

УДК 636.934.57.082.12

ПОЛИМОРФИЗМ КОНТРОЛЬНОГО РЕГИОНА МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК АМЕРИКАНСКОЙ НОРКИ (*Neovison vison* Schreber, 1777), НАСЕЛЯЮЩЕЙ КАСПИЙСКО-БАЛТИЙСКИЙ ВОДОРАЗДЕЛ

© 2016 Кораблёв Н.П.^{1, 2*}, Кораблёв М.П.^{3, 4}, Кораблёв П.Н.⁴, Волков Н.О.¹

¹Великолукская государственная сельскохозяйственная академия,
182112 Псковская обл., Великие Луки, просп. Ленина, 2

²Псковский государственный университет, Псков 180000, пл. Ленина, 2

³ФГБУН Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН,
119991 Москва, Ленинский просп., 33

⁴Центрально-Лесной государственный природный биосферный заповедник,
172521 Тверская обл., Нелидовский район, пос. Заповедный
e-mail: * cranlab@gmail.com

Поступила в редакцию 24.09.2015

Анализ полиморфизма последовательностей (n=48) гипервариабельного фрагмента D-петли мтДНК (369 п.н.) американской норки, натурализовавшейся на Каспийско-Балтийском водоразделе, а также животных, содержащихся на звероферме, выявил относительно высокий для интродуцентов уровень молекулярно-генетической изменчивости. Значения гаплотипического и нуклеотидного разнообразия соответствуют уровню полиморфизма, найденному в популяциях, населяющих Восточную Европу (Польша). Отмечена тенденция дифференциации гаплогрупп при отсутствии чётко выраженной пространственной структурированности населения вида. Результаты изучения фрагмента D-петли популяций американской норки в Восточной Европе и Европейской части России свидетельствуют о влиянии фактора гибридизации различных подвидов, участвовавших в формировании генофонда интродуцированных в Евразии животных. В диких популяциях, расположенных вблизи действующей звероводческой фермы, присутствуют гаплотипы, характерные для domestцированных норок.

Ключевые слова: *Neovison vison*, D-петля, мтДНК, Европейская часть России, полиморфизм.

Введение

Американская норка *Neovison vison* (Schreber, 1777) населяет Северную Америку от Панамского канала до Аляски и в контексте контрастных различий широтного градиента формирует до 15 подвидов [Larivière, 1999]. Начало одомашниванию американской норки положено в 1866 г. канадскими звероводами [Shackelford, 1949], со второй половины XIX в. она активно вовлечена в хозяйственное использование [Чащухин, 2009]. Для разведения на зверофермах взято несколько автохтонных подвидов, поэтому интродуцированные в Евразии животные имели неопределённый таксономический статус [Dunstone, 1993]. Следу-

ет выделять два основных вектора биологической инвазии американской норки: преднамеренная и случайная интродукция из-за побегов зверьков со звероферм. Последний фактор имеет большое значение в поддержании численности природных популяций и формировании морфологического облика диких животных [Данилов, Туманов, 1976; Кораблёв М. и др., 2012; Кораблёв Н. и др., 2014]. На сегодняшний день американская норка прочно вошла в состав фауны 28 европейских государств [Bonesi, Palazon, 2007], широко распространена в России [Хляп и др., 2011]. Ряд исследователей отмечают выраженное негативное воздействие этого инвазионного вида на предста-

вителей местной фауны [Sidorovich, Macdonald, 2001; Macdonald et al., 2002; Hammershøj et al., 2005; Bonesi, Palazon, 2007; Кораблёв М. и др., 2013].

В Тверской области американская норка впервые появилась в 1948 г. в результате выпуска 60 зверьков в Вышневолоцком районе [Павлов и др., 1973]. На севере и востоке области сформировались популяции из потомства преднамеренно интродуцированных норок, в других частях региона – в результате побегов норки из звероводческих ферм. В соседних регионах выпуски американской норки не осуществляли, и её появление объясняется не столько расселением зверьков из мест преднамеренной интродукции, сколько дисперсией сбежавших из звероводческих ферм животных и их потомства [Кораблёв М. и др., 2012]. В северные районы Псковской области американская норка проникла в результате расселения из Ленинградской области, где она натурализовалась в результате непреднамеренной интродукции, кроме того, в формировании населения норок региона участвовали зверьки, сбежавшие из звероводческих ферм, расположенных в Псковском районе, а также Боровичском и Солецком районах Новгородской области [Туманов, 2009].

В генетическом отношении американскую норку изучали как в пределах естественного ареала [Belliveau et al., 1999; Stevens et al., 2005; Kidd, 2008; Harding, Smith, 2009], так и в некоторых местах интродукции [Lecis et al., 2008; Michalska-Parda et al., 2009; Zalewski et al., 2009, 2010; Bifulchi et al., 2010; Shimatani et al., 2010]. Исследования полиморфизма митохондриальной ДНК вида пока носят единичный характер [Zalewski et al., 2011]. В России подобные исследования до настоящего времени не проводились.

Цель работы – на основании изучения полиморфизма гипервариабельного участка контрольного региона мтДНК американской норки различного происхождения, населяющей территорию Каспийско-Балтийского водораздела, и сравнительного анализа фрагментов ДНК изученных животных с гомологичными участками мтДНК норок из других частей аре-

ала дать филогеографическую характеристику инвазионного вида в изученной части ареала.

Материал и методы

Исходным материалом для работы послужили образцы тканей (в основном фрагменты сухих шкурок) от 108 особей американской норки. После выделения ДНК, проведения полимеразной цепной реакции, очистки ПЦР-продукта и секвенирования доступными для дальнейшего анализа были 48 (выделены из 41 фрагмента сухих шкурок, 7 – свежая мышечная ткань, сохранявшаяся в 95%-м этаноле) хорошо расшифрованных последовательностей, что позволило минимизировать вероятность технических ошибок. Животные были добыты в период с 2001 по 2013 г. в 5 административных районах Тверской области и в 1 районе Псковской области в результате легальной охоты. Кроме того, изучена выборка доместичированных норок, содержащихся на Знаменской звероферме, которая расположена в Торопецком районе на западе Тверской области (рис. 1). На ферме содержатся американские норки трёх пород: стандартной окраски, серо-голубые и сапфир, в изученной нами выборке содержатся стандартные и серо-голубые норки. По данным Государственного мониторинга охотничьих ресурсов в период сбора материала численность норки на территории Тверской области оценивалась в 10.4–11.4 тыс. особей и проявляла тенденцию к росту. В Псковской области обитало 7.9 тыс. особей, численность также характеризовалась положительной динамикой (данные уполномоченных региональных органов Росприроднадзора).

Расстояние между пунктами сбора материала составляло от 20 до 300 км.

В качестве маркера молекулярно-генетической изменчивости выбраны фрагменты митохондриальной (мт) ДНК, используемые в филогеографических исследованиях позвоночных [Холодова, 2009]. Эти участки генома получили широкое распространение при изучении генетической изменчивости млекопитающих на популяционном, видовом и межвидовом уровнях [Банникова, 2004; и др.]. Отли-

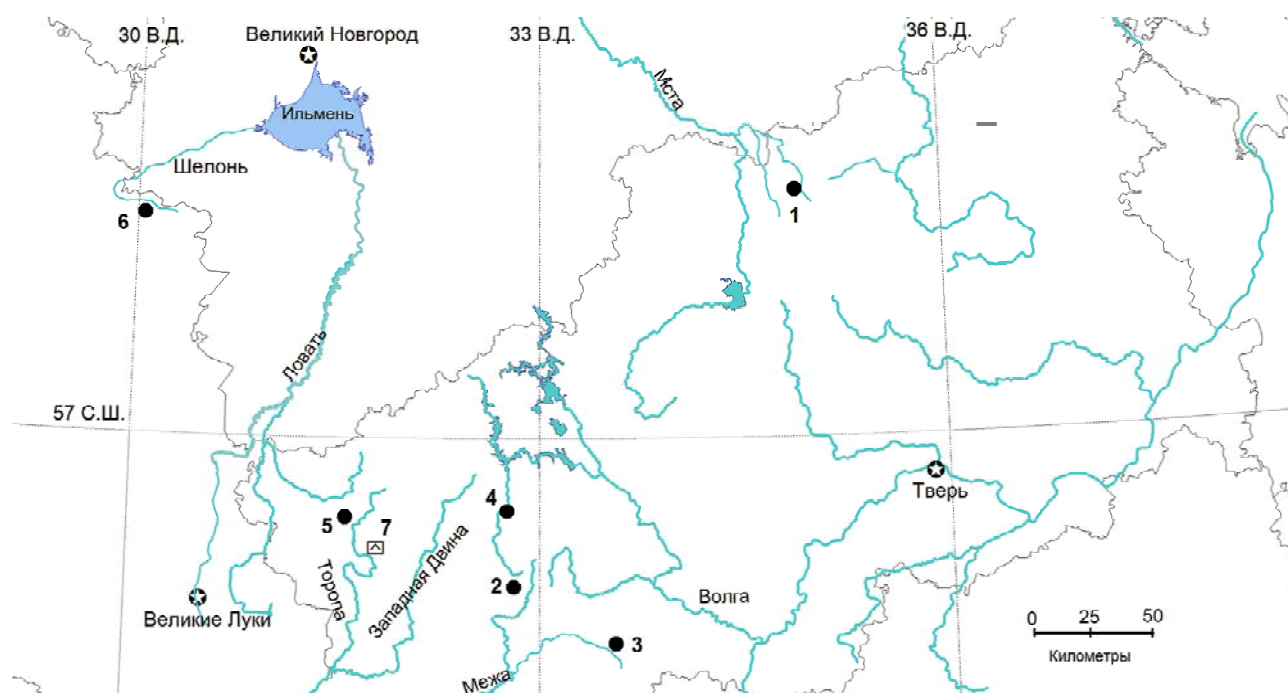


Рис. 1. Места сбора материала. Номерами обозначены пункты сбора в: 1 – Удомельском районе (n=7), 2 – Нелидовском районе (n=11), 3 – Оленинском районе (n=10), 4 – Пеновском районе (n=4), 5 – Торопецком районе (n=3), 6 – Дновском районе (n=3), 7 – Знаменской звероферме (n=10).

чительные признаки мтДНК – неменделевское наследование (исключительно по материнской линии), быстрое накопление мутаций и отсутствие рекомбинаций. Структурно в состав мтДНК входит D-петля, или контрольный регион, который представляет собой некодирующий участок ДНК, отвечающий за инициацию репликаций [Льюин, 1987]. Этот участок генома относительно быстро накапливает мутации и отражает дивергенцию материнских линий, что делает его удобным маркером в исследованиях генетической изменчивости млекопитающих на популяционном, видовом и межвидовом уровнях. Для сравнительного анализа использовали 31 фрагмент гомологичных участков мтДНК американской норки, депонированных в Генбанке (JF430903–JF430933 [Zalewski et al., 2011]).

Тотальную ДНК из тканей выделяли сорбентным методом с использованием набора 0206 Литех (ООО Научно-производственная фирма ЛИТЕХ, Москва, Россия).

Для амплификации выбранного фрагмента применяли два праймера, дизайн которых предложен в работе [Hundertmark et al., 2002]: пря-

мой – LGL283 (L15693, 5'-TACACTG GTCTTGTA AAC-3') и обратный – ISM015 (H00068, 5'-ATGGCCCTGTAGAAAGAAC-3').

Использовали следующий режим работы амплификатора: 1. Предварительная денатурация – 94 °C – 3 мин; 2. Денатурация-отжиг-элонгация (94 °C – 45 с, 50 °C – 50 с, 72 °C – 1 мин) Ч 30 циклов; 3. Заключительная элонгация – 72 °C – 10 мин; 4. Охлаждение реакционной смеси – 4 °C – 3 мин.

Продукт амплификации очищали с помощью осаждающего раствора ацетата натрия в этаноле и последующей промывки 70%-м этиловым спиртом.

Определение нуклеотидных последовательностей выполняли на автоматическом анализаторе ABI 3500 с применением набора реагентов BigDye Terminator v.3.1. (Applied Biosystems) с прямым и обратным праймерами.

Полученные последовательности выравнивали с помощью программы BioEdit 7.0.9 [Hall, 1999]. Филогенетические отношения между гаплотипами оценены на основе дендрограмм, построенных по методу ближайшего связывания (NJ) с использованием двухпараметричес-

кой модели Кимуры (K2P) в программе MEGA 6 [Tamura et al., 2013]. Статистическую достоверность узлов дендрограммы оценивали на основе бутстрэп-поддержки (1000 реплик). Построение медианных сетевых деревьев выполнено в программе Network 4.6.1.3 [Bandelt et al., 1999]. Оценка показателей гаплотипического (H) и нуклеотидного (p) разнообразия, а также значений F_{ST} (рассчитанных на основании парных различий между последовательностями) между выборками произведена в программе Arlequin v. 3.5 [Excoffier, 2005]. Оценка «изоляции расстоянием» в исследованных выборках диких американских норок проведена путём сопоставления парных генетических дистанций, выраженных в $F_{ST}/(1-F_{ST})$, к логарифму географического расстояния между выборками. Оценка статистической значимости корреляции матриц осуществлена с применением теста Мантеля (1000 итераций) в программе IBD [Bohonak, 2002]. Для оформления картографического материала использовали программы MapInfo и MS Excel.

Полученные нуклеотидные последовательности депонированы в Базе данных Генбанк с указанием района происхождения под номерами KT355782–KT355794.

Результаты

Получен и использован для анализа участок контрольного региона мтДНК длиной 369 п.н. Соотношение нуклеотидов в нём составило: аденин – 27.2%, гуанин – 14.6%, цитозин – 28.1%, тимин – 30.2%. Амплифицированный фрагмент содержал 16 переменных позиций, среди них 10 транзиций, 2 трансверсии и 4 делеции. Обнаружено 13 гаплотипов, различия между которыми варьировали от 1 до 10 нуклеотидов (0.27%–2.71%). Среди выявленных гаплотипов шесть ранее не описаны и не представлены в базе данных Генбанк, семь – общие с гаплотипами интродуцированной в Польшу американской норки (CBX1: JF430903; CBX3: JF 430909; 2134: JF430908; 1999: JF430915; 1228: JF430922; 21: JF430924; 1861: JF430933 [Zalewski et al., 2011]). Среднее число парных различий между гаплотипами 3.44 ± 1.79 . Значения нуклеотидного p и

гаплотипического H разнообразия для диких ($n=38$) и domestцированных ($n=10$) американских норок составили $p = 0.0098 \pm 0.0056$; $H = 0.82 \pm 0.05$ и $p = 0.0074 \pm 0.0048$; $H = 0.73 \pm 0.12$, соответственно.

Преобладающий гаплотип (1676) объединял около 40% особей и был распространён среди как диких, так и domestцированных животных. В выборке диких американских норок выявлено 11 гаплотипов, два из которых общие с животными зверофермы. У последних выявлено 4 гаплотипа, среди них два (CBX1 и CBX3) оказались уникальными для данной выборки. В географически разобшённых выборках диких норок гаплотипы распределились неравномерно. Так, наиболее часто встречающийся гаплотип 1676 был обнаружен только у животных Нелидовского, Оленинского и Торопецкого районов Тверской области, а также у норок звероводческой фермы. Пять гаплотипов оказались уникальными и относились к оленинской (1652 и 2035), пеновской (1999), удомельской (1228) и дновской (10) выборкам (рис. 2 и 3).

Для выяснения связи популяционной генетической структуры с географическим распределением особей было проведено попарное сравнение выборок на основе критерия F_{ST} . Достоверные различия были выявлены в пяти парах сравнений (табл. 1), в то время как различия между дикими и domestцированными норками в целом недостоверны.

Несмотря на достоверные различия некоторых выборок американской норки по значениям F_{ST} , специально проведённый анализ указывает на отсутствие статистически значимой корреляции между географической дистанцией и генетической дифференциацией населения вида в природе. Значения теста Мантеля как для натуральных, так и логарифмированных данных матриц (табл. 1) варьировали: $r = -0.02 \dots -0.13$, $Z = 593.8 \dots -27.6$, при $p > 0.5$.

Дендрограмма филогенетических отношений, полученных нами гаплотипов, демонстрирует сравнительно большую разобшённость отдельных последовательностей изучаемого фрагмента ДНК. Шесть гаплотипов формируют генетический кластер со сравнительно высокой бутстрэп-поддержкой (81) (рис. 3).

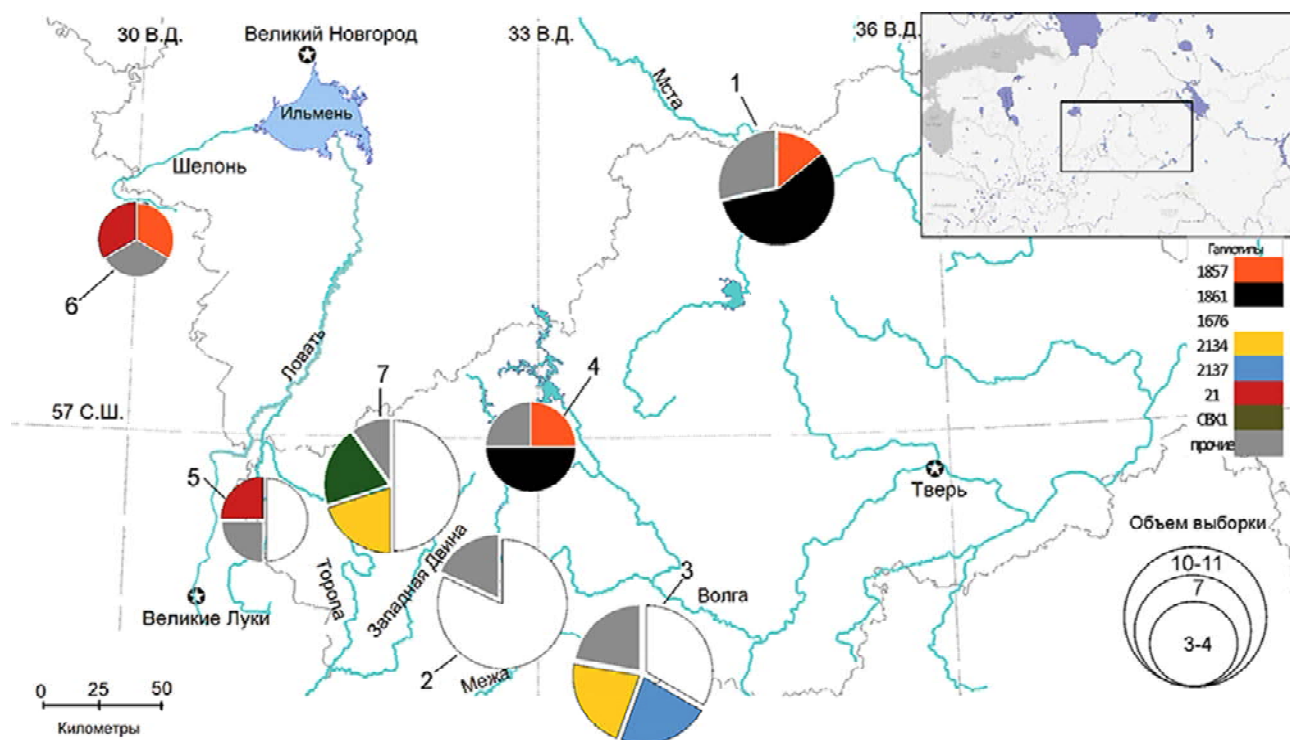


Рис. 2. Пространственное распределение гаплотипов в исследованных выборках американской норки. Номера выборок соответствуют таковым на рис. 1.

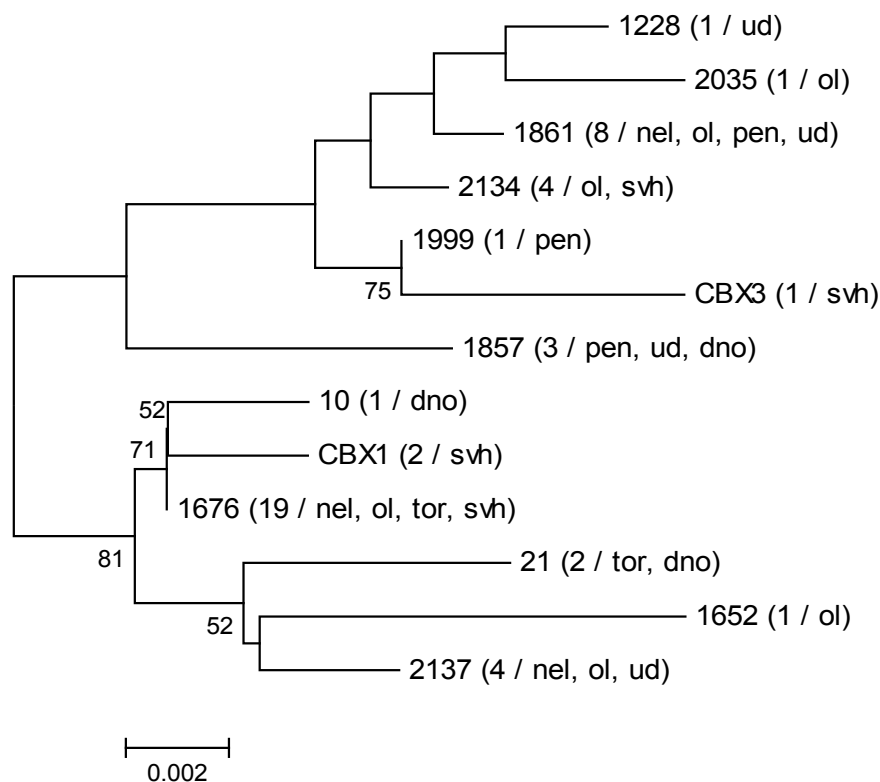


Рис. 3. Дендрограмма филогенетических отношений гаплотипов контрольного региона мтДНК американской норки Тверской и Псковской областей. В скобках указано число образцов с данным гаплотипом и места его обнаружения: nel – Нелидовский, ol – Оленинский, pen – Пеновский, tor – Торопецкий, ud – Удомельский районы Тверской области, dno – Дновский район Псковской области, svh – звероводческая ферма.

Таблица 1. Сравнение выборок американской норки на основе критерия F_{ST} . Над диагональю – значения F_{ST} . Под диагональю – географическая дистанция между выборками, км. По диагонали – число особей в каждой выборке. Выделены пары достоверно различающихся выборок, * уровень значимости различий $p \leq 0.05$
** $p \leq 0.005$

Выборка	Нелидово	Оленино	Пено	Торопец	Удомля	Дно	Зв. хоз-во
Нелидово	11	0.08	0.61**	0.02	0.52**	0.13	0.02
Оленино	60	10	0.21	0.01	0.16	0.02	0.01
Пено	60	100	4	0.52	0.18	0.23	0.36*
Торопец	80	140	80	3	0.42*	0.22	0.02
Удомля	240	230	190	270	7	0.23	0.31*
Дно	220	280	180	150	300	3	0.03
Зв. хоз-во	60	120	70	20	250	170	10

Заметно, что топология распределения гаплотипов в географическом пространстве (рис. 2) и на дендрограмме (рис. 3) не проявляет согласованности с пунктами обитания особей, несущих данные гаплотипы. Вместе с тем, обращает на себя внимание тот факт, что наиболее многочисленный гаплотип 1676 помимо domestцированных норк встречается только в трёх географически не столь удалён-

ных от Знаменской зверофермы местах сбора материала – Нелидовском, Оленинском и Торопецком районах. Отмеченная генетическая структура населения вида изучаемого региона хорошо прослеживается и на медианной сети гаплотипов (рис. 4).

На основании анализа полученных гаплотипов и гомологичных последовательностей из Генбанка, построена филогенетическая денд-

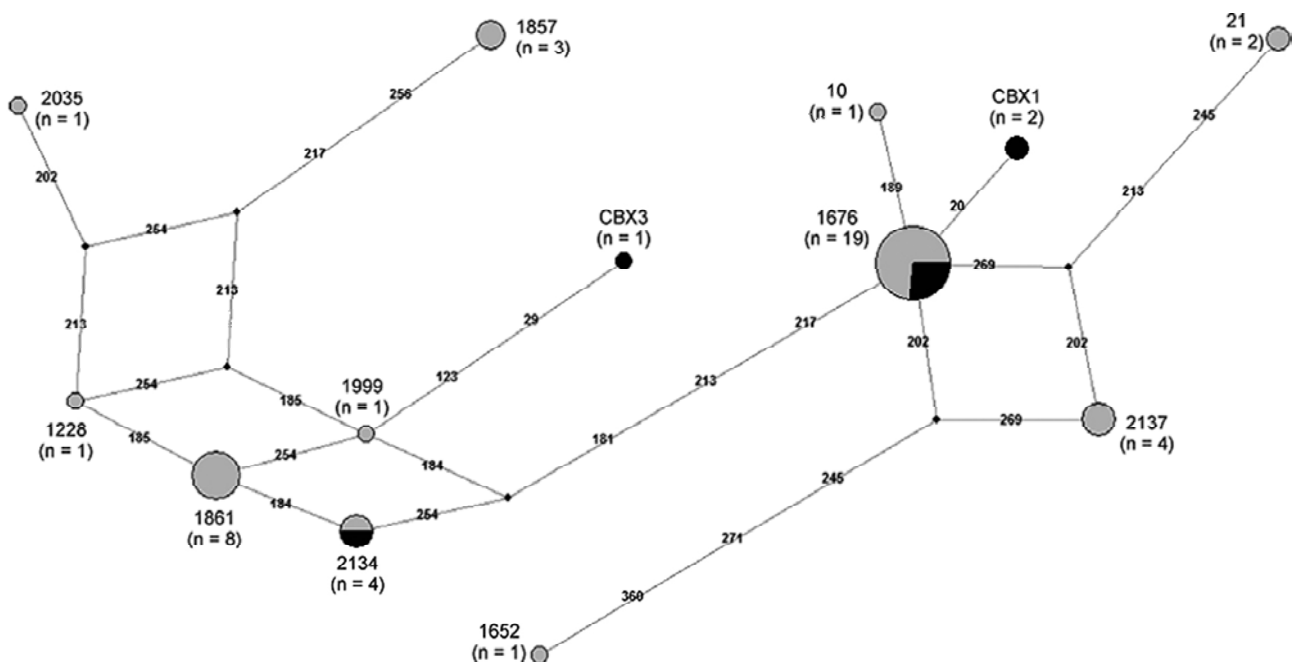


Рис. 4. Медианная сеть гаплотипов контрольного региона мтДНК американской норки Каспийско-Балтийского водораздела. Серый цвет – дикие норки, чёрный цвет – domestцированные норки.

рограмма, отражающая взаимосвязь генетической структуры населения вида в центре Европейской части России и в Восточной Европе (рис. 5).

Последовательности изученного фрагмента мтДНК норки из Центральной России в совокупности с гаплотипами из Польши на филогенетическом дереве формируют слабо диф-

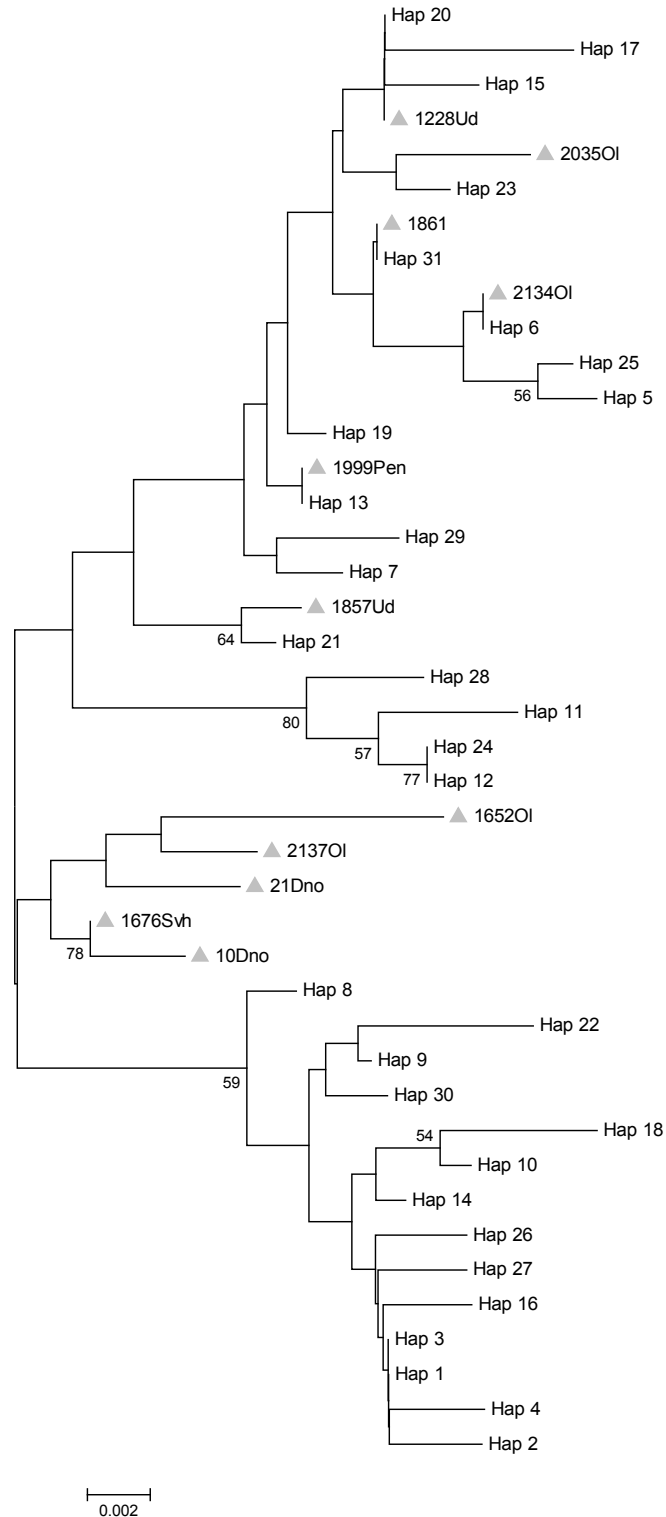


Рис. 5. Дендрограмма филогенетических отношений гаплотипов контрольного региона мтДНК американской норки из области Каспийско-Балтийского водораздела и Польши (336 п.н.). Гаплотипы, полученные нами, помечены серым треугольником.

ференцированную структуру. С относительно высокой поддержкой бутстрэпа (80) выделяется лишь кластер из четырёх гаплотипов, выявленных среди польских животных. Залевский с соавторами относят эти гаплотипы к одной из двух существующих, по их предположению, гаплогрупп в польской популяции норки [Zalewski et al., 2011]. В остальном, не прослеживается статистически подтверждённой филогенетической и филогеографической структурированности интродуцированного вида по изученному маркеру. Гаплотипы норки из Тверской и Псковской областей и из Польши по отношению друг к другу не образуют обособленных генетических групп.

Обсуждение

Сравнение показателей полиморфизма диких популяций американской норки, населяющих Каспийско-Балтийский водораздел и территорию Польши, позволяет отметить практически полное соответствие нуклеотидного и гаплотипического разнообразия ($p = 0.0094$, $H = 0.82$ в Польше; $p = 0.0098$, $H = 0.82$ наши данные). Нами обнаружено, что нуклеотидное и гаплотипическое разнообразие domesticированных норок ниже, чем диких ($p = 0.0074$, $H = 0.73$), сходное наблюдали и в Польше ($p = 0.0064$ и $H = 0.711$). Как и мы, польские исследователи отмечают отсутствие достоверных статистических различий полиморфизма мтДНК одичавших и domesticированных норок, но обнаруживают большее количество гаплотипов у содержащихся на звероферме животных (21 гаплотип против 19 в диких популяциях вида) [Zalewski et al., 2011]. Меньшие значения и пределы изменчивости гаплотипического и нуклеотидного разнообра-

зия domesticированных норок можно объяснить проводимой селекцией, что подразумевает константность породы. Также можно предполагать эффект генетического дрейфа, оказывающий влияние на полиморфизм при смене поколений животных на зверофермах. Генетический полиморфизм в диких популяциях норки подвержен влиянию иных механизмов филогенетического масштаба, в основе которых лежат внутривидовые процессы, сопровождавшие формирование вида как в пределах нативного ареала, так и в местах интродукции.

Для объективной оценки генетического разнообразия используемого нами фрагмента ДНК американской норки Каспийско-Балтийского водораздела приведём сравнительный анализ с аборигенными видами кунных по тому же генетическому маркеру на территории этого же географического региона (табл. 2).

По сравнению с видами, исторически населяющими данную местность, американская норка характеризуется самым высоким нуклеотидным разнообразием, практически равным своему экологическому аналогу – европейской норке. Гаплотипическое разнообразие интродуцированного вида ниже, чем у европейской норки и куницы, но выше, чем у лесного хоря, который на фоне остальных представителей семейства отличается наиболее низким полиморфизмом.

В процессе интродукции из-за влияния эффекта основателя и «бутылочного горлышка» – стадии низкой численности, можно предполагать существенное снижение генетического полиморфизма. Действительно, в интродуцированных популяциях ондатры *Ondatra zibethicus* отмечали практически полное отсут-

Таблица 2. Значения полиморфизма американской норки в ряду аборигенных видов кунных рассматриваемой географической области

Вид / длина фрагмента мтДНК, п.н.	Нуклеотидное разнообразие (π)	Гаплотипическое разнообразие (H)	Источник
<i>Mustela lutreola</i> / 526	0.0092±0.0055	0.95±0.054	Кораблёв М. и др., 2013
<i>Mustela putorius</i> / 465	0.0026±0.0019	0.74±0.052	Кораблёв М. и др., 2015
<i>Martes martes</i> / 487	0.0069±0.0041	0.90±0.039	Кораблёв М. и др., 2016
<i>Neovison vison</i> / 369	0.0093 ± 0.0054	0.81 ± 0.05	Настоящее исследование

ствии вариабельности наиболее полиморфных локусов [Zachos et al., 2007], в современных автохтонных и реинтродуцированных популяциях евроазиатского бобра *Castor fiber* при сравнении их с позднеголоценовыми субфосильными останками отмечали утрату около 25% уникальных гаплотипов [Horn et al., 2009]. В то же время, один из распространённых в Европе интродуцированных хищников – енотовидная собака *Nyctereutes procyonoides* – отличается высоким нуклеотидным и гаплотипическим разнообразием [Pitra et al., 2010]. Данные, полученные нами для енотовидной собаки Тверской и юга Вологодской областей (599 п.н. D-петля) составили $p = 0.015 \pm 0.0077$; $H = 0.95 \pm 0.02$ [Кораблёв Н. и др., 2011]. Высокие показатели нуклеотидного и гаплотипического разнообразия енотовидной собаки мы связываем со множественными интродукциями и стремительным ростом численности инвазионных популяций вскоре после выпуска животных в природу. Высокое нуклеотидное и гаплотипическое разнообразие американской норки также может быть объяснено множественными интродукциями на протяжении освоения видом инвазионного ареала и быстрым ростом численности. Полученные данные позволяют предполагать большой эффективный размер популяции, населяющей Каспийско-Балтийский водораздел.

Генетическое разнообразие изученных выборок американской норки относительно ниже её эпигенетического разнообразия, оцениваемого на основе неметрических признаков черепа и зубной системы [Кораблёв М. и др., 2012; Кораблёв Н. и др., 2016]. Залевский и соавторы [Zalewski et al., 2011], анализируя аналогичный используемому нами участок мтДНК, отмечают высокое генетическое разнообразие диких и доместичированных норок, несмотря на потенциальные факторы сокращения гетерозиготности (эффект основателя и «бутылочное горлышко»). При этом авторы формулируют две комплементарные причины: 1) большое количество основателей, колонизировавших территорию; 2) выпуск особей из различных первичных популяций и последующие популяционные процессы – заселение

территории, дальнейшее их объединение – панмиксия и формирование сложно структурированной метапопуляции.

Дискуссионный момент в изучении интродуцированных популяций американской норки – их филогеографическая структура. Предположение польскими исследователями существования в интродуцированных популяциях двух гаплогрупп [Zalewski et al., 2011] не находит полного подтверждения в нашем исследовании. Вместе с тем, обособление на филограмме генетического кластера с относительно высокой статистической поддержкой (рис. 3) перекликается с результатами, полученными польскими авторами. Однако значение взвешенной межгрупповой дистанции (net distance) между обсуждаемым кластером и остальными гаплотипами, равное $0.70 \pm 0.30\%$, не даёт оснований различать обособленные филогенетические группы в популяции вида на изучаемой территории.

Поскольку мы не располагаем данными о характере изменчивости мтДНК норки в Северной Америке, судить о подвидовой дифференциации можно по изменчивости микросателлитных локусов ядерной ДНК [Belliveau et al., 1999; Stevens et al., 2005; Kidd, 2008] и фенотипическому полиморфизму животных [Larivière, 1999]. Исследования, проведённые в различных провинциях центра и востока Канады, показали, что характер генетического разнообразия указывает на выраженную пространственную подразделённость популяций, и в пределах Неарктики отчётливо проявляется морфологическая изменчивость животных, имеющая адаптивный характер к природно-климатическим условиям, формирующим контрастные различия на севере и юге естественного ареала.

Большинство исследований микросателлитных локусов ядерной ДНК американской норки указывает на генетическую подразделённость интродуцированных популяций. На сопоставимом географическом пространстве обнаруживали от двух кластеров в Польше [Michalska-Prada et al., 2009] до четырёх – в Испании [Lecis et al., 2008] и Японии [Shimatani et al., 2010]. Причинами наблюдаемой дифференциации исследователи полага-

ют смешение автохтонных подвидов, которые продолжают сохранять некоторую генетическую самостоятельность внутри domesticiрованных пород норок, а также факторы естественной среды, которые привели к формированию дивергентных генетических линий в донорских популяциях нативного ареала.

Тенденция популяционного генетического полиморфизма в соответствии с моделью «изоляция расстоянием» [Wright, 1943] имеет неоднозначный характер, и большинство исследователей проявление данного эффекта не отмечали [Stevens et al., 2005; Lecis et al., 2008, Shimatani et al., 2010; Zalewski et al., 2011; наши данные], в то время как в отдельных популяциях Непарктики [Belliveau et al., 1999; Kidd, 2008] и местах интродукции он присутствует [Zalewski et al., 2009; Bifulchi et al., 2010]. Минимальное расстояние, на котором проявлялась генетическая подразделённость популяций американской норки в Шотландии при оценке полиморфизма микросателлитных локусов – 5 км [Zalewski et al., 2009], но была отмечена высокая миграционная активность животных, даже при отсутствии водоёмов. В то же время, изучение генетической структуры вида по четырём полиморфным микросателлитным локусам на юго-востоке США (Арканзас) не обнаружило зависимости географического расстояния между точками сбора и их генетическими различиями в пределах 100 км вследствие существенного потока генов в панмиксной популяции, вероятно, из-за того, что животные активно перемещались между бассейнами разных водоёмов [Stevens et al., 2005].

Молекулярно-генетическая изменчивость американской норки Каспийско-Балтийского водораздела согласуется с морфологической в том, что различия найдены между выборками, географически представляющими северо-восток (Удомельский район), и юго-запад области (Торопецкий; Пеновский и Нелидовский районы). Население этих двух частей области формировалось по-разному: за счёт преднамеренной интродукции (северо-восточная часть) и норки, сбегавших из звероферм (юго-западная часть). Репродуктивные контакты между ними, вероятно, в силу характера гидрографи-

ческой сети, происходили на юго-западе области в районе Центрально-Лесного заповедника [Кораблёв М. и др., 2012]. Поэтому полагаем, что даже на относительно небольшой по площади территории население интродуцированного вида структурировано, что проявляется при изучении отдельных морфологических и молекулярно-генетических маркеров.

Следует отметить, что некоторое противоречие в пространственной структуре популяций американской норки определяется и временем начала инвазии, и скоростью расселения интродуцента. Этим, возможно, объясняется отсутствие корреляции между генетической изменчивостью и расстоянием между популяциями американской норки, что отмечается в Европе и на Японских островах, хотя, как мы установили, при использовании размерных и неметрических морфологических признаков эффект изменчивости, обусловленный расстоянием, в популяциях присутствует.

Отдельно необходимо коснуться генетических различий диких и domesticiрованных норок. При использовании микросателлитов как маркеров популяционного полиморфизма, очевидные различия между дикими и domesticiрованными американскими норками, включая отдельные селекционные линии вида, обнаружены [Belliveau et al., 1999; Kidd, 2008; Zalewski et al., 2010]. Фрагменты мтДНК диких и domesticiрованных животных достоверно не различаются [Zalewski et al., 2011, наши данные]. Таким образом, анализ результатов изучения американской норки с использованием различных маркеров генетической изменчивости, представленных ядерным и митохондриальным геномом, показал, что структура современных интродуцированных популяций лучше выражена на уровне полиморфизма микросателлитных локусов.

Анализ факторов филогеографической структуры популяций в местах естественного и сформированного в результате интродукций ареала американской норки указывает на их различную природу. В Северной Америке генетическая подразделённость диких популяций, в первую очередь, вызвана длительной филогенетической историей, в процессе кото-

рой формировалась сложная метапопуляционная структура населения вида [Stevens et al., 2005]. Изменчивость групп особей в этом случае объясняется адаптацией к природно-климатическим условиям, направлениями естественного отбора и географической изоляцией [Harding, Smith, 2009]. Во-вторых, присутствует и фактор непреднамеренной интродукции из-за побегов животных со звероферм [Belliveau et al., 1999; Kidd, 2008]. Изменчивость популяций американской норки в Евразии определяется первоначальным генетическим пулом интродуцентов, представленных различными подвидами, затем вовлечённых в селекцию domestцированных американских норок [Dunstone, 1993]. Общим фактором, влияющим на генетическую изменчивость диких популяций двух континентов, следует признать систематический приток животных со звероферм, которые пополняют природные группировки вида. Результативность таких репродуктивных контактов в природе, по оценкам польских специалистов, составляет от 12% [Michalska-Parda et al., 2009] до 17% и положительно коррелирует с поголовьем животных на зверофермах [Zalewski et al., 2010]. Важным следствием систематической утечки domestцированных норок в дикую природу может быть сокращение численности диких популяций вида из-за гибридизации диких и domestцированных форм с последующей утратой важных адаптивных качеств диких норок (гибридный дисгенез и, как следствие, аутбредная депрессия) [Kidd, 2008; Кораблёв М. и др., 2012] и заражения животных диких популяций инфекциями из ферм, например, алеутской болезни норок. Специальные исследования образцов тканей американской и европейской норок, хоря и выдры из различных районов Тверской области выявили регулярно встречающихся инфицированных алеутской болезнью особей [Manas et al., 2002].

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Центрально-Лесного заповедника и Великолукской сельскохозяйственной академии. Определение нуклеотидной последовательно-

сти фрагментов генома выполнено в Кабинете методов молекулярной диагностики Института проблем экологии и эволюции им А.Н. Северцова РАН. Авторы выражают благодарность рецензентам за существенную работу по улучшению настоящей статьи.

Литература

- Банникова А.А. Молекулярные маркеры и современная филогенетика млекопитающих // Журнал общей биологии. 2004. Т. 65. № 4. С. 278–305.
- Данилов П.И., Туманов И.Л. Куны Северо-Запада СССР. Ленинград: Наука, 1976. 256 с.
- Кораблёв М.П., Кораблёв Н.П., Кораблёв П.Н. Морфо-фенетический анализ популяций американской норки (*Neovison vison*) Каспийско-Балтийского водораздела // Российский журнал биологических инвазий. 2012. № 4. С. 36–56. (Перевод: Korablev M.P., Korablev N.P., Korablev P.N. Morphophenetic Analysis of American Mink (*Neovison vison*) Populations from the Caspian-Baltic Watershed // Russian Journal of Biological Invasions. 2013. Vol. 4. No. 1. P. 24–38).
- Кораблёв М.П., Кораблёв П.Н., Кораблёв Н.П., Туманов И.Л. Характеристика полиморфизма исчезающей популяции европейской норки (*Mustela lutreola*, Carnivora, Mustelidae) в районе Центрально-Лесного заповедника // Зоологический журнал. 2013. Т. 92. № 8. С. 1259–1268.
- Кораблёв М.П., Кораблёв П.Н., Кораблёв Н.П., Туманов И.Л. Внутрипопуляционный полиморфизм лесного хоря (*Mustela putorius*, Carnivora, Mustelidae) // Зоологический журнал. 2015. Т. 94. № 5. С. 580–592.
- Кораблёв М.П., Кораблёв Н.П., Кораблёв П.Н., Туманов И.Л. Внутрипопуляционный полиморфизм лесной куницы *Martes martes* (Carnivora, Mustelidae) Тверской области // Зоологический журнал. 2016. Т. 95. № 1. С. 80–93.
- Кораблёв Н.П., Кораблёв М.П., Рожнов В.В., Кораблёв П.Н. Полиморфизм контрольного региона митохондриальной ДНК енотовидной собаки (*Nyctereutes procyonoides* Gray, 1834), интродуцированной в бассейне Верхней Волги // Генетика. 2011. Т. 47. № 10. С. 1378–1385.
- Кораблёв Н.П., Кораблёв М.П., Кораблёв П.Н., Туманов И.Л. Факторы морфологического разнообразия краниометрических признаков американской норки (*Neovison vison*) // Российский журнал биологических инвазий. 2014. № 4. С. 30–54. (Перевод: Korablev N.P., Korablev M.P., Korablev P.N., Tumanov I.L. The Factors of Morphological Variation in Craniometrical Traits of the American Mink (*Neovison vison*) // Russian Journal of Biological Invasions. 2015. Vol. 6. No. 1. P. 21–36).
- Кораблёв Н.П., Кораблёв М.П., Кораблёв П.Н., Туманов И.Л. Эпигенетическая изменчивость американской норки *Neovison vison* Восточной Европы: поиск

- факторов полиморфизма // Экология. 2016. № 3. С. 221–228. (Перевод: Korablev N.P., Korablev M.P., Korablev P.N., Tumanov I.L. Epigenetic Variation in the American Mink, *Neovison vison*, from Eastern Europe: A Search for Factors of Polymorphism // Russian Journal of Ecology. 2016. Vol. 47. No. 3. P. 289–295).
- Льюин Б. Гены / Пер. с англ. М.: Мир. 1987. 544 с.
- Павлов М.П., Корсакова И.Б., Тимофеев В.В., Сафонов В.Г. Акклиматизация охотничье-промысловых зверей и птиц в СССР. Киров, 1973. Ч. 1. 536 с.
- Туманов И.Л. Редкие хищные млекопитающие России (мелкие и средние виды). СПб.: ООО «Бранко», 2009. 448 с.
- Хляп Л.А., Варшавский А.А., Бобров В.В. Разнообразие чужеродных видов млекопитающих в различных регионах России // Российский журнал биологических инвазий. 2011. № 3. С. 79–88. (Перевод: Khlyar L.A., Warshavsky A.A., Bobrov V.V. Diversity of Alien Mammal Species in Different Regions of Russia // Russian Journal of Biological Invasions. 2011. Vol. 2, No. 4. P. 293–299. DOI: 10.1134/S2075111711040059).
- Холодова М.В. Сравнительная филогеография: молекулярные методы, экологическое осмысление // Молекулярная биология. 2009. Т. 43. № 5. С. 910–917.
- Чашухин В.А. Норка американская. М.: Т-во научных изданий КМК, 2009. 103 с.
- Bandelt H.J., Forster P., Rohl A. Median-Joining Networks for inferring Intra specific Phylogenies // Molecular Biology and Evolution. 1999. Vol. 16. № 1. P. 37–48.
- Belliveau A.M., Farid A., O'Connell M., Wright J.M. Assessment of genetic variability in captive and wild American mink (*Mustela vison*) using microsatellite markers // Canadian Journal of Animal Science. 1999. Vol. 79. № 1. P. 7–16.
- Bifolchi A., Picard D., Lemaire C., et al. Evidence of admixture between differentiated genetic pools at a regional scale in an invasive carnivore // Conservation Genetics. 2010. № 11. P. 1–9.
- Bohonak A.J. IBD (Isolation By Distance): a program for analyses of isolation by distance // Journal of Heredity. 2002. Vol. 93. P. 153–154.
- Bonesi L., Palazon S. The American mink in Europe: Status, impacts, and control // Biological Conservation. 2007. Vol. 134. P. 470–483.
- Dunstone N. The mink. T & A D Poyser Natural History, London, 1993. 232 p.
- 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.
- Hall T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT // Nucl. Acids Symp. Ser. 1999. Vol. 41. P. 95–98.
- Hammershøj M., Pertoldi C., Asferg T., et al. Danish free-ranging mink populations consist mainly of farm animals: evidence from microsatellite and stable isotope analyses // Journal for Nature Conservation. 2005. Vol. 13. P. 267–274.
- Harding L.E., Smith F.A. Mustela or Vison? Evidence for the taxonomic status of the American mink and a distinct biogeographic radiation of American weasels // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2009. Vol. 52. P. 632–642.
- Horn S., Benecke N., Hufthammer A.K., Schouwenburg C., Toskan B., Hofreiter M. DNA from thousands of years ago: insights into the genetic history of the Eurasian beaver (*Castor fiber*) // Abstracts of 5th International beaver symposium. Dubingiai, Lithuania; Kaunas: Vitautas Magnus University, 2009. P. 40.
- Hundertmark K.J., Shields G.F., Udina I.G., et al. Mitochondrial phylogeography of moose (*Alces alces*): late Pleistocene divergence and population expansion // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2002. Vol. 22. P. 375–387.
- Kidd A.G. Mink gone wild: hybridization between escaped farm and wild American mink (*Neovison vison*) in a natural context. Thesis in the Masters of Science (M.Sc.) in Biology. Laurentian University Sudbury, Ontario, Canada, 2008. 68 p.
- Larivière S. *Mustela vison* // Mammalian Species. 1999. Vol. 608. P. 1–9.
- Lecis R., Ferrando A., Ruiz-Olmo J., et al. Population genetic structure and distribution of introduced American mink (*Mustela vison*) in Spain, based on microsatellite variation // Conservation Genetics. 2008. № 9. P. 1149–1161.
- Macdonald D.W., Sidorovich V.E., Anisomova E.I., et al. The impact of American mink *Mustela vison* and European mink *Mustela lutreola* on water voles *Arvicola terrestris* in Belarus // Ecography. 2002. Vol. 25. P. 295–302.
- Michalska-Parda A., Brzeziński M., Zalewski A., Kozakiewicz M. Genetic variability of feral and ranch American mink *Neovison vison* in Poland // Acta Theriologica. 2009. Vol. 54. P. 1–10.
- Manas S., Cena J.C., Palazon S., Ruiz-Olmo J., Katchanovsky V., Katchanovskaia P., Fournier P., Domingo M., Wolfenbarger J.B., Bloom M.E. Identification of Aleutian mink disease parvovirus infections in wild riparian mustelids // The European mink second workshop. 2002. Abstracts. Central-Forest Reserve. P. 61–62.
- Pitra C., Schwarz S., Fickel J. Going west – invasion genetics of the alien raccoon dog *Nyctereutes procyonoides* in Europe // European Journal of Wildlife Research. 2010. Vol. 56. P. 117–129.
- Shackelford R.M. Origin of the American ranch-bred mink // American Fur Breeder. 1949. Vol. 22. P. 12–14.
- Shimatani Y., Fukue Y., Kishimoto R., Masuda R. Genetic Variation and Population Structure of the Feral American Mink (*Neovison vison*) in Nagano, Japan, Revealed by Microsatellite Analysis // Mammal Study. 2010. Vol. 35. № 1. P. 1–7.
- Sidorovich V., Macdonald D.W. Density dynamics and changes in habitat use by the European mink and other native mustelids in connection with the American mink expansion in Belarus // Netherlands Journal of Zoology. 2001. Vol. 51. P. 107–126.

- Stevens R-T., Kennedy M-L., Kelley V-R. Genetic structure of American mink (*Mustela vison*) populations // *The Southwestern Naturalist*. 2005. Vol. 50. № 3. P. 350–355.
- Tamura K., Stecher G., Peterson D., et al. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0 // *Molecular Biology and Evolution*. Advance Access publication October 16, 2013.
- Wright S. Isolation by distance // *Genetics*. 1943. Vol. 28. № 2. P. 114–138.
- Zachos F.E., Cirovic D., Rottgardt I., Seiffert B., Oeking S., Eckert I., Hartl G.B. Geographically large-scale genetic monomorphism in a highly successful introduced species: the case of the muskrat (*Ondatra zibethicus*) in Europe // *Mammalian Biology*. 2007. Vol. 72. P. 123–126.
- Zalewski A., Piertney S-B., Zalewska H., Lambin X. Landscape barriers reduce gene flow in an invasive carnivore: geographical and local genetic structure of American mink in Scotland // *Molecular Ecology*. 2009. Vol. 18. № 8. P. 1601–1615.
- Zalewski A., Michalska-Parda A., Bartoszewicz M., et al. Multiple introductions determine the genetic structure of an invasive species population: American mink *Neovison vison* in Poland // *Biological Conservation*. 2010. Vol. 143. P. 1355–1363.
- Zalewski A., Michalska-Parda A., Ratkiewicz M., et al. High mitochondrial DNA diversity of an introduced alien carnivore: comparison of feral and ranch American mink *Neovison vison* in Poland // *Diversity and Distributions. A Journal of Conservation Biogeography*. 2011. Vol. 17. № 4. P. 757–768.

POLYMORPHISM OF THE AMERICAN MINK (*NEOVISON VISON* (SCHREBER, 1777)) POPULATIONS INHABITING THE CASPIAN-BALTIC WATERSHED INFERRED BY MEANS OF mtDNA D-LOOP

©2016 Korablev N.P.^{1,2*}, Korablev M.P.^{3,4}, Korablev P.N.⁴, Volkov N.O.¹

¹ Velikie Luki State Agricultural Academy, pr. Lenina 2, Velikie Luki, Pskov oblast

² Pskov State University, pl. Lenina, 2, Pskov

³ Severtsov Institute of Ecology and Evolution, the Russian Academy of Sciences, Leninskii pr. 33, Moscow

⁴ Central Forest State Nature Biosphere Reserve, Zapovednyi, Nelidovo district, Tver oblast

e-mail: * cranlab@gmail.com

Analysis of the fragment of mtDNA d-loop (369 bp, n=48) in wild and domestic American minks harvested in Caspian-Baltic watershed in the European part of Russia revealed relatively high genetic polymorphism degree for introducents. The values of haplotype and nucleotide polymorphism are correspondent to the level, which was found in populations of the species inhabiting Eastern Europe (Poland). The tendency of differentiation of haplogroups is noted on the background of weak geographical or breeding structure of populations. Observed patterns of polymorphism are probably connected with peculiarities of introduction history as well as with the pool of initial DNA set of ancestors introduced in Eurasia. Domesticated form of the American mink does not differ from wild populations of the species on the base of used DNA-marker. In wild populations of the species located at the short distance from mink's farm, haplotypes typical for domesticated minks were found.

Key words: *Neovison vison*, D-loop, mtDNA, European part of Russia, polymorphism.