

**Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова
Российской академии наук**

На правах рукописи

Саломашкина Валентина Валерьевна

**Внутривидовая структура бурого медведя (*Ursus arctos*)
России и сопредельных стран по данным полиморфизма
ядерной и митохондриальной ДНК**

1.5.12 – Зоология

Диссертация

**на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

**Научный руководитель:
доктор биологических наук
Марина Владимировна Холодова**

Москва, 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	13
1.1 Краткая биологическая характеристика вида	13
1.2 Ареал бурого медведя	16
1.3 Подвидовая структура бурого медведя	18
1.3.1 Подвидовая структура медведя Евразии.....	23
1.3.2 Подвидовая структура медведя Северной Америки.....	26
1.4 Обзор исследований генетической структуры бурого медведя.....	29
1.4.1 Особенности используемых генетических маркеров.....	29
1.4.2 Митохондриальная ДНК.....	31
1.4.3 Микросателлитные локусы	39
1.4.4 Другие генетические маркеры.....	43
1.4.4.1 Y-хромосомные маркеры.	43
1.4.4.2 Полногеномные данные.....	44
1.4.4.3 Другое.....	45
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	48
2.1 Характеристика исследованных образцов	48
2.2 Молекулярно-генетический анализ	50
2.2.1 Выделение ДНК и пробоподготовка	50
2.2.2 Выбранные генетические маркеры	51
2.2.3 Амплификация	52
2.2.3.1 Амплификация мтДНК	53
2.2.3.2 Амплификация аутомсомных микросателлитных локусов.....	53
2.2.3.3 Амплификация Y-хромосомных маркеров.....	53
2.2.4 Определение пола	54
2.2.5 Очистка и визуализация ПЦР-продукта, первичный анализ	54
2.3 Статистическая обработка полученных результатов.....	55
2.3.1 Обработка последовательностей мтДНК.....	55
2.3.1.1 Использование данных базы GenBank	55
2.3.1.2 Параметры построения филогенетических деревьев методом Байесовской реконструкции	56
2.3.2 Обработка аутомсомных микросателлитных локусов.....	58
2.3.3 Обработка Y-хромосомных микросателлитных локусов.....	59
2.3.4 Расчет географических дистанций между образцами	59
2.3.4.1 Метод классов дистанций.....	60
2.3.5 Визуализация происхождения образцов и границ ареалов на картах	60
ГЛАВА 3. ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЯДЕРНЫХ АУТОСОМНЫХ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ	61
3.1 Результаты.....	61
3.1.1 Характеристика исследуемой выборки и изменчивости выбранных микросателлитных локусов.....	61

3.1.2 Генетическая структура бурого медведя по данным аутосомных микросателлитных локусов.....	63
3.1.2.1 Кластеризация с учетом географического происхождения образцов.....	63
3.1.2.2 Кластеризация без учета географического происхождения образцов.....	68
3.1.2.3 Анализ генетических дистанций	69
3.1.3 Половая структура выборки и исследование генетической структуры самцов	73
3.1.4 Характеристика выявленных генетических кластеров	74
3.1.4.1 Уровень генетического разнообразия и гетерозиготности	74
3.1.4.2 Генетические дистанции между кластерами	76
3.2 Обсуждение.....	78
3.2.1 Выявленные генетические кластеры и факторы их формирования.....	78
3.2.1.1 Кавказский кластер	78
3.2.1.2 Генетические кластеры Евразийской части ареала (без Кавказа).....	80
3.2.2 Генетическое разнообразие бурых медведей из различных частей ареала.....	86
ГЛАВА 4. ИЗМЕНЧИВОСТЬ МИТХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК.....	88
4.1 Результаты.....	88
4.1.1 Анализ фрагмента мтДНК длиной 1860 п.н.	88
4.1.1.1 Полученные нами последовательности	89
4.1.1.2 Сравнение с данными из GenBank.....	91
4.1.1.3 Анализ кодирующей последовательности гена <i>cyt b</i> (1140 п.н.).....	97
4.1.2 Анализ гипервариабельного фрагмента контрольного региона и фланкирующего фрагмента гена <i>tRNA-Pro</i> (570 п.н.)	100
4.1.2.1 Полученные нами последовательности	100
4.1.2.2 Сравнение с данными из GenBank.....	103
4.1.2.3 Анализ более короткого фрагмента (252 п.н.).....	106
4.1.3 Оценка времени формирования и расхождения гаплогрупп.....	110
4.1.4 Оценка генетического разнообразия при использовании различных фрагментов мтДНК.....	115
4.2 Обсуждение.....	120
4.2.1 Материнские линии бурых медведей Кавказа.....	120
4.2.1.1 Распространение и структура выявленных митохондриальных клад.....	120
4.2.1.2 История формирования филогеографической структуры медведей региона	129
4.2.2 Материнские линии бурых медведей севера Евразии (за исключением Кавказа)	130
4.2.1.1 Распространение митохондриальной клады 3b.....	131
4.2.1.1 Внутренняя структура клады 3b	132
4.2.1.2 Центр переживания и расселения бурого медведя на территории Сибири.....	134
4.2.1.3 Сопоставление популяционной истории клад 3a и 3b.....	136
4.2.3 Реконструкция истории формирования митохондриальных клад бурого медведя и сопоставление с литературными данными.....	142
4.2.4 Сопоставление уровней генетического разнообразия с учетом данных других исследователей.....	148
4.2.4.1 Нуклеотидное разнообразие.....	151
4.2.4.2 Гаплотипическое разнообразие	152
ГЛАВА 5. ИЗМЕНЧИВОСТЬ Y-ХРОМОСОМНЫХ МАРКЕРОВ НА АРЕАЛЕ БУРОГО МЕДВЕДЯ РОССИИ	153

5.1 Результаты.....	153
5.1.1 Характеристика исследуемой выборки и изменчивости выбранных микросателлитных локусов.....	153
5.1.2 Генетическая структура бурого медведя по данным Y-хромосомных микросателлитных локусов.....	157
5.1.2.1 Медианная сеть гаплотипов.....	157
5.1.2.2 Анализ генетических дистанций между образцами.....	159
5.1.3 Y-хромосомный SNP Y-579.1B.....	161
5.1.3.1 Сопоставление генотипов особей по локусу Y579.1B с генетической структурой, выявленной при анализе Y-хромосомных микросателлитных локусов.....	162
5.1.4 Географические закономерности, выявленные при анализе Y-хромосомных генетических маркеров.....	163
5.2 Обсуждение.....	167
5.2.1 Сопоставление полученных данных с данными других исследователей.....	167
5.2.2 Распространение аллелей Y-хромосомного SNP Y-579.1B.....	170
5.2.2.1 Географическое распространение особей, несущих разные аллели.....	170
5.2.2.2 Обсуждение эволюции и скорости изменения Y-579.1B.....	171
5.2.3 Интерпретация наблюдаемой структуры отцовских линий бурого медведя.....	173
5.2.4 Генетическое разнообразие отцовских линий бурого медведя.....	173
ГЛАВА 6. СОПОСТАВЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ МАРКЕРОВ.....	176
6.1 Сопоставление выявленных филогеографических паттернов.....	176
6.1.1 Генетическое своеобразие медведей Кавказа.....	178
6.1.2 Существование долготной структуры в составе материковой популяции бурых медведей Евразии.....	179
6.1.3 Генетическая структура медведей Камчатки.....	185
6.2 Сопоставление уровней генетического разнообразия медведей разных регионов.....	188
6.3 Сопоставление подвидовой и генетической структуры бурого медведя.....	189
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	201
ВЫВОДЫ.....	203
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	205
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	228

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Изучение внутривидовой изменчивости всегда представляло интерес для исследователей. Исторически наиболее распространенным способом изучения внутривидовой изменчивости был анализ морфологии, который для многих видов позволил выделить внутривидовые таксоны и сделать предположения об истории формирования вида. С развитием методов молекулярной биологии все большую роль играет исследование генетических аспектов внутривидовой изменчивости, однако использование генетических методов не заменяет, но дополняет морфологический анализ. Исследование генетических особенностей внутривидовой структуры позволяет выделять отдельные популяции, оценивать степень родства между ними, выявлять группы с особым природоохранным статусом, а также рассматриваемых в качестве эволюционно значимых единиц. Кроме того, результаты молекулярно-генетического анализа дают возможность установить случаи гибридизации и интрогрессии, в том числе в прошлых поколениях, когда морфологические признаки уже не позволяют выявить такие события, а также описать криптические виды.

Методы молекулярной генетики нашли обширное применение в области популяционной экологии. Генетическое разнообразие в значительной степени связано с жизнеспособностью популяций [Charpentier, Williams, Drea, 2008; Howard et al., 2017]. Также генетические методики позволяют проводить индивидуальное определение и дальнейший мониторинг особей, определять степень изоляции популяций, оценивать их численность, а также особенности структурирования.

В последние десятилетия сформировалось новое направление – филогеография, область науки, изучающая принципы и процессы, определяющие географическое распределение генеалогических линий, преимущественно на внутривидовом уровне и между близкими видами [Avice, 2000; Avice et al., 1987]. Одной из задач филогеографии является реконструкция исторических событий и процессов, приводящих к формированию современного ареала и структуры вида. Генетические данные часто позволяют делать это с более высокой достоверностью, чем данные морфологического анализа, а специфика получаемых данных облегчает анализ количественных параметров и датировку интересующих исследователя событий.

Классическим методом реконструкции филогеографической структуры является изучение изменчивости митохондриальной ДНК (мтДНК). Этот генетический маркер обладает достаточно высоким уровнем варибельности, чтобы быть информативным на внутривидовом уровне, и при этом достаточно консервативен, чтобы отражать исторические процессы, имевшие место десятки и сотни тысяч лет назад.

Другим направлением изучения внутривидовой генетической структуры является ландшафтная генетика (landscape genetics). Основным отличием этого направления является фокус на изучении более близких к современности временных промежутков [Holderegger, Wagner, 2008; Manel et al., 2003; Storfer et al., 2007]. Ландшафтная генетика направлена на выявление особенностей взаимодействия вида с условиями среды: климатом, рельефом местности, присутствием других видов, прямым или косвенным антропогенным влиянием. В ландшафтной генетике используются более быстро эволюционирующие маркеры, такие как микросателлиты ядерной ДНК. Помимо этого, микросателлитные локусы обладают достаточной изменчивостью, чтобы обеспечить индивидуальное определение особей.

Бурый медведь (*Ursus arctos* Linnaeus 1758) – крупный хищник, имеющий широкий голарктический ареал, в котором имеются как протяженные непрерывные участки, так и изолированные популяции с различной численностью. Его характеризуют высокий уровень морфологической изменчивости и экологической пластичности, эврибионтность и эврифагия [Гептнер и др., 1967; Пажетнов, 2017]. На территории России находится наиболее многочисленная и географически протяженная часть ареала вида [McLellan et al., 2017]. Изучение генетической структуры бурого медведя представляет интерес как с практических, так и с теоретических позиций. Бурый медведь – важный промысловый вид, также он имеет большое экологическое и культурное значение. Оценка его численности и мониторинг популяций представляют большой интерес для управления популяциями, включая охрану и промысел. В составе данного вида выделяется более десяти подвидов, для некоторых из которых границы распространения до сих пор обсуждаются [Baryshnikov, Mano, Masuda, 2005; Kitchener, 2010; Барышников, 2007; Чернявский, Кречмар, 2001]. Также бурый медведь может выступать как модельный объект для изучения популяционной динамики и истории вида для крупных млекопитающих, ассоциированных с лесными биотопами, и дать много информации об общих закономерностях расселения видов и влияния изоляции на структуру популяции.

В исследованиях филогеографии медведь занимает особое место, так как он был одним из первых крупных млекопитающих, чья внутривидовая структура начала изучаться с использованием молекулярно-генетических методов, что сразу принесло интересные результаты,

показавшие перспективность дальнейших работ в этом направлении [Cronin et al., 1991; Taberlet, Bouvet, 1992, 1994; Taberlet et al., 1995; Talbot, Shields, 1996; Waits et al., 1998a]. До настоящего времени изучение молекулярно-генетических особенностей отдельных популяций и вида *Ursus arctos* в целом сохраняет актуальность и ему посвящено большое число статей, в том числе с использованием ископаемых образцов [Anijalg et al., 2018; Ersmark et al., 2019; Matosiuk et al., 2019; Molodtseva et al., 2022; Salis et al., 2021; Гуськов и др., 2013; Valdiosera et al., 2008].

В то же время, хотя популяции бурого медведя Европы и частично Северной Америки в этом отношении изучены достаточно хорошо, существуют и регионы, данные по которым отсутствуют или их недостаточно. Прежде всего, к таким «белым пятнам» в Евразии относятся Кавказский регион, Сибирь и популяции Центральной Азии. Данные из неисследованных регионов необходимы для формирования более полной картины внутривидового разнообразия и структуры, реконструкции истории формирования современного ареала бурого медведя. Получение новых данных из таких регионов может уточнить и значительно изменить имеющуюся филогеографическую структуру вида, а также обогатить наши представления об истории не только данного вида, но и всего комплекса лесных видов в целом.

Бурый медведь является видом с выраженной филопатрией самок и разными интенсивностью и дальностью расселения самок и самцов, что может отражаться на внутривидовой генетической структуре. Представляет интерес изучение не только изменчивости мтДНК, отражающей филогеографию материнских линий, но и изменчивости бипарентальных и Y-хромосомных маркеров для уточнения «отцовской филогеографии». В отличие от мтДНК, которая является классическим генетическим маркером филогеографических работ, Y-хромосомные маркеры все еще являются менее стандартным выбором для изучения филогеографии млекопитающих.

Степень разработанности темы исследования

Данные о генетической структуре бурого медведя Сибири, Кавказа и Закавказья крайне фрагментарны, а Дальнего Востока России – недостаточно полны по сравнению с Европейской частью ареала. Реконструкция филогеографической структуры вида проводилась разными авторами на основании различных фрагментов мтДНК, что усложняет обобщение полученных результатов. Исследования генетического разнообразия и степени связанности континуальных популяций бурого медведя в масштабе континента с использованием аутомных микросателлитных локусов не проводились. Изучение генетической структуры отцовских линий бурого медведя находится на начальных стадиях, существует всего несколько работ с использованием маркеров Y-хромосомы.

Цель работы - описать генетическую структуру и уровень разнообразия бурого медведя, обитающего на территории России и прилегающих государств, на основании анализа полиморфизма молекулярных маркеров ядерной и митохондриальной ДНК, а также реконструировать возможные сценарии формирования современной филогеографической структуры вида.

В соответствии с целью работы были поставлены следующие **задачи**:

1. Оценить разнообразие бурого медведя, обитающего на территории России и прилегающих стран, включая малоизученные регионы Кавказа и Западной Сибири, на основании результатов анализа полиморфизма аллелей 10 аутосомных микросателлитных локусов ядерной ДНК, имеющих бипарентальное наследование. Оценить уровень межрегиональной генетической дифференциации.
2. Проанализировать изменчивость бурых медведей из различных частей Евразийского ареала, включая малоизученные регионы Кавказа и Западной Сибири, на основании полиморфизма мтДНК (последовательностей гипервариабельного фрагмента контрольного региона и гена цитохрома b с фланкирующими участками), характеризующей разнообразие материнских линий наследования.
3. На основании анализа оригинальных и полученных другими авторами данных по полиморфизму мтДНК определить принадлежность выявленных нами материнских линий к известным общемировымкладам и уточнить филогеографическую структуру бурого медведя Евразии и предположить пути ее формирования.
4. Получить данные об изменчивости маркеров, расположенных на Y-хромосоме (8 микросателлитных локусов и один SNP), и выявить закономерности в распределении отцовских линий на ареале бурого медведя.

Научная новизна работы

Впервые с применением комплекса молекулярных маркеров с разной скоростью эволюции и типом наследования (мтДНК, аутосомные микросателлитные локусы, Y-хромосомные локусы) исследованы бурые медведи, обитающие на территории России и сопредельных стран.

Впервые описаны материнские линии и получены генотипы по ядерным микросателлитным локусам для бурых медведей, обитающих в Западной Сибири и на Северном Кавказе. Среди медведей Кавказа описана новая гаплогруппа мтДНК. Впервые выявлены: в Западной Сибири представители митохондриальной клады, ранее встреченной только на

Восточной Аляске и о. Хоккайдо; на склонах Большого Кавказа – представители клады, ранее описанной на территории Ирана.

Проведена реконструкция филогенетических отношений на основании фрагмента мтДНК длиной 1849 п.н. и дана датировка ключевых событий в истории вида. Получены генетические данные, демонстрирующие вклад медведей древнего рефугиума Западной Сибири в формирование современной генетической структуры *U. arctos*.

На основании анализа микросателлитных локусов показано наличие крупных региональных генетических кластеров в составе континуальной материковой популяции бурого медведя Евразии. Значительно дополнены общемировые данные по отцовским генетическим линиям бурого медведя. Получены данные об изменчивости маркеров Y-хромосомы, свидетельствующие о существовании определенной структуры в пространственном распределении отцовских линий бурого медведя в Евразии. Впервые дана комплексная оценка генетического разнообразия бурого медведя из различных регионов России и сопредельных стран.

Теоретическая и практическая значимость

Полученные в данной работе данные уточняют и обогащают представления о структуре вида *U. arctos* и истории формирования его современного ареала. Результаты и выводы данной работы расширяют знания в области микроэволюции и филогеографии широкоареальных видов крупных млекопитающих. Новые данные о генетической структуре *U. arctos* могут служить основой для дальнейших исследований в области сравнительной филогеографии крупных млекопитающих Евразии. Полученные данные могут в дальнейшем использоваться при планировании природоохранных работ, включающих данный вид, в особенности в Кавказском регионе. Полученные в работе гаплотипы мтДНК существенно расширили объем имеющихся данных для *U. arctos* в международной базе GenBank (NCBI) и могут быть использованы другими исследователями. Результаты данной работы могут быть использованы в пособиях и лекционных курсах по филогеографии и популяционной экологии млекопитающих для студентов ВУЗов.

Методы исследования

Работа выполнена на базе Кабинета методов молекулярной диагностики, входящего в ЦКП «Инструментальные методы в экологии» ИПЭЭ РАН. Проводилась лабораторная обработка образцов тканей бурого медведя и выделение тотальной ДНК с помощью фирменных наборов. Для анализа мтДНК проводилась амплификация нескольких фрагментов: фрагмента контрольного региона (КР) (5'-гипервариабельная область), последовательности гена цитохрома

b (*cyt b*) и фланкирующих участков. Последовательность нуклеотидов устанавливалась методом секвенирования по Сэнгеру. Для анализа аутомных микросателлитных локусов проводилась амплификация десяти выбранных локусов с флуоресцентно мечеными праймерами с последующим определением длин полученных фрагментов с помощью электрофореза на капиллярном секвенаторе. Аналогичная процедура проводилась для анализа восьми Y-хромосомных микросателлитных локусов; для анализа Y-хромосомного полиморфизма Y-579.1B проводилась амплификация прилежащего фрагмента с последующим секвенированием по Сэнгеру. Для статистической обработки проводились байесовская кластеризация, реконструкция филогенетических деревьев методом Байеса, построение медианных сетей гаплотипов (программы *Structure* 2.3.4, *BEAST* 2.6.7, *Network* 10.2.0.0, *Arlequin* 3.5.2.2, *GenAlEx* 6 и другие).

Основные положения, выносимые на защиту

1. На территории Кавказа и Закавказья в позднем плейстоцене существовал рефугиум бурого медведя, который поддерживался по меньшей мере на протяжении последних 120 тысяч лет. Современные медведи Кавказа и Европейской части России не несут следов связывавшего их потока генов, несмотря на предположения о существовании связи между этими популяциями в историческое время.
2. По нашим данным, существует ограничение потока генов между медведями Зауралья и Западно-Сибирской низменности.
3. Для бурого медведя, чья история включала несколько последовательных волн расселения, при которых смешивались представители предыдущих и последующих волн, морфологическая изменчивость и внутривидовая систематика не могут быть напрямую соотнесены с генетической структурой вида.

Личный вклад соискателя

Автор лично проводил все лабораторные процедуры, направленные на получение результатов, описанных в диссертации. Для образцов, предоставленных музеями, процедура отбора материала также проводилась непосредственно автором. Вклад автора в подготовку и написание диссертации составил 90-95%, лабораторная работа, анализ и статистическая обработка полностью выполнены автором.

Степень достоверности и апробация результатов

Материалы работы были представлены на различных отечественных и международных научных конференциях: «Биологическое разнообразие и проблемы охраны фауны Кавказа» (2011, Армения), «Актуальные проблемы экологии и эволюции в исследованиях молодых

ученых» (2012, Россия), Fundamental and applied research in biology: the IIIrd International conference of young scientists (2014, Ukraine), «Динамика популяций охотничьих животных Северной Европы» (2014, Россия), «Биологическое разнообразие и проблемы охраны фауны Кавказа – 2» (2014, Армения), «Структура вида у млекопитающих» (2015, Россия), X Съезд Териологического общества при РАН (2016, Россия), 24th International conference on bear research and management (2016, USA), 26th International conference on Bear Research and Management (2018, Slovenia), Генетика популяций: прогресс и перспективы (2017, Россия), 11th International Conference on Behaviour, Physiology and Genetics of Wildlife (2017, Germany), «Млекопитающие России: фаунистика и вопросы териогеографии» (2019, Россия).

Также материалы работы были представлены на отчетной конференции ИПЭЭ РАН за 2015-2017 годы.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 15 работ, в том числе 4 статьи в изданиях, входящих в перечень научных журналов ВАК и базу цитирования WoS, и глава в коллективной монографии «Bears of the World: Ecology, Conservation and Management».

Реализация и внедрение результатов работы

В рамках подготовки диссертации была выполнена работа по индивидуальному определению медведей, обитающих на территории заповедника «Брянский Лес» совместно с сотрудником заповедника Е.Ф. Ситниковой [Sitnikova, Salomashkina, 2018]. Выполнена видовая идентификация экскрементов и образцов шерсти бурого медведя, впервые встреченного в заповеднике Остров Врангеля [Babiy et al., 2022]. Материалы диссертации использовались в процессе выполнения работ по гранту РФФИ «Своеобразие генетической структуры и история формирования популяции бурого медведя (*Ursus arctos* L., 1758) Кавказа и Закавказья» (проект 16-34-01083 мол_а, рук. Саломашкина В.В.), а также гранту РФФИ «Европейско-сибирская дизъюнкция в филогеографической структуре и генетическом разнообразии парнокопытных (Artiodactyla) и хищных (Carnivora) млекопитающих России» (проект № 10-04-01351 а, рук. Холодова М.В.) и подпрограммы «Динамика и сохранение генофондов» Программы фундаментальных исследований Президиума РАН «Живая природа: современное состояние и проблемы развития».

Структура и объем работы

Диссертация состоит из введения, выводов и 6 глав (обзор литературы, материалы и методы, глава результатов и обсуждения для каждого из трех использованных генетических

маркеров, глава сопоставления полученных результатов). Работа изложена на 249 страницах машинописного текста, включая 227 страниц основного текста и 22 страницы Приложений. Работа содержит 62 рисунка и 28 таблиц в основном тексте, 7 таблиц и 2 рисунка в Приложении. Список литературы включает 264 наименования, в том числе 238 на иностранных языках.

Благодарности

Автор выражает искреннюю благодарность коллективу Кабинета методов молекулярной диагностики ИПЭЭ РАН (П.А. Сорокину, И.Г. Мещерскому, Е.Ю. Звычайной и другим) за обучение методам работы с генетическими материалами, а также помощь и поддержку в течение всего процесса работы над диссертацией. Также автор благодарен всем научным сотрудникам, охотоведам и охотникам, принимавшим участие в сборе образцов, благодаря которым эта работа стала возможной. Автор благодарит своего научного руководителя, Марину Владимировну Холодову, за бесконечное терпение и участие в формировании научных особенностей как диссертации, так и ее автора. Также автор благодарит коллектив Лаборатории геномной инженерии ФГБУ НМИЦ гематологии за моральную поддержку в течение всего времени работы над диссертацией.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Краткая биологическая характеристика вида

Бурый медведь (*Ursus arctos* L., 1758) – крупный хищник семейства медвежьих (Ursidae).

Это зверь, имеющий массивное телосложение, короткий практически скрытый в мехе хвост, очень крупные когти (до 7-10 см по сгибу). Как и для большинства других видов этого семейства, для него характерно полустопохождение. Размеры тела демонстрируют значительную вариабельность: длина тела взрослых самцов от 140-150 см до 245-255 см; высота в холке – до 120-135 см; вес самцов от 120-150 кг до 250-300 кг и более [Барышников, 2007; Гептнер и др., 1967]. В целом отмечается уменьшение размеров тела в направлении с севера на юг и (в Евразии) с востока на запад. Наиболее крупные медведи обитают на архипелаге Кадьяк (в Северной Америке), в Приморье и на Камчатке (в Евразии). Наиболее мелкие особи встречаются в Юго-Восточной Азии. Вес самок обычно не превышает 75% от среднего веса самцов того же размерного класса, их размер тела также значительно ниже, чем у самцов. Можно отдельно отметить, что для бурого медведя характерен очень долгий рост, что обеспечивает возрастную изменчивость размеров. Период интенсивного роста длится примерно до пяти-шести лет, после чего у самок рост почти прекращается, а у самцов – замедляется [Schwartz, Miller, Haroldson, 2003; Пажетнов, 2017]. Из-за долгого периода роста на средний размер особей в популяции накладывает отпечаток интенсивность охоты со стороны человека – чем охота интенсивнее, тем меньше вероятность встретить крупных особей [Гептнер и др., 1967].

Окрас шерсти бурого медведя обычно буро-коричневый, однако подвержен значительным вариациям – от соломенно-желтого и светло-палевого до черно-бурого. Различные варианты окраса могут быть более характерными для определенных регионов (в частности, в южных областях ареала чаще встречаются светлые медведи), при этом для некоторых регионов характерно большое разнообразие окрасов. У медвежат часто встречаются два светлых пятна на шее и загривке, формирующих своеобразный светлый ошейник, который у медведей Центральной Азии и Дальнего Востока иногда сохраняется и во взрослом состоянии [Гептнер и др., 1967]. Полового диморфизма по окраске нет. Линька в году одна, начинается в мае-июне, и продолжается до октября, т.е. летний мех фактически является переходным [Пажетнов, 2017].

Бурый медведь имеет крупный череп с хорошо выраженными гребнями и скульптурой. Зубная формула I 3/3 C 1/1 P 4/4 M 2/3. Кондилобазальная длина черепа взрослых самцов – 276-

428 мм, взрослых самок – 258-397 мм; скуловая ширина – 161-298 мм и 147-247 мм, соответственно [Барышников, 2007].

У взрослых животных (старше шести лет) выражен краниологический половой диморфизм: у самок череп меньше и менее скульптурирован, с более вздутой мозговой коробкой и менее широко разведенными скуловыми дугами. При этом половые различия в размерах черепа выражены слабее, чем в общих размерах тела [Гептнер и др., 1967].

Географическая изменчивость черепа во многом служит основанием для выделения подвидов. Вариабельны как общие размеры черепа, так и пропорциональные соотношения его частей. Это, в частности, позволяет говорить о крупнозубых и мелкозубых, а также о более и менее широкоскулых медведях, как это делает, например, Г.Ф. Барышников [Барышников, 2007].

Бурый медведь является ярко выраженным эврифагом: он питается дикими и культурными растениями, муравьями, мелкими грызунами, рыбой, падалью и при возможности охотится на крупных млекопитающих. Для данного вида характерна крайне высокая экологическая пластичность, которую можно кратко описать, сказав, что звери в каждом регионе питаются ресурсами, наиболее широко представленными в данное время года и имеющими наибольшую пищевую ценность.

В тех областях ареала, где обитают копытные, медведи могут достаточно активно питаться их молодняком [Arthur, Vecchio, 2017; Zager, Beecham, 2006]. Метаанализ исследований по Евразии подтверждает, что максимальный вклад копытных в рацион бурого медведя приходится на весну – время рождения детенышей копытных и выхода медведей из спячки [Niedziałkowska et al., 2019].

Тем не менее, основу рациона вида составляют растительные корма. После выхода из берлоги и до начала вегетации медведи поедают остатки прошлогоднего урожая ягод и орехов, выкапывают корневища; после начала активной вегетации звери переходят на питание более питательным сочным разнотравьем. В конце лета, когда созревают ягоды и плоды, они сразу же занимают основное место в рационе медведя благодаря высокой питательности. В тайге и лесах средней полосы большую роль в питании играют ягоды, на Кавказе к ним добавляются яблоки, груши и прочие плодовые деревья, в Сибири – кедровые «орешки».

В регионах, для которых характерно обилие проходной рыбы (Камчатка, Дальний Восток), медведи активно употребляют ее в пищу [Гептнер и др., 1967].

Медведь также активно использует антропогенные источники пищи. Значительное место в нажировочном питании медведя занимают посевы овса в тех регионах, где они есть. Питание

на овсах тем интенсивнее и вовлекает тем большую часть популяции, чем ниже урожай ягод и других кормов [Пажетнов, 2017]. Другими антропогенным источниками пищи, которые успешно освоили медведи, являются свалки и мусорные контейнеры. В некоторых регионах, например, в национальных парках и городах США, проблема посещения медведями мусорных контейнеров встала настолько остро, что были разработаны специальные «антимедвежьих мусорки» (bear-proof cans), которые можно открыть только с помощью двух человеческих рук [Barrett et al., 2014].

