005, 2008; Charlier *et al.*, 2008; S'wisłocka *et al.*, 2008, 2013; Москвитина и др., 2011; Naanes *et al.*, 2011; Kangas *et al.*, 2013). В то же время практически не изученной остается центральная часть подвидового ареала – Урал. Получение данных о структуре и уровне генетического разнообразия популяции лосей этого региона имеет ключевое значение для понимания закономерностей формирования филогеографической структуры европейского лося. Большая часть исследований генетического разнообразия и филогеографии лося основана на анализе полиморфизма наиболее изменчивого фрагмента митохондриального генома парнокопытных – контрольного региона (D-петли мтДНК).

Цель работы – на основании анализа полиморфизма контрольного региона мтДНК оценить генетическое разнообразие уральских лосей и определить роль Урала в формировании филогеографической структуры европейского лося.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проанализировано 96 образцов уральских лосей. Материал представлен выборкой зубов (n = 71) и заспиртованных кусочков мышц (n = 25)

лосей, добытых в Свердловской (n = 49), Пермской (n = 45) и Челябинской (n = 2) областях с 1996 г. по 2012 г. (табл. 1).

ДНК выделяли из крошки зубной ткани, выверленной из срединной части резца, с использованием набора MiniElute PCR Purification Kit (Qiagen, США) по методике Янга с соавт. (Yang *et al.*, 1998) с некоторыми изменениями, а также из мышц с помощью набора DNA DiatomPrep 100 (Изоген, Россия) по прописи производителя.

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили в 20 мкл смеси с использованием набора реагентов Master Mix X5 и полимеразы SmarTaq (Диалат, Россия) и праймеров LmPro (L15766, 5'-GCCATCAACTCCCAAGCT-3') и TDKD (H00074, 5'-CTGAAGTAGGAACCAGATG-3'), разработанных для амплификации фрагмента контрольного региона мтДНК (левый домен) лося, в режиме, описанном ранее (Mikko, Andersson, 1995; Удина и др., 2002).

Выделение ДНК и приготовление смеси для ПЦР проводили в боксах, предварительно обрабатываемых реагентом DNA-Erase™ (MP Bio-medicals, США) при ультрафиолетовом излучении. При выделении и амплификации ДНК постоянно проводился контроль за возможностью загрязнения с использованием пробирок бланк-контроля (ДНК заменяли ddH₂O). Все контрольные пробы были отрицательными.

Определение нуклеотидных последовательностей (секвенирование) очищенного ПЦР-продукта проводили на автоматическом генном анализаторе AB 3130 (Applied Biosystems, США) с набором реагентов BigDye Terminator kit v.3.1. (Applied Biosystems) с прямым и обратным праймерами, использованными при проведении ПЦР.

Полученные последовательности ДНК выравнивали вручную с помощью программы Bioedit (Hall, 1999). Статистическую обработку результатов, построение дендрограмм и сети гаплотипов проводили с помощью программ MEGA 5 (Tamura *et al.*, 2011), Network 4.6.1. (Bandelt *et al.*, 1999) и Arlequin 3.5 (Excoffier, Lischer, 2010). Для сравнительного анализа использовали последовательности контрольного региона мтДНК лося из разных районов европейской части России, включая полученные нами ранее (Холодова и др., 2005; Рожков и др., 2009) и новые, описанные в ходе выполнения данной работы (всего 108 последовательностей), а также данные других авторов из международной компьютерной базы GenBank (ncbi).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для 96 образцов уральских лосей получены нуклеотидные последовательности контрольного региона (D-петли) мтДНК длиной 464 п. н. В составе исследованного фрагмента мтДНК доля ци-

