

ГЕНЕТИКА

УДК 575.852:575.174.015.3

О СООТНОШЕНИИ ФЕНОТИПА И ГЕНОТИПА СОБОЛЯ И ЛЕСНОЙ КУНИЦЫ В ЗОНЕ СИМПАТРИИ НА СЕВЕРНОМ УРАЛЕ

В.В. Рожнов¹, С.Л. Пищулина¹, И.Г. Мещерский¹, Л.В. Симакин²⁽¹⁾ Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва;⁽²⁾ Печора-Илычский государственный природный биосферный заповедник, Республика Коми, пос. Якша; e-mail: molecoldna@gmail.com)

Анализ частот встречаемости аллелей 9 микросателлитных локусов яДНК соболя (*Martes zibellina*) и лесной куницы (*M. martes*) показал, что эти виды из аллопатрических частей ареалов различаются с высокой степенью достоверности, в то время как в зоне симпатрии на Северном Урале между ними регулярно происходит гибридизация. В целом популяции соболя и лесной куницы в зоне симпатрии сохраняют генетическую обособленность, однако фенотипы особей не всегда коррелируют с их видовой (или гибридной) принадлежностью, определяемой генетическим методом.

Ключевые слова: микросателлиты, соболь, лесная куница, гибридизация.

Соболь (*Martes zibellina* L.) и лесная куница (*M. martes* L.) — два вида, самостоятельность которых не вызывает сомнений у зоологов. Однако в зоне симпатрии этих видов встречаются особи, характеризующиеся промежуточными фенотипическими признаками, — кидасы, которых считают гибридами соболя и лесной куницы. В середине XX в. предпринимались попытки найти подтверждение гибридного происхождения кидасов и выявить диагностические признаки, позволявшие бы отличать гибридные особи от особей родительских видов.

Сама возможность гибридизации соболя и лесной куницы была подтверждена экспериментально: в условиях неволи были получены гибриды первого поколения от скрещивания самца соболя и самки лесной куницы (но не наоборот), а также потомство от спаривания самки кидаса с самцом куницы (но не соболя). Плодовитость самцов кидасов осталась недоказанной, хотя в одном случае в семенниках самца были отмечены живые сперматозоиды. В итоге был сделан вывод о частичной плодовитости кидаса [1–5].

Однако подобные эксперименты носили единичный характер и не могли служить основой для оценки интенсивности гибридизации в естественных условиях. В отношении этого процесса сформировались две точки зрения: П.Б. Юргенсон [6] считал гибридное происхождение кидасов доказанным, тогда как В.Н. Павлинин [7] показал, что диагностические признаки, приводимые разными авторами, зачастую противоречивы, и убедительно обосновал сомнения в гибридном происхождении большей части особей кидасов.

Позже применение молекулярно-генетических методов [8] позволило констатировать, что в популяциях рода *Martes* в зоне симпатрии перенос мтДНК идет в обе стороны (т.е. потомство может получаться как от скрещивания самок куниц с самцами соболя, так и наоборот), однако анализ нерекombинирующей части генома не давал представления о динамике этого процесса во времени.

В коллекции Печоро-Илычского государственного природного биосферного заповедника хранятся экземпляры представителей рода *Martes*, добытые в зоне их симпатрии на Северном Урале. По совокупности фенотипических признаков (общий габитус, окраска, структура меха, число хвостовых позвонков, особенности строения *os penis* и ряд краниологических признаков) сотрудники заповедника относят экземпляры к тому или иному виду или классифицируют их как кидаса (гибрид).

В связи с отсутствием в литературе единого мнения о диагностических признаках кидасов и трудностями, возникающими при определении исходных видов в зоне совместного обитания, задача настоящего исследования состояла в том, чтобы сравнить определение особей рода *Martes* из зоны симпатрии по фенотипическим, в частности по краниометрическим, признакам с результатами молекулярно-генетического анализа с использованием маркеров ядерной ДНК.

Материалы и методы

Мы исследовали дентоматериал от 66 экземпляров — 25 соболей, 25 лесных куниц и 16 “кидасов” из коллекции Печоро-Илычского государственного

природного биосферного заповедника. В качестве контроля были проанализированы образцы из аллопатричных частей ареалов — 26 соболей (из Якутии — 9 экз., спиртовой материал, образцы предоставлены В.М. Сафроновым и с Дальнего Востока — 18 экз., коллекция ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН, образцы предоставлены в том числе А.Р. Груздевым и О.В. Шпак) и 21 лесная куница (из Кавказского заповедника — 5 экз., дентоматериал, коллекции Зоологического музея МГУ имени М.В. Ломоносова и Института экологии горных территорий КБНЦ РАН; из Белгородской 3 экз., Московской 3 экз. и Тверской 2 экз. областей России — дентоматериал, коллекция ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН, а также образцы, предоставленные Е.М. Литвиновой и В.М. Малыгиным; из Польши 3 экз., спиртовой материал, образцы предоставлены М. Вользаном; из Ленинградской 1 экз., Пензенской 1 экз., Тверской 2 экз., Челябинской 1 экз. областей России, спиртовой материал, образцы предоставлены А.В. Абрамовым).

Выделение ДНК из дентоматериала проводили с помощью набора реагентов QIAamp DNA Mini Kit (Германия).

Проводили оценку аллельного состава по 9 микросателлитным локусам: Mel10 [9]; Ma1, Ma3, Ma8, Ma15, Ma18, Ma19 [10]; а также Mvis072 и Mer041 [11]. Аллели микросателлитных локусов амплифицировали с использованием праймеров, модифицированных (F-праймер) наличием на 5'-конце флуоресцентной метки. Синтез праймеров осуществлен НПК СИНТОЛ. Параметры постановки полимеразной цепной реакции по [9]: 1) предварительная денатурация ДНК при 94°C в течение 3 мин (1 цикл); 2) 35 циклов, состоящих из следующих этапов: денатурация — 40 с при 94°C; отжиг праймеров — 40 с при 58°C; элонгация — 40 с при 72°C; 3) заключительная элонгация — 30 мин при 72°C.

Для оценки длин фрагментов применяли метод капиллярного электрофореза с применением автоматического анализатора Genetic Analyzer AB3130 (Applied Biosystems). В качестве размерного стандарта был взят GeneScan TM 500 LIZ Size Standard (Applied Biosystems). Расшифровку хроматограмм осуществляли с помощью программы GeneMapper v3.5 (Applied Biosystems). Математическую обработку результатов проводили с помощью программы Structure v 2.3.3 [12]. Степень отличий в частотах встречаемости аллелей (*FST*-критерий) рассчитывали в программе Arlequin v.3.11 [13].

Результаты и обсуждение

Анализ на основе частот аллелей методом кластеризации (рис. 1) показал, что все соболей из аллопатричной части ареала с вероятностью более 98% относятся к груп-

пе “соболей”, а все куницы из аллопатричной части ареала — с вероятностью более 98% ко второй группе — группе “куниц”. В зоне симпатрии из 25 уральских “куниц” 3 (12%) относятся к соболям, а для 4 (16%) вероятность отнесения к одному из родительских видов составляла менее 75% (гибриды первого и/или второго поколения — кидасы). Из 25 “соболей” только 2 (8%) относятся к кидасам, а все остальные — к группе “соболей”. Из 16 “кидасов” 10 (62,5%) с вероятностью более 75% относятся к группе соболей, а 2 (12,5%) — к группе куниц. Всего из 66 экземпляров, происходящих из зоны симпатрии, выявлено 20 (30,3%) куниц, 36 (54,5%) соболей и 10 (15,2%) кидасов.

Между выборками “кидасов” и уральских соболей, составленных по совокупности фенотипических признаков, не было выявлено статистически достоверных различий ($F_{st} = 0,002$, $p = 0,37$), что еще раз говорит о том, что генофонд “кидаса” наиболее близок уральскому соболю.

Полученные результаты хорошо согласуются с результатами пошагового дискриминантного анализа краниометрических признаков, проведенного ранее для тех же образцов [14]: 14 из 23 (60,8%) особей, фенотипически классифицированных как кидасы, по совокупности краниометрических признаков с вероятностью более 67% относятся к группе соболей, 6 особей (26,1%) — к группе куниц, и только 3 (13,0%) были отнесены к группе вероятных гибридов. Всего в выборке из 83 экземпляров, включавшей по изначальной классификации по 37,5% соболей и куниц и 25% кидасов, было выявлено 55,4% соболей, 41,0% куниц и только 3,6% кидасов. Следует отметить, однако, что, несмотря на сходство результатов двух независимых методов анализа в целом, для целого ряда (более 30%) конкретных особей обнаруживаются и несоответствия, вплоть до прямо противоположных (рис. 2).

Как уже было сказано, факт гибридизации был показан анализом мтДНК [8], не дающим, однако, представления о динамике этого процесса во времени. Данные, полученные нами, свидетельствуют о том, что гибридизация в этом регионе происходит постоянно. При этом популяции соболя и лесной куницы

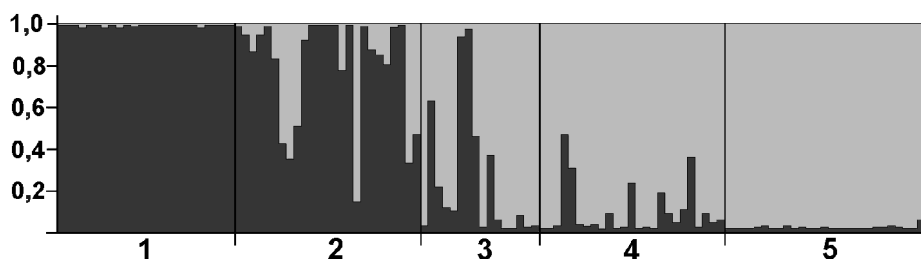


Рис. 1. Вероятность принадлежности особей лесной куницы из аллопатрических частей ареала (1), куниц с Северного Урала (2), кидасов (3), соболей с Северного Урала (4) и особей соболя из аллопатрических частей ареала (5) к кластеру “куниц” (темно-серый цвет) или “соболей” (светло-серый цвет) по результатам анализа частот аллелей 9 микросателлитных локусов. Метод кластеризации (программа Structure v 2.3.3), модель “Admixture”, 300 000 реплик

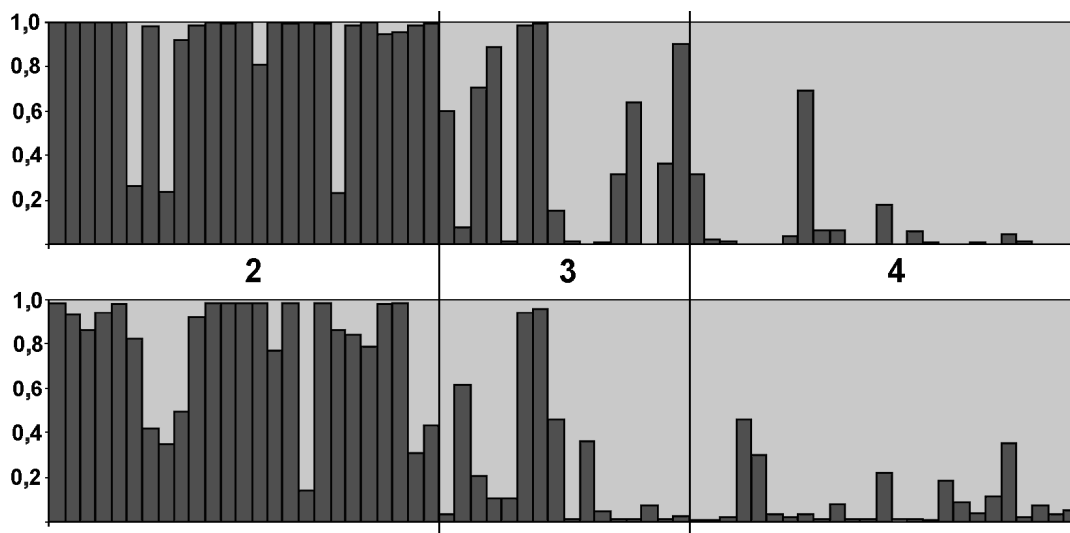


Рис. 2. Сравнение индивидуальных значений вероятности принадлежности особей куниц (2), кидасов (3) и соболей (4) Северного Урала к кластеру “куниц” (темно-серый цвет) или “соболей” (светло-серый цвет) по результатам краниометрического (вверху, метод — см. [14]) и генетического (внизу, метод — см. рис. 1) анализа. Порядок группировки особей одинаков и соответствует приведенному на рис. 1

в зоне симпатрии сохраняют генетическую обособленность: их выборки, составленные на основании фенотипических признаков, высокодостоверно отличаются и по частотам встречаемости аллелей ряда локусов яДНК. Также не выявлено достоверных отличий между выборками фенотипических кидасов и уральских соболей, что говорит о том, что генофонд “кидаса” на Урале наиболее близок к генофонду соболя. Как и предполагал ранее В.Н. Павлинин [7], за кидасов в основном принимают особей родительских видов, уклонившихся по морфологическим признакам от типичного большинства. В то же время часть генетических гибридов не попадает в поле зрения исследователей, фенотипически не отличаясь от одной из родительских форм. Надежно отнести

экземпляр рода *Martes* из зоны симпатрии на Северном Урале к тому или иному виду или гибриду можно только на основании молекулярно-генетического анализа. Краниометрический анализ при анализе серийного материала позволяет судить о соотношении в выборках гибридов и особей родительских видов, но не позволяет делать заключения в отношении видовой или гибридной принадлежности конкретных особей.

* * *

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных исследований президиума РАН “Живая природа: современное состояние и проблемы развития”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кошевой И. Кидас // Бюллетень Зоопарков и Зоосадов. 1935. № 10—11.
2. Портнова Н. Размножение кидаса // Каракулеводство и звероводство. 1941. № 6.
3. Пономарев А.Л. Кидас // Бюл. МОИП. 1946. Т. 51. № 4—5. С. 79—83.
4. Граков Н.Н. О видовой самостоятельности лесной куницы и соболя // Сб. научно-технической информации ВНИИОЗ. 1974. Вып. 46. С. 11—14.
5. Граков Н.Н. Лесная куница. М.: Наука, 1981. 108 с.
6. Юргенсон П.Б. Кидас — гибрид соболя и куницы // Тр. Печоро-Илычского заповедника. 1947. Вып. 5. С. 145—179.
7. Павлинин В.Н. Тобольский соболь // Тр. Ин-та биологии. Свердловск, 1963. Вып. 34. С. 1—112.
8. Рожнов В.В., Мещерский И.Г., Пищулина С.Л., Симакин Л.В. Генетический анализ популяций соболя и лесной куницы в районах совместного обитания на Северном Урале // Генетика. 2010. Т. 46. № 4. С. 488—492.
9. Domingo-Roura X. Genetic distinction of marten species by fixation of a microsatellite region // J. Mamm. 2002. Vol. 83. N 3. P. 907—912.
10. Davis C., Strobeck C. Isolation, variability and cross-species amplification of polymorphic microsatellite loci in the family Mustelidae // Mol. Ecol. 1998. Vol. 7. P. 1776—1778.
11. Fleming M.A., Ostrander E.A., Cook J.A. Microsatellite markers for American mink (*Mustela vison*) and ermine (*Mustela erminea*) // Mol. Ecol. 1999. Vol. 8. P. 1351—1362.
12. Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data // Genetics. 2000. Vol. 155. P. 945—959.
13. Excoffier L., Laval G., Schneider S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis // Evolutionary Bioinformatics Online. 2005. Vol. 1. P. 47—50.
14. Пищулина С.Л., Мещерский И.Г., Рожнов В.В. Сравнительно-краниометрическая характеристика собо-

ля, лесной куницы и кидаса Северного Урала // Животный мир горных территорий: Мат-лы конф. / Под ред.

В.В. Рожнова, Ф.А. Темботовой, В.И. Ланцова, К.Г. Михайлова. М.: Т-во научных изданий КМК, 2009. С. 412—416.

Поступила в редакцию
31.05.12

ON THE PHENOTYPE AND GENOTYPE CORRELATION OF SABLE AND PINE MARTEN IN SYMPATRIC ZONE IN THE NORTHERN URALS

V.V. Rozhnov, S.L. Pishchulina, I.G. Meschersky, L.V. Simakin

Analysis of alleles frequencies of 9 microsatellite loci of nuclear DNA of sables and pine martens revealed that this species from allopatric parts of species range highly significantly distinguish but in the sympatric zone in the Northern Urals interspecific hybridization is common. Sable and pine marten populations in sympatric zone keep their genetic isolation, but phenotypes of individuals not always correlate with their species (or hybrid) belonging, defined by genetic method.

Key words: *microsatellites, sable, pine marten, hybridization.*

Сведения об авторах

Рожнов Вячеслав Владимирович — чл.-корр. РАН, докт. биол. наук, зав. лабораторией поведения и поведенческой экологии млекопитающих ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН. Тел.: 8-495-952-73-05; e-mail: rozhnov.v@gmail.com

Пищулина Софико Левановна — аспирантка, мл. науч. сотр. лаборатории поведения и поведенческой экологии млекопитающих ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН. Тел.: 8-495-952-77-97; e-mail: molecoldna@gmail.com

Мещерский Илья Григорьевич — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кабинета методов молекулярной диагностики ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН. Тел.: 8-495-952-77-97; e-mail: molecoldna@gmail.com

Симакин Леонид Владимирович — науч. сотр. Печоро-Илычского государственного природного биосферного заповедника. E-mail: leonidsimakin@yandex.ru