Можно отметить высокую индивидуальную вариабельность пищевого поведения медведя, которая может формироваться в результате обучения в молодом возрасте, а также меняться под действием условий питания в конкретный год. При питании растительностью медведи проявляют индивидуальную избирательность, часто «выбирая» только один или несколько видов растений из всех. Все это позволяет снизить пищевую конкуренцию внутри вида, что дает возможность наиболее полного и эффективного использования доступных ресурсов.

Суточная активность медведя сдвинута на сумеречное и ночное время, часто наибольшую активность звери проявляют именно в сумеречные утренние и вечерние часы [Ordiz et al., 2014; Пажетнов, 2017]. Однако, четкого ритма суточной активности у медведей нет, и в горах они часто кормятся на лугах целый день [Гептнер и др., 1967].

Характерной и общеизвестной чертой бурого медведя является зимняя спячка, которая происходит в берлоге. Во время зимнего сна у медведиц происходят роды и лактация. Для успешного прохождения этого этапа медведям необходимо накапливать жировые запасы, без чего залегание в берлогу становится невозможным. На сроки и продолжительность залегания медведей в берлогу влияют географические особенности, урожайность кормов в этом году, а также индивидуальная упитанность – чем мягче климат, тем позже происходит залегание и раньше выход из берлоги, при этом более упитанные звери залегают в берлогу раньше.

Для большинства медведей характерно наличие определенных индивидуальных участков, которые у самок обычно меньше, чем у самцов. Площадь индивидуального участка значительно варьирует в зависимости от кормности угодий и специфики ландшафта; в умеренных широтах она составляет 20-100 кв. км, однако в других регионах может достигать 500 кв. км и более [Schwartz, Miller, Haroldson, 2003; Swenson et al., 2020; Беликов и др., 1993].

Территориальность медведя не жесткая, в частности, берлоги устраиваются в наиболее подходящем для этого месте, которое может быть расположено вне территории, на которой медведь обитает летом. Часто звери с различных территорий переходят для устройства берлог в

один и тот же район, чтобы весной снова разойтись по своим участкам обитания. Также нарушение территориального устройства происходит в районах с обильными пищевыми ресурсами, куда приходят кормиться звери с близлежащих территорий и питаются рядом друг с другом, не демонстрируя территориальной агрессии. Такие сборища в средней полосе характерны для клюквенных болот и овсов, а на Камчатке и Дальнем Востоке – для мест ловли проходной рыбы или выброшенных на берег больших туш. В горных районах происходят сезонные «кочевки» медведей, также связанные прежде всего со сроками созревания различных кормов.

Самки бурого медведя филопатричны, в то время как самцы активно расселяются. Средняя дальность постнатальной дисперсии самцов составляет около 70 км, самок – около 10 км [Frank, 2017]. При этом максимальные задокументированные расстояния, на которые расселялись самцы бурого медведя, превышают 300 км [Bartoń et al., 2019; Støen et al., 2006].

Продолжительность жизни медведя – около 30 лет, возраст начала размножения составляет 4-8 лет и может значительно различаться для животных из разных регионов [Schwartz, Miller, Haroldson, 2003; Барышников, 2007]. Медведица приносит приплод раз в два-три года, в выводке обычно двое медвежат, но может быть от одного до пяти. Продолжительность беременности – 6-8 месяцев, гон происходит в мае-июле. Медвежата обычно проводят с матерью два года, первую зиму проводя с ней в одной берлоге или залегая в непосредственной близости от нее.

1.2 Ареал бурого медведя

Бурый медведь – вид с циркумполярным ареалом, обитающий как в Старом, так и в Новом Свете. В наиболее простой формулировке можно сказать, что его ареал связан и во многом совпадает с зоной лесов. Тем не менее, ареал обитания медведя заходит на территории тундровой зоны на севере и лесостепной и степной зон – на юге. При этом, как отмечает В.Г. Гептнер: «Медведь не просто лесной зверь, но зверь крупных лесных массивов», в связи с чем его распространение в лесной зоне значительно ограничено антропогенной активностью [Гептнер и др., 1967]. К примеру, в Западной Европе медведь практически отсутствует, за исключением нескольких малочисленных изолированных популяций.

В Евразии помимо «основного» пояса распространения бурого медведя существуют и более южные фрагменты ареала – более или менее протяженные и в общем случае ассоциированные с горными системами, причем часто безлесными. Так, достаточно протяженный ареал медведь имеет в регионе Тибета и Гималаев; не столь обширный, но

достаточно представительный – на Кавказе и в Передней Азии. Также существует уникальная группировка медведей, обитающая в нескольких оазисах в пустыне Гоби. В историческое время медведь также населял Атласские горы в Марокко [Desanges, 2013; Hamdine, Thévenot, Michaux, 1998].

За последнее столетие ареал бурого медведя сократился, в основном в связи с деятельностью человека: разрушением и фрагментацией мест обитания и охотой, в т.ч. и нелегальной. Значительно сократился ареал вида в Северной Америке, на Кавказе и в Закавказье, на Ближнем Востоке, в Европе. При этом в Европейской части России во второй половине XX века, напротив, отмечалось расширение ареала [Вайсфельд и др., 2008], за которым последовало некоторое сокращение в 1990-х годах, связываемое с повышением интенсивности охоты в период социально-политической и экономической нестабильности на территории постсоветского пространства [Bragina et al., 2015]. В Западной Сибири в настоящее время отмечается сокращение ареала вида в его южной части со сдвиганием южной границы обитания к северу, однако на северной границе ареала все чаще фиксируются встречи медведей севернее предполагаемой границы обитания [Babiy et al., 2022; Moskvitina et al., 2017].

На Рисунке 1.1 приведено современное распространение бурого медведя согласно Красной Книге IUCN с некоторыми изменениями. Однако, стоит отметить, что для некоторых регионов к настоящему времени не существует абсолютно надежных и точных данных о распространении вида, а в ряде случаев данные разнятся. Также необходимо учитывать, что данный вид обладает крайне высокой экологической пластичностью и его ареал может довольно сильно измениться за относительно короткое время.

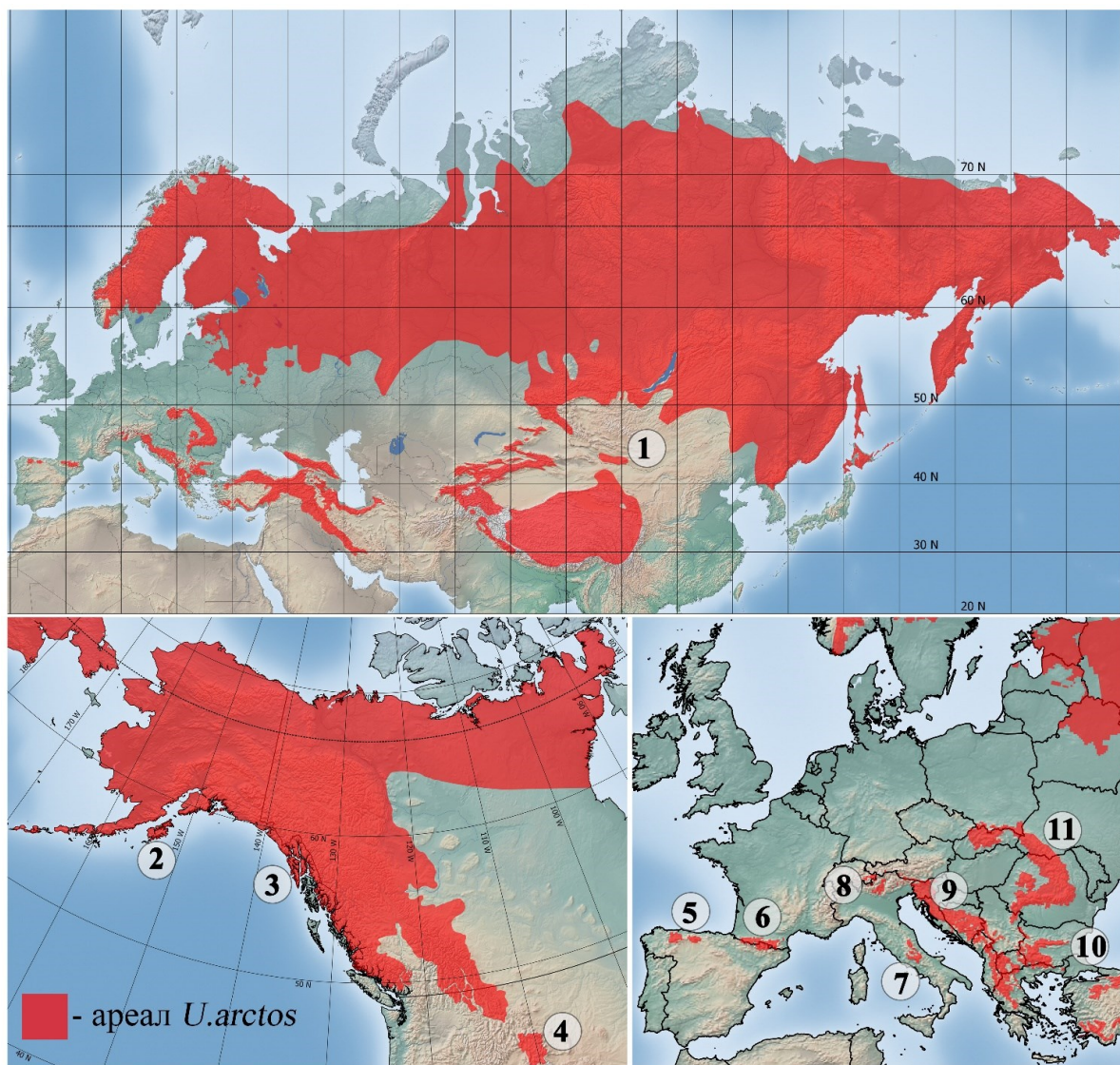


Рисунок 1.1. Ареал бурого медведя *U. arctos* в соответствии с данными красной книги (IUCN, <https://www.iucnredlist.org/>) с изменениями соответствия с [Ambarli, Ertürk, Soyumert, 2016; Ashrafzadeh, Kaboli, Naghavi, 2016; Lortkipanidze, 2010; Вайсфельд и др., 2008]. Некоторые наиболее часто упоминаемые в литературе географические локалитеты изолированного обитания медведей обозначены цифрами: 1 – пустыня Гоби; 2 – архипелаг Кадьяк; 3 – архипелаг Александра (ABC islands); 4 – парк Йеллоустон; 5 – Кантабрийские горы; 6 – Пиренеи; 7 – Апеннинские горы; 8 – Альпы; 9 – Динарско-Пиндосская горная система; 10 – Балканы (включая Рило-Родопский горный массив); 11 - Карпаты.

1.3 Подвидовая структура бурого медведя

Высокий уровень морфологической и краниологической изменчивости бурого медведя не мог не привести к выделению в составе вида большого числа подвидов. Трудности получения материала, в особенности из удаленных частей ареала, сложные паттерны изменчивости вида, а также эволюция представлений о систематике как таковой привели к закономерному усложнению подвидового деления. Основные подвиды, выделяемые в настоящее время, описание их географического распространения, а также краткие пояснения приведены в Таблице 1.1. Более подробно подвидовое деление бурых медведей Старого и Нового Света описаны ниже.

Таблица 1.1. Перечень основных подвидов бурого медведя *Ursus arctos* с пояснениями

Подвид	Описание географического распространения	Примечания
<i>U.a. crowtheri</i> Schinz, 1844	Горы Атласа, Марокко. [Гептнер и др., 1967]	Вымерший
<i>U.a. arctos</i> Linnaeus, 1758	«Европейская часть Союза, Урал, Западная Сибирь приблизительно до Енисея, Алтай (?). Вне СССР – Европа.» [Гептнер и др., 1967]	«Восточная граница распространения этой формы не установлена и, вероятно, очень неопределенна. Есть сведения, что звери этой расы распространяются на восток, особенно на севере Сибири, дальше, чем указано здесь.» [Гептнер и др., 1967]
<i>U.a. marsicanus</i> Altobello, 1921	Центральные Апеннины [Loy et al., 2008]	«Анализ <краниологических параметров> ясно показывает, что Апеннинский медведь морфологически отличается как от западных (Альпы, Пиренеи, Балканы, Родопы), так и от восточных особей (Кавказ и Закавказье), тем самым предполагая, что Апеннинская популяция должна быть пересмотрена как отдельный таксон, а именно <i>U.a. marsicanus</i> .» [Loy et al., 2008]
<i>U.a. pyrenaicus</i> Fischer, 1829	Пиренейские горы	"Размеры медведей из Пиренеев заметно меньше <...>. По среднему значению основной длины они близки к медведям с Апеннинского полуострова <...>. В данной работе я условно сохраняю подвидовой статус для медведей Пиренеев..." [Барышников, 2007]
<i>U.a. yenseiensis</i> Ognev, 1924 (<i>U.a. jenseiensis</i>) = <i>U.a. collaris</i> Geoffroy et Cuvier, 1824 (= <i>U.a. baicalensis</i> , <i>kolymensis</i>)	«Восточная Сибирь, начиная приблизительно от Енисея до Забайкалья, Станового хребта, бассейна Лены и Колымы и вообще Якутии включительно, Алтай (?). Вне СССР – северная часть Монгольской Республики.» [Гептнер и др., 1967]	«...на указанной очень обширной части Сибири обитает популяция, занимающая промежуточное положение («переходная») между европейско-западносибирским <i>U.a. arctos</i> и группой дальневосточных рас» [Гептнер и др., 1967]
	«...вся территория крайнего Северо-Востока Сибири населена восточносибирским подвидом <i>U.a. yenseiensis</i> <...>; граница между <...> <i>U.a. lasiotus</i> и распространенными севернее <...> <i>U.a. yenseiensis</i> проходит предположительно по Становому хребту.» [Чернявский, Кречмар, 2001]	
	«...бурые медведи северо-востока Сибири относятся к номинативному подвиду, а более крупнозубые медведи с юга Сибири (юг Сибири от Алтая до Забайкалья) – к подвиду <i>U.a. collaris</i> (= <i>jenseiensis</i>).» [Барышников, 2007]	

Подвид	Описание географического распространения	Примечания
<p><i>U.a. caucasicus</i> Smirnov, 1916= <i>U.a. meridionalis</i> Middendorff, 1851</p>	<p>«Большой Кавказ, Закавказье, кроме южного, юго-западного и Тальша – на юг включительно до северной Армении и исключая прибрежную область Черного моря на север до района Сухуми.» [Гептнер и др., 1967]</p>	<p>«...<i>U.a. meridionalis</i> представляет собою переходную, очевидно, гибридную расу от группы европейско-сибирских медведей и именно <i>U.a. arctos</i> к группе переднеазиатских медведей и именно <i>U.a. syriacus</i>» [Гептнер и др., 1967]</p>
	<p>«Весь северный Кавказ и Закавказье кроме западных более южных частей его, где граница распространения требует еще уточнения; на восток распространен, по-видимому, в прикаспийских провинциях Персии и, быть может, в Копет-даге» [Адлерберг, 1935]</p>	
	<p>«...медведи Кавказа образуют компактную группу, что позволяет отнести их к 1 подвиду <i>U.a. caucasicus</i>. Они обособлены как от медведей Европейской <i>Rossii U.a. arctos</i>, так и от медведей Передней Азии <i>U.a. syriacus</i>.» [Барышников, 2007]</p>	<p>«...подвидовой статус для каждой морфы не кажется оправданным. <...> В нашем исследовании мы не нашли свидетельств существования механизма изоляции и поэтому не поддерживаем многочисленных попыток разделить кавказских бурых медведей на несколько подвидов.» [Chestin, Mikeshina, 1998]</p>
<p><i>U.a. syriacus</i> Hemprich et Ehrenberg, 1828= <i>U.a. lasistanicus</i> Satunin, 1913</p>	<p>«Черноморское побережье Кавказа на север до Абхазии (район Сухуми), южное Закавказье к югу от озера Севан (в частности Сисианский, Мегринский, Кафанский, Горийский районы Армении, Даль, 1954), Карабахский хребет, область к западу и юго-западу от Севана (склоны горы Арагац), Тальш, Копет-Даг. Вне СССР – Палестина (истреблен), Сирия (частично истреблен), Ливан, Малая Азия, Иран.» [Гептнер и др., 1967]</p>	<p>См. текст относительно медведей Кавказа в обсуждении ниже</p>
<p><i>U.a. isabellinus</i> Horsfield, 1826</p>	<p>«Горы восточной половины Средней Азии – Памиро-Алтайская система и Тянь-Шань на восток до реки Или. Вне СССР – сопредельные части Памиро-Алтая и Тянь-Шаня в Китае (границы распространения на восток неизвестны), западные Гималаи от Читрала на западе до Непала на востоке, Каракорум (?), Вазиристан, Афганистан.» [Гептнер и др., 1967]</p>	<p>«На северо-востоке <i>U.a. isabellinus</i> переходит в европейско-сибирского <i>U.a. arctos</i>. В Джунгарском Алатау обитает промежуточная популяция <...>» [Гептнер и др., 1967]</p>
	<p>Северо-западные и западные хребты Гималаев в Индии, штаты Джамму, Кашмир, Химачал-Прадеш, Уттаракханд [Sathyakumar, 2001]</p>	

Подвид	Описание географического распространения	Примечания
<i>U.a. pruinosus</i> Blyth, 1854	«Тибет, западные части Ганьсу и Сычуани, Кам, восточные Гималаи, крайний юг МНР (?).»; «В собственно Тибете живет только <i>U.a. pruinosus</i> » [Гептнер и др., 1967]	
	«Популяции Непала и Тибетской Автономной Республики в составе Китая принадлежат к подвиду <i>U.a. pruinosus</i> и изолированы от популяции <i>U.a. isabellinus</i> в Индии из-за разрыва ареала между Непалом и Индией.» [Aryal, 2012]	
	Вероятно - Сикким и Аруначал-Прадеш (крайний северо-восток Индии) [Sathyakumar, 2001]	
<i>U.a. gobiensis</i> Sokolov et Orlov, 1992	Заалтайская Гоби - Монголия на границе с Китаем [Амгалан и др., 2016]	
<i>U.a. piscator</i> Pucheran, 1855	«Анадырский край, Камчатка, остров Карагинский, Курильские острова, Охотское побережье на юг до Станового хребта и Шантарских островов включительно. Простирается вглубь материка неизвестно. Вне СССР – остров Святого Лаврентия в Беринговом море.» [Гептнер и др., 1967]	В работе Холла [Hall, 1984] фигурирует под названием <i>U.a. beringianus</i> Middendorff, 1851, как обитающий на острове Святого Лаврентия.
<i>U.a. lasiotus</i> Gray, 1867 = <i>U.a. beringianus</i> Middendorff, 1851	«Уссурийский край, Сахалин, Приамурье на север до широты Шантарских островов и, может быть, до станового хребта, южные Курильские острова. Вне СССР – Северо-Восточный Китай (б. Маньчжурия), Корейский полуостров, остров Хоккайдо» [Гептнер и др., 1967]	«Границы ареала по отношению к камчатскому <i>U.a. piscator</i> и восточносибирскому <i>U.a. yenseiensis</i> не выяснены» [Гептнер и др., 1967]
	Приморье, Сахалин, Шантарские острова [Baryshnikov, Mano, Masuda, 2005; Бaryшников, Пузаченко, 2009]	
<i>U.a. yesoensis</i> Lydekker, 1897 = <i>U.a. ferox</i> Temminck, 1844	О. Хоккайдо и Южные Курилы [Baryshnikov, Mano, Masuda, 2005; Бaryшников, Пузаченко, 2009]	
<i>U.a. middendorffi</i> Merriam, 1896	Архипелаг Кадьяк [Hall, 1984; Rausch, 1963], Kurten, 1973, цит. по [Talbot, Shields, 1996; Бaryшников, 2007]	
<i>U.a. horribilis</i> Ord, 1815	Вся территория Северной Америки, кроме архипелага Кадьяк [Rausch, 1963]	На самом юге ареала истребленный ныне <i>U.a. californicus</i> мог быть отдельным подвидом [Rausch, 1963]

Подвид	Описание географического распространения	Примечания
	Основная часть материкового ареала вида в Северной Америке, за исключением: Аляски на западе (подвид <i>U.a. alascensis</i>), побережья Тихого океана в регионе Британской Колумбии (подвид <i>U.a. dalli</i>) исторически – крайнего юга ареала (подвид <i>U.a. californicus</i>) [Hall, 1984]	«На юге центральной Британской Колумбии между <i>U.a. horribilis</i> и <i>U.a. stikeenensis</i> наблюдается полная интерградация» [Hall, 1984]
	Основная часть материкового ареала вида, за исключением архипелага Кадьяк и прибрежных тихоокеанских областей (Kurten, 1973, цит. по [Talbot, Shields, 1996; Барышников, 2007])	
<i>U.a. dalli</i> Merriam, 1896	Аляска примерно от 140° в.д. (гора Святого Ильи, северное побережье залива Якутат) на юг до реки Алсек и залива Драй, на восток до Британской Колумбии [Hall, 1984] Североамериканское побережье Тихого океана, кроме архипелага Кадьяк, вглубь материка примерно на ширину Берегового хребта – около 200 км (Kurten, 1973, цит. по [Talbot, Shields, 1996; Барышников, 2007])	
<i>U.a. sitkensis</i> Merriam. 1896	Аляска по побережью Тихого океана примерно от реки Алсек и залива Драй на юг примерно до Архипелага Александра включительно; на восток до Британской Колумбии [Hall, 1984]	
<i>U.a. stikeenensis</i> Merriam, 1914	Примерно от 60° с.ш. на севере до 48° с.ш. на юге; на восток примерно до Канадских Скалистых гор. Исторически – на юг до границы штата Калифорния (42° с.ш.), в настоящее время, видимо, до южной границы ареала [Hall, 1984]	
<i>U.a. gyas</i> Merriam, 1902	Полуостров Аляска [Hall, 1984]	
<i>U.a. alascensis</i> Merriam, 1896	Аляска до границы с Юконом на востоке, кроме архипелага Кадьяк и полуострова Аляска. [Hall, 1984]	
<i>U.a. californicus</i> Merriam, 1896	Калифорния [Hall, 1984]	К настоящему моменту истреблен. «Средние различия <между <i>U.a. californicus</i> и <i>U.a. horribilis</i> > могут исчезнуть, если будет проанализировано больше образцов» [Hall, 1984]

1.3.1 Подвидовая структура медведя Евразии

Медведи Евразийской части ареала имеют относительно стабильное подвидовое деление. Разумеется, с течением времени подвидовая систематика для этого континента меняется, а ареалы обитания подвидов уточняются, однако в целом наблюдается преемственность изменений.

В настоящее время в качестве одной из основополагающих работ можно использовать обзор В.Г. Гептнера в книге «Млекопитающие Советского Союза» 1967 года. Гептнер выделял на территории Евразии восемь современных подвидов: *U.a. arctos*, обитающий на территории Европы и переходящий в районе реки Енисей в *U.a. jenseiensis*; *U.a. piscator* – крупный подвид Камчатки и Чукотки; *U.a. lasiotus*, объединяющий зверей с Дальнего Востока, с Хоккайдо и Курильских островов; *U.a. meridionalis*, обитающий на Кавказе и в Закавказье и граничащий с *U.a. syriacus*, обитающим южнее – на Ближнем Востоке; *U.a. pruinosus* – Тибетский медведь, на западе граничащий с *U.a. isabellinus* (Рисунок 1.2). При этом сам Гептнер отмечал, что недостаток данных в ряде случаев не позволяет уверенно определить расположение границы между подвидами – так, он предполагал, что граница между *U.a. arctos* и *U.a. jenseiensis* может быть значительно сдвинута на восток при дальнейших исследованиях, а также с некоторой неопределенностью проводил границу в Тибетско-Гималайском регионе между *U.a. pruinosus* и *U.a. isabellinus*. Помимо этого, можно отметить, что Гептнер полагал подвиды *U.a. jenseiensis* и *U.a. meridionalis* своего рода переходными формами между номинативным подвидом с одной стороны и соседними подвидами с другой: *U.a. arctos/U.a. syriacus* для кавказского *U.a. meridionalis*, *U.a. arctos/U.a. piscator* и *U.a. arctos/U.a. lasiotus* для сибирского *U.a. jenseiensis*.

Во второй половине XX века изменения подвидовой структуры бурого медведя Евразии включали в основном разбиение указанных подвидов с выделением более локальных единиц, а также уточнение и изменение границ распространения уже описанных подвидов.

Так, в отдельный подвид часто выделяют *U.a. gobiensis* – бурого медведя пустыни Гоби, несмотря на его крайнюю малочисленность (всего 20-35 особей) [Амгалан и др., 2016; Барышников, 2007].

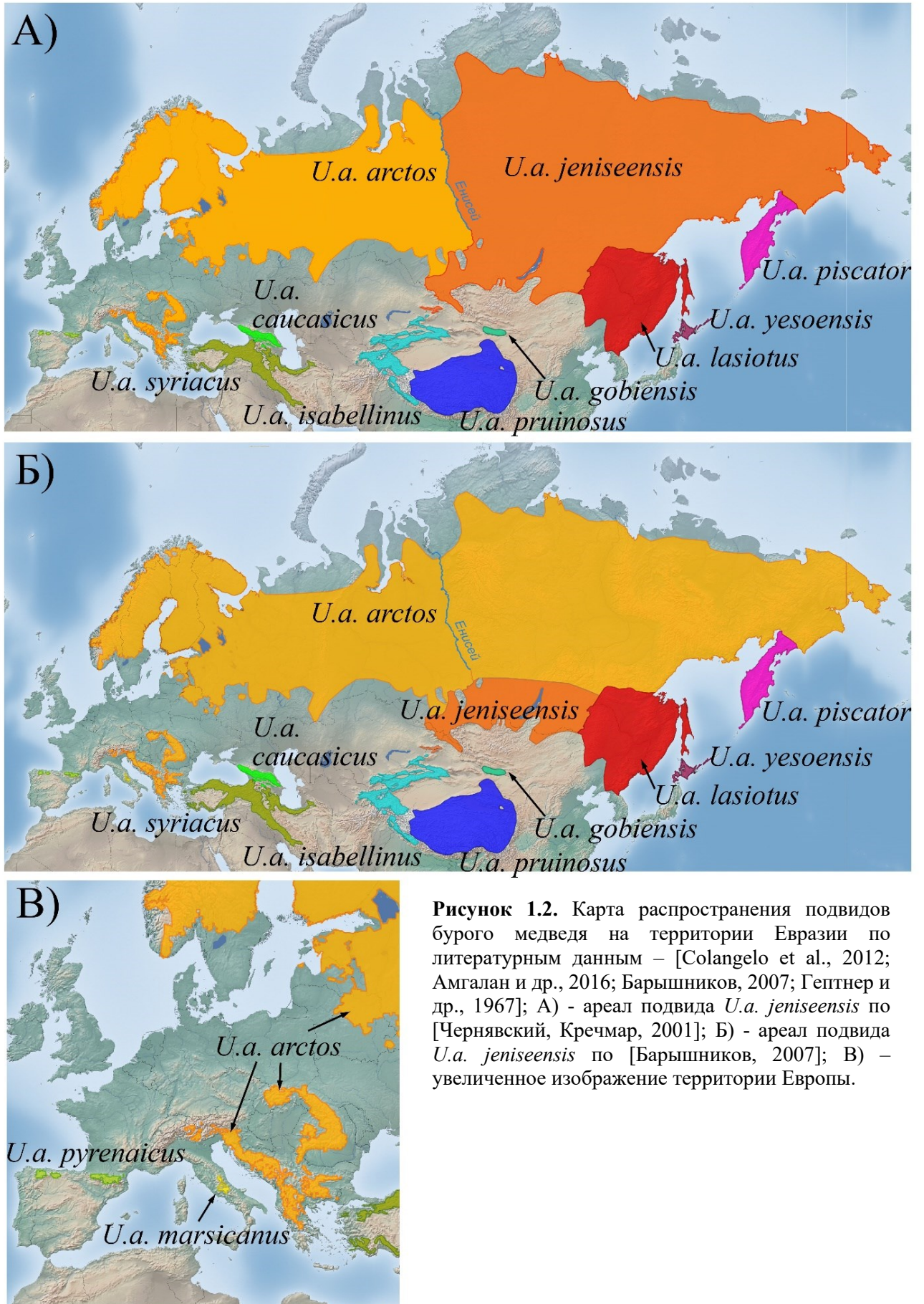
Также в отдельный подвид выделяют *U.a. marsicanus*, обитающий в Апеннинских горах и *U.a. pyrenaicus*, населяющий Пиренеи [Colangelo et al., 2012; Loy et al., 2008; Барышников, 2007]. Предполагается, что к морфологическому обособлению *U.a. marsicanus* могли привести адаптивная изменчивость вкупе с малочисленностью популяции и ее относительно давним отделением от остальных европейских медведей.