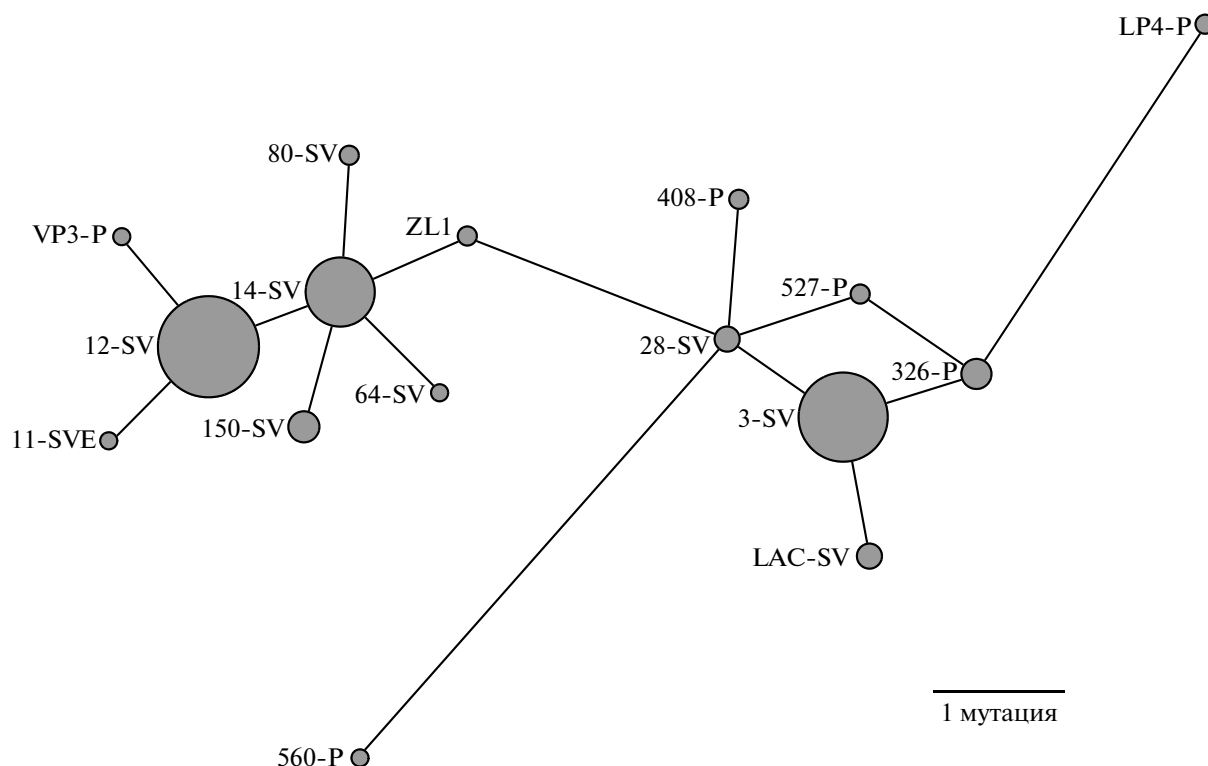


Рис. 1. Медианная сеть гаплотипов контрольного региона мтДНК (464 п. н.) лосей Урала. Диаметры кружков пропорциональны числу образцов с данным гаплотипом, длины ветвей — числу мутаций между ними; для рис. 1 и 3.

тозина в среднем составляет 19.37, тимина — 33, аденина — 36.68, гуанина — 10.96%. При выравнивании последовательностей обнаружено 18 замен (16 транзиций и 2 трансверсии). Описано 16 гаплотипов, номера нуклеотидных последовательностей которых зарегистрированы в базе данных GenBank (KJ960199–KJ960214). Различия между гаплотипами уральских лосей составили от 1 до 11 п. н. Шесть гаплотипов описаны для нескольких образцов (от 2 до 32), остальные уникальны (табл. 1). Три наиболее широко распространенных среди лосей Урала гаплотипа (12-SV, 3-SV и 14-SV) выявлены в 78.1% всех исследованных образцов (табл. 1).

Филогенетические отношения между гаплотипами уральских лосей приводятся на медианной сети гаплотипов (рис. 1). Медианная сеть гаплотипов уральских лосей характеризуется наличием нескольких тесно связанных между собой звездообразных структур. Звездообразные структуры в филогеографических паттернах обычно отражают факты длительной исторической изоляции относительно небольших групп животных (Avice, 2000). В результате дрейфа генов в малочисленной популяции один из гаплотипов становится доминирующим, а при достаточно длительной изоляции в результате накопления мутаций формируются новые гаплотипы, производные от основного. Среди лосей Урала выделяются две пары звездообразных структур, центральные позиции в

которых занимают в основном наиболее распространенные в исследованной выборке гаплотипы (12-SV–14-SV и 28-SV–3-SV, расстояние между которыми составило четыре мутации). Центральные гаплотипы внутри каждой пары звездообразных структур разделяет всего одна мутация. На NJ-дереве гаплотипы, входящие в состав звездообразных структур 12-SV и 14-SV, достоверно объединяются в отдельную группу (рис. 2). Топологии сети гаплотипов и NJ-деревя отражают неоднородность гаплотипического состава уральских лосей, позволяя предположить, что современный генофонд лосей Урала сформировался в результате объединения нескольких ранее изолированных популяций, отличающихся исходной невысокой эффективной численностью, обусловленной малым числом животных-основателей или прохождением популяции через длительное демографическое “горлышко бутылки”.

Генетическая дистанция (p-distance) между гаплогруппой с центральными гаплотипами 12-SV и 14-SV и остальными гаплотипами уральских лосей составила 1.07%. Для лося до сих пор нет данных о скорости накопления мутаций в исследованном фрагменте мтДНК. Поэтому для расчета периода разделения гаплогрупп у этого вида обычно используют сведения о скорости дивергенции, полученные для европейских зубров (Burzin'ska *et al.*, 1999) и домашнего скота (Bradley

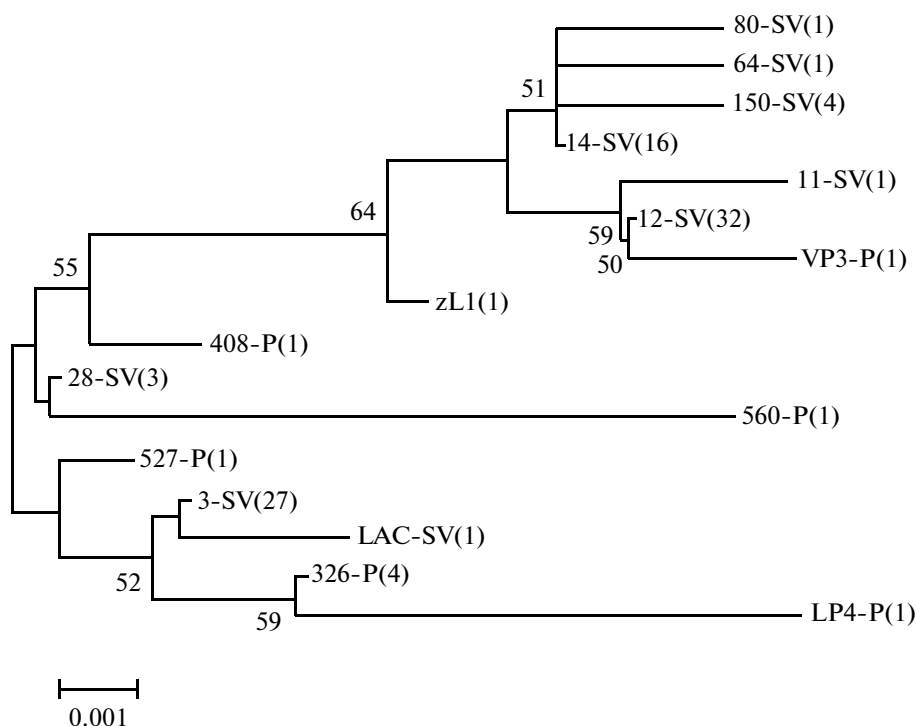


Рис. 2. Дерево ближайшего связывания (NJ), построенное для гаплотипов контрольного региона мтДНК (464 п. н.) уральских лосей с использованием модели Тамуры–Нея. В узлах ветвления – значения бутстреп-поддержки (500 повторов).

et al., 1996) и составляющие соответственно 78.5 и 62.8% за 1 млн лет (Hundertmark *et al.*, 2002a; S'wisłocka *et al.*, 2013). Расчеты, основанные на этих коэффициентах, показали, что дивергенция между гаплогруппами уральских лосей могла происходить примерно в промежутке от 13600 до 17000 лет. Несмотря на то что эти числа приблизительные, в целом они указывают на период конца плейстоцена, относящийся к последнему оледенению.

Отсутствие данных до сих пор не позволяло прояснить роль Урала в формировании филогеографической структуры европейского подвида лося, установить степень уникальности и родства митотипического состава лосей этого региона с представителями *A. a. alces* из других частей ареала. Для решения этой проблемы мы провели анализ, объединив две сходные по размеру достаточно объемные выборки образцов лосей Урала и европейской части России. Филогенетические отношения между гаплотипами мтДНК лосей Урала и европейской части России приводятся на объединенной сети гаплотипов (рис. 3).

С одной стороны, структура объединенной сети гаплотипов отражает тесную связь лосей Урала и европейской части России. На ней видно, что два наиболее распространенных гаплотипа (12-SV и 3-SV) – центральные в звездообразных структурах сети гаплотипов лосей Урала, также

доминируют в выборке европейских лосей и в объединенной выборке. Идентичные гаплотипы были ранее описаны для лосей из европейской части России (L2 и L1, номера в GenBank KC958905 и KC958904), Финляндии (Finland4 и Finland3 – AF412234 и AF412233) и северо-восточной части Польши (EU257856, EU257857, EU257848, EU257849) (Hundertmark *et al.*, 2002; Холодова и др., 2005; S'wisłocka *et al.*, 2008). Менее распространенный гаплотип 28-SV, также занимающий одно из центральных положений на медианной сети уральских гаплотипов, был встречен в образцах лося из европейской части России (L42, KC958910).

С другой стороны, проявляется и своеобразие гаплотипического состава мтДНК лосей Урала. На Урале выявлено 13 гаплотипов, не обнаруженных в европейской части ареала. Из них гаплотип 14-SV описан для 16 образцов, 150-SV – для трех, остальные гаплотипы в исследованной выборке встречены только в единичных образцах уральских лосей. Таким образом, большая часть гаплотипов контрольного региона мтДНК лосей Урала по сравнению с таковыми из европейской части ареала представлена уникальными последовательностями нуклеотидов, характерными для этого региона. Необходимо отметить, что один из уральских гаплотипов (14-SV) идентичен гаплотипу L93WS (номер в GenBank KJ941196), ранее

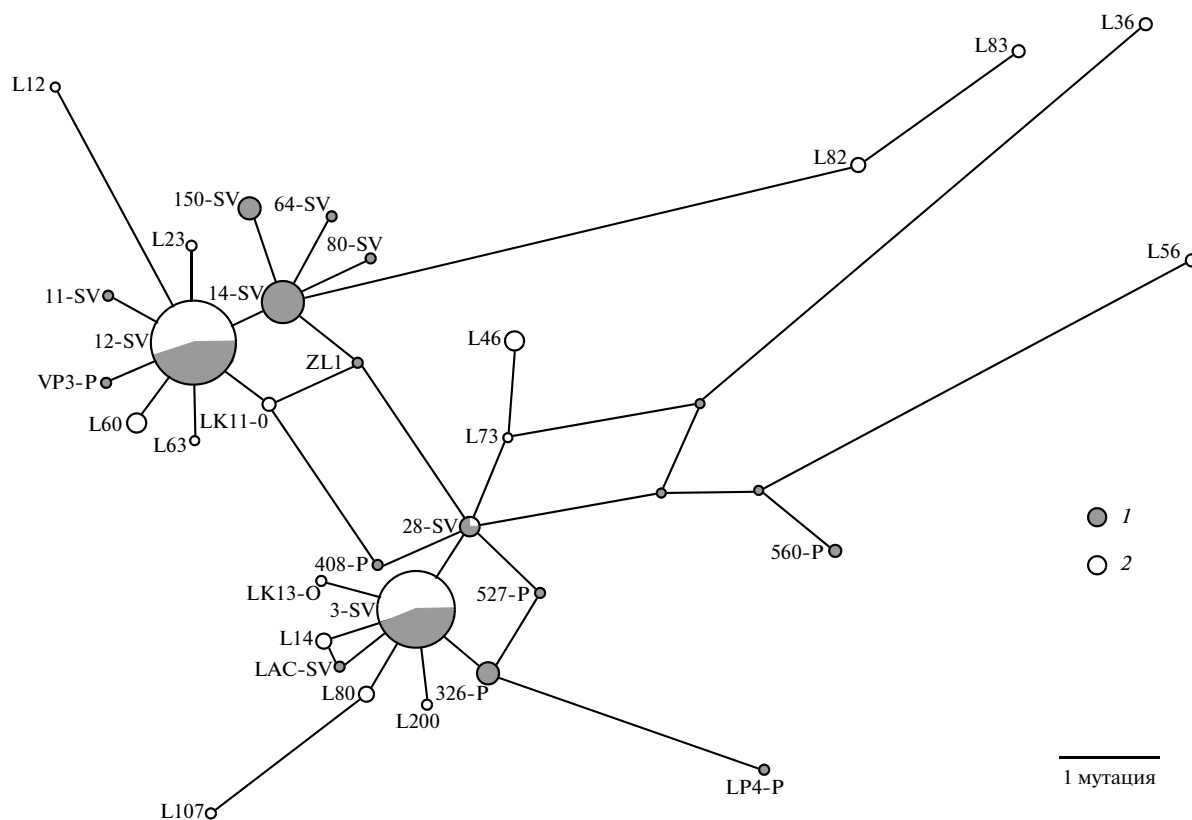


Рис. 3. Медианная сеть гаплотипов контрольного региона мтДНК (464 п. н.), объединяющая выборки образцов лосей с Урала (1) и из европейской части России (2).

описанному для лосей Западной Сибири (Томская обл.) (Москвитина и др., 2011). Широкое распространение на Урале и центральное положение гаплотипа 14-SV в звездообразной структуре медианной сети, наличие нескольких уральских гаплотипов, формирующих лучи этой структуры, дают основание предположить именно уральское происхождение данного гаплотипа, распространившегося в Западной Сибири в ходе расселения животных в голоцене.

В целом в гаплотипическом составе контрольного региона мтДНК одновременно проявляется как своеобразие митохондриальных линий лосей Урала, так и их связь с представителями *A. a. alces*, обитающими в европейской части ареала и в Западной Сибири. Очевидно, что филогеографическая структура лося складывалась под влиянием разнонаправленных процессов: фрагментации ареала, снижения численности и изоляции отдельных группировок в рефугиумах в конце плейстоцена, особенно во время последнего ледникового максимума, и расширения ареала, роста численности животных и объединения изолированных группировок во время потепления климата и увеличения площади лесных экосистем в голоцене. Влияние этих процессов отражается и на структу-

ре митотипического состава и генетического разнообразия лосей Урала.

Структура филогенетических отношений гаплотипов, проявляющаяся в топологии медианных сетей, а также территориальное распределение гаплотипов контрольного региона мтДНК позволяют выдвинуть предположение о существовании на Урале позднеплейстоценового рефугиума, в котором были сформированы своеобразные митохондриальные линии, характерные для этой части ареала европейского подвида лося. Это предположение согласуется с результатами исследований истории изменения климата, ландшафта, структуры экосистем, разнообразия растений и животных, показавшими, что во время последнего оледенения и в переходный период от плейстоцена к голоцену в горных системах, возвышенностях и бассейнах рек Урала сохранялись локальные лесные экосистемы, служившие рефугиумами для многих видов млекопитающих, в том числе и для лося (Маркова и др., 2008).

Результат объединения в голоцене ранее изолированных популяций лося проявляется в виде существования в настоящее время на Урале нескольких гаплогрупп и гаплотипов, распространенных в разных частях подвида ареала. Гетерогенность современного митотипического со-

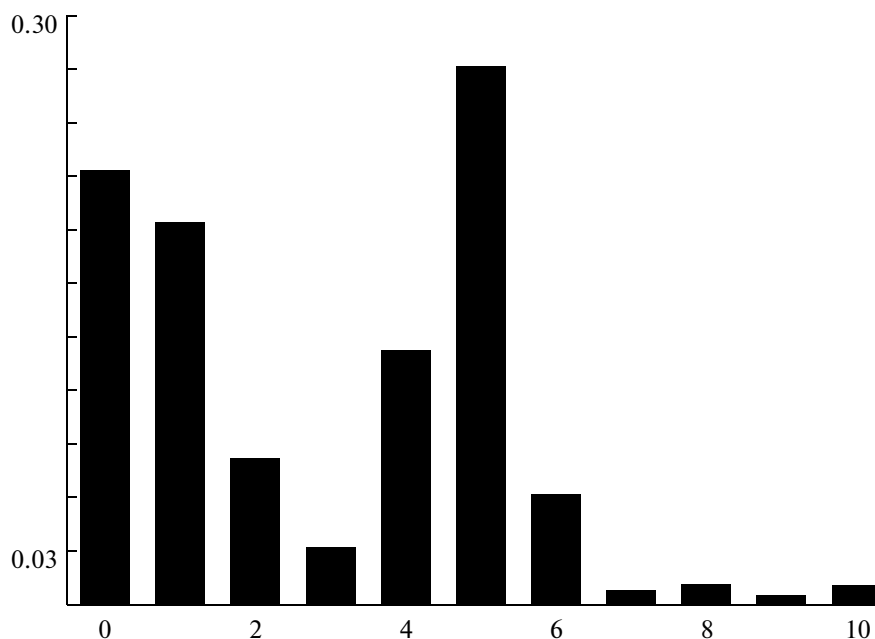


Рис. 4. Распределение частот (ось ординат) величин парных различий (ось абсцисс) между нуклеотидными последовательностями фрагмента контрольного региона мтДНК (464 п. н.) лосей Урала.

става уральских лосей отражает и наличие двух пиков на гистограмме распределения частот парных различий между гаплотипами (рис. 4).

По нашим данным, генный поток, отражающий характер перемещений животных при расселении, направлен преимущественно с запада на восток. В европейской части ареала мы не обнаружили гаплотипов, типичных для Урала. При этом на Урале описано несколько гаплотипов, распространенных в европейской части ареала, а также один гаплотип, общий с лосями из Западной Сибири и отсутствующий в европейской части России. На Ямале нами также были обнаружены два гаплотипа (L1 и L2), встреченные в Европе и на Урале. Преимущественное направление генного потока частично может быть связано с несколько более ранним по сравнению с Уралом временем экспансии популяции лосей в европейской части ареала. Значения τ (величины, отражающей относительное время экспансии), полученные с помощью программы Aglequin 3.5, для Урала и европейской части России составили 5.45 и 6.42 соответственно, т.е. рост численности и расселение лосей в Европе начались раньше, чем на Урале. Кроме того, на направление расселения животных могло существенно повлиять и различие плотности населения лосей в последние столетия, вызванное антропогенными факторами. Дополнительная информация о путях перемещения лосей Урала в разные периоды эволюционной истории может быть получена с использованием маркеров ядерной ДНК — микросателлитов, характеризующих как материнскую, так и отцов-

скую линии наследования и отличающихся высокой скоростью мутирования.

Значения и соотношение важнейших показателей генетического разнообразия — сравнительно низкая нуклеотидная изменчивость и достаточно высокое гаплотипическое разнообразие (табл. 2) — также согласуются с предположением о прохождении популяцией лосей Урала исторического демографического “горлышка бутылки”. В табл. 2 приведены аналогичные данные для лосей, населяющего европейскую часть России, и для выборки, объединяющей эти два региона. Основные показатели в трех выборках достаточно сходны, что свидетельствует об общности процессов, повлиявших на формирование генетического разнообразия и структуры лосей этих регионов. Ранее для популяций европейского подвида лосей в Польше и Скандинавии (Mikko, Andersson, 1995; Hundertmark *et al.*, 2002a, b; Charlier *et al.*, 2008; S’wisłocka *et al.*, 2008) была отмечена достаточно низкая генетическая изменчивость по сравнению с таковой у большинства широко распространенных видов диких жвачных. При этом также было показано, что в структуре современного генетического разнообразия этих популяций видны следы снижения численности и фрагментации ареала, происшедшего в результате уменьшения площади лесных экосистем в течение холодных фаз позднего плейстоцена. Сделаны предположения о существовании плейстоценовых рефугиумов на территории Европы.

Таблица 2. Показатели генетического разнообразия популяций лося Урала и европейской части России на основании анализа фрагмента контрольного региона мтДНК (464 п. н.)

Регион	N	vs	ts	tv	nh	H (S.E.)	π (S.E.)
Урал	96	18	16	2	16	0.782 (0.025)	0.006 (0.0023)
Европейская часть России	108	30	24	6	19	0.716 (0.031)	0.008 (0.0024)
Урал и европейская часть России	204	39	31	8	31	0.756 (0.021)	0.007 (0.0023)

Примечание. N – число образцов; vs, ts, tv – число нуклеотидных замен, транзиций и трансверсий соответственно; nh – число гаплотипов; H и π – гаплотипическое и нуклеотидное разнообразие соответственно; S.E. – стандартная ошибка.

Авторы выражают признательность Н.Л. Погину за помощь в сборе и подготовке материала к анализу, а также А.И. Барановой, В.В. Саломашкиной, И.Г. Мещерскому и П.А. Сорокину за помощь при проведении лабораторных работ.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант 14-04-01135), программы Президиума РАН “Живая природа: современное состояние и проблемы развития” (проекты № 12-П-4-1048 и 12-П-4-1043) и подпрограммы “Динамика и сохранение генофондов”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Боескоров Г.Г. Систематика и происхождение современных лосей. Новосибирск: Наука, 2001. 119 с.
- Гептнер В.Г., Насимович А.А., Банников А.Г. Млекопитающие Советского Союза. Т. 1. Парнокопытные и непарнокопытные. М.: Высш. шк., 1961. 776 с.
- Данилкин А.А. Олени (Cervidae). М.: ГЕОС, 1999. 552 с.
- Маркова А.К., Ван Кольфсхотен Т., Бохнке Ш. и др. Эволюция экосистем Европы при переходе от плейстоцена к голоцену. М.: КМК, 2008. 556 с.
- Москвитина Н.С., Немойкина О.В., Тютеньков О.Ю., Холодова М.В. Ретроспективная оценка и современное состояние населения лося (*Alces alces* L.) Западной Сибири: экологические и молекулярно-генетические аспекты // Сиб. экол. журн. 2011. Т. 18. № 4. С. 593–598.
- Рожков Ю.И., Проняев А.В., Давыдов А.В. и др. Лось: популяционная биология и микроэволюция. М.: КМК, 2009. 520 с.
- Соколов И.И. Копытные звери (отряды Perissodactyla и Artiodactyla L.) // Фауна СССР. Млекопитающие. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1959. Т. 1. Вып. 3. 640 с.
- Удина И.Г., Данилкин А.А., Боескоров Г.Г. Генетическое разнообразие лося (*Alces alces* L.) в Евразии // Генетика. 2002. Т. 38. № 8. С. 1125–1132.
- Филонов К.П. Лось. М.: Лесн. пром-сть, 1983. 248 с.
- Флеров К.К. Кабарги и олени // Фауна СССР. Млекопитающие. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1952. Т. 1. Вып. 2. 256 с.
- Холодова М.В., Давыдов А.В., Мещерский И.Г. и др. Изучение молекулярно-генетического разнообразия лося (*Alces alces* L.) центральной и северо-западной части России: анализ мтДНК // Вестн. охотоведения. 2005. Т. 2. № 3. С. 26–33.
- Холодова М.В., Рожков Ю.И., Давыдов А.В. и др. Полиморфизм контрольного региона мтДНК и филогеографическая структура европейского лося (*Alces alces alces*) на территории России // Лось в дивергентной и измененной человеком среде: Тр. VI Междунар. симпоз. Якутск: Ин-т биологических проблем криолитозоны СО РАН, 2008. С. 45–48.
- Avice J.C. Phylogeography: the history and formation of species // Cambridge; London: Harvard Univ. Press, 2000. 447 p.
- Avice J.C., Walker D.E., Johns G.C. Speciation durations and Pleistocene effects on vertebrate Phylogeography // Proc. Roy. Soc. L. Ser. B: Biol. Sci. 1998. V. 265. P. 1707–1712.
- Avice J.C., Arnold J., Ball R. et al. Interspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics // Ann. Rev. Ecol. Syst. 1987. V. 18. P. 489–522.
- Bandelt H.J., Forster P., Röhl A. Median joining networks for inferring intraspecific phylogenies // Mol. Biol. Evol. 1999. № 16. P. 37–48.
- Burbrink F.T. Historical versus contemporary migration in fragmented populations // Mol. Ecol. 2010. V. 19. P. 5321–5323.
- Bradley D.G., MacHugh D.E., Cunningham P., Loftus R.T. Mitochondrial diversity and the origins of African and European cattle // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1996. V. 93. P. 5131–5135.
- Burzińska B., Olech W., Topczewski J. Phylogeny and genetic variation of the European bison *Bison bonasus* based on mitochondrial DNA D-loop sequences // Acta Theriol. 1999. V. 44. P. 253–262.
- Charlier J., Laikre L., Ryman N. Genetic structure and evidence of a local bottleneck in moose in Sweden // J. Wildl. Manag. 2008. № 72. P. 411–415.
- Excoffier L., Lischer H. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows // Mol. Ecol. Res. 2010. V. 10. P. 564–567. (<http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin35>)
- Hall T.A. BioEdit: a user friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT // Nucl. Acids Symp. Ser. 1999. № 41. P. 95–98.

- Haanes H., Røed K., Solberg E. et al.* Genetic discontinuities in a continuously distributed and highly mobile ungulate, the Norwegian moose // *Conserv. Genet.* 2011. V. 12. P. 1131–1143.
- Hewitt G.M.* Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation // *Biol. J. Linn. Soc.* 1996. V. 58. P. 247–276.
- Hewitt G.M.* The genetic legacy of the Quaternary ice ages // *Nature.* 2000. V. 405. P. 907–913.
- Hewitt G.M.* Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary // *Philos. Trans. Roy. Soc. L. Ser. B: Biol. Sci.* 2004. V. 359. № 1442. P. 183–195.
- Hundertmark K.J., Bowyer R.T.* Genetics, evolution and phylogeography of moose // *Alces.* 2004. V. 40. P. 103–122.
- Hundertmark K.J., Bowyer R.T., Shields G.F., Schwartz C.C.* Mitochondrial phylogeography of moose (*Alces alces*) in North America // *J. Mammal.* 2003. V. 84(2). P. 718–728.
- Hundertmark K.J., Shields G.F., Bowyer R.T., Schwartz C.C.* Genetic relationships deduced from cytochrome b sequences among moose // *Alces.* 2002a. V. 38. P. 113–122.
- Hundertmark K. J., Shields G.F., Udina I.G. et al.* Mitochondrial phylogeography of Moose (*Alces alces*): Late pleistocene divergence and population expansion // *Mol. Phylogenet. Evol.* 2002b. V. 22. № 3. P. 375–387.
- Kangas V., Kvist L., Laaksonen S. et al.* Present genetic structure revealed by microsatellites reflects recent history of the Finnish moose (*Alces alces*) // *Europ. J. Wildlife Res.* 2013. V. 59. P. 613–627.
- Mikko S., Andersson L.* Low major histocompatibility complex class II diversity in European and North American moose // *Proc. Natl Acad. Sci.* 1995. V. 92. P. 42–59.
- Schmidt J.I., Hundertmark K.J., Bowyer R.T., Mccracken K.G.* Population structure and genetic diversity of moose in Alaska // *Heredity.* 2009. V. 100. № 2. P. 170–180.
- S'wisłocka M., Ratkiewicz M., Borkowska A. et al.* Mitochondrial DNA diversity in moose, *Alces alces*, from Northeastern Poland: evidence for admixture in bottlenecked relic population in the Biebrza valley // *Ann. Zool. Fenn.* 2008. V. 45. P. 360–365.
- S'wisłocka M., Czajkowska M., Duda N. et al.* Complex patterns of population genetic structure of moose, *Alces alces*, after recent spatial expansion in Poland revealed by sex-linked markers // *Acta Theriol.* 2013. V. 58. P. 367–378.
- Taberlet P., Fumagalli L., Wust-Saucy A.G., Cossons J.F.* Comparative phylogeography and post-glacial colonization routes in Europe // *Mol. Ecol.* 1998. V. 7. P. 453–461.
- Tamura K., Peterson D., Peterson N. et al.* MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood evolutionary distance, and maximum parsimony method // *Mol. Biol. Evol.* 2011. V. 28. P. 2731–2739.
- Wilson P.J., Grewal S., Rodgers A., Rempel R. et al.* Genetic variation and population structure of moose (*Alces alces*) at neutral and functional DNA loci // *Can. J. Zool.* 2003. V. 81. P. 670–683.
- Yang D.Y., Eng B., Wayne J.S. et al.* Improved DNA extraction from ancient bones using silica-based spin columns // *Amer. J. Phys. Anthropol.* 1998. № 105. P. 539–543.

The Role of the Urals in the Genetic Diversity of the European Moose Subspecies (*Alces alces alces*)

M. V. Kholodova^{a, c}, N. S. Korytin^b, and V. N. Bolshakov^b

^a Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119071 Russia

^b Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, 620144 Russia

^c Tomsk State University, Tomsk, 634050 Russia

e-mail: mvkholod@mail.ru

The genetic diversity of the Uralian moose population and the role of the Ural region in the phylogeographic structure of the European moose were evaluated based on sequence polymorphisms of the mtDNA control region. The nucleotide diversity of the Ural moose was low, whereas haplotype diversity was rather high. It was found that the haplotype pool of the Ural moose reflects both the unique features of their mitochondrial lineages and their connection with *Alces alces alces* populations of Europe and West Siberia. The structure of median networks and the territorial haplotype distribution support the hypothesis that the mitochondrial lineages typical for this part of the European moose area originate from a late Pleistocene refugium that was located in the Urals.