В отдельный подвид японского бурого медведя *U.a. yezoensis* выделяются медведи о. Хоккайдо и южных Курильских островов, которые по В.Г. Гептнеру относились к тому же подвиду *U.a. lasiotus* (уссурийский медведь), что и звери, населяющие континент в районе Дальнего Востока и Приморья [Baryshnikov, Mano, Masuda, 2005; Барышников, 2007; Барышников, Пузаченко, 2009].

На Кавказе исторически выделяли до четырёх подвидов, однако неоднократно отмечалось, что, во-первых, в таком случае ареалы каждого из них включают в себя большую часть Кавказа, а с во-вторых, в реальности особи, обладающие крайне различными морфологическими и краниологическими признаками, часто встречаются бок о бок. Более точно было бы называть эти морфологические группировки расами или экоморфами, но присвоение им подвидового ранга можно считать необоснованным [Chestin, Mikeshina, 1998; Адлерберг, 1935]. Статистический анализ краниологических признаков медведей с Кавказа показал, что они достоверно отличаются как от сирийского медведя *U.a. syriacus* с Ближнего Востока, так и от среднерусского медведя *U.a. arctos* с северных территорий [Барышников, 2007].

Предметом обсуждения является подвидовая принадлежность медведей Сибири: если В.Г. Гептнер предполагал, что *U.a. jenseensis* встречается в Сибири на восток от Енисея приблизительно до Забайкалья, будучи ограниченным с востока подвидом *U.a. piscator*, то позже Ф.Б. Чернявский и М.А. Кречмар показали, что восточный край распространения этого подвида совпадает с восточной границей континента, разделяя на побережье Охотского моря зоны обитания камчатского и уссурийского медведей – *U.a. piscator* и *U.a. lasiotus* [Чернявский, Кречмар, 2001]. При этом авторы относили к подвиду восточносибирского медведя *U.a. jenseensis* медведей всего Северо-Востока Сибири, в то время как Барышников указывает, что северная часть ареала населена подвидом *U.a. arctos*, а *U.a. jenseensis* обитает только на юге Сибири [Барышников, 2007; Чернявский, Кречмар, 2001]. Для медведей Якутии описана закономерная географическая изменчивость черепа, однако систематическое положение выделяемых группировок остается не проясненным [Боесков, Пузаченко, Барышников, 2011].

Помимо ныне живущих подвидов выделяется также вымерший подвид *U.a. crowtheri* Blyth, обитавший в Атласских горах (Африка, Марокко) в историческое время [Hamdine, Thévenot, Michaux, 1998], и несколько подвидов, выделенных на ископаемом материале среди медведей плейстоцена.



1.3.2 Подвидовая структура медведя Северной Америки

Для бурых медведей Северной Америки не существует единой общепринятой системы подвидового деления. В начале XX века в работе Харта Мэрриама в составе того, что сейчас считают видом *Ursus arctos*, было выделено два рода, объединявших 75 видов, шесть из которых были разбиты на два подвида каждый, и один – на три подвида. При этом род *Ursus*, включавший 74 из 75 описанных видов, был разделен на 13 групп [Merriam, 1918]. Однако Гарри Шервуд, анализирувавший индивидуальную, половую и возрастную изменчивость бурых медведей Йеллоустона в своем магистерском дипломе, отмечает, что на фотографиях, приведенных Мэрриамом в качестве иллюстрации краниальных различий между видами, присутствуют особи из разных возрастных групп [Sherwood, 1981].

Поскольку такая таксономическая структура, независимо от мотивов ее создания, в наши дни представляет в основном исторический интерес, подробно останавливаться на ней не будем.

К настоящему моменту основополагающими работами по подвидовой систематике бурого медведя Нового Света можно считать статьи Роберта Рауша [Rausch, 1963], Раймонда Холла [Hall, 1984] и Бьорна Куртена (Kurten, 1973, цит. по [Talbot, Shields, 1996; Барышников, 2007]). Поскольку ни один из вариантов не считается общепринятым, далее будут приведены все три предлагаемые подвидовые структуры.

Р. Рауш в своей работе 1963 года приходит к выводу о правомочности выделения только двух подвидов: *Ursus arctos middendorffi* Merriam, обитающего на архипелаге Кадьяк, и *Ursus arctos horribilis* Ord, объединяющего зверей с остальной части американского ареала (Рисунок 1.3-А). При этом в составе подвида *U. a. horribilis* он выделяет несколько векторов клинального увеличения кондиллобазальной длины черепа. Также автор отмечает, что он сам, как и его коллеги, в своих ранних работах склонялся к выделению большего числа подвидов (*U. a. horribilis* Ord; *U. a. middendorffi* Merriam; *U. a. gyas* Merriam; *U. a. richardsoni* Swainson; *U. a. californicus* Merriam), однако в дальнейшем пришел к выводу, что более корректным было бы считать эти подвиды «локальными демами» (local demes), поскольку есть основания предполагать, что все они на границах распространения смешиваются с соседними [Rausch, 1963]. Интересно отметить, что Р. Рауш считал, что число подвидов бурого медведя в Евразии также может быть пересмотрено в сторону уменьшения. Можно предполагать, что объединение почти всех медведей Северной Америки в единственный подвид *U. a. horribilis* может быть не только отражением особенностей реальной изменчивости краниальных признаков на данной территории, но и выражением взгляда автора на сам принцип выделения подвидов.

Также можно отметить работу Бьорна Куртена, в которой на территории Северной Америки было выделено три подвида: *U.a. middendorffi* Merriam, включающий зверей с архипелага Кадьяк, *U.a. dalli* Merriam, населяющий побережье Тихого океана, и *U.a. horribilis* Ord, объединяющий медведей остальной части ареала Северной Америки (Kurten, 1973, цит. по [Talbot, Shields, 1996; Барышников, 2007]) (Рисунок 1.3-Б).

Ю. Р. Холл в работе 1984 года, напротив, выделяет на территории Северной Америки восемь подвидов: *U.a. alascensis* Merriam, *U.a. californicus* Merriam, *U.a. dalli* Merriam, *U.a. gyas* Merriam, *U.a. horribilis* Ord, *U.a. middendorffi* Merriam, *U.a. sitkensis* Merriam, *U.a. stikeenensis* Merriam (Рисунок 1.3-В). Однако, подвиды *U.a. horribilis*, *U.a. dalli* и *U.a. californicus* в его работе представлены довольно небольшим числом особей, и автор даже отмечает, что подвиды *U.a. horribilis* и *U.a. californicus* могут при увеличении выборки слиться в один [Hall, 1984].

Единственным подвидом, который выделяют все три автора, является *U.a. middendorffi*, представленный крупными медведями с архипелага Кадьяк.

При сравнении карт, показывающих географическое распространение материковых подвидов, выделяемых этими тремя авторами, можно заметить некоторые закономерности. Во всех трех работах отмечается различие между медведями прибрежного региона и зверями внутренней части ареала: Холл выделяет в прибрежной зоне четыре подвида, сменяющих друг друга по мере продвижения по побережью с юга на север; Рауш располагает в этой же зоне два вектора клинальной изменчивости, также ориентированных параллельно береговой линии, а Куртен объединяет всех прибрежных медведей в единый подвид, отдельный от материкового. Помимо этого, в работах Рауша и Холла описывается закономерная изменчивость краниологических параметров в регионе севера Канады и Аляски, однако Рауш лишь размещает в этой зоне вектор клинальной изменчивости, направленный с востока на запад, а Холл разбивает исследованных зверей из этого региона на два подвида, западный *U.a. alascensis* и восточный *U.a. horribilis*.

Можно предполагать, что наблюдаемая изменчивость бурого медведя Северной Америки носит закономерный характер, однако позволяет широкое толкование этих закономерностей, во многом зависящее от личных взглядов автора. Примечательно, что Холл, например, проводит границу между подвидами *U.a. alascensis* и *U.a. horribilis* просто по границе Канады и штата Аляска, проходящей по 141° западной долготы, в результате чего граница распространения подвидов выглядит как прямая линия, без учета рельефа, рек и населенных пунктов.

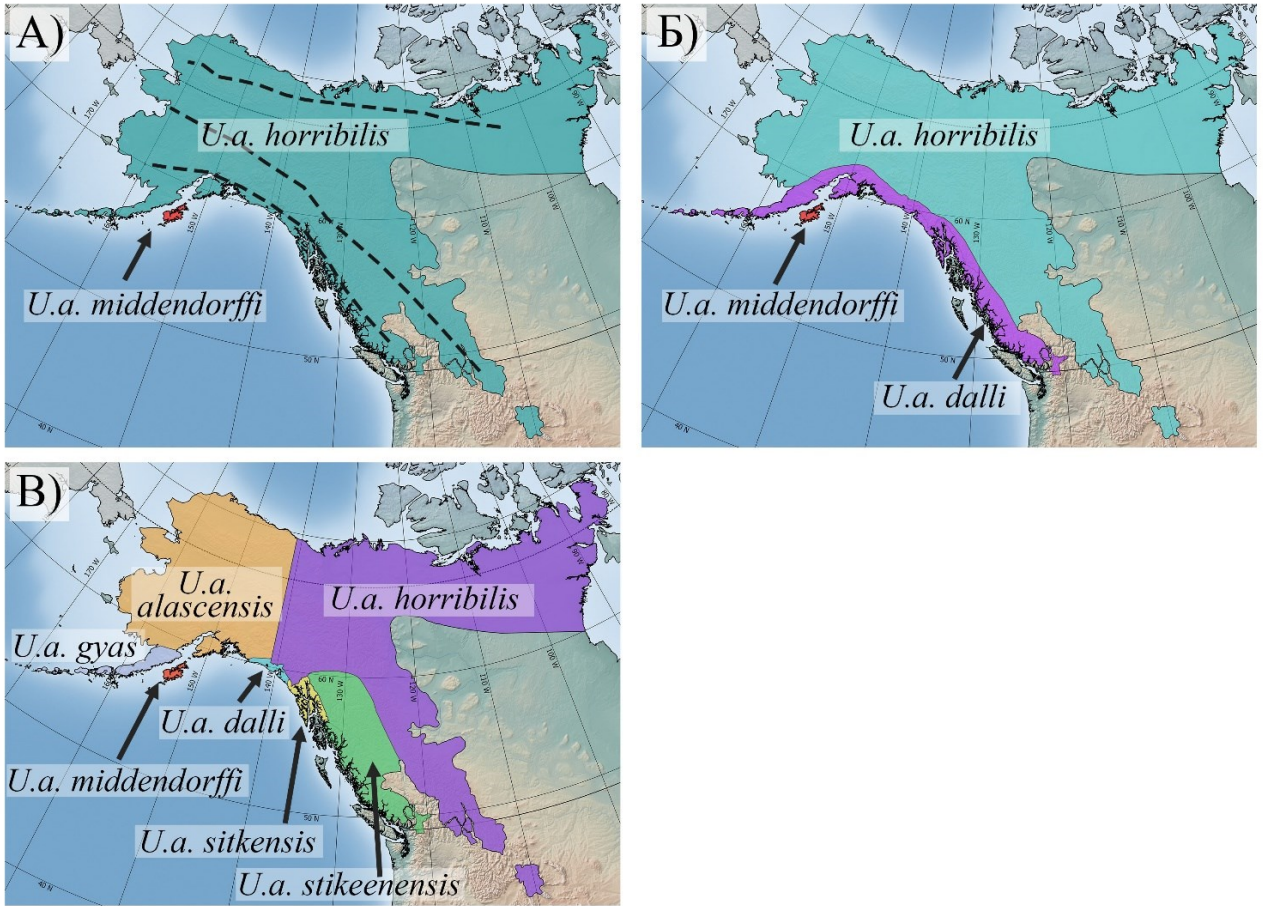


Рисунок 1.3. Карта распространения подвидов бурого медведя в Северной Америке по литературным данным: А) по [Rausch, 1963], пунктирные линии соответствуют выделенным автором векторам клинальной изменчивости; Б) по Kurten, 1973, цит. по [Talbot, Shields, 1996; Барышников, 2007]; В) по [Hall, 1984].

1.4 Обзор исследований генетической структуры бурого медведя

1.4.1 Особенности используемых генетических маркеров

Изучение генетической структуры вида как правило происходит в одном из нескольких основных направлений: изучение филогеографии, изучение популяционных характеристик и/или генетического разнообразия, изучение ландшафтной генетики (landscape genetics). Филогеография - это область науки, изучающая принципы и процессы, определяющие географическое распределение генеалогических линий, в особенности на внутривидовом уровне и между близкими видами [Avice, 2000; Avice et al., 1987]. Филогеографическая структура вида как правило рассматривается в историческом контексте, предполагая реконструкцию истории формирования и изменений вида или популяции. Изучение генетического разнообразия, в отличие от филогеографических исследований, может не иметь исторического аспекта и включать только описание и сопоставление нынешних уровней генетической изменчивости видов или популяций. Это направление чаще всего имеет природоохранную направленность, так как предполагается, что снижение генетического разнообразия приводит к снижению жизнеспособности популяции. Ландшафтная генетика представляет собой относительно новое направление генетики популяций, сочетающее методику популяционной генетики с экологическим подходом. Это направление исследований ориентировано главным образом на выявление закономерностей в распределении генетических линий в пространстве, однако в отличие от филогеографии фокусируется главным образом не на исторических, а на современных факторах, таких как антропогенная трансформация среды, особенности рельефа и биотопа, межвидовая и внутривидовая конкуренция.

Соответственно, выбор используемых генетических маркеров определяется тем направлением, в котором проводится исследование, т.к. для решения задач каждого из направлений генетические маркеры должны обладать некоторым набором свойств.

Генетический маркер, использующийся в филогеографии, должен иметь филогенетический сигнал, т.е. отражать последовательность событий в эволюции маркера. Также он должен обладать скоростью изменения и накопления изменений, подходящей для конкретной задачи – она не должна быть слишком маленькой, иначе не удастся разделить генетические линии, или слишком большой, иначе в результате накопления повторных замен уровень «шума» окажется слишком велик.

Этим условиям лучше всего соответствует мтДНК и как правило, в филогеографических работах используется именно она. При использовании достаточно протяженного фрагмента

мтДНК сила филогенетического сигнала, как правило, оказывается достаточной для проведения реконструкций на внутривидовом уровне. Различные участки молекулы мтДНК имеют различную скорость эволюции, что позволяет выбирать для конкретных исследований участок с подходящим уровнем изменчивости. МтДНК не участвует в кроссинговере, в отличие от аутосомных хромосом, что позволяет пренебречь процессом рекомбинации в ходе полового размножения. Также она является гаплоидной, что упрощает процесс статистической обработки полученных данных. В то же время, этот генетический маркер обладает некоторыми ограничениями: поскольку мтДНК передается только от матери к дочери, она не отражает эволюцию мужской линии; также эффективная численность для мтДНК оказывается в 4 раза меньше, чем эффективная численность для аутосом, что приводит к большему влиянию случайных процессов и колебаний численности [Allendorf, Luikart, 2007].

Для работы с популяционной и ландшафтной генетикой и оценкой генетического разнообразия выбранные маркеры могут не иметь филогенетического сигнала, т.к. в задачи как правило не входит реконструкция истории формирования популяций. Однако от них требуется более высокий уровень изменчивости, позволяющий отследить процессы, идущие в популяциях в исторически близкое время, и более подробно описать генетическое разнообразие; также часто требуется возможность индивидуальной идентификации особей.

Долгое время наиболее подходящим типом генетических маркеров для такого вида работ были аутосомные микросателлитные локусы – фрагменты ядерной ДНК, состоящие из повторяющихся коротких фрагментов-мономеров, расположенных один за другим «голова к хвосту». Благодаря такой организации повтора, эти участки быстро эволюционируют в результате «проскальзывания» полимеразы при репликации ДНК или неравного кроссинговера, что приводит к укорочению или удлинению повторяющегося участка на один или несколько мономеров. Отдельный микросателлитный участок ДНК, амплифицируемый одной парой праймеров, называется локусом; каждый вариант длины фрагмента (числа повторов мономера), выявленный в локусе, называется аллелью. Поскольку для каждого локуса возможно множество вариантов числа повторов, микросателлитные локусы являются полиаллельными; сочетание нескольких локусов обычно удовлетворяет всем предъявляемым для популяционной генетики требованиям.

Другим генетическим маркером, используемым в популяционной генетике, являются индивидуальные нуклеотидные полиморфизмы (SNP – Single Nucleotide Polymorphism), представляющие собой позиции генома, в которых часто происходят замены одного нуклеотида на другой. Этот тип маркеров, с одной стороны, может обладать достаточным уровнем

изменчивости для успешной работы с современными популяциями, с другой – может обладать достаточной силой филогенетического сигнала, чтобы сделать возможной одновременную реконструкцию филогенетических отношений между генотипами. SNP могут располагаться как на аутосомах, так и на половых хромосомах, что делает возможной оценку как общей генетической изменчивости, так и изменчивости отцовской и материнской генетических линий по-отдельности. Основным недостатком этого типа маркеров является высокая стоимость и сложность анализа: так как, в отличие от микросателлитных локусов, каждый отдельный SNP, как правило, имеет только две аллели, для получения достаточного количества информации требуется использование очень большого числа локусов.

1.4.2 Митохондриальная ДНК

Изучение изменчивости мтДНК бурого медведя началось в первой половине 1990-х годов, когда появились первые работы, посвященные этому виду, и продолжается до сих пор. Общее число публикаций о структуре и филогеографии материнских линий бурого медведя к 2022 году составляет более 70. Первые исследования генетических особенностей бурого медведя Европы велись с целью выявить популяции, пригодные и непригодные для дальнейшего обогащения малочисленной и уязвимой популяции медведей Пиренеев, а в перспективе и других популяций Западной Европы, находящихся в столь же сложном положении. Американских исследователей, судя по всему, исходно интересовала прежде всего возможность использования генетических маркеров для прояснения внутривидовой структуры бурого медведя, которая на этом континенте была и остается дискуссионной (см. выше).

На начальных этапах каждая команда исследователей разрабатывала свою систему наименований для описываемых генетических групп, однако в 2000 году вышла работа [Leonard, Wayne, Cooper, 2000], которая не претендовала на универсальность, но с течением времени номенклатура, использованная в этой статье, стала более или менее общеупотребительной. Поэтому в целях упрощения восприятия далее в обзоре исследований будет использована именно она, в том числе и для работ, выпущенных ранее. Данные о современном географическом распространении митохондриальных клад бурого медведя приведены в Таблице 1.2 и на Рисунке 1.4.

В настоящее время для *Ursus arctos* описаны митохондриальные клады 1, 2а, 3а, 3b, 3d, 4, 5, 6, 7.

Митохондриальная клада 1 выявлена у медведей Западной Европы. Поскольку она является одной из первых клад, описанных для бурого медведя [Taberlet, Bouvet, 1992], и

поскольку первые работы были посвящены медведям Европы, она также называется Западноевропейской митохондриальной кладой. Клада 1 распадается на несколько субклад, три из которых являются современными: 1a, 1b, 1d.

Субклада 1a представлена медведями Кантабрийских гор (Испания), Пиренеев (Франция, Испания) и Южной Скандинавии. Также она называется Иберийской кладой, поскольку первые интерпретации филогеографической структуры медведей Европы предполагали расселение из нескольких рефугиумов, и рефугиум субклады 1a в соответствии с этой гипотезой располагался на Иберийском полуострове [Taberlet, Bouvet, 1994]. Она обладает достаточно низким уровнем разнообразия по сравнению с другими митохондриальными кладами, а ее структура представляет собой компактную звездообразную структуру. Исторически представители этой клады обитали также в Северной Африке (Алжир), где сейчас бурый медведь отсутствует [Calvignac et al., 2008].

Субклада 1b представлена медведями Апеннин, Альп и горных систем Балканского полуострова и Южной Европы, и также известна под названием Итало-Балканской клады [Kocijan et al., 2011; Kohn et al., 1995; Pylidis et al., 2021; Taberlet, Bouvet, 1994]. Также в Турции были выявлены две особи, принадлежащие к этой кладе [Çilingir et al., 2016].

Субклада 1d изначально была описана для ископаемых медведей Ливана [Calvignac, Hughes, Hänni, 2009] и считалась полностью вымершей, однако более поздняя работа выявила эту кладу у одного из современных медведей юга Турции [Çilingir et al., 2016].

Ареал клады 1b пересекается с ареалом клады 3a в юго-восточной Европе, а именно в Карпатских и Балканских горах, где представители этих клад обитают симпатрически. При этом в составе Карпатской популяции удалось выявить закономерности распределения клад 1 и 3a, которые позволяют предположить, что ранее этот регион был населен только представителями клады 1b, а представители клады 3a вселились туда позже [Matosiuk et al., 2019; Zachos et al., 2008].

Помимо зоны совместного обитания с представителями клады 3a в Карпатах, есть основания предполагать, что сходная зона смешения клад существует и в Турции, однако имеющиеся данные пока слишком спорадические для уверенных выводов.

Помимо этого, ареал клады 1 (на этот раз – субклады 1a) контактирует с ареалом клады 3a в Скандинавии, однако в данном случае представители клад обитают аллопатрически: популяция медведей Скандинавии фактически состоит из четырех основных ядер, где наиболее южное представлено медведями из клады 1a, в три более северных – медведями из клады 3a. При этом гибридная зона между южным ядром и более северными ядрами является стабильной, и обмен

особями, судя по всему, осуществляется за счет миграции самцов, что не приводит к перемешиванию материнских линий [Kohn et al., 1995; Taberlet et al., 1995].

Поскольку современный ареал медведей Европы представляет собой ряд изолированных популяций, клада 1 не имеет современных контактов с другими митохондриальными кладами.

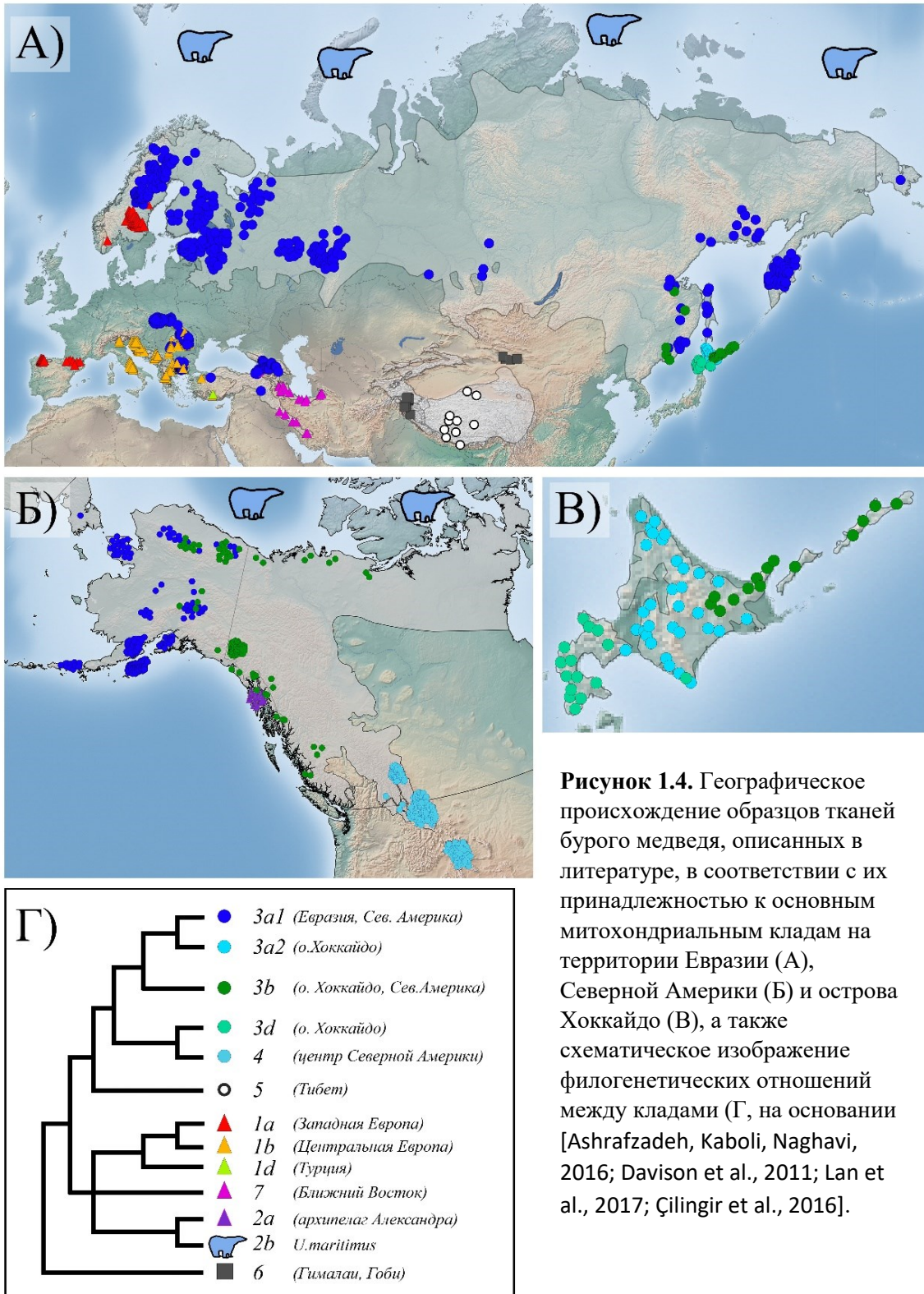


Рисунок 1.4. Географическое происхождение образцов тканей бурого медведя, описанных в литературе, в соответствии с их принадлежностью к основным митохондриальным кладам на территории Евразии (А), Северной Америки (Б) и острова Хоккайдо (В), а также схематическое изображение филогенетических отношений между кладами (Г, на основании [Ashrafzadeh, Kaboli, Naghavi, 2016; Davison et al., 2011; Lan et al., 2017; Çilingir et al., 2016]).

Таблица 1.2. Современное географическое распространение основных митохондриальных клад бурого медведя.

Название	<i>Западноевропейская</i>				
Номер	<i>1a</i>	<i>1b</i>	<i>1d</i>	<i>2a</i>	<i>2b</i>
Ареал	Кантабрийские горы, Пиренеи, Скандинавия	Альпы, Апеннины, Карпатские горы, Балканские горы, Динарские горы, Анатолия	Анатолия	архипелаг Александра	Белый медведь
Название	<i>Восточноевропейская</i>				
Номер	<i>3a1</i>	<i>3a2</i>	<i>3b</i>	<i>3d</i>	<i>4</i>
Ареал	Аляска, Скандинавия, Карпатские горы, Балканские горы, Анатолия, Кавказские горы, Восточная Европа, Урал, Камчатка, побережье Охотского моря	Хоккайдо (центр)	Хоккайдо (восток), Север Северной Америки, побережье Охотского моря	Хоккайдо (юг)	Центр Северной Америки
Название			<i>Иранская</i>		
Номер	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>		
Ареал	Тибет	Гималаи, пустыня Гоби	Иранское нагорье, Анатолия		

Митохондриальная кладка 2 также распадается на две субклады – 2a и 2b, однако кладка 2b в наши дни представлена только белыми медведями. Все ныне живущие белые медведи принадлежат к этой митохондриальной кладке (но см. [Kosintsev et al., 2022]). Предполагается, что такое положение является результатом нескольких случаев гибридизации и интрогрессии [Cahill et al., 2018; Edwards et al., 2011; Ersmark et al., 2019; Kumar et al., 2017; Liu et al., 2014; Salis et al., 2021]. Бурые медведи, несущие кладку 2a, обитают на трех островах архипелага Александра (ABC-islands), расположенного у западного побережья Северной Америки. В настоящий момент все исследованные медведи из этого архипелага принадлежат к кладке 2a, и не известно ни одного зверя из других регионов, принадлежащего к этой кладке [Shields et al., 2000; Talbot, Shields, 1996].

Митохондриальная суперклада 3 согласно цифровому обозначению соответствует уровню кладки, однако составляющие ее гаплогруппы настолько широко распространены и так отличаются друг от друга, что чаще говорят о кладках 3a, 3b и т.д., а субкладами называют внутренние ветви этих клад.

Митохондриальная кладка 3a является наиболее широко распространенной.

Представители кладки 3a1 выявлены в наиболее протяженной популяции медведей, охватывающей всю северную часть Евразии: западный край распространения этой кладки совпадает с западным краем ареала вида в Восточной Европе, при этом до последнего времени все описанные особи из Восточной Европы, Прибалтики, Фенноскандии, Европейской части России и Урала, Камчатки принадлежали к кладке 3a1 (но см. выше зону контакта с кладкой 1) [Korsten et al., 2009; Taberlet, Bouvet, 1994]. Долгое время предполагалось, что кладка 3a является единственной митохондриальной кладкой в основной популяции Евразии, несмотря на эпизодическое упоминание в одной из работ, посвященных Северной Америке, образца из Приморского края, принадлежащего к кладке 3b [Miller, Waits, Joyce, 2006]. Только более поздняя работа В. Гуськова показала, что на территории Приморского и Хабаровского краёв медведи из кладки 3a1 обитают симпатрически с представителями кладки 3b [Гуськов и др., 2013].

Представители кладки 3a населяют западную оконечность Аляски [Talbot et al., 2006; Talbot, Shields, 1996; Waits et al., 1998a]. Также к кладке 3a1 принадлежат некоторые ископаемые образцы бурых медведей с Ближнего Востока и некоторые современные медведи, принадлежащие к ближневосточному подвиду *U.a. syriacus* [Calvignac, Hughes, Hänni, 2009].

Современный ареал клады 3a имеет две зоны симпатрического обитания с другими митохондриальными кладами (Карпатско-Балканская популяция и Дальний Восток России) и три устойчивые контактные зоны (Скандинавия, о. Хоккайдо, Аляска). На Аляске ареал клады 3a1 контактирует с ареалом клады 3b, однако в данном случае имеет место гибридная зона, расположенная в районе 155-165° западной долготы, к западу от которой обитают представители клады 3a, а к востоку – представители клады 3b [Talbot, Shields, 1996; Waits et al., 1998a].

В составе клады 3a выделяют две субклады – 3a1 и 3a2, где в субкладу 3a2 входит относительно компактная ветвь медведей с острова Хоккайдо, а в субкладу 3a1 – все остальные гаплотипы клады 3a.

В большинстве работ внутренняя структура клады 3a1 получалась неразрешенной, в результате чего основной гипотезой стала идея формирования ее ареала в результате быстрого и недавнего расселения мономорфной группы особей. Предполагалось расселение из единственного рефугиума, который мог располагаться в Карпатах, на Урале или даже на Кавказе [Davison et al., 2011; Korsten et al., 2009; Saarma et al., 2007].

Однако, анализ не фрагментов мтДНК, а полного митогенома, впервые проведенный для представителей Евразийской части ареала и описанный в работе [Keis et al., 2013], показал, что выделение в составе этой мономорфной клады внутренних ветвей возможно. Развитие эта идея получила в работе [Anijalg et al., 2018], в которой авторам впервые удалось выявить в составе клады 3a1 четкую и статистически достоверную структуру. Филогеографические закономерности, выявленные в составе клады 3a1, позволили авторам реконструировать историю расселения предковых популяций и предположить существование рефугиальных областей в Алтае-Саянском регионе и позже на Урале и Берингии – области суши от р. Лена до Канады, которая обнажалась в период последнего оледенения. Согласно результатам авторов, наиболее давно (при рассмотрении только ныне живущих медведей) отделились предки нынешних медведей Хоккайдо, принадлежащих к кладе 3a2, затем предки медведей Румынии и Болгарии. После этого последовательно происходили следующие волны расселения: на Аляску и Камчатку; в Приморье, на Сахалин и Камчатку; в Европейскую часть России и Европу; на Урал и в район Магадана. При этом датировки этих событий подтверждают идею Beringian Standstill, выдвинутую для человека – функционирование Берингийского моста не как коридора расселения, а как самостоятельной области, в которой животные успешно обитали достаточно длительное время, и только после этого расселялись далее в Северную Америку

Здесь уместно отдельно отметить, что медведи острова Хоккайдо формируют три аллопатрические группировки с разными митохондриальными кладами [Matsushashi et al., 1999,

2001]: наиболее южная часть острова населена медведями из клады 3d, центральная – медведями из клады 3a2, а северо-восточная – медведями из клады 3b. На данный момент считается, что такая структура была сформирована в ходе трех последовательных волн заселения острова через существовавший сухопутный мост с Сахалином [Hirata et al., 2013].

Митохондриальная клада 3b – вначале представители этой клады были описаны только в Северной Америке, где они обитают на основной части современной североамериканского ареала вида – от центральной Аляски до границы США, где ареал обитания этой клады ограничивается ареалами клад 3a и 4, соответственно [Shields et al., 2000; Talbot, Shields, 1996; Waits et al., 1998a, 1998b]. Однако далее было показано, что к кладе 3b относятся медведи северо-восточной части острова Хоккайдо, на островах Курильской гряды, а также представители клады были обнаружены на Дальнем Востоке России [Hirata et al., 2013; Matsushashi et al., 1999; Гуськов и др., 2013].

Митохондриальная клада 3d – представлена исключительно медведями южной части острова Хоккайдо [Matsushashi et al., 2001].

Митохондриальная клада 4 – клада центра Северной Америки, в настоящее время представленная медведями крайнего юга североамериканской части ареала на границе США и Канады, а также изолированной популяции Йеллоустонского национального парка [Waits et al., 1998b]. Ранее, до резкого сокращения ареала бурого медведя в США, представители этой клады обитали на всей южной части ареала до границы с Мексикой, и все исторические образцы бурых медведей, датируемые последними столетиями и происходящие с этих территорий, принадлежат только к кладе 4 [Miller, Waits, Joyce, 2006]. Это дает основания предполагать, что в этом регионе, также как на Аляске, не было симпатрического обитания представителей разных клад, но имели место соприкасающиеся ареалы.

Отношения клад 4 и 3d неясны, так как у различных исследователей, в зависимости от филогенетической реконструкции, медведи центра Северной Америки и юга Хоккайдо могут формировать как монофилетическую группу, так и две независимые ветви [Lan et al., 2017; Tumendemberel et al., 2019]. Соответственно, в работах некоторых авторов можно встретить обозначение медведей южного Хоккайдо как «клады 4».

Митохондриальная клада 5 – Тибетская клада.

Отдельные образцы тканей бурых медведей континентальной Азии – пустыни Гоби, Тибета и Гималаев – получали разные исследователи. Однако из-за того, что эти образцы были единичными, а также из-за использования коротких фрагментов мтДНК долго не удавалось

установить филогенетическое положение этих материнских линий. Ранние работы показывали только, что медведи, населяющие эти труднодоступные места, несут уникальные и разнообразные митохондриальные линии [Galbreath, Groves, Waits, 2007; Masuda et al., 1998; McCarthy, Waits, Mijiddorj, 2009; Miller, Waits, Joyce, 2006]. Использование более длинных фрагментов мтДНК показало, что клада 5 родственна кладам 3 и 4 [Segawa et al., 2021; Tumendemberel et al., 2019].

Митохондриальная клада 6 представлена медведями пустыни Гоби и Гималаев, в том числе, севера Пакистана (но не Тибетского плато) и является на данный момент наиболее отличающейся кладой, т.е. кладой, дивергировавшей от остальных описанных митохондриальных клад первой [Lan et al., 2017; Tumendemberel et al., 2019]. Скорее всего, в составе данной клады присутствует внутренняя структура, однако имеющихся на сегодня данных недостаточно, чтобы ее обсуждать.

Митохондриальная клада 7 – одна из «именных клад», которая более часто называется Иранской, поскольку редкие образцы (в том числе ископаемые) из стран Ближнего Востока часто принадлежали к этой кладе, и предполагалось, что центром ее возникновения могли быть территории Иранского нагорья [Calvignac et al., 2008; Calvignac, Hughes, Hänni, 2009; Miller, Waits, Joyce, 2006]. Исследование генетических линий бурого медведя Ирана показало, что все исследованные особи из Ирана несут именно эту митохондриальную кладу, и она имеет высокий уровень разнообразия и выраженную географическую структуру [Ashrafzadeh, Kaboli, Naghavi, 2016]. Статистически достоверно определить положение этой митохондриальной клады на дереве относительно других мировых клад авторам не удалось – в их филогенетической реконструкции Иранская клада заняла сестринское положение по отношению к ветвям клад 1+2 и 3+4.

Изучение медведей Турции также выявило в составе популяции медведей Анатолии представителей этой клады, при этом уровень разнообразия турецкой части Иранской клады не уступал разнообразию зверей номинативной части ареала. Авторы выделили в составе получившейся клады две ветви, уникальные для медведей Турции, и присвоили ей номер 7 для удобства дальнейшего обращения [Çilingir et al., 2016].

Несмотря на значительное число работ, посвященным изучению мтДНК бурого медведя, ряд регионов остался неизученным. В частности, очень мало данных о генетических характеристиках медведей Сибири, Средней Азии, Ближнего Востока и Кавказа. Все эти регионы могли играть важную роль в формировании современной филогеографической структуры вида.

Добавление последовательностей мтДНК от зверей из новых локалитетов позволит расширить знания о филогеографии этого вида.

1.4.3 Микросателлитные локусы

Аутосомные микросателлитные локусы относятся к наиболее быстро изменяющимся участкам ДНК, что определяет их основные свойства и сферы использования. Микросателлитные локусы чувствительны к изменению демографических параметров популяции, позволяя оценить влияние на нее изменений среды.

Для бурого медведя применение этого типа генетических маркеров началось в 1990-х годах, примерно тогда же, когда появились первые работы по анализу мтДНК. Быстро стало понятно, что изменчивость микросателлитов позволяет применять их для индивидуальной идентификации особей, а скорость эволюции делает их оптимальным маркером для исследования относительно недавних событий в популяциях. К тому же достаточно быстро были разработаны методы амплификации микросателлитных локусов из источников ДНК низкого качества, главным образом, экскрементов и шерсти [Bellemain, Taberlet, 2004] (также была показана возможность амплификации ДНК из слюны, однако этот метод пока не нашел широкого применения [Saito, Yamauchi, Aoi, 2008; Wheat et al., 2016]), что сделало возможным небывалый расцвет неинвазивных генетических исследований. Использование аутосомных микросателлитных локусов стало практически стандартным подходом для генетического обеспечения природоохранных работ.

Для бурого медведя, в особенности обитающего в Европе, исследования часто нацелены на оценку фактической и эффективной численности. Такие исследования проводились для медведей Греции [Karamanlidis et al., 2012; Tsaparis et al., 2015], Пакистана [Bellemain et al., 2007], различных регионов Швеции [Kindberg et al., 2011; Schregel et al., 2012; Tallmon et al., 2004; Xenikoudakis et al., 2015], различных регионов Северной Америки [Kendall et al., 2009; Mowat et al., 2005; Mowat, Strobeck, 2000; Poole, Mowat, Fear, 2001], Словакии и Словении [Perich, Krajmerová, Saniga, 2014; Skrbínšek et al., 2012], Болгарии [Frosch et al., 2014] и т.д.

Особенно широко этот генетический маркер применяется для оценки крайне малочисленных и уязвимых популяций, таких как популяции пустыни Гоби и Кантабрийских гор в Испании, Апеннин в Италии, или искусственно восстановленной популяции медведей Австрии [Ciucci et al., 2015; Giangregorio et al., 2014; Kruckenhauser et al., 2009; McCarthy, Waits, Mijiddorj, 2009; Pérez et al., 2014; Tumendemberel et al., 2015]. Одной из первых работ, посвященных бурому

медведю и основанных на анализе аутомных микросателлитных локусов, была неинвазивная оценка численности медведей французских Пиренеев [Taberlet et al., 1997].

Помимо этого, для организации природоохранных работ важна достоверная оценка степени изоляции смежных популяций и возможности потока генов между ними. Особенно актуальна эта задача для менеджмента бурых медведей Западной Европы, поскольку ареал вида в этом регионе представляет собой небольшие фрагменты, расположенные на различном удалении друг от друга. К примеру, популяция Кантабрийских гор состоит фактически из двух частей, западной и восточной, и анализ изменчивости микросателлитных локусов показал, что между ними присутствует поток генов, направленный преимущественно из западной части в восточную [Gonzalez et al., 2016]. Генетические инструменты позволили подтвердить факт переселения медведей человеком из Румынии в Болгарию [Nowak et al., 2014]. В популяции медведей Гоби удалось подтвердить перемещения особей между отдельными оазисами [Tumendemberel et al., 2015]. В Северной Америке наиболее примечательной можно назвать изолированную популяцию Йеллоустонского национального парка, которая достаточно давно изолирована и изучена. Для этой популяции было показано полная генетическая изоляция (обособленность) и возможность с полной уверенностью идентифицировать составляющих ее медведей [Haroldson et al., 2010].

В некоторых случаях микросателлитный анализ позволяет непосредственно оценить изменения параметров генетического разнообразия во времени, поскольку бурый медведь является популярным объектом охоты, а медвежьи шкуры и кости часто хранят в музейных и частных коллекциях. Использование исторических образцов медведей Северной Америки показало, что в течение 20 века, когда ареал медведей резко сократился, произошло снижение генетического разнообразия, однако оно было меньше, чем можно было бы ожидать, учитывая степень сокращения ареала [Miller, Waits, 2003]. Для медведей Швеции удалось проследить изменения генетического разнообразия в течение 20 века [Hagen et al., 2015; Xenikoudakis et al., 2015]. В случаях, когда известны планируемые масштабные трансформации среды, к примеру, прокладка скоростных трасс или построение каскада ГЭС, иногда исследователям предоставляется возможность собрать данные о генетических характеристиках медведей региона до того, как преобразования среды начнутся, и получить опорную точку для оценки последующих изменений [Ambarlı et al., 2018; Karamanlidis et al., 2012].

Отдельным направлением является ландшафтная генетика, включающая сопоставление данных о генетической структуре медведей и параметров их местообитания, таких как степень антропогенной трансформации среды, расположение поселений, характеристики рельефа и

наличие водных преград. Так, оказалось, что в Иране наиболее сильно отличающийся генетический кластер отделяет от остальной части ареала не дистанция, а совокупность резких перепадов высоты и мощного антропогенного присутствия [Ashrafzadeh et al., 2018]. Для медведей Северной Америки на небольшой исследуемой территории удалось показать четкую связь между интенсивностью движения и плотностью населения в транспортном коридоре и степенью генетической структуризации [Kendall et al., 2009]. На территории полуострова Кенай (Аляска), напротив, не удалось показать ограничения потока генов расположенными на полуострове ледниковым щитом и двумя крупными озерами [Jackson, Talbot, Farley, 2008], а для равнинной и протяженной популяции Европейской части России и Северной Европы была показана изоляция расстоянием [Koratz et al., 2014].

Бурые медведи обитают в различных биотопах и их ареал представляет собой множество вариантов – от протяженных популяций, занимающих огромные территории, до малочисленных изолятов. Это позволяет проводить исследования генетической структуры вида в различных условиях. В частности, в составе визуально общей популяции Евразии несколько исследователей, сфокусированных на различных регионах, выявляли генетическую структуру: было показано отличие медведей Алтая от медведей Саян, Хентья и Хингана [Tumendemberel et al., 2019]; среди медведей Финляндии выявлены северный и южный кластеры, сформировавшиеся в результате антропогенной изоляции и независимых путей восстановления из числа медведей Европейской части России [Koratz et al., 2014]; среди медведей Европейской части России также были выявлены генетические кластеры [Tammeleht et al., 2010]. Менее многочисленные и занимающие меньшую территорию популяции медведей Карпат и Балкан продемонстрировали различные генетические паттерны: если среди медведей Балкан не было выявлено генетической структуры, то между медведями из различных частей Карпат были выявлены различия [Frosch et al., 2014; Matosiuk et al., 2019].

Помимо степени изоляции анализ микросателлитных локусов позволяет оценить уровень гетерозиготности, разнообразия и инбридинга, который может вести к инбредной депрессии, и другие показатели, которые указывают на жизнеспособность популяции. Наименее разнообразными и наиболее инбредными популяциями среди всех изученных считаются медведи Гоби [McCarthy, Waits, Mijiddorj, 2009], островов Кадьяк и Афогнак [Talbot et al., 2006] и Кантабрийских гор [Gonzalez et al., 2016].

Помимо практических аспектов управления природоохранной деятельностью анализ микросателлитных локусов позволяет проводить и более фундаментальные исследования. Использование такого вариабельного маркера, как аутосомные микросателлитные локусы, также

позволило с относительно небольшими затратами проводить полевые исследования и изучать изменение тонкой структуры популяции практически в реальном времени, а также проверять гипотезы о влиянии тех или иных демографических процессов на реальные популяции. Так, мониторинг индивидуальных участков медведей позволил проследить то, как медведи занимают участки сородичей, убитых охотниками [Frank, 2017]. Возможность идентификации и получения генетических данных от разных особей из семейных групп позволили показать, что медвежата из одного выводка примерно в трети случаев имеют разных отцов, а также оценить реальное количество детенышей, происходящих от одного самца [Craighead et al., 1995]. Множественное отцовство также было подтверждено после анализа накопившейся базы генетических профилей медведей Скандинавии [Bellemain, Swenson, Taberlet, 2006]. Сопоставление зверей, которые были принудительно переселены из-за того, что привыкли к человеческой еде, и остальной части популяции показало, что медведи, привыкшие к человеческой еде, могут быть более родственны между собой [Cotovelea et al., 2015]. Исследование периферических областей ареала позволяет определить направление расселения особей [Itoh et al., 2012]. Также микросателлитные локусы могут предоставить информацию о системе размножения медведя, в частности, для изучения полового инфантицида (*sexually selected infanticide*, [Bellemain, Swenson, Taberlet, 2006]) и о принципах выбора самкой самца для спаривания [Bellemain et al., 2006].

К более оригинальным способам практического применения индивидуальной идентификации относятся выявление особей, осуществляющих инфантицид [Davoli et al., 2018], подтверждение успешного выживания и размножения медведей, переселенных в рамках обогащения популяций [Kasworm et al., 2007], а также идентификацию медведей, ставших жертвами браконьеров [Eiken et al., 2009] либо, наоборот, нападавших на человека [Frosch et al., 2011].

На значительной части России исследования изменчивости микросателлитных локусов не проводилось. Интерес представляет изучение особей из разных регионов именно в рамках одной работы, так как специфика анализа микросателлитных локусов делает невозможным прямое сравнение данных, полученных разными лабораториями. Работы на обширных частях ареала проводились на других видах: севром волке [Талала и др., 2020], белом медведей [Malenfant et al., 2016], северном олене [Røed et al., 2008], благородном олене [Zachos et al., 2016]. Для бурого медведя Евразии подобное исследование также представляет интерес, поскольку позволит дать оценку современной структурированности вида в составе единой протяженной популяции. На данный момент наиболее изученной частью, как и в случае с мтДНК, является Европейская часть России, преимущественно, ее северо-запад [Tammeleht et al., 2010]. Также существует работа,

посвященная южной Сибири на границе с Монголией [Tumendemberel et al., 2019]. Эти исследования позволили выявить более тонкую структуру по сравнению с анализом мтДНК и оценить наиболее поздние события, влияющие на популяции.

1.4.4 Другие генетические маркеры

1.4.4.1 Y-хромосомные маркеры.

Митохондриальная ДНК передается потомству от матери, и, хотя присутствует у особей обоих полов, в долгосрочной перспективе отражает популяционную историю только материнской линии. Микросателлитные локусы, в свою очередь, наследуются бипарентально, и описывают историю зверей обоих полов, однако только на приближенных к современности временных отрезках.

Относительно новым генетическим маркером, который позволяет изучать историю только отцовской линии, стали маркеры Y-хромосомы, первые из которых были выявлены для бурого медведя после секвенирования протяженных участков Y-хромосомы с помощью секвенирования нового поколения (NGS – New Generation Sequencing, [Bidon et al., 2014]). Для бурого медведя описано несколько Y-хромосомных микросателлитных локусов и несколько однонуклеотидных полиморфизмов SNP, однако изменчивость SNP недостаточна, чтобы на ее основе исследовать внутривидовую структуру, поэтому на внутривидовом уровне SNP используются только в сочетании с микросателлитными локусами. Поскольку к настоящему моменту опубликовано всего несколько работ с использованием этих маркеров, мы можем остановиться на каждой подробнее.

Анализ выборки, состоящей из небольшого числа особей со всего ареала, показал, что структура, наблюдаемая при анализе отцовских линий, гораздо менее разрешенная, чем таковая, основанная на мтДНК [Bidon et al., 2014]. Авторам удалось выявить несколько сильно отличающихся гаплотипов с Камчатки, однако гаплотипы особей из других частей ареала не сформировали внятной филогеографической структуры. Основными версиями объяснения такого результата было поддержание связанности ареала за счет миграций самцов. При этом было показано существование обмена особями между островами архипелага Александра и континентом, однако уникальные, сильно отличающиеся гаплотипы не были выявлены за пределами Камчатки.

Авторы работы [Schregel et al., 2015] использовали другой принцип построения выборки, сфокусировавшись на регионе Скандинавии и прилегающих к границам частях России, и включив в работу только зверей из этого региона, но в большом количестве (более 400 особей).

Им удалось выявить три гаплогруппы согласно медианной сети гаплотипов и шесть географических кластеров, различающихся степенью представленности в них различных гаплотипов и уровнем разнообразия. При этом полученные результаты хорошо соотносились с результатами анализе аутосомных микросателлитных локусов, выполненных той же командой исследователей в этом регионе [Koratz et al., 2014]. В данной работе удалось показать достаточно выраженную популяционную структуру, используя только маркеры Y-хромосомы, что противоречит представлению о расселении самцов как о факторе, поддерживающем гомогенность популяций.

На это противоречие обратили внимание авторы следующей работы с использованием Y-хромосомных маркеров, и в качестве объяснения предлагают различие в интервале и масштабе анализе, предполагая, что в рамках работы [Schregel et al., 2015] последствия миграций самцов из удаленных регионов просто были бы не заметны [Hirata et al., 2017]. Основной фокус этой работы направлен на изучение медведей Хоккайдо, однако в исследуемой выборке присутствуют также и звери из других регионов. Полученные авторами данные достаточно противоречивы: с одной стороны, им удалось показать монофилию и отличие медведей с островов Хоккайдо и Кунашир, а также описать еще несколько отличающихся генетических линий среди медведей с Урала, однако с другой стороны, среди оставшихся Y-хромосомных гаплотипов не удалось выявить структуры.

Таким образом, хотя изучение отцовской линии наследования представляется перспективным и необходимым для более полного понимания истории вида, к настоящему моменту имеющиеся данные достаточно противоречивы, а их интерпретация еще не устоялась.

1.4.4.2 Полногеномные данные

Технология секвенирования нового поколения, позволяющего секвенировать большие фрагменты ДНК сразу, вплоть до полных геномов, также была применена для изучения генетической структуры бурого медведя. Такие работы остаются немногочисленными из-за высокой стоимости методики, однако в результате анализа исследователи получают огромную массу данных, и несомненно, что по мере удешевления процесса секвенирования этот метод будет применяться чаще.

Использование полных геномов позволяет проводить оригинальный анализ - реконструкцию истории изменения эффективной численности вида на основании одной особи. Такая реконструкция была проведена для бурого, белого и черного медведей [Miller et al., 2012]. Согласно результатам этого анализа, эффективная численность бурого медведя (при использовании зверей из Северной Америки) начала снижаться в *раннем Плейстоцене*, и

стабильно снижалась *на протяжении* среднего плейстоцена, в то время как эффективная численность белого медведя в среднем плейстоцене, наоборот, росла. Аналогичный анализ, проведенный для медведей Европы, показал отличия в реконструированной динамике эффективной численности между медведями Апеннин и Кантабрийских гор, где N_e резко снижалась *в последние 10* т.л.н., и остальных популяций Европы, где эффективная численность в этот период оставалась стабильной [Benazzo et al., 2017].

Также уникальность полногеномных данных состоит в возможности получить массу информации о кодирующих генах, наличии в них мутаций, и расположении зон гомо- и гетерозиготности. Так, в той же работе [Benazzo et al., 2017] авторы обнаружили, что медведи из малочисленной и изолированной популяции Апеннин, при крайне гомозиготном и мономорфном геноме в целом, имеют "окна вариабельности", в которых уровень изменчивости и гетерозиготности практически такой же, как у медведей из более крупных популяций. Также для медведей Апеннин были выявлены очень длинные полностью гомозиготные фрагменты, а у белых медведей, которых анализировали для сравнения, общее количество гомозиготных позиций ниже, но отдельные чисто гомозиготные фрагменты - значительно короче. Такие данные показывают, какие следы в геноме реальных животных оставляют различные варианты популяционной истории - в данном случае, долгая панмиксия при низкой эффективной численности для бурых медведей и недавнее, но сильное сокращение численности - для медведей Апеннин.

Набор из 96 SNP, распределенных по геному, был успешно использован в масштабе одной популяции в Швеции для изучения изоляции расстоянием, постнатальной дисперсии и особенностей расселения самок и самцов [Norman, Spong, 2015].

1.4.4.3 Другое

В начале развития молекулярно-генетических методов, в связи с дороговизной новых технологий, часто использовался рестрикционный анализ. В частности, самые первые работы по генетической изменчивости бурого медведя – [Cronin et al., 1991], [Shields, Kocher, 1991], [Taberlet et al., 1995] были выполнены именно этим методом, однако их сопоставление с дальнейшими работами, основанными на анализе последовательностей ДНК, сложно, если вообще возможно.

В этот же период был популярен аллозимный анализ, основанный на различиях в подвижности различных изоформ белков в геле; для бурого медведя наиболее интересной представляется работа И.Е. Честина и Н.Г. Микешинной, которые использовали этот метод наряду

с краниологическими промерами для изучения разнообразия медведей Кавказа [Chestin, Mikeshina, 1998].

Достаточно редким явлением в истории изучения генетической структуры бурого медведя является анализ APLP (amplified product length polymorphism), основанный на подборе праймеров, сающихся в места известных SNP, так, чтобы при электрофорезе каждый из SNP формировал отдельную полосу в геле. Однако, существует интересная работа, основанная именно на этом методе – [Hirata et al., 2014], в рамках которой метод APLP использовался для известных к тому моменту полиморфизмов, расположенных в мтДНК. Необычность этой работы заключается в том, что в исследование были включены образцы тканей медведей из уникальных локаций, таких как Киргизия, Забайкалье и Кавказ, однако в силу оригинальной методики полученные авторами результаты сложно сопоставить с массивом накопленных данных по мтДНК. Так, авторы описывают представителей клады 3b с Кавказа и из Сибири, что несомненно является новой ценной информацией, а также выделяют три новых митохондриальных клады среди медведей Кавказа, Ирана, Киргизии и Сибири. Но такие результаты основываются на анализе всего девяти SNP, которые к тому же расположены не в тех областях мтДНК, которые используют для исследований чаще всего – что делает невозможным полноценное включение этих уникальных находок в общемировую базу данных.

К числу редко используемых генетических маркеров относятся также гены главного комплекса гистосовместимости (МНС – Major Histocompatibility Complex), которые задействованы в системе иммунного ответа. Эти гены сложны как в лабораторной работе, так и в статистической обработке, из-за чего используются редко, а интерпретация их изменчивости наиболее осмысленна в контексте либо изучения эволюции генов МНС как таковых [Goda et al., 2010; Talbot et al., 2006], либо более прямой оценки состояния иммунитета представителей той или иной популяции [Venazzo et al., 2017], хотя связь разнообразия кластера МНС со степенью жизнеспособности популяции и остается противоречивой. Богатство пула аллелей МНС может использоваться для оценки генетического разнообразия популяции [Talbot et al., 2006], однако из-за сложности работы с этим локусом такие работы для бурого медведя проводятся крайне редко.

Таким образом, при достаточно большом количестве публикаций, посвященных генетическим характеристикам *U. arctos*, до сих пор остается ряд вопросов о генетическом разнообразии и структуре видового населения бурого медведя Евразии, преимущественно касающихся обширной части ареала бурого медведя, расположенного на территории России.

Очень мало данных имеется об изменчивости мтДНК на территориях восточнее Урала (за исключением Камчатки), а также о медведях Кавказа и Закавказья. Изучение генетических характеристик медведей этих регионов может внести большой вклад в формирование картины филогеографической структуры и истории вида. Помимо этого, обширная непрерывная область ареала бурого медведя, занимающая основную часть Евразии, может быть интересной с точки зрения исследования современной структуры популяции на таких больших масштабах.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Характеристика исследованных образцов

В данной работе использовались образцы тканей и экскременты бурого медведя (*Ursus arctos*). Образцы были предоставлены охотниками и исследователями в регионах, а также зоологическими музеями: Зоологическим музеем МГУ (г. Москва), Зоологическим музеем Института Экологии Растений и Животных Уральского Отделения РАН (г. Екатеринбург), Зоологическим музеем НАН Армении (г. Ереван).

Общее число образцов составило 178. Число образцов из различных регионов приведено в Таблице 2.1; общий список образцов приведен в Таблице 1 Приложения; точки сбора образцов показаны на Рисунке 2.1. Географические координаты образцов были определены по указанному коллектором месту сбора; если описание точки сбора было недостаточно подробным (например, была указана только область или район), то координаты выбирались произвольно в районе географического центра указанной административной единицы.

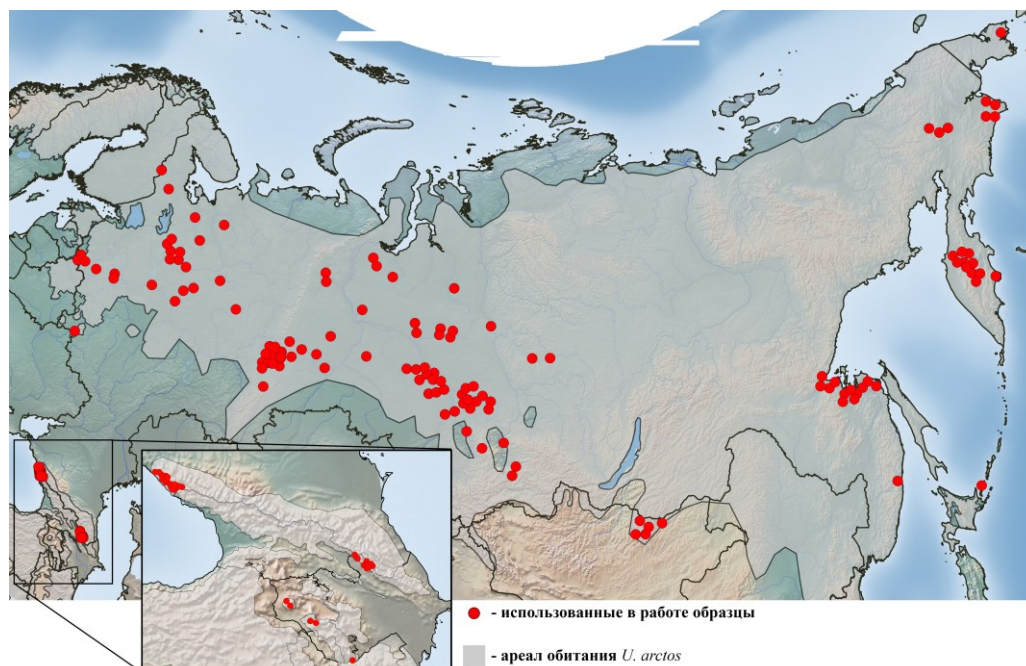


Рисунок 2.1. Карта происхождения образцов тканей бурого медведя, включенных в данное исследование.

Помимо этого, в ходе выполнения работы был осуществлен проект по индивидуальному определению бурых медведей в заповеднике «Брянский лес». Несколько образцов, полученных в ходе выполнения данного проекта (2 пробы шерсти), были избирательно включены в некоторые виды анализа.

Таблица 2.1. Происхождение образцов тканей бурого медведя, включенных в исследование. «Микросат.» – число образцов, генотипированных по 8-10 аутосомным микросателлитным локусам. «мтДНК» - число образцов, для которых получены последовательности мтДНК: без скобок – число образцов, для которых получен фрагмент КР длиной 570 п.н., в скобках – число образцов, для которых дополнительно получена последовательность гена *сyt b* и фланкирующих участков; «Y-микросат.» – число образцов, генотипированных по 8 Y-хромосомным микросателлитным локусам и Y-SNP.

Район происхождения образцов	Микросат.	мтДНК: 570 п.н. (1843 п.н.)	Y-микросат., Y-SNP	Количество образцов всего
<i>Кавказ и Закавказье</i>				
Краснодарский край	22	22 (17)	9	22
Северный Азербайджан	6	12 (3)	2	12
Армения	3	3		5
<i>Всего</i>	<i>31</i>	<i>37 (20)</i>	<i>11</i>	<i>39</i>
<i>Европейская часть России</i>				
Архангельская обл.	3			3
Брянская обл.	2			2
Вологодская обл.	7	7 (7)	5	7
Карелия	2	3 (1)	1	3
Кировская обл.	2	2 (2)	2	2
Костромская обл.	3	3 (3)	1	3
Псковская обл.	3	3 (3)	3	3
Тверская обл.	2	2 (2)	2	2
Ярославская обл.	1	1 (1)		1
<i>Всего</i>	<i>25</i>	<i>21 (19)</i>	<i>14</i>	<i>25</i>
<i>Урал и Западная Сибирь</i>				
Кемеровская обл.	2	2 (1)		2
Красноярский край	1	7 (6)	7	8
Свердловская обл.	19	20 (10)	7	20
Томская обл.	20	21 (18)	14	22
Тюменская обл.		2 (2)		2
ХМАО	7	9 (2)	2	10
Челябинская обл.		1		1
ЯНАО		3 (1)	1	4
<i>Всего</i>	<i>49</i>	<i>65 (40)</i>	<i>31</i>	<i>69</i>
<i>Южная Сибирь</i>				
Северная Монголия	5	5 (4)	3	5
<i>Юг побережья Охотского моря</i>				
Приморский край	2	2		4
Хабаровский край	11	10 (9)	5	12
Сахалинская обл.		3 (2)	3	4
<i>Всего</i>	<i>13</i>	<i>15 (11)</i>	<i>8</i>	<i>20</i>
<i>Чукотка</i>				
ЧАО	7	7 (1)		8
<i>Камчатка</i>				
Камчатка	10	11 (8)	6	11
Всего	140	161 (103)	73	178

2.2 Молекулярно-генетический анализ

2.2.1 Выделение ДНК и пробоподготовка

Имеющиеся образцы были представлены: фрагментами мягких тканей (N=82), кровью (N=3), просоленными фрагментами шкур (N=35), костной тканью (черепа, кости посткраниального скелета, зубы, N=52), экскрементами (N=4), шерстью (N=2 для основной выборки, дополнительно в рамках проекта по идентификации медведей заповедника «Брянский лес» - N=2). Экскременты и фрагменты мягких тканей хранились в 96% спирте.

Для выделения ДНК из мягких тканей и шкур использовались фрагменты ткани размером примерно 3 на 3 мм, которые непосредственно перед выделением извлекались из спирта, просушивались на бумажных салфетках и механически измельчались. В случае просоленных шкур, перед просушиванием и измельчением проводилась отмывка образца от соли в бидистиллированной воде.

Для выделения из цельной крови использовалось 200 мкл крови.

Для выделения из роговой ткани (кости и зубы) использовалась стружка, получаемая при бурении ткани. Для получения костного порошка в костном фрагменте просверливалось отверстие или желобок. При работе с зубами бурение производилось в области корня и шейки зуба, при работе с нижними челюстями бурение производилось в области мышцелка или ветви нижней челюсти (во втором случае отверстие просверливалось в боковой поверхности ветви нижней челюсти в области приблизительного положения корня моляра m2 так, чтобы получить порошок не только кости, но и корня зуба), при работе с другими костями бурение производилось в произвольном месте. В целях предотвращения кросс-контаминации используемые кости и зубы непосредственно перед выделением протирались дистиллированной водой и перекисью водорода, а также для каждого последующего образца использовались новые медицинские перчатки и стерильный бур. Полученный костный порошок до выделения хранился в индивидуальных эппендорфах при температуре -20°C.

При работе с образцами экскрементов использовались фрагменты экскрементов размером примерно 5 на 5 мм.

Шерсть была собрана Е.Ф. Ситниковой и хранилась в закрытых пластиковых пробирках объемом 50 мл при комнатной температуре. Для выделения использовалось произвольное количество волос, в зависимости от их количества в пробе и возможности определить волосяные луковицы. Среднее количество составляло около 3-5 волос с образца на выделение.

Выделение тотальной ДНК проводилось следующими наборами: Diatom DNA Prep 100 («Изоген», Москва), QIAGEN DNeasy Blood & Tissue Kit – фрагменты мягких тканей; QIAquick PCR purification kit – костная ткань, QIAamp DNA Investigator Kit – шерсть, костная ткань, QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit – экскременты (QIAGEN, Германия). Для выделения экскрементов в ряде случаев проводилась дополнительная очистка выделенной тотальной ДНК с помощью набора Wizard PCR Preps DNA Purification System (Promega, США). Во всех случаях выделение проводилось согласно протоколам изготовителя, кроме применения набора QIAquick PCR purification kit для работы с костной тканью – в этом случае выделение проводилось по методике, предложенной [Yang et al., 1998].

2.2.2 Выбранные генетические маркеры

В качестве основных маркеров для исследования филогеографической структуры бурого медведя были выбраны два фрагмента мтДНК: фрагмент контрольного региона (КР) длиной 570 п.н. (5'-гипервариабельная область) и последовательность гена цитохрома *b* (*cyt b*) с фланкирующими участками: гены NADH дегидрогеназы (субъединица 6, частично); ген tRNA-Glu; ген tRNA-Thr, ген tRNA-Pro; суммарная длина 1289 п.н. В составе итогового конкатенатного фрагмента можно выделить два региона: фрагмент КР, обладающий наиболее высокой скоростью изменения и наиболее изменчивый; и фрагменты различных генов и полная последовательность гена *cyt b*, являющиеся более консервативными и отражающие более древние события.

Исследуемый фрагмент контрольного региона было решено не увеличивать в сторону 3'-конца, так как в прилегающем регионе расположена «зона повтора» (repetitive region), представляющая собой олигосателлитный локус, сложный для амплификации и анализа. Помимо того, у нескольких образцов, для которых была получена последовательность, захватывающая эту зону повтора, обнаружилась гетероплазмия, описанная для бурого медведя в работе [Matsushashi et al., 1999].

В составе исследуемого фрагмента также находилась высокополиморфная область СТ-политракта, включающая последовательность из нескольких тимидинов и семи-восьми цитозинов, для которой также ранее была показана гетероплазмия [Matsushashi et al., 1999], подтвержденная и в данной работе.

Для изучения современной генетической структуры популяций были также выбраны 10 микросателлитных локусов (Mu10, Mu23, Mu51, Mu50, Mu59, G10L, Cxx20, UarT647, UarT259, G10X), впервые описанных в работах [Ostrander, Sprague, Rine, 1993], [Paetkau, Strobeck, 1994],

[Paetkau et al., 1995], [Taberlet et al., 1997], [Kleven et al., 2012] (Таблица 2.2). Эти микросателлитные локусы расположены на соматических хромосомах и показали относительно высокие уровни изменчивости и гетерозиготности в предыдущих исследованиях [Bellemain et al., 2007; Talbot et al., 2006; Waits et al., 2000]. Этот же набор локусов использовался для индивидуальной идентификации медведей заповедника «Брянский лес».

Таблица 2.2. Аутомные микросателлитные локусы, выбранные в качестве генетических маркеров в данной работе.

Название	Мотив повтора	Впервые описаны
Mu10	(TG) _x TA(TG) _y	[Taberlet et al., 1997]
Mu23	(GT) _x (AT) _y (GT) _z	
Mu50	(CT) _x (GT) _y	
Mu51	(CT) _x (CA) _y	
Mu59	(GT) _x	
G10L	(GT) _x TTGTT(GT) _y	[Paetkau, Strobeck, 1994]
G10X	(GT) _x TTCT(GT) _y	[Paetkau et al., 1995]
Cxx20	(TG) _x	[Ostrander, Sprague, Rine, 1993]
UarT647	(TTTC) _x	[Kleven et al., 2012]
UarT259	(CTTT) _x	

Для анализа отцовской линии в исследуемой выборке для большей части образцов было проведено определение пола, и для самцов был проведен дополнительный анализ Y-хромосомных маркеров. Для этого были выбраны восемь микросателлитных локусов (Y15020.1, Y369.1, Y369.4, Y318.1, Y318.2, Y318.4, Y318.6, Y318.9) и один нуклеотидный полиморфизм (SNP Y-579.1B), для которых ранее была выявлена вариабельность [Bidon et al., 2014]. Все локусы расположены в нерекombинирующей зоне Y-хромосомы и могут рассматриваться как единый гаплотип.

2.2.3 Амплификация

Амплификация всех фрагментов, которые в последующем подвергались секвенированию, а также амплификация для определения пола проводилась в объеме смеси 20 мкл с готовой ПЦР-смесью 5X MasCFGTaqMIX-2025 («Диалат», Москва) и дополнительной полимеразой SmarTaq («Диалат», Москва). В каждую пробирку были внесены: 2 мкл раствора ДНК, 10 пкм каждого праймера, 4 мкл MasterMix×5, 0,1-0,4 мкл Taq-полимеразы, до 20 мкл воды.

Амплификация всех микросателлитных локусов, которые в дальнейшем были визуализированы в капиллярном секвенаторе, проводилась в объеме смеси 10 мкл с помощью бесцветной ПЦР-смеси 5X MasDDTaqMIX -2025 («Диалат», Москва). В каждую пробирку вносилось по 2 мкл ДНК и MasterMix×5, а также необходимое количество праймеров, после чего объем смеси доводили до 10 мкл водой. Количество используемых праймеров варьировало от

локуса к локусу в зависимости от вида флуоресцентного красителя, которым был помечен прямой праймер, а также от того, насколько высоким был выход ПЦР продукта для данного локуса. Минимальное количество используемого праймера составило 1 пкм в реакцию, максимальное – 10 пкм в реакцию.

2.2.3.1 Амплификация мтДНК

Анализируемый фрагмент контрольного региона имел длину 570 п.н. и включал 5'-гипервариабельную область контрольного региона. Амплификация целевого фрагмента производилась с помощью праймеров BED1 и BED3 [Matsuhashi et al., 1999]. В случае, если ДНК образца была фрагментирована из-за его низкого качества (как, например, в костных образцах), целевой фрагмент амплифицировался с помощью двух пар праймеров: H2/H3 [Loreille et al., 2001] и H1/H674 [Рожнов и др., 2010].

Амплификация фрагмента мтДНК, включавшего ген цитохрома b и фланкирующие участки (итоговая длина 1289 п.н.), производилась с помощью двух пар праймеров UB1F/UB1R и UB2F/UB2R, разработанных [Korsten et al., 2009]. Последовательности праймеров и температуры отжига приведены в Таблице 2 Приложения.

2.2.3.2 Амплификация аутомсомных микросателлитных локусов

Генотипирование по аутомсомным микросателлитным локусам проводилось с использованием праймеров, описанных в работах, для которых было сделано первое описание этих локусов, а также праймеров для тех же локусов, измененных в дальнейшем другими исследователями [Bellemain, Taberlet, 2004]. Последовательности праймеров приведены в Таблице 3 Приложения, температура отжига для всех локусов составляла 57°C.

Амплификация проводилась в виде трех мультиплексных смесей: в смесь 1 входили локусы Mu10, Mu23 и Mu51, в смесь 2 – локусы Mu50, Mu59, G10L, в смесь 3 – локусы Cxx20, UarT647, UarT259, G10X. Дальнейшая визуализация также проводилась в виде этих мультиплексных смесей.

Для костных образцов генотипирование проводилось в двух повторностях, в случае несовпадения получаемых значений проводилась третья повторность. Для образцов шерсти проводились многократные повторности, чтобы избежать ложных результатов.

2.2.3.3 Амплификация Y-хромосомных маркеров

Амплификация Y-хромосомных микросателлитных локусов производилась с помощью праймеров, разработанных [Bidon et al., 2014]. Амплификация и дальнейшая визуализация ПЦР-продукта происходила в составе двух мультиплексных смесей: А) 15020.1, 369.1, 318.9, 318.4,

369.4 и Б) 318.1, 318.6, 318.2. Итоговое количество праймеров составляло 1-1,5 пкм в реакцию. Последовательности праймеров и температуры отжига приведены в Таблице 4 Приложения.

Для генотипирования по Y-хромосомному SNP 579.1B проводилось секвенирование участка, содержащего эту замену, с помощью праймеров, разработанных [Bidon et al., 2014]. На протяжении амплифицированного и секвенированного участка, прилегающего к SNP, не было выявлено других полиморфизмов.

2.2.4 Определение пола

Поскольку для большей части использованных в работе образцов не был известен пол особи, мы определяли его с помощью молекулярных методов. Для этого мы амплифицировали пятый экзон гена амелогенина с прилегающими участками. Ранее было показано, что у бурого медведя этот ген имеет делецию длиной в 53 нуклеотида в Y-хромосомной версии гена, которая позволяет различать Y-хромосомную (AMELY) и X-хромосомную (AMELX) версии гена. Для амплификации использовались праймеры SE47 (5'-CCCGCTTGGTCTTGTCTGTTGC-3') и SE48 (5'-CAGCCAAACCTCCCTCTGC-3'), разработанные для крупного рогатого скота [Ennis, Gallagher, 2009] и успешно применявшиеся для определения пола у белогрудого медведя [Yamamoto et al., 2002]. Эта пара праймеров позволяет определять пол особи при помощи визуализации ПЦР-продукта в агарозном или акриламидном геле, так как амплифицируемый фрагмент AMELX имеет длину 243 п.н., в то время как гомологичный фрагмент AMELY – длину 189 п.н., что делает эти две аллели легко различимыми. Температура отжига данной пары праймеров равна 66°C.

2.2.5 Очистка и визуализация ПЦР-продукта, первичный анализ

ПЦР-продукт для фрагментов, предназначенных для секвенирования (мтДНК и фрагмент, содержащий Y-хромосомный SNP), подвергался очистке перед и после проведения сиквенсовой ПЦР с терминирующими нуклеотидами. Очистка ПЦР продукта производилась методом осаждения ДНК смесью ацетата аммония и 96% спирта с последующим промыванием 70% спиртом. При очистке продукта обычной ПЦР проводился контроль качества ПЦР-продукта с помощью визуализации электрофорезом в 1,5% агарозном геле. При очистке ПЦР-продукта сиквенс-ПЦР визуализация в геле не проводилась. ПЦР-продукт, предназначенный для фрагментного анализа (микросателлитные локусы), не подвергался очистке и контролю качества электрофорезом.

Электрофорез для определения пола также проводили в 1,5% агарозном геле.

ПЦР с терминирующими нуклеотидами проводился с помощью набора BigDye Terminator kit 3.1 (Applied Biosystems) в смеси объемом 10 мкл.

Секвенирование производилось на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 3500 (Applied Biosystems). Первичная обработка результатов проводилась в программе Sequencing Analysis software v.5.4 (Applied Biosystems). Проверка последовательностей и их выравнивание друг относительно друга производились вручную в программе BioEdit 7.2.5 [Hall, 1999].

Визуализация продуктов ПЦР микросателлитных локусов также проводилась на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 3500 методом электрофореза в капилляре и детекции флуоресцентных красителей, прикрепленных к прямому праймеру. Первичная обработка результатов электрофореза проводилась с помощью программы GeneMapper software v.4.1 (Applied Biosystems).

2.3 Статистическая обработка полученных результатов

2.3.1 Обработка последовательностей мтДНК

Для получения значений генетической изменчивости и среднего числа различий использовались программы Arlequin 3.5.2.2 [Excoffier, Lischer, 2010] и MEGA 7.0.26 [Kumar, Stecher, Tamura, 2016]. Также программа Arlequin использовалась для расчета генетических дистанций между гаплогруппами, распределения попарных различий (mismatch distribution) и расчетов различных коэффициентов, таких как Tajima D и Fu F.

Для выделения гаплотипов и построения медианных сетей использовалась программа Network 10.2.0.0 [Bandelt, Forster, Rohl, 1999] в соответствии с руководством пользователя. При построении медианных сетей учитывалось количество транзиций и трансверсий в выравнивании и вводилась соответствующая поправка в расчеты. Также при построении учитывались неравные частоты замен в различных позициях выравнивания. Для построения финальных сетей гаплотипов вводился параметр эpsilon, определяющий максимальное расстояние до гипотетических «медианных векторов» и позволяющий учитывать более сложные варианты реконструкции отношений между гаплотипами. В работе использовались сети с максимально возможным значением параметра эpsilon. Для того, чтобы упростить визуальное восприятие, использовалась опция пост-процессинга, позволяющая отказаться от изображения лишних «медианных векторов» [Polzin, Daneshmand, 2003].

2.3.1.1 Использование данных базы GenBank

Для сопоставления полученных нами нуклеотидных последовательностей с описанными другими исследователями была использована база GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Перечень гомологичных последовательностей из базы GenBank, включенных в анализ в данной работе, приведен в Таблице 5 Приложения. Общее число последовательностей, взятых из базы GenBank, составило 565, из них 17 принадлежали особям других видов и были использованы в качестве внешней группы, и 548 представляли непосредственно бурого медведя.

2.3.1.2 Параметры построения филогенетических деревьев методом Байесовской реконструкции

Реконструкция филогенетических отношений между выявленными гаплотипами, а также между полученными нами и размещенными в базе GenBank последовательностями мтДНК производилась методом Байесовской реконструкции. Для реконструкции филогенетических отношений между гаплотипами с целью выявления топологии использовались только гаплотипы, в состав которых входили современные бурые медведи, а также были включены последовательности современных особей *Ursus thibetanus* и *Ursus americanus* в качестве внешней группы.

Для реконструкции отношений между гаплотипами использовался пакет программ BEAST 2.6.7 [Bouckaert et al., 2019]. Формирование исходного XML файла, включающего нуклеотидные последовательности и все предполагаемые параметры построения, производилось с помощью программы BEAUti 2.6.7, входящей в этот пакет программ.

Выбор статистической модели для байесовской реконструкции с помощью программы BEAST проводился с помощью программ TOPALi 2.5 [Milne et al., 2009] и MEGA 7.0.26 [Kumar, Stecher, Tamura, 2016].

Число включенных в анализ последовательностей и использованные модели нуклеотидных замен приведены в Таблице 2.3. Во всех случаях реконструкция проводилась на основании 75 000 000 генераций Марковских цепей Монте-Карло (MCMC) с записью каждые 1500 генераций; первые 20% записей отбрасывались как период отжига (burn-in).

При построении филогенетических деревьев на основании последовательностей мтДНК, включающих несколько функциональных фрагментов (КР и кодирующие последовательности), в составе последовательности выделяли соответствующие части, для которых использовались разные статистические модели и скорость эволюции.

Оценка достоверности построений в программе BEAST проводилась с помощью программы Tracer [Rambaut et al., 2018]; эффективное число измерений (ESS) для всех параметров составляло более 200, как и рекомендуется руководством пользователя. Полученные

в программе BEAST филогенетические деревья сводились в единую дендрограмму с помощью приложения TreeAnnotator v2.6.6 [Drummond, Rambaut, 2007].

Визуализация и редактирование итоговых филогенетических реконструкций производились в программе FigTree 1.4.3 [<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>].

Таблица 2.3. Данные о филогенетических реконструкциях для гаплотипов мтДНК современных бурых медведей, произведенных с помощью программы BEAST. Все последовательности были проанализированы без учета СТ-политракта. N – число гаплотипов бурого медведя, включенных в анализ; N вн.гр. – число гаплотипов других видов (*U. thibetanus* и *U. americanus*), использованных в качестве внешней группы; Модель – модель распределения нуклеотидных замен, использованная при работе в программе BEAST.

		Длина	N (+N вн.гр.)	Модель
Фр-т контрольного региона мтДНК	Короткий вариант	252 п.н.	151 (+6)	K80 + Г
	Длинный вариант	552 п.н.	143 (+7)	HKY + I + Г
Ген <i>cyt b</i> (1140 п.н.)	I (позиция кодона)	380 п.н.	128 (+4)	K80
	II (позиция кодона)	380 п.н.		HKY
	III (позиция кодона)	380 п.н.		HKY + Г
Комбинированный фр-т (1843 п.н.)	Гены tRNA	116 п.н.	156 (+4)	JC
	<i>ND6, cyt b</i> - I	392 п.н.		K80 + Г
	<i>ND6, cyt b</i> - II	391 п.н.		F81
	<i>ND6, cyt b</i> - III	391 п.н.		HKY + Г
	КР	549 п.н.		K80 + I + Г
	не кодирующий	4 п.н.		исключен

JC – модель Джукса-Кантора (Jukes-Cantor)

K80 – двухпараметрическая модель Кимуры (Kimura 2-parameter)

F81 – модель Фельштейна (Felsenstein 1981)

HKY – модель Хазегавы (Hasegawa-Kishino-Yano)

(+I) – ...с учетом невариабельных позиций (invariable sites)

(+Г) – ...с учетом неравновероятности замен (гамма-параметр)

Для реконструкции филогенетической структуры с целью оценки времени формирования гаплогрупп были построены филогенетические деревья методом Байеса так же, как при реконструкции с целью выявления топологии, но без внешней группы. Поскольку реконструкция проводилась для представителей одного вида, были использованы жесткие молекулярные часы. Скорость мутирования была определена программой в процессе построения дерева.

Для калибровки филогенетического дерева были использованы последовательности нуклеотидов, полученные от датированных ископаемых образцов и размещенные в GenBank (Таблица 6 Приложения). Для датировки использовались даты границ палеонтологических слоев, в которых были найдены образцы, либо границ 99,7% вероятности, полученной при калибровке радиоуглеродных датировок. Калибровка радиоуглеродных дат проводилась на основании шкалы IntCal20 [Reimer et al., 2020] с помощью онлайн-калькулятора OxCal 4.4 [Bronk Ramsey, 2009]. В случае, если последовательности от нескольких ископаемых образцов объединялись в один гаплотип, для датировки использовались максимальная и минимальная границы датировок

среди всех образцов. В случае, если в состав одного гаплотипа входили последовательности от ископаемых и современных образцов, этот гаплотип считался современным. Итоговое число точек калибровки деревьев составило 22 при рассмотрении фрагмента КР длиной 252 п.н., 25 при рассмотрении фрагмента КР длиной 552 п.н., 26 при рассмотрении последовательности гена *сyt b* длиной 1140 п.н., 27 при рассмотрении конкатенатного фрагмента длиной 1843 п.н.

2.3.2 Обработка аутосомных микросателлитных локусов

Для проверки полученной выборки на вероятность наличия нулевых аллелей использовалась программа Cervus 3.0 [Kalinowski, Taper, Marshall, 2007]. Для расчетов коэффициентов разнообразия и гетерозиготности, а также для расчета генетических дистанций и анализа молекулярной изменчивости (AMOVA) использовались программа Arlequin 3.5.2.2 [Excoffier, Lischer, 2010] и пакет макросов для программы Microsoft Excel – GenAlEx 6 [Peakall, Smouse, 2006]. Аллельное разнообразие рассчитывалось в программе Fstat v 2.9.4 [Goudet, 2003].

Оценка влияния длины аллелей на рассчитываемые генетические дистанции проводилась в программе SPAGeDi1-5d (build02-06-2017) [Hardy, Vekemans, 2002] с помощью теста пермутаций [Hardy et al., 2003].

Байесовская кластеризация выборки выполнялась с помощью программы *Structure* 2.3.4 [Pritchard, Stephens, Donnelly, 2000] с использованием модели возможного смешения популяций (Admixture model) с учетом коррелированности частот аллелей (Allele Frequency Correlated, [Falush, Stephens, Pritchard, 2003]). Число Марковских цепей Монте-Карло для каждого анализа составляло 200 000 предварительных итераций (отжиг, burn-in) и 1 000 000 итераций основного анализа. Кластеризация выборки на различное количество предполагаемых генетических кластеров (K от 1 до 10) повторялась 10 раз, после чего проводилась оценка правдоподобности K с использованием метода Эванно [Evanno, Regnaut, Goudet, 2005], реализуемого на онлайн-ресурсе StructureHarvester [Earl, vonHoldt, 2012]. Метод Эванно основан на оценке изменения разброса значения правдоподобия K при переходе между смежными кластерами. Полученные средние значения вероятности отнесения образцов и/или группировок были визуализированы с помощью программ CLUMPP [Jakobsson, Rosenberg, 2007] и distruct [Rosenberg, 2003].

Анализ связи между генетическими и географическими дистанциями проводился с помощью программ Arlequin 3.5.2.2 [Excoffier, Lischer, 2010], которой выполнялся тест Мантеля, представляющий собой модифицированный расчет степени корреляции между матрицами, и SPAGeDi1-5d (build02-06-2017) [Hardy, Vekemans, 2002], в которой проводился расчет показателя генетического родства между особями из разных классов дистанций (см. ниже).

2.3.3 Обработка Y-хромосомных микросателлитных локусов

Для обработки Y-хромосомных микросателлитных локусов была проведена реконструкция медианной сети гаплотипов с помощью программы Network 10.2.0.0 [Bandelt, Forster, Rohl, 1999]. Данная программа предназначена для обработки гаплоидных данных, в том числе Y-хромосомных, и является одной из программ, наиболее часто используемых для анализа Y-хромосомных маркеров. Для построения сети микросателлитным локусам были присвоены «веса» обратно пропорционально уровню из variability, по аналогии со статьями других авторов [Hirata et al., 2014; Meadows et al., 2006; Sacks et al., 2013]. Для построения сети использовался метод редукции медианной сети, полученные файлы были использованы для построения итоговой медианной сети гаплотипов, после чего был применен метод пост-процессинга [Polzin, Daneshmand, 2003]. Такой подход рекомендуется руководством программы и достаточно часто используется [Abu-Amro et al., 2009; D'Amato, Benjeddou, Davison, 2009; Forster et al., 2000; Grugni et al., 2018; Rowold et al., 2019; Zhong et al., 2011].

Для расчета показателей разнообразия, оценки генетических дистанций и анализа главных координат использовался пакет GenAlEx 6 [Peakall, Smouse, 2006].

2.3.4 Расчет географических дистанций между образцами

Для некоторых статистических расчетов были необходимы географические дистанции между исследуемыми образцами.

Для их расчета были использованы только те образцы, для которых были достаточно точно известны локалитеты добычи. Координаты были определены исходя из описания места добычи образцов, с помощью сайта Google Maps; расчет евклидовых дистанций между полученными точками в километрах с учетом кривизны земной поверхности проводился с помощью программы Geographic Distance Matrix Generator v1.2.3 [Ersts, 2019].

Обычный метод расчета наиболее коротких дистанций неприменим к образцам с Кавказа и Камчатки, т.к. в первом случае расстояние измерялось бы через Каспийское море и степи Казахстана, а во втором случае – через поверхность Охотского моря. Поэтому дистанции до особей из этих локалитетов рассчитывались с использованием дополнительно введенных точек: выбиралась произвольная точка, через которую было возможно соединить прямыми линиями образцы с Кавказа и Камчатки с образцами из остальных локалитетов так, чтобы ни одна из этих прямых не проходила через моря или обширные заведомо непригодные для обитания медведей пространства. Для особей с Кавказа такая точка располагалась в центре Европейской части России, для особей с Камчатки – на Чукотском полуострове севернее Парапольского дола.

2.3.4.1 Метод классов дистанций

Для построения кривой изменения генетических дистанций между особями при изменении географических дистанций между ними был использован метод географических классов. При данном подходе рассчитываются географические дистанции между всеми особями, после чего все полученные географические дистанции разбиваются на классы согласно их величине: класс «дистанции от 0 до 100 км», класс «дистанции от 100 до 200 км», «от 201 до 300 км» и т.д. Затем пары особей, географические дистанции между которыми попали в соответствующий класс, объединяются в отдельные выборки и для каждой из этих выборок рассчитываются необходимые коэффициенты генетического сходства или различия. Этот анализ был реализован с помощью программы SPAGeDi1-5d (build02-06-2017) [Hardy, Vekemans, 2002].

При анализе географических дистанций между особями при анализе аутосомных микросателлитных локусов максимальная географическая дистанция между образцами составила 7403 км, однако в составе географических кластеров с дистанциями более 7100 км было менее пяти пар особей и эти кластеры были исключены из расчета.

2.3.5 Визуализация происхождения образцов и границ ареалов на картах

Для отрисовки географических карт использовалась программа QGIS Desktop v2.18.23. Для подложки карт использовалась карта земной поверхности Natural Earth Cross Blended Hypso with Shaded Relief and Water (HYP_50M_SR_W v2.0.0). Карта ареала вида создана на основе данных красной книги IUCN redlist с изменениями.

ГЛАВА 3. ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЯДЕРНЫХ АУТОСОМНЫХ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ

3.1 Результаты

Для того, чтобы выявить генетическую структуру бурых медведей Евразии, был проведен анализ изменчивости аутомсомных ядерных микросателлитных локусов. Этот тип генетических маркеров считается одним из наиболее быстро мутирующих, в силу чего отражает современную структуру популяций и близкие к современным исторические события. Выбранные нами локусы расположены на соматических хромосомах, наследуются бипарентально и отражают как материнскую, так и отцовскую линии наследования.

3.1.1 Характеристика исследуемой выборки и изменчивости выбранных микросателлитных локусов

Общее число особей, генотипированных по выбранным аутомсомным микросателлитным локусам составило 138. В составе выборки были представлены юго-западная (Сочинский национальный парк, N=22) и юго-восточная (Северный Азербайджан, N=6) части Большого Кавказского хребта, Малый Кавказ (Армения, N=3), Европейская часть России (N=25), Уральский регион (N=19), Западная Сибирь (N=28), Северная часть Монголии (N=5), южная часть побережья Охотского моря (N=13), Чукотка (N=7) и Камчатка (N=10), Рисунок 3.1.

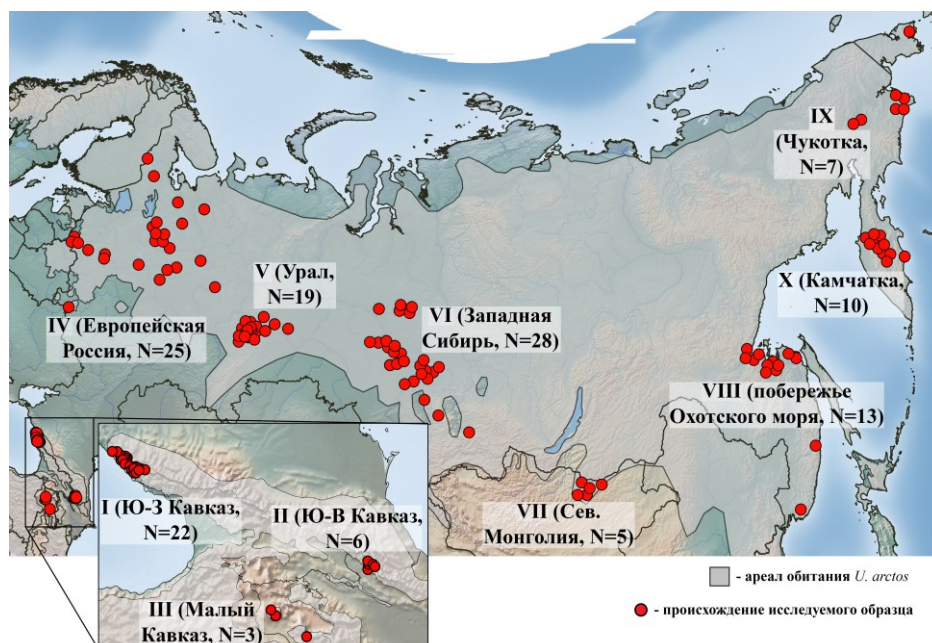


Рисунок 3.1. Карта мест сбора образцов бурого медведя *U. arctos*, для которых были получены генотипы по исследуемым аутомсомным микросателлитным локусам. Указаны географические группировки, выделенные для анализа с помощью программы *Structure* с учетом происхождения образцов.

Для исследования было выбрано 10 аутосомных микросателлитных локусов – Mu10, Mu23, Mu50, Mu51, Mu59, G10L, Cxx20, UarT647, UarT259, G10X [Kleven et al., 2012; Ostrander, Sprague, Rine, 1993; Paetkau et al., 1995; Paetkau, Strobeck, 1994; Taberlet et al., 1997]. Все выбранные локусы продемонстрировали довольно высокие уровни генетического разнообразия и гетерозиготности (Таблица 3.1). Ожидаемая гетерозиготность (H_e) изменялась от 0,787 (локус Mu51) до 0,908 (локус Mu 59); наблюдаемая гетерозиготность (H_o) – от 0,711 (локус Cxx20) до 0,898 (локус T647). Число выявленных аллелей варьировало от 11 (локус Mu10) до 20 (локус G10L), аллельное разнообразие – от 11 до 19,77.

Таблица 3.1. Уровень генетического разнообразия объединённой выборки образцов бурого медведя (N=139).

	N	H_o	H_e	NA	Ar	F_{null}	F_{is}	p(HW)
Mu10	127	0,795	0,848	11	11,00	0,03	0,064	0,000
Mu23	132	0,773	0,832	12	11,86	0,035	0,072	0,052
Mu50	136	0,735	0,862	14	13,71	0,079	0,148	0,003
Mu51	138	0,717	0,787	12	11,9	0,048	0,089	0,084
Mu59	133	0,812	0,908	15	15,00	0,053	0,106	0,005
G10L	136	0,868	0,896	20	19,77	0,014	0,032	0,136
Cxx20	135	0,711	0,860	15	14,93	0,093	0,174	0,000
T259	138	0,797	0,803	12	11,91	0,001	0,008	0,351
T647	127	0,898	0,882	17	16,96	-0,012	-0,018	0,083
G10X	136	0,721	0,843	13	12,91	0,074	0,146	0,000
Среднее / Всего	138	0,783 ± 0,064	0,852 ± 0,038	14,1 ± 2,77	13,99		0,082	

N – число особей;

H_o – наблюдаемая гетерозиготность;

H_e – ожидаемая гетерозиготность;

NA – число аллелей;

Ar – аллельное разнообразие (число аллелей в пересчете на минимальную выборку, в данном случае N=127);

F_{null} – вероятность наличия неамплифицируемых нулевых аллелей, жирным шрифтом отмечены значения выше 0,05;

F_{is} – коэффициент инбридинга, жирным шрифтом отмечены статистически достоверные значения;

p(HW) – статистическая достоверность отклонения от равновесия Харди-Вайнберга, жирным шрифтом отмечены значения ниже 0,05.

Для всех локусов, кроме одного (T647), уровень наблюдаемой гетерозиготности оказался ниже, чем уровень ожидаемой. Это указывает на некоторый избыток гомозиготных особей. Показатели вероятности наличия неамплифицируемых «нулевых» аллелей (F_{null}), коэффициента инбридинга (F_{is}) и достоверности отклонения от равновесия Харди-Вайнберга, которые основываются на соотношении числа гомо- и гетерозигот, соответствуют такому положению. Значение коэффициентов инбридинга было слабо положительным и статистически значимым - F_{is}=0,082 (p=0,000) для совокупности локусов, и слабо положительным для всех локусов, кроме T647. Для локусов Mu50, Mu59, Cxx20, G10X этот коэффициент имел наиболее высокие (хотя и

недостовверные) значения в сочетании со статистически достоверным отклонением от равновесия Харди-Вайнберга и вероятностью наличия нулевых аллелей. Поскольку увеличение доли гомозигот может не только служить индикатором наличия неамплифицируемых аллелей, но и свидетельствовать о наличии внутренней структуры и существования относительно изолированных группировок в составе исследуемой выборки, эти локусы были включены в анализ на общих основаниях.

Средние значения ожидаемой и наблюдаемой гетерозиготности и числа аллелей на локус соответствуют показателям разнообразия, выявленным другими исследователями в протяженных и полиморфных популяциях бурого медведя.

Для пяти образцов, представляющих один из локалитетов – Северную Монголию – не удалось амплифицировать локус Mu10. Поскольку отсутствие данных по одному из локусов у всех особей из одного локалитета потенциально может влиять на получаемые результаты, были проведены предварительные расчеты для полного набора локусов и для набора, не включающего Mu10, в программе *Structure*. Полученные результаты практически не отличались; исключение локуса Mu10 делало итоговую картину несколько менее четкой, однако не влияло на отнесение образцов к тому или иному кластеру. В связи с этим, локус Mu10 не был исключен из анализа в программе *Structure*.

3.1.2 Генетическая структура бурого медведя по данным аутомсомных микросателлитных локусов

3.1.2.1 Кластеризация с учетом географического происхождения образцов

Для того, чтобы выявить генетическую структуру в составе исследуемой выборки бурого медведя, была проведена кластеризация полученных генотипов методом Байеса с помощью программы *Structure* с применением опции LOCPRIOR, которая учитывает происхождение исследуемых образцов. Параметры расчетов приведены в главе 2. Материалы и Методы.

В составе выборки было выделено 10 территориальных группировок, исходя из географической близости мест добычи животных. Для удобства отображения группировкам были присвоены номера с I по X (Рисунок 3.1).

В данной работе использовалась методика определения наиболее правдоподобного числа кластеров (K) по методу Эванно [Evanno, Regnaut, Goudet, 2005], основанная на оценке разброса значений статистической правдоподобности (likelihood). Наиболее правдоподобное число кластеров имеет наибольшее значение параметра ΔK .

Наиболее правдоподобное разделение образцов в составе выборки соответствует самым выраженным генетическим отличиям. Для того, чтобы лучше оценить достоверность выделения более мелких кластеров в составе выявленных на первом этапе, необходимо исключить влияние первичного разделения, поскольку оно затрудняет оценку правдоподобности различных вариантов более тонкой структуры. Для этого был проведен иерархический анализ, представляющий собой ряд последовательных кластеризаций с исключением из анализа наиболее выраженных кластеров и повторным анализом оставшейся части выборки.

На первом этапе был проведен анализ всех образцов, включенных в исследование (Рисунок 3.2-А). Согласно значениям показателя ΔK , оптимальным числом кластеров при анализе всех образцов были $K=2$ и $K=3$ (Рисунок 3.3-А).

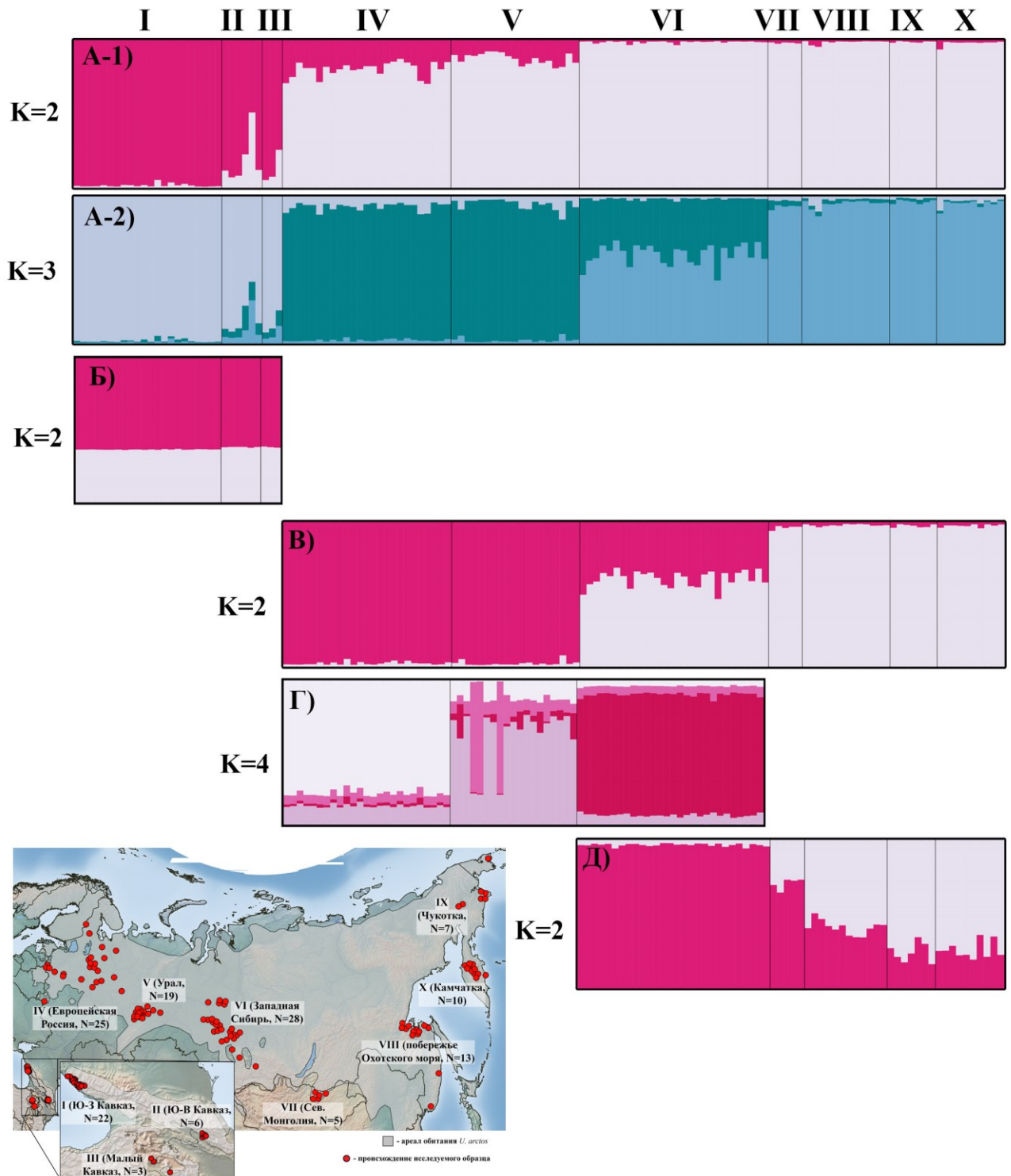


Рисунок 3.2. Кластеризация образцов бурого медведя 10 аутосомным микросателлитным локусам с помощью программы *Structure* с учетом происхождения образцов (LOCPRIOR). Приведены результаты для наиболее правдоподобного числа кластеров согласно методу [Evanno, Regnaut, Goudet, 2005], см. Рисунок 3.3. По оси Y указана вероятность того, что конкретная особь (отдельные столбцы по оси X) может быть отнесена к определенному генетическому кластеру. Цвета соответствуют выделяемым кластерам; рисунки А – Д (см. описание в тексте) соответствуют различным этапам иерархического анализа. Римскими цифрами (I-X) обозначены регионы сборки образцов (см. Рисунок 3.1)

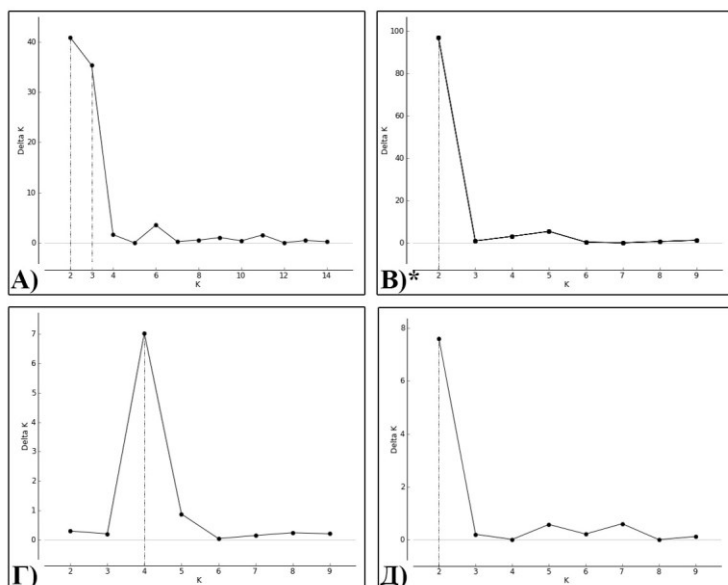


Рисунок 3.3. Показатель правдоподобия выделения различного числа кластеров ΔK при анализе в программе Structure, результаты которого приведены на Рис. Буквенные обозначения соответствуют таковым на Рисунке 3.2. * - график ΔK для построения, результат которого отражен на рис.2Б, не приведен, поскольку в составе выборки не обнаруживается генетическая структура, а используемый метод не позволяет оценить достоверность $K=1$.

При выделении двух кластеров ($K=2$) в состав первого входили медведи Кавказа, а в состав второго – из основной части Евразийского ареала (Рисунок 3.2 А-1). Разделение на кластеры было четким, с резким переходом от первого ко второму кластеру, совпадающим с переходом от трех кавказских группировок (I-III) к группировкам из других регионов (IV-X). Первому кластеру было присвоено название Кавказского, второму – Основного Евразийского.

При $K=3$ (Рисунок 3.2 А-2) в составе выборки, помимо Кавказского кластера (группировки I-III), выделялись генетические кластеры, которые можно условно назвать Западным (группировки IV-V) и Восточным (группировки VII-X).

Особи из Западной Сибири (группировка VI) заняли «промежуточное» положение, будучи ближе к Восточному кластеру, но с заметной долей вероятности отнесения и к Западному. Неоднозначность отнесения особей из группировки VI хорошо иллюстрирует вероятность отнесения особи к тому или иному генетическому кластеру - q . Вероятность $q=0,7$ может использоваться как пороговое значение для отделения правдоподобного отнесения особи к генетическому кластеру от случайного [Kopatz et al., 2012]. Для сравнения посмотрим на параметр q для особей из разных группировок.

Отнесение особей из группировок I-III к Кавказскому кластеру имело $q \geq 0,74$ (за исключением единственной особи с $q = 0,58$), отнесение особей из группировок IV и V к Западному кластеру – $q \geq 0,78$, а отнесение особей из группировок VII-X к Восточному кластеру – $q \geq 0,87$. При этом вероятность отнесения к любому другому кластеру, кроме основного, не превышала $q = 0,1$. Такое соотношение указывает на уверенное отнесение образцов к соответствующим генетическим кластерам. Для западносибирских же образцов из группировки VI вероятность отнесения к Восточному кластеру составляла 0,43 - 0,7, а вероятность отнесения

к Западному кластеру варьировала в диапазоне 0,28-0,56. То есть, ни для одного из образцов из Западной Сибири q не превышало условного порога случайных значений ни для одного из генетических кластеров.

В рамках иерархического подхода к выявлению генетической структуры были отдельно проанализированы два генетических кластера первого уровня, Кавказский (I-III) и Основной Евразийский (IV-X) (Рисунок 3.2-Б, -В, Рисунок 3.3-В). В составе Кавказского кластера внутренней структуры выявлено не было. В составе Основного Евразийского кластера были выявлены два генетических кластера, соответствующих результатам кластеризации всей выборки при $K=3$ (Западный и Восточный кластеры).

Далее для медведей Основного Евразийского кластера были проведены независимые расчеты для Западного (IV-VI) и Восточного (VI-X) кластеров (Рисунок 3.2-Г, -Д, Рисунок 3.3 - Г, -Д). Образцы из Западной Сибири (группировка VI) были включены в состав обоих генетических кластеров, поскольку ранее медведи этого региона заняли промежуточное положение, и вероятность их отнесения к Восточному кластеру лишь незначительно превышала вероятность отнесения к Западному.

При анализе образцов из группировок IV-VI оптимальное число кластеров составило $K=4$ (Рисунок 3.3-Г). При этом фактически (Рисунок 3.2-Г) в качестве одного из кластеров выступают три образца с Урала, в то время как остальные особи распределяются по трем генетическим кластерам сообразно географическому происхождению образцов: Европейская Россия, Урал и Западная Сибирь. Три особи с Урала отличались друг от друга по трем локусам из 10 и были добыты в одном и том же районе Свердловской области. Они могут быть представителями генетического кластера, который распространён на Урале, однако в нашей выборке представлен только этими образцами; или же эти особи могут быть родственны друг другу, и из-за этого определяться программой *Structure* как относящиеся к отдельной генетической группе. Поскольку речь идет о всего трех особях, для которых невозможен расчет групповой статистики, и поскольку мы не можем уверенно утверждать, что этот генетический кластер не является артефактом, в дальнейшем он не будет обсуждаться.

При анализе группировок VI-X оптимальным числом кластеров было $K=2$ (Рисунок 3.3-Д); один из кластеров включает в себя образцы из Западной Сибири, а вероятность отнесения особей ко второму генетическому кластеру постепенно увеличивается по мере продвижения на северо-восток (Рисунок 3.2-Д): от Северной Монголии (группировка VII) через побережье Охотского моря (группировка VIII) к Чукотке и Камчатке (группировки IX и X). Особи с Камчатки/Чукотки и из Западной Сибири уверенно относятся к двум разным генетическим

кластерам, однако на данной выборке точно установить границу между ними не представляется возможным. Может быть, она будет выявлена при использовании более обширной выборки в работах других исследователей.

3.1.2.2 Кластеризация без учета географического происхождения образцов

Для того, чтобы исключить влияние априорного разделения выборки по регионам происхождения образцов, была проведена кластеризация всей выборки с помощью программы *Structure* без их учета (опция *LOCPRIOR* отключена). По аналогии с приведённым выше анализом было проведено несколько иерархических этапов кластеризации. Оценка правдоподобия кластеризации также проводилась методом Эванно [Evanno, Regnaut, Goudet, 2005].

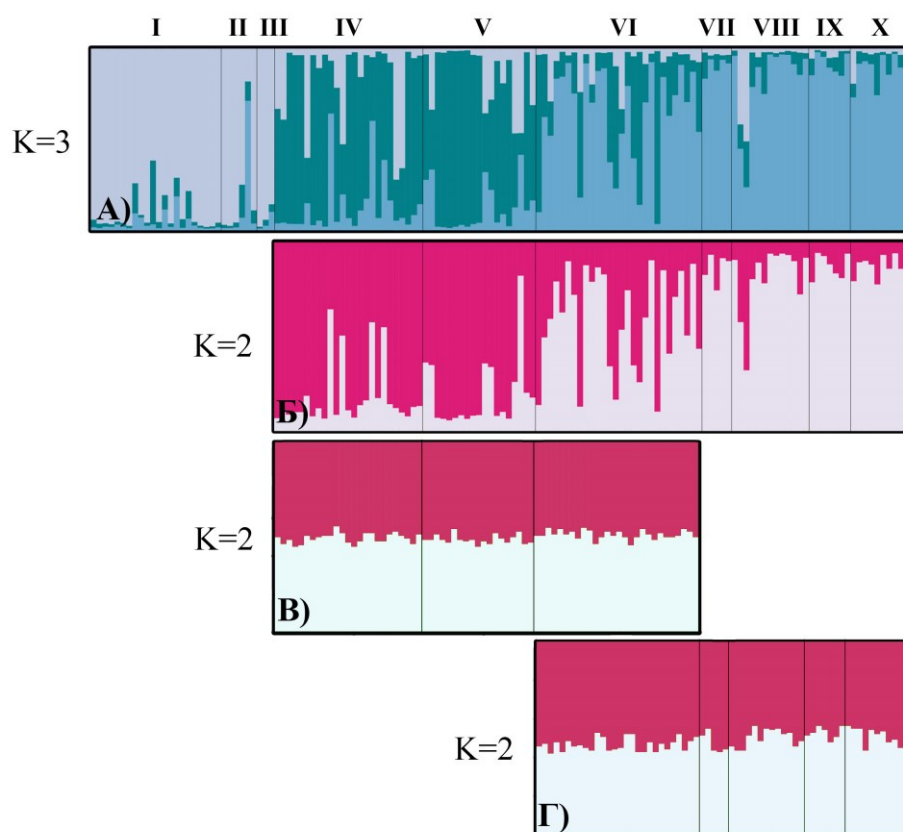


Рисунок 3.4. Результаты Байесовского анализа изменчивости аутосомных микросателлитных локусов бурого медведя с помощью программы *Structure* без учета происхождения образцов. По оси Y указана вероятность того, что конкретная особь (отдельные столбцы по оси X) может быть отнесена к определенному генетическому кластеру. Цвета соответствуют выделяемым кластерам. Кластеризационные картины соответствуют различным этапам иерархического анализа.

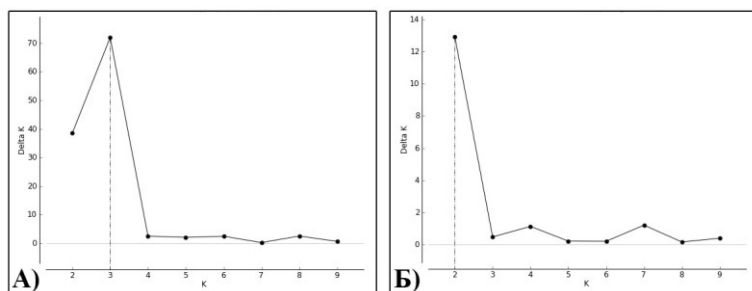


Рисунок 3.5. Показатель правдоподобности выделения различного числа кластеров ΔK при анализе в программе *Structure*, результаты которого приведены на Рис. Буквенные обозначения соответствуют таковым на Рис.

Наиболее правдоподобным числом кластеров для всей выборки оказалось $K=3$ (Рисунок 3.5-А). Несмотря на меньшую четкость полученной картины по сравнению с анализом, учитывающим происхождение образцов, выделяющиеся генетические кластеры (Рисунок 3.4-А) хорошо соответствуют описанным выше с использованием опции *LOCPRIOR*. К одному из кластеров относятся в основном образцы из трех группировок с Кавказа, ко второму – особи из европейской части России и с Урала, а также три особи из Сибири, а к третьему кластеру относятся почти все особи из более восточных регионов (Северная Монголия, побережье Охотского моря, Чукотка и Камчатка) и большинство особей из Сибири. Фактически, это распределение соответствует Кавказскому, Западному и Восточному кластерам.

При проведении расчета без *LOCPRIOR* кластеризация выглядит более «шумной» - не наблюдается столь четкого разделения между медведями из западной и восточной частей ареала, хотя общая закономерность выделения генетических кластеров сохранилась. При этом выявляются звери, уверенно ($q > 0,7$) относящиеся к генетическим кластерам, не соответствующим их происхождению. Так, один из образцов из Юго-восточного Кавказа относился к Восточному кластеру ($q = 0,71$), а к Кавказскому кластеру был отнесен образец из Европейской России ($q = 0,72$).

При исключении из анализа особей с Кавказа, как наиболее сильно отличающихся, максимально правдоподобным числом кластеров было $K=2$ (Рисунок 3.5-Б); полученная кластеризационная картина (Рисунок 3.4-А и -Б) практически не отличается от описанной выше. Наиболее резкий переход от Западного генетического кластера к Восточному происходит при переходе между выборками особей с Урала и из Сибири.

При рассмотрении более мелких подвыборок не удалось выявить генетической структуры ни в более западной, ни в более восточной части выборки (Рисунок 3.4-В, -Г). Т.о., кластеризация без учета географического происхождения образцов подтвердила выделение в составе выборки Кавказского, Западного и Восточного кластеров, однако не смогла показать более подробного разделения регионов.

3.1.2.3 Анализ генетических дистанций

Описанная выше кластеризация в программе *Structure* основана на оценке правдоподобия заданного числа кластеров с использованием метода Байеса. Для анализа микросателлитных локусов также был использован другой подход – анализ генетических дистанций между группировками, основанных на сопоставлении уровня вариабельности внутри и между группировок. Поскольку при расчёте генетических дистанций значительное влияние на результат оказывает размер выборки, особенно если он недостаточен, из анализа была исключена группировка III (Малый Кавказ), состоящая из трех образцов. В состав остальных группировок входило 5 и более особей.

Как указывалось в начале главы, для образцов из Северной Монголии (группировка VII) не удалось амплифицировать локус Mu10. Поэтому были проведены расчеты генетических дистанций как на основании всех 10 локусов (но без учета группировки Монголии), так и на основании 9 локусов (т.е. с полным исключением локуса Mu10), но с учетом особей из Монголии.

Для выбора показателя генетической дистанции была использована программа SPAGeDi 1.5d, проверка в которой показала, что для исследуемой выборки дистанции Rst не являются более представительными, чем Fst ($p = 0,138$ для выборки на основе 10 локусов, $p = 0,238$ для выборки на основе 9 локусов); разница между Rst и Fst не была статистически значимой как для совокупности всех локусов, так и для каждого локуса в отдельности. Ввиду этого, генетические дистанции далее будут основываться на расчёте показателя Fst, а не Rst.

Показатели генетических дистанций Fst, полученные при анализе в программе GenAlex, приведены в Таблице 3.2. Все выявленные генетические дистанции были статистически достоверны ($p < 0,05$).

При рассмотрении как 10, так и 9 локусов наименьшие генетические дистанции разделяют группировки I и II (Юго-Западный и Юго-Восточный Кавказ), IV и V (Европейская часть России и Урал) и VI, VII-X (Западная Сибирь, побережье Охотского моря, Чукотка, Камчатка). Группировка Северной Монголии (VII), когда она была включена в анализ, продемонстрировала относительно большие значения генетических дистанций, отделяющих ее от Кавказа, Европейской России, Урала, Чукотки и Камчатки (I-V, IX, X), сближаясь только с группировками Западной Сибири и побережья Охотского моря (VI, VIII).

В целом паттерн дистанций Fst имеет значительное сходство с описанными ранее результатами Байесовской кластеризации. В составе выборки также можно выделить Кавказский, Западный и Восточный кластеры, которые определяются как зоны меньших генетических различий между соответствующими региональными группировками. Группировка

Западной Сибири (VI) в обоих вариантах анализа демонстрирует близость как к Западному, так и к Восточному кластерам.

Таблица 3.2. Значения генетических дистанций F_{st} , полученных с помощью программы GenAlex: над диагональю -при включении в анализ 10 микросателлитных локусов и исключении группировки Монголии (VII), под диагональю – при включении в анализ 9 микросателлитных локусов и включении группировки Монголии. Двойная граница ячеек показывает исключенную из анализа группировку III. Нумерация группировок в соответствии с Рисунком 3.1. **Все генетические дистанции статистически достоверны ($p < 0,05$).** Цветами отмечены самые низкие (зеленый) и самые высокие (красный) 25% генетических дистанций.

Номер группировки	I	II	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
I		0,021	0,070	0,067	0,080		0,096	0,097	0,111
II	0,025		0,036	0,051	0,064		0,084	0,113	0,118
IV	0,055	0,023		0,021	0,038		0,048	0,069	0,083
V	0,050	0,038	0,021		0,032		0,067	0,087	0,081
VI	0,058	0,047	0,042	0,033			0,038	0,039	0,047
VII	0,081	0,073	0,080	0,081	0,038				
VIII	0,077	0,071	0,054	0,066	0,039	0,033		0,033	0,049
IX	0,074	0,098	0,076	0,094	0,043	0,063	0,027		0,044
X	0,067	0,079	0,079	0,073	0,043	0,065	0,039	0,042	

Также для полученных значений F_{st} был проведен анализ главных координат (Рисунок 3.6). При анализе 9 локусов две оси описывают 60% изменчивости, при анализе 10 локусов – 70% изменчивости.

В обеих версиях анализа (при учете 10 и 9 локусов) итоговое расположение группировок друг относительно друга не противоречит описанным ранее результатам. В обоих вариантах анализа наблюдается близкое расположение группировок Европейской России и Урала, а также положение группировки Западной Сибири почти ровно посередине между более восточными и более западными группировками.

В отличие от результатов кластеризации в программе STRUCTURE, анализ генетических дистанций показывает разделение между группировками Юго-Западного и Юго-Восточного Кавказа.

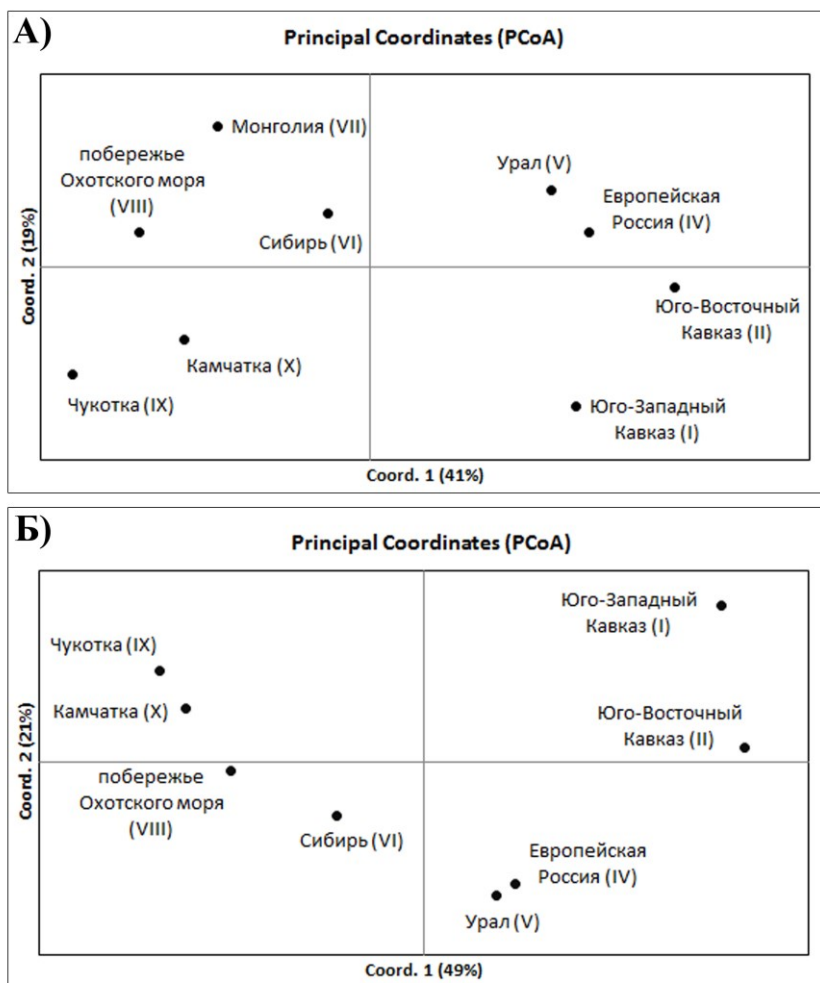


Рисунок 3.6. Анализ генетических дистанций F_{st} , полученных на основании изменчивости аутосомных микросателлитных локусов, методом главных координат. А) результат анализа 9 локусов (исключен локус Mu10); Б) результат анализа 10 локусов.

Поскольку по результатам всех статистических анализов образцы из Западной Сибири оказались близки как к Западному, так и к Восточному генетическому кластеру, представляется целесообразным выделить их в отдельный Центральный генетический кластер.

Таким образом, в соответствии с изменчивостью аутосомных микросателлитных локусов, в составе исследуемой выборки бурых медведей из различных частей евразийского ареала удалось выделить несколько генетических кластеров. Выявленные кластеры имеют иерархическую структуру (Рисунок 3.7).

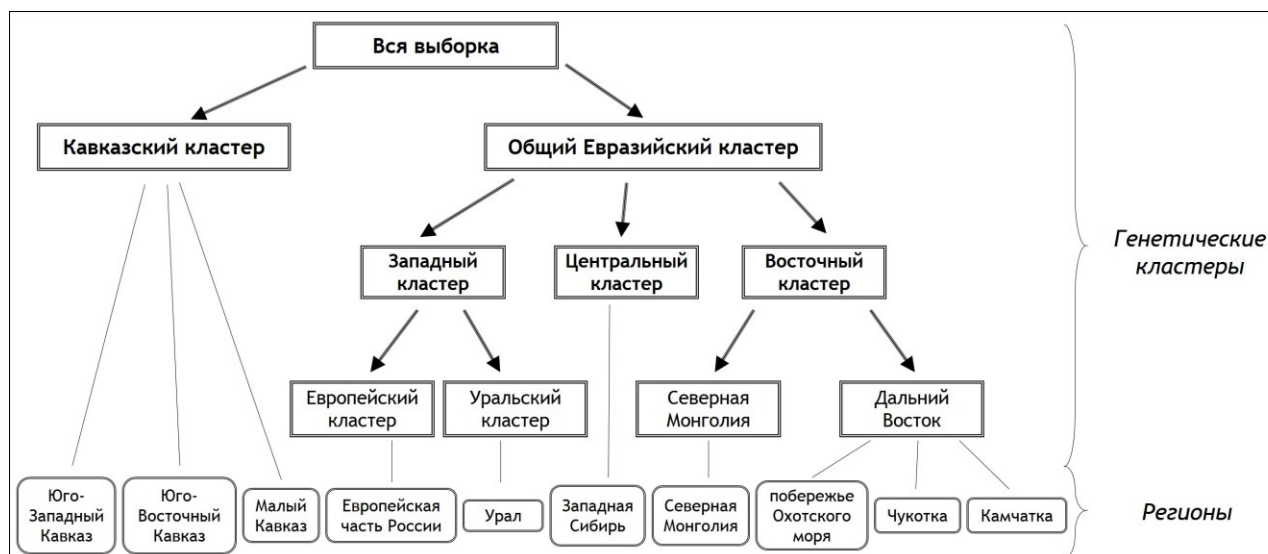


Рисунок 3.7. Схема выявленных генетических кластеров, согласно анализу аутомных микросателлитных локусов.

3.1.3 Половая структура выборки и исследование генетической структуры самцов

Поскольку для бурого медведя известна филопатрия самок и дисперсия самцов, мы сочли интересным попробовать проанализировать самцов и самок по-отдельности.

Для 123 особей из 138 исследованных (89%) удалось определить пол. Из них 37 оказались самками, и 86 – самцами, что соответствует 26,8% и 62,3% от общего числа особей, или 30% и 70% от числа особей с определенным полом. Соотношение количества подтвержденных самок и самцов в исследуемой выборке соответствует соотношению 1:2,3.

Результаты определения пола для образцов бурого медведя из различных территориальных группировок приведены в Таблице 3.3. Ни в одной из группировок доля самок не превышала 50% от общего числа особей, а доля самцов не опускалась ниже 50%.

Таблица 3.3. Результаты определения пола образцов тканей бурого медведя, включенных в анализ аутомных микросателлитных локусов.

Группировка (номер)	♀, N (%)	♂, N (%)	Н/О, N (%)	Всего, N (%)	♀:♂
Ю-З Кавказ (I)	11 (50,0%)	11 (50,0%)	0 (0%)	22 (100%)	1 1
Ю-В Кавказ (II)	1 (16,7%)	5 (83,3%)	0 (0%)	6 (100%)	1 5
Мал. Кавказ (III)	1 (33,3%)	2 (66,7%)	0 (0%)	3 (100%)	1 2
Европейская Россия (IV)	6 (24,0%)	16 (64,0%)	3 (12,0%)	25 (100%)	1 2,7
Урал (V)	4 (21,1%)	11 (57,9%)	4 (21,1%)	19 (100%)	1 2,8
З. Сибирь (VI)	6 (21,4%)	19 (67,9%)	3 (10,7%)	28 (100%)	1 3,2
Монголия (VII)	1 (20,0%)	3 (60,0%)	1 (20,0%)	5 (100%)	1 3
поб. Охотского моря (VIII)	4 (30,8%)	7 (53,8%)	2 (15,4%)	13 (100%)	1 1,8
Чукотка (IX)	1 (14,3%)	5 (71,4%)	1 (14,3%)	7 (100%)	1 5
Камчатка (X)	2 (20,0%)	7 (70,0%)	1 (10,0%)	10 (100%)	1 3,5
Всего	37 (26,8%)	86 (62,3%)	15 (10,9%)	138 (100%)	1 2,3

Поскольку общее число самок в выборке оказалось низким, провести отдельный анализ только для самок не представляется возможным. Однако, число самцов позволяет, хотя и со значительным сокращением выборки, рассмотреть только их.

Результат Байесовского анализа изменчивости аутосомных микросателлитных локусов самцов бурого медведя в программе *Structure* с учетом происхождения образцов (LOCPRIOR) приведен на Рисунок 3.8. Полученные результаты позволяют выделить генетические кластеры, сходные с таковыми для выборки, включающей всех особей (см. Рисунок 3.2, Рисунок 3.4): на первой стадии выявляется Кавказский генетический кластер, а при исключении из анализа образцов с Кавказа оставшиеся особи разделяются на Западный, Центральный и Восточный кластеры. Также при анализе исключительно самцов воспроизводится клинальная структура в составе Восточного кластера, описанная для всей выборки.

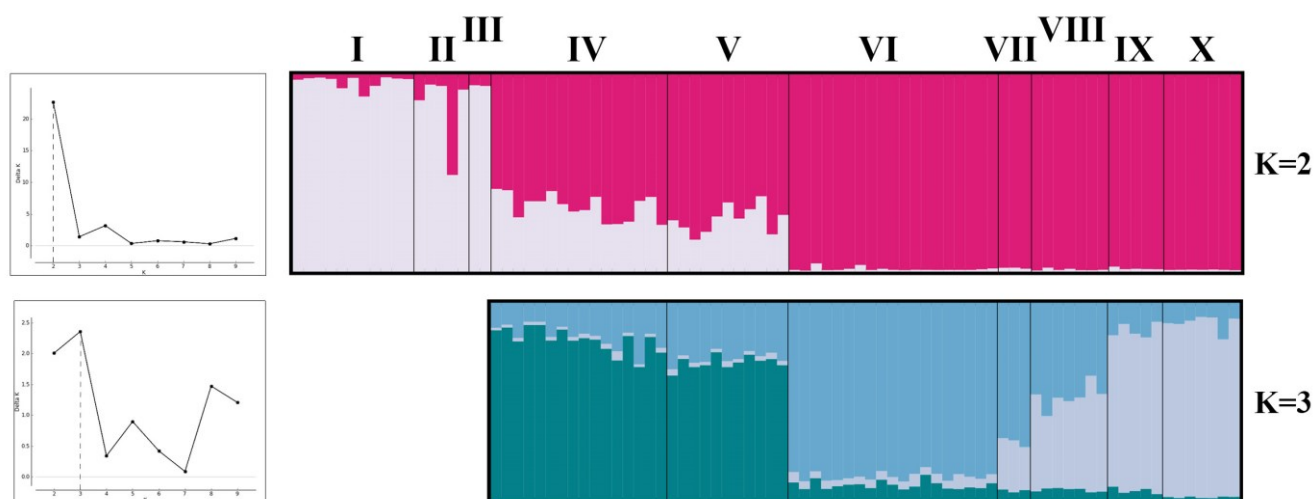


Рисунок 3.8. Результаты анализа самцов бурого медведя с помощью программы STRUCTURE с учетом происхождения образцов, и показатели правдоподобия (ΔK) числа выделяемых кластеров. Номера географических группировок соответствуют таковым для описанного выше анализа полной выборки.

3.1.4 Характеристика выявленных генетических кластеров

3.1.4.1 Уровень генетического разнообразия и гетерозиготности

Результаты анализа аутосомных микросателлитных локусов позволили выделить в составе исследуемой выборки бурого медведя иерархическую систему генетических кластеров. В Таблице 3.4 приведены значения параметров генетического разнообразия выборок, отнесенных к разным кластерам: более крупным (Кавказский, Западный, Центральный, Восточный) и более мелким региональным (Европейский кластер, Уральский кластер, Северная Монголия, Дальний Восток).

Уровень генетического разнообразия медведей из Кавказского кластера несколько ниже, чем разнообразие зверей из Западного, Центрального и Восточного кластеров, по всем

параметрам (уровни гетерозиготности, среднее количество аллелей и число приватных аллелей). Коэффициент инбридинга F_{is} является статистически значимым только в Кавказском кластере. В целом же уровень генетического разнообразия медведей Кавказа соответствует скорее показателям региональных кластеров более низкого уровня, при этом по уровню гетерозиготности уступает и им тоже.

Среднее количество аллелей и уровень гетерозиготности имеют крайне сходные значения для медведей из Западного, Центрального и Восточного кластеров. Единственный параметр, по которому эти кластеры различались, это число приватных аллелей. Наименьшее их количество было выявлено в Центральном генетическом кластере, а наибольшее, вдвое превышающее его, Западном генетическом кластере.

Таблица 3.4. Показатели генетического разнообразия различных генетических кластеров на основании анализа микросателлитных локусов.

	N	Ho	He	NA	Fis	Pr
Кавказский кластер	31	0,745 ± 0,115	0,779 ± 0,102	8,5 ± 2,32	0,088 *	3
Западный кластер	44	0,793 ± 0,088	0,829 ± 0,041	11,2 ± 1,87	0,027	16
Европейская часть России	25	0,816 ± 0,079	0,818 ± 0,059	9,5 ± 1,43	-0,005	9
Урал	19	0,757 ± 0,155	0,819 ± 0,047	7,9 ± 1,37	0,052	3
Центральный кластер (Западная Сибирь)	28	0,786 ± 0,068	0,838 ± 0,053	10 ± 1,63	0,049	7
Восточный кластер	35	0,799 ± 0,086	0,827 ± 0,053	10 ± 2,54	0,035	11
Монголия **	5	0,793 ± 0,259	0,82 ± 0,125	5,3 ± 1,58	0,013	0
Дальний Восток	30	0,796 ± 0,096	0,819 ± 0,061	9,7 ± 2,5	0,019	9

N – число исследованных особей,

Ho – наблюдаемая гетерозиготность,

He – ожидаемая гетерозиготность,

NA – среднее число аллелей на локус,

Fis – индекс инбридинга,

Pr – число уникальных «приватных» аллелей,

* - $p < 0.05$

** - анализ на основании 9 локусов

Если рассматривать выявленные генетические кластеры более низкого уровня, то Западный и Восточный кластеры распадутся на кластеры Европейской России, Урала, Монголии и Дальнего Востока. В таком случае наибольшее внимание привлекает кластер Урала, имеющий самые низкие показатели среднего числа аллелей, числа приватных аллелей (за исключением группировки Монголии, но в ее состав входит всего 5 образцов), и наблюдаемой гетерозиготности, которой уступает только этот показатель для медведей Кавказа. Среднее число аллелей и число приватных аллелей, если не брать во внимание Монголию, на Урале также являются наиболее низкими среди исследованных выборок.

Таким образом, анализ генетической изменчивости и гетерозиготности выявленных кластеров показывают низкое разнообразие медведей Кавказа и Урала по сравнению со зверями других регионов. При этом интересно, что все исследованные показатели выборки медведей Европейской России имеют высокие значения, то есть, между этими географически близкими локалитетами наблюдается значительная разница в генетическом разнообразии.

3.1.4.2 Генетические дистанции между кластерами

Значения генетических дистанций F_{st} , разделяющих выделенные кластеры, приведены в Таблице 3.5 и Таблице 3.6. Все генетические дистанции были статистически достоверны, однако имели достаточно низкие значения.

При рассмотрении генетических кластеров высокого уровня мы видим, что генетические дистанции, отделяющие Кавказский кластер от Центрального и Восточного, а также Восточный от Западного, практически равны. При этом Центральный кластер демонстрирует относительно более низкие дистанции, отделяющие его от Западного и от Восточного кластеров. Это положение соответствует результатам байесовской кластеризации, согласно которой медведи, выделенные нами в Центральный генетический кластер, близки как к медведям Западного, так и Восточного кластера. Также несколько сниженная генетическая дистанция отделяет медведей Западного кластера от медведей Кавказского кластера.

Таблица 3.5. Значения дистанций F_{st} , разделяющих выделенные генетические кластеры высокого уровня, на основании анализа 10 микросателлитных локусов. **Все значения статистически достоверны ($p < 0.05$).**

	Кавказский кластер (N=31)	Западный кластер (N=44)	Центральный кластер (N=28)	Восточный кластер (N=35)
Кавказский кластер (N=31)	0			
Западный кластер (N=44)	0,046	0		
Центральный кластер (N=28)	0,057	0,039	0	
Восточный кластер (N=35)	0,058	0,057	0,032	0

При рассмотрении кластеров более низкого уровня был проведен анализ в двух вариантах: на основании изменчивости всех 10 использованных локусов, но без особей из Северной Монголии, и на основании 9 локусов, но включая особей из Северной Монголии.

В обоих случаях наименьшая генетическая дистанция разделяла медведей Европейской части России и Урала, что подтверждает правомочность их объединения в Западный генетический кластер. Уровень отличия кластера Северной Монголии от кластера Дальнего

Востока значительно выше. Это указывает на возможность выделения медведей из Северной Монголии в отдельный кластер более высокого уровня при расширении исследованной выборки.

В обоих вариантах расчета относительно небольшие генетические дистанции отделяют медведей Западной Сибири от медведей Урала и Дальнего Востока, при этом генетическая дистанция между медведями Западной Сибири и Европейской части России несколько выше и почти равна дистанции между особями Европейской России и Урала.

Генетические дистанции, отделяющие кластер Дальнего Востока от кластеров Кавказа, Европейской России и Урала, имеют стабильно высокие значения.

Таблица 3.6. Значения дистанций F_{st} , разделяющих выделенные генетические кластеры низкого уровня, на основании анализа 9 (А) и 10 (Б) микросателлитных локусов. **Все значения статистически достоверны ($p < 0.05$).** Жирным обведены генетические кластеры высокого уровня.

А)	Кавказский кластер (N=31)	Европейская часть России (N=25)	Урал (N=19)	Западная Сибирь (N=28)	Монголия (N=5)	Дальний Восток (N=30)
Кавказский кластер (N=31)	0					
Европейская часть России (N=25)	0,048	0				
Урал (N=19)	0,051	0,016	0			
Западная Сибирь (N=28)	0,057	0,052	0,033	0		
Монголия (N=5)	0,059	0,083	0,067	0,04	0	
Дальний Восток (N=30)	0,064	0,068	0,061	0,037	0,044	0

Б)	Кавказский кластер (N=31)	Европейская часть России (N=25)	Урал (N=19)	Западная Сибирь (N=28)	Дальний Восток (N=30)
Кавказский кластер (N=31)	0				
Европейская часть России (N=25)	0,047	0			
Урал (N=19)	0,044	0,019	0		
Западная Сибирь (N=28)	0,055	0,044	0,032	0	
Дальний Восток (N=30)	0,064	0,061	0,066	0,035	0

3.2 Обсуждение

3.2.1 Выявленные генетические кластеры и факторы их формирования

Полученные нами данные по изменчивости аутосомных микросателлитных локусов показали существование в составе исследуемой выборки образцов бурого медведя нескольких генетически обособленных региональных групп.

3.2.1.1 Кавказский кластер

Наиболее явно выделяются медведи с Кавказа, что соответствует представлениям об изоляции этой части ареала от более северной популяции Европейской России. Согласно литературным данным, южная граница евразийской части ареала в Европейской части России к началу XX столетия не сдвигалась южнее Липецка и Орла [Беликов и др., 1993], т.е. по меньшей мере с начала XX века между кавказской и европейской популяциями не существовало сообщения через территории Восточно-Европейской равнины. Вероятно, кавказская и европейская части ареала были разделены в течение нескольких столетий [Гептнер и др., 1967]. Генетическое своеобразие медведей Кавказа также хорошо соответствует и данным морфологических исследований, которые показывают значительные отличия между зверями с Кавказа и более северных территорий [Барышников, 2007].

Тем не менее, величина дистанции F_{st} , отделяющей медведей Кавказа от ближайших к ним географически медведей Европейской России и Урала имеет относительно небольшое значение – 0,047 и 0,044, соответственно. Это вдвое меньше, чем генетические дистанции, отделяющие медведей Йеллоустона от медведей Северного Американского континентального водораздела (Northern continental divide ecosystem, NCDE) ($F_{st}=0.096$, [Haroldson et al., 2010]). Также значительно выше и значения дистанций F_{st} , отделяющих медведей пустыни Гоби и Гималаев друг от друга и от популяций Северной Монголии – 0,137-0,308 [Tumendemberel et al., 2019]. Генетические дистанции, разделяющие медведей популяций Динарского нагорья и Рило-Родопского горного массива, также значительно выше – 0,296-0,433, несмотря на то, что в составе исследуемой выборки были выявлены две особи, идентифицированные как потомки мигрантов между этими частями ареала [Pyilidis et al., 2021]. Можно предположить, что причина разницы в величинах F_{st} обусловлена численностью изолированных популяций. Численность медведей Йеллоустона и Гоби значительно ниже, чем численность медведей Кавказа, и численность медведей разных частей ареала Балканского полуострова также невелика. В таких маленьких популяциях в результате дрейфа генов быстро формируется единообразие животных в составе изолированной популяции и их отличие от зверей соседних регионов.

Наша исходная гипотеза относительно внутренней структуры популяции бурых медведей Кавказа заключалась в том, что изрезанность горного рельефа и большая протяженность горного массива могли бы способствовать фрагментации и формированию изолированных групп. Однако в настоящей работе не удалось выявить генетической структуры в составе исследуемой выборки бурых медведей Кавказа и Закавказья.

С одной стороны, невозможность выявить генетическую структуру в составе Кавказской популяции медведя можно объяснить сравнительно малой выборкой.

Однако с другой стороны, исследования популяций медведей из других гористых регионов также часто показывали отсутствие генетической структуры.

Так, между зверями Большого и Малого Кавказа с территории Грузии удалось выявить только слабую генетическую дифференциацию, несмотря на то, что фактически возможность перемещения особей между этими хребтами ограничена коридором Лихского хребта [Murtskhvaladze, Gavashelishvili, Tarkhnishvili, 2010]. Также не удалось выявить и отличий между медведями с разных концов Лазистанского хребта, из провинций Артвин и Байбурт (Турция), разделенных расстоянием примерно 300 км [Ambarlı et al., 2018].

В работе, посвящённой медведям Центральных Балкан, не было выявлено генетических различий между выборками со Старо-Планины и Родопского горного массива [Frosch et al., 2014]. Особенно интересно, что в составе выборки при этом была выявлена достаточно четкая генетическая структура, которая не коррелировала с географическим происхождением образцов. Авторы предполагают, что выявленные генетические кластеры могут отражать семейные группы, сформировавшиеся под действием филпатрии самок. Тем не менее, показательно, что использовавшийся набор микросателлитных локусов был достаточно изменчив, чтобы выявить тонкую структуру семейных групп – и при этом не показал различий между зверями из разных частей Балкан.

Наиболее явно выраженную генетическую структуру среди бурых медведей, обитающих в горных ландшафтах, удалось обнаружить среди медведей Ирана [Ashrafzadeh et al., 2018]. В данной работе авторы выявили четыре генетических кластера, два из которых имели достаточно четкую географическую очерченность, в то время как звери из двух других были встречены в одних и тех же локалитетах в горной системе Эльбурс. Целью авторов было выявление факторов, определяющих формирование генетических кластеров бурых медведей, и они пришли к выводу, что наиболее сильное влияние оказывали присутствие людей и степень пересеченности рельефа (topographic roughness). Именно эти параметры, согласно моделированию, лучше всего

объясняли отделение медведей из наиболее сильно отличающегося генетического кластера. При исследовании медведей Грузии авторы также выделяли присутствие человека как основной фактор, влияющий на распространение бурых медведей [Murtskhvaladze, Gavashelishvili, Tarkhnishvili, 2010].

Также в Скалистых горах в США в зоне охраны гризли в районе NCDE были выявлены генетические кластеры, разделенные транспортным коридором, включающим высокоскоростную автостраду и железнодорожные пути. При этом медведи по разные стороны от транспортного коридора формировали два отдельных кластера только в той зоне, где движение было наиболее активным, а плотность человеческих поселений – наиболее высокой. В зоне же, где человеческое присутствие и уровень загруженности транспортного коридора были ниже, медведи по разные стороны от него не разделялись генетически [Kendall et al., 2009].

Полученные нами данные об отсутствии генетической структуры в составе Кавказской популяции бурых медведей, таким образом, не противоречат данным других исследователей. Изрезанность горного рельефа и вызванная ей фрагментация популяции, по-видимому, не являются сами по себе достаточным препятствием для потока генов в случае бурого медведя. Можно предполагать, что там, где ни интенсивность человеческого присутствия, ни изрезанность рельефа не формируют физически непреодолимого барьера, число мигрантов достаточно, чтобы обеспечить генетическое единство, и бурые медведи могут сохранять связанность популяции даже при наличии на ареале «узких мест».

3.2.1.2 Генетические кластеры Евразийской части ареала (без Кавказа)

Среди зверей, обитающих в других частях России и происходящих из непрерывной евразийской части ареала, удалось выявить иерархическую систему генетических кластеров, в целом совпадающих с географическим происхождением образцов. Подобные крупные генетические кластеры выявляются при анализе изменчивых ядерных маркеров (микросателлитные локусы и SNP), для многих видов животных, обладающих обширным непрерывным ареалом.

Внутривидовая структура американского черного медведя, населяющего в Северной Америке протяженный непрерывный ареал, согласно изменчивости микросателлитных локусов и SNP, также представляет собой три крупных региональных кластера, которые далее иерархически разделяются на более мелкие группы [Puckett, Eggert, 2016; Puckett et al., 2015]. Однако исследования американского черного медведя осложняются тем же фактором, что изучение бурого медведя Евразии – значительная часть протяженного ареала приходится на труднодоступные и слабо заселенные человеком места, а сам вид достаточно сложен для

получения образцов тканей. Поэтому исследуемая выборка либо охватывает небольшую территорию, либо составлена из нескольких региональных выборок, разделенных непокрытыми зонами ареала. Ввиду этого, выявленные генетические кластеры как для бурого (в данной работе), так и для американского черного [Puckett, Eggert, 2016; Puckett et al., 2015] медведей не являются окончательным описанием современной генетической структуры вида, поскольку обширные пространства, не охваченные исследованием, оставляют большой простор для толкования.

Несколько иерархических региональных генетических кластеров было выявлено на территории США для красной рыси, при этом, согласно исследованию относительно разобранной выборки, выделяются три крупных генетических кластера [Croteau et al., 2012], а последующий анализ более равномерно распределенной и более многочисленной выборки, подтвердив такое разделение, позволил далее вычленив в их составе более мелкие региональные группировки [Reding et al., 2012].

Для белого медведя анализ микросателлитных локусов позволил выделить несколько (4-6) крупных региональных генетических кластеров [Kutschera et al., 2016; Malenfant et al., 2016], однако в силу характерных для этого вида перемещений на очень длинные дистанции наблюдаемая картина является менее четкой, чем полученная нами для бурого медведя, а также описанная в литературе для американского черного.

Крупные региональные кластеры были выявлены и у такого высокоподвижного вида, как серый волк [Carmichael et al., 2007; Geffen, Anderson, Wayne, 2004; Knowles, 2010; Pilot et al., 2006; Schweizer et al., 2016; Талала и др., 2020]. При этом работы по генетической структуре волка Северной Америки часто, в отличие от упомянутых выше видов медведей, опираются на достаточно равномерную выборку, что позволяет авторам не только описывать обсуждаемые генетические кластеры с большей долей уверенности, но и детально анализировать факторы, которые вносят вклад в их формирование. Судя по совокупности опубликованных результатов, для волка, помимо влияния изоляции расстоянием, прослеживается большой вклад территориального поведения основных жертв [Carmichael et al., 2007; Knowles, 2010; Musiani et al., 2007], биотопов и типа растительности в зоне обитания [Geffen, Anderson, Wayne, 2004; Musiani et al., 2007; Pilot et al., 2006], а также климатических показателей [Geffen, Anderson, Wayne, 2004; Schweizer et al., 2016]. При этом, поскольку все указанные факторы на деле не являются независимыми друг от друга, оцениваемая степень их влияния несколько варьирует от исследования к исследованию.

Отдельно стоит упомянуть о работах по исследованию генетической структуры евразийской рыси на территории России, поскольку ее ареал сходен с ареалом бурого медведя, и так же, как и бурый медведь, в генетических исследованиях недостаточно представлены территории, находящиеся восточнее Уральских гор. Анализ ядерных микросателлитных локусов и SNP показал разделение зверей континуального евразийского ареала на Западный и Восточный кластеры, граница между которыми проходит в промежутке между Уральскими горами и Якутией [Lucena-Perez et al., 2020; Rueness et al., 2014].

3.2.1.2.1 Проверка гипотезы изоляции расстоянием

В данном исследовании речь идет об огромной континуальной части ареала, а исследуемые образцы представляют несколько удаленных регионов, при этом на исследуемой территории нет известных разрывов ареала бурого медведя. Поэтому первым вероятным объяснением наблюдаемой структуры выглядит изоляция расстоянием (Isolation By Distance, IBD). Изоляция расстоянием достаточно часто определяется в качестве наиболее достоверного объяснения выявляемых генетических кластеров [Ruiz-Gonzalez et al., 2015], в том числе иерархических [Noguerales, Cordero, Ortego, 2016]. Влияние этого фактора часто сравнивают с влиянием изоляции барьерами (Isolation By Resistance, IBR) и изоляции сопротивлением среды (Isolation By Resistance, IBR), в которую включают различные факторы, от геофизических до антропогенных. К сожалению, для данной выборки эти, более сложные, модели практически неприменимы, поскольку места происхождения образцов разделены слишком обширными и гетерогенными пространствами. Однако проверка возможности изоляции расстоянием представляется вполне рациональной.

Для проверки этой гипотезы были рассчитаны географические дистанции между местами сбора образцов в случаях, когда они были точно известны. Среди зверей из Основного Евразийского генетического кластера координаты были известны для 87 особей. Методика расчета географических дистанций более подробно описана в главе 2. Материалы и методы. Образцы из Монголии были исключены из анализа из-за малого числа особей в составе группировки, а также из-за того, что место их добычи очень сильно удалено от мест добычи других образцов.

Для проверки гипотезы изоляции расстоянием матрицы генетических и географических дистанций были сопоставлены с помощью теста корреляции Мантеля. В качестве меры генетических расстояний был использован уровень генетических различий, рассчитанных на основании доли различающихся аллелей (GD). Для того, чтобы более детально рассмотреть этот вопрос, были проведены расчеты теста Мантеля для нескольких вариантов выборки.

При рассмотрении дистанций между особями коэффициент корреляции Мантеля статистически достоверен как при рассмотрении Основного Евразийского кластера, так и при рассмотрении различных его частей, за исключением медведей Западного кластера (т.е. при рассмотрении только медведей Урала и Европейской части России), хотя его абсолютные значения и не превышают 0,21 (Таблица 3.7).

Таблица 3.7. Результаты проверки взаимосвязи генетических и географических дистанций между образцами методом теста Мантеля. N – число особей; r – коэффициент корреляции Мантеля, жирным выделены статистически достоверные значения; p – уровень статистической достоверности теста Мантеля. Из анализа исключены образцы из Северной Монголии.

Генетические кластеры	N	r	p
Общий Евразийский кластер	82	0,17	0
Западный кластер	32	-0,015	0,56
Западный + Центральный кластеры	55	0,088	0,03
Центральный + Восточный кластеры	50	0,156	0
Восточный кластер	27	0,21	0,001

Также был проведен расчет коэффициента Мантеля для дистанций между кластерами низкого уровня, фактически, между географическими группировками, обозначенными выше римскими цифрами IV-X. При рассмотрении генетических и географических дистанций между группами особей коэффициент корреляции был статистически достоверен и значительно выше – 0,77 ($p = 0,01$).

Другим способом проверки возможной изоляции расстоянием является расчет генетического сходства в разных классах дистанций [Kopatz et al., 2014, 2012; Schregel et al., 2017]. Более подробно этот метод описан в Материалах и методах; вкратце он заключается в разбивке всех имеющихся географических дистанций между особями на классы согласно их величине с последующим расчетом коэффициентов генетического родства в каждом классе отдельно. В рамках данной работы с помощью программы SPAGeDi все географические дистанции были разбиты на классы с шагом в 100 км; в качестве меры генетического сходства использовался коэффициент родства (КК, Loiselle).

На Рисунке 3.9 показаны значения коэффициента родства между парами особей, разделенных разными географическими дистанциями, среди представителей Основного Евразийского кластера (без учета особей с Кавказа). Результаты анализа генетических кластеров более низкого уровня, по аналогии с результатами приведенного в Таблице 3.7 теста Мантеля, приведены на Рисунке 3.10. Невысокие абсолютные значения показателя КК соответствуют результатами других исследователей [Kopatz et al., 2014].

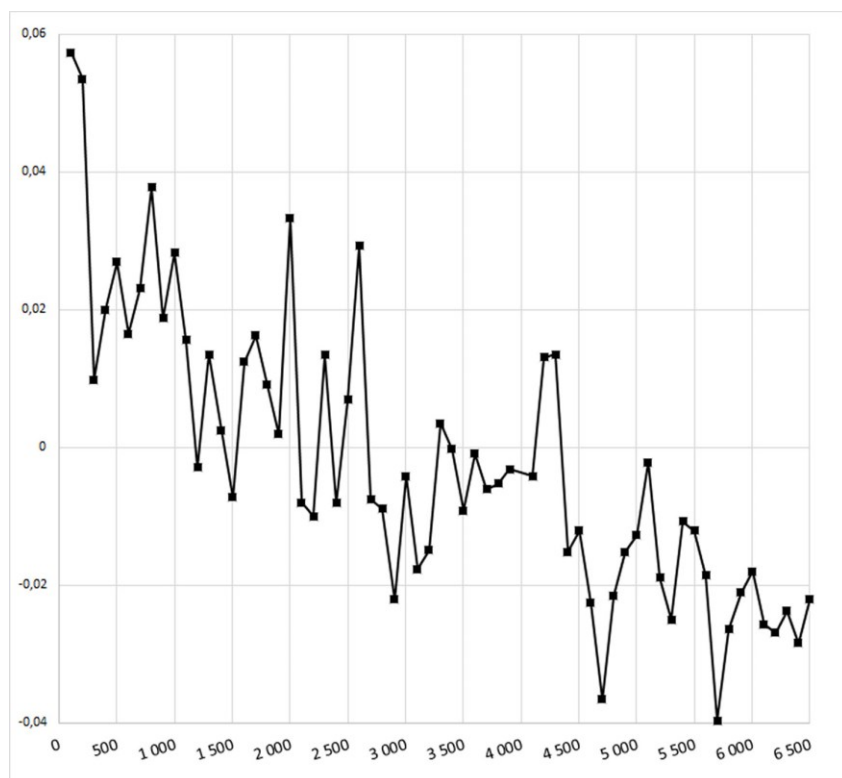


Рисунок 3.9. Средние коэффициенты родства пар особей бурого медведя Общего евразийского кластера, разделенных различными географическими дистанциями. Из анализа исключены образцы из Северной Монголии. На графики нанесены только географические группы, в составе которых было 10 пар особей и более.

При рассмотрении Общего Евразийского генетического кластера (Рисунок 3.9) виден четкий нисходящий тренд. При рассмотрении генетических кластеров более низкого уровня (Рисунок 3.10) данные для Восточного кластера малоинформативны (Рисунок 3.10-В), поскольку в его составе было всего 27 особей с известным точным местом добычи, и в составе большей части географических кластеров было менее 10 пар особей. Для трех других вариантов рассмотрения (Западный кластер и совокупности Западный + Центральный и Восточный + Центральный кластеры) также виден нисходящий тренд.

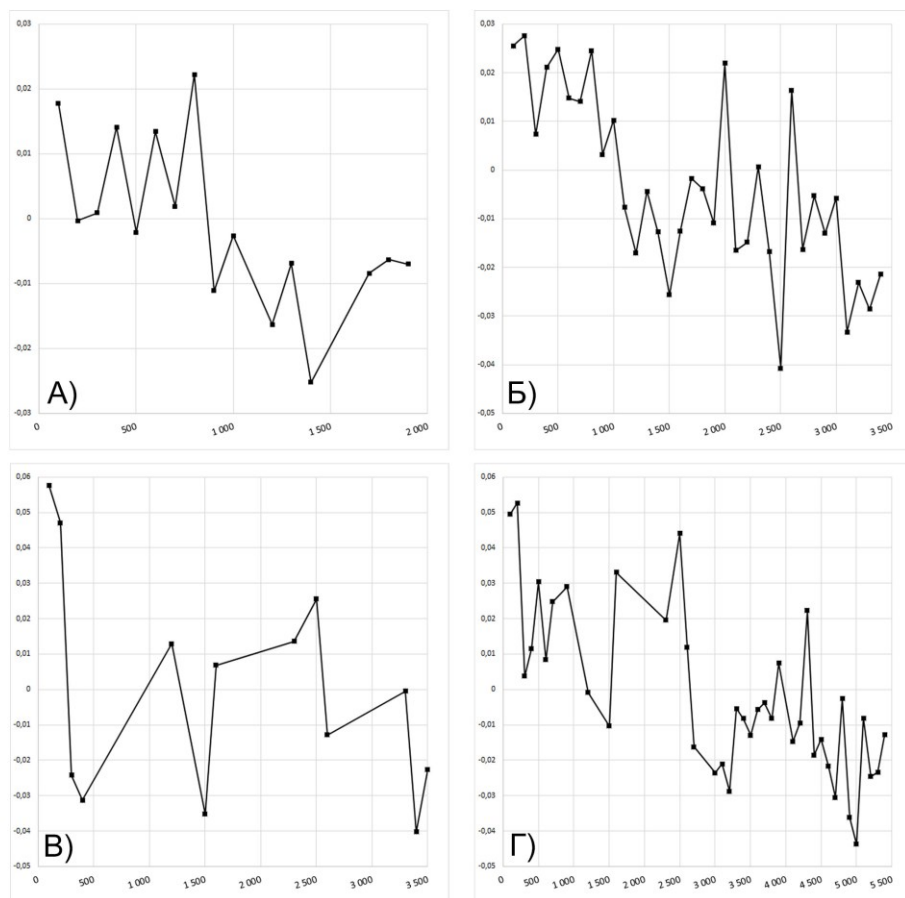


Рисунок 3.10. Средние коэффициенты родства пар особей бурого медведя, разделенных различными географическими дистанциями. Из анализа исключены образцы из Северной Монголии. А) – Западный генетический кластер; Б) – Западный и Центральный генетический кластеры; В) – Восточный генетический кластер; Г) – Центральный и Восточный генетический кластеры. На графики нанесены только географические группы, в составе которых было 10 пар особей и более.

Можно сделать вывод, что изоляция расстоянием вносит значимый вклад в формирование генетической структуры бурого медведя Евразии.

Тем не менее, есть и некоторые особенности выявленной генетической структуры бурого медведя, противоречащие прямой связи между географическими и генетическими дистанциями. Так, образцы с побережья Охотского моря, Чукотки и Камчатки, сформировавших Дальневосточный генетический кластер, не продемонстрировали резких отличий между собой, несмотря на то, что особей из этих локалитетов разделяют очень большие (до 4500 км) географические дистанции.

Помимо этого, исследованные медведи Западной Сибири генетически занимают промежуточное положение между Западным и Восточным кластерами, хотя географически намного ближе к Уралу, чем к Дальнему Востоку. То есть, генетические дистанции, отделяющие медведей Сибири от медведей Дальнего Востока, ниже, чем можно было бы ожидать, исходя из их географического происхождения. Если бы изоляция расстоянием была единственным

фактором, определяющим формирование выявленной генетической структуры, логично было бы ожидать, что образцы из Западной Сибири объединятся с особями из Европейской России и Урала, а не с образцами с побережья Охотского моря, с Чукотки и Камчатки.

Изоляция расстоянием и существование дополнительных факторов, влияющих на формирование генетической структуры, не являются взаимоисключающими. Такая ситуация была описана в Европейской части России и Фенноскандии, где сравнение медведей из нескольких локалитетов показало одновременно наличие статистически достоверной изоляции расстоянием и существование дополнительных барьеров потока генов. Работа, посвященная этому региону [Kopatz et al., 2012], указывает на возможную барьерную роль зоны оленеводства, в которой разрешен отстрел медведей, что резко снижает количество мигрантов на этой части ареала.

Можно предполагать, что для медведей из Сибири характерен неравномерный обмен особями - более интенсивный с восточными частями ареала, чем с западными.

3.2.2 Генетическое разнообразие бурых медведей из различных частей ареала

Сопоставление уровня гетерозиготности исследованных нами выборок с данными других исследователей показало, что медведи всех включенных в данную работу регионов обладают высоким уровнем гетерозиготности (см. Таблица 3.3, Таблица 7 Приложения). Сопоставление уровня гетерозиготности исследованных нами выборок с данными других исследователей показало, что медведи всех регионов обладают высоким уровнем гетерозиготности. Все генетические кластеры входят в верхний квартиль значений уровня гетерозиготности вида, который соответствует значениям выше 0,76 и в который входят преимущественно относительно стабильные и многочисленные популяции [Eiken et al., 2009; Kleven et al., 2012, 2012; Kopatz et al., 2014; Lewis, Pyare, Hundertmark, 2015; Schregel et al., 2012; Tammeleht et al., 2010; Tumendemberel et al., 2019; Waits et al., 2000]. Исследованные в настоящей работе образцы медведей с Кавказа, которые имеют более низкие показатели разнообразия и гетерозиготности, чем включенные в работу медведи других регионов России, при сравнении с мировыми данными все же оказываются в числе наиболее гетерозиготных популяций.

Для бурого медведя в число популяций с наиболее высокими показателями гетерозиготности входят главным образом выборки, представляющие собой части более обширных и многочисленных популяций. При этом в верхний квартиль и по ожидаемой, и по наблюдаемой гетерозиготности входят преимущественно различные регионы протяженной популяции Евразии. Эта популяция является наиболее протяженной непрерывной частью ареала

медведя, и содержит в себе наибольшее количество особей (более 100 000, [McLellan et al., 2017]). Кроме них столь высокий уровень гетерозиготности демонстрируют только выборки медведей из канадского нац. парка Клуэйн [Paetkau et al., 1998], с аляскинского хребта [Paetkau, Shields, Strobeck, 1998] и из Румынии [Straka et al., 2012].

Медведи Клуэйн обитают «в сердце непрерывного ареала бурого медведя» [Waits et al., 1998a], в который входят также и медведи Аляски. Эту часть ареала можно считать второй в мире и по протяженности, и по численности (порядка 60 000 особей, [McLellan et al., 2017]).

Популяция медведей Румынии значительно менее крупная, чем евразийская и американская, как по протяженности, так и по численности, поэтому наблюдаемый уровень гетерозиготности скорее удивителен. Однако, как отмечают авторы, численность медведей в этой части Карпат никогда не опускалась ниже 800 особей, что, возможно, объясняет поддерживаемую высокую гетерозиготность.

По всей видимости, даже несмотря на филлопатрию самок и существование генетической структуры как регионального, так и местного масштаба, включенность в состав обширной популяции сама по себе обеспечивает достаточно высокий уровень гетерозиготности.

При сопоставлении изолированных популяций медведей пустыни Гоби и Пакистана с краевыми локалитетами обширной обще-евразийской популяции было показано, что гетерозиготность изолированных популяций ниже, чем гетерозиготность даже краевой части обширного ареала [Tumendemberel et al., 2019]. На территории Америки также было показано, что медведи из разных частей протяженной популяции, хотя и различаются между собой по уровню генетического разнообразия, все же демонстрируют более высокие показатели, чем изолированные популяции [Waits et al., 1998a]. Этот результат хорошо согласуется с полученными нами данными о более низком уровне гетерозиготности медведей Кавказа.

ГЛАВА 4. ИЗМЕНЧИВОСТЬ МИТХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК

4.1 Результаты

Для того, чтобы выявить филогеографическую структуру вида, был проведен анализ фрагментов мтДНК. МтДНК является более консервативным маркером, чем аутосомные микросателлитные локусы, и благодаря более низкой скорости мутирования отражает события, происходившие с популяциями вида десятки и сотни тысяч лет назад.

В отличие от ядерной ДНК, мтДНК, хотя присутствует в клетках как самцов, так и самок, передается только по материнской линии.

В ходе данной работы мы секвенировали фрагмент контрольного региона (КР) мтДНК, ген *cyt b* и гены ND6, tRNA-Glu, tRNA-Thr, tRNA-Pro общей длиной 1860 п.н. Разные исследователи используют для своих работ различные фрагменты мтДНК, поэтому для медведей из некоторых регионов в базе GenBank доступна только последовательность КР, а для некоторых – только последовательность *cyt b*. В связи с этим мы провели несколько вариантов анализа на основании разных фрагментов мтДНК, чтобы максимизировать использование доступных данных из GenBank.

4.1.1 Анализ фрагмента мтДНК длиной 1860 п.н.

Для 103 образцов тканей бурого медведя из разных частей ареала бурого медведя. (Рисунок 4.1) были получены последовательности фрагмента мтДНК, включающего фрагмент контрольного региона (КР) мтДНК (570 п.н.), ген *cyt b* (1140 п.н.), а также гены ND6, tRNA-Glu, tRNA-Thr, tRNA-Pro (суммарная длина 149 п.н.). Итоговая длина конкатенатной последовательности составила 1860 п.н.

В составе выравнивания выявлена 161 варибельная позиция, в которых произошло 7 инделей и 155 нуклеотидных замен – 144 транзиций, 11 трансверсий. Все индели были локализованы в области СТ-политракта – фрагмента длиной до 20 п.н., состоящего из последовательных тимининов и цитозининов в варьирующем количестве: C(1-2)-T(2-8)-C(5-8). Уровень гаплотипического разнообразия (h) для общей выборки равен 0,981 +/- 0,006; нуклеотидного (π) - 0,008 +/- 0,004. Среди 103 последовательностей выявлено 65 гаплотипов, 16 из которых были представлены единственной особью каждый, а 49 включало более одной особи (от 2 до 11).

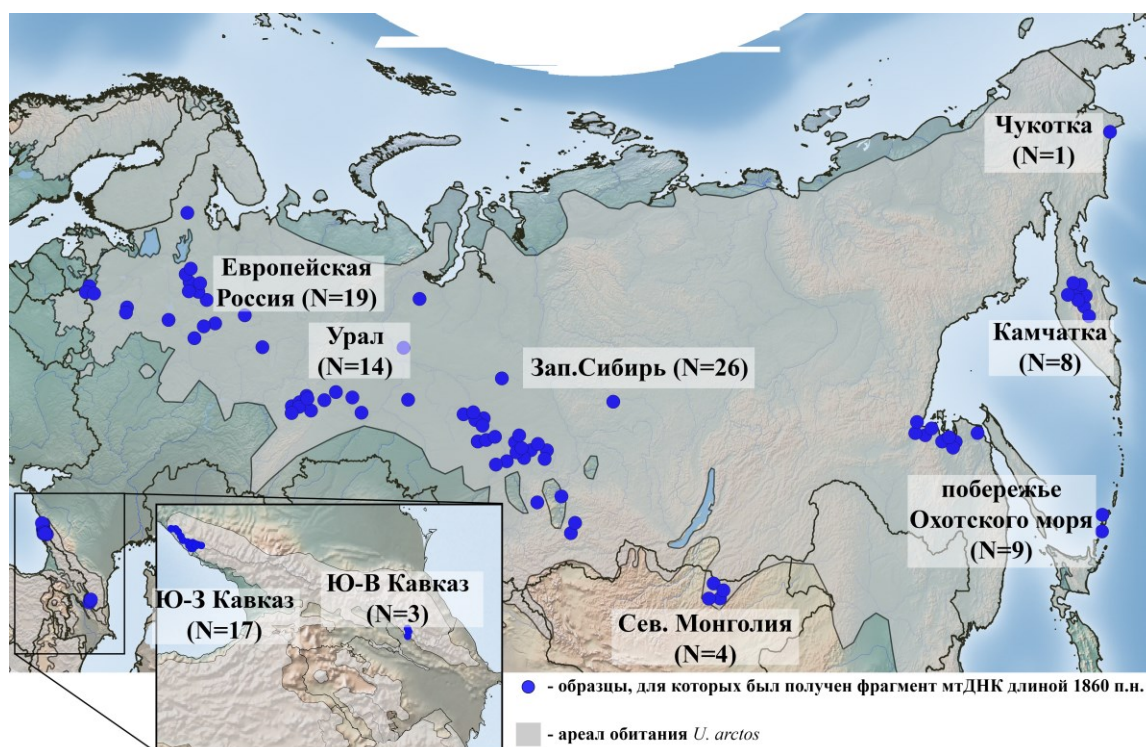


Рисунок 4.1. Карта мест сбора образцов бурого медведя *U. arctos*, для которых были получены последовательности мтДНК длиной 1860 п.н.

4.1.1.1 Полученные нами последовательности

Для выявления филогенетических отношений между гаплотипами бурого медведя из разных регионов была построена медианная сеть гаплотипов (Рисунок 4.2). На данной сети можно видеть, что в составе исследуемой выборки выделяется несколько гаплогрупп:

- Гаплогруппа «Евразия» - наиболее многочисленная группа, в которую входит 75 образцов из 103 (73% выборки), объединенных в 40 гаплотипов, 12 из которых включает в себя более одной особи. Данная гаплогруппа представлена зверями из Европейской части России, Урала, Западной Сибири, с южного побережья Охотского моря, Чукотки и Камчатки – то есть, из всех географических группировок, кроме Кавказа.

- Гаплогруппа «Сибирь», включающая 6 гаплотипов, образованных 7 образцами; особи, входящие в эту группу, происходят с юга Сибири: северной Монголии (N=3), Томской области (N=1) и юга Красноярского края (N=4).

- Гаплогруппа «Сибирь-2», включающая единственный гаплотип Kk147 (Красноярский край);

- Гаплогруппа «Курилы», включающая 2 гаплотипа, представленных двумя особями с Курильских островов (N=2, региональная группировка «Охотское море - юг»).

Все гаплотипы бурых медведей Кавказа существенно отличались от описанных для Европы, Сибири и Дальнего Востока, при этом они в свою очередь делились на три гаплогруппы:

- Гаплогруппа «Кавказ-1», включающая 5 гаплотипов; особи (N=8), вошедшие в эту гаплогруппу, происходили с юго-западного (Сочинский национальный парк, N=7) и юго-восточного (северный Азербайджан, Илисуинский заповедник, N=1) склонов Большого Кавказского хребта;
- Гаплогруппа «Кавказ-2», включающая только медведей с юго-западного склона Большого Кавказского хребта (N=10), объединенных в 9 гаплотипов. Один из гаплотипов (B6) значительно отличался от остальных и занимал положение, близкое к гаплогруппе «Евразия».
- Гаплогруппа «Кавказ-3», включающая 2 уникальных гаплотипа, представленных особями из Северного Азербайджана (региональная группировка «Юго-Восточный Кавказ»);

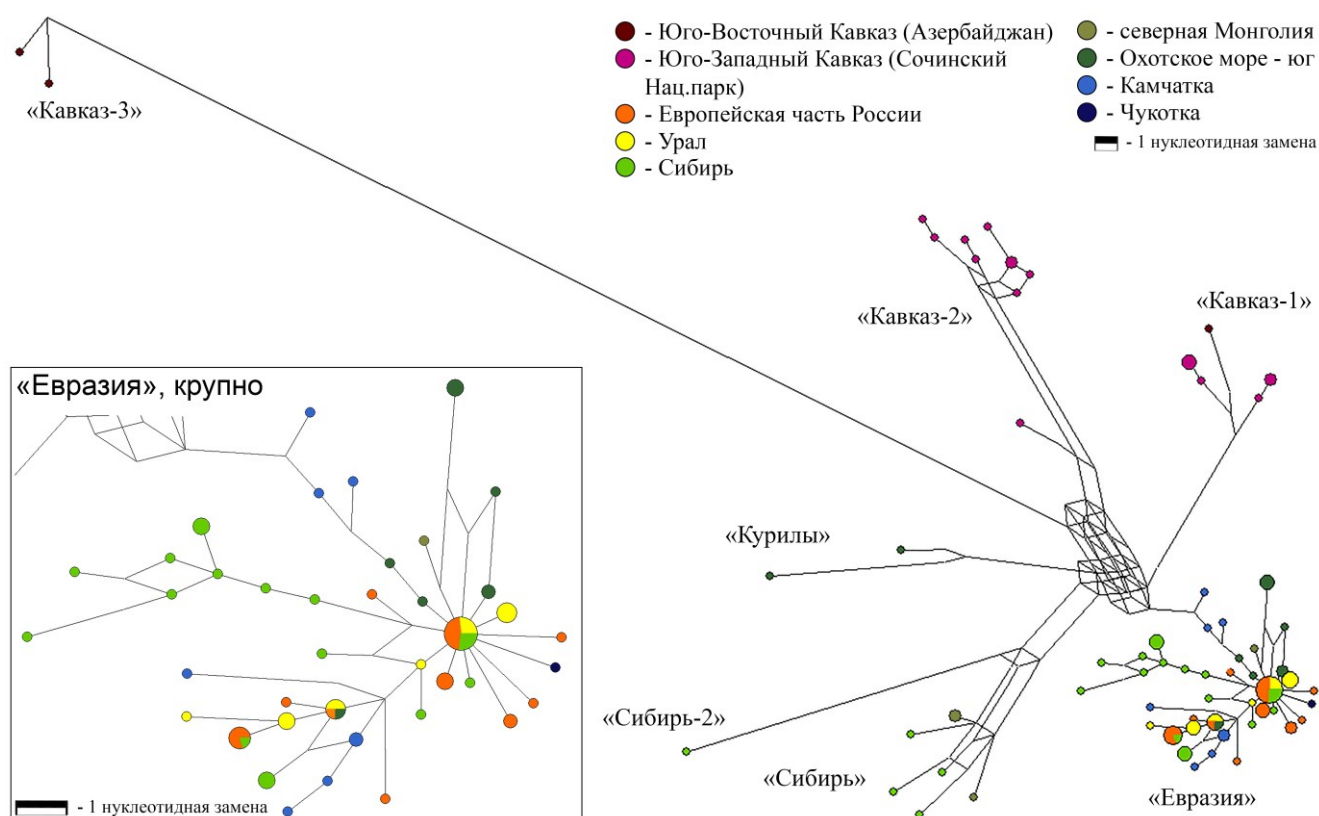


Рисунок 4.2. Медианная сеть гаплотипов, построенная на основании фрагмента мтДНК длиной 1860 п.н. Диаметр кружков пропорционален числу особей, входящих в гаплотип, длина ветвей пропорциональна числу замен, разделяющих гаплотипы.

4.1.1.2 Сравнение с данными из GenBank

Для того, чтобы выяснить, к каким из общепринятых митохондриальных клад бурого медведя близки полученные нами гаплогруппы, было проведено сравнение наших данных с последовательностями, размещенными в базе GenBank. Поскольку секвенирование гена *сyt b* и фрагмента КР для одних и тех же образцов производится довольно редко, основную часть полученных из GenBank последовательностей составляли полные митохондриальные геномы. Тем не менее, гомологичная последовательность к настоящему времени доступна для представителей большинства основных мт-клад (клады 1a, 1b, 2, 3a, 3b, 3d, 4, 5, 6).

На данном этапе в анализ были включены только последовательности, полученные от современных образцов бурого медведя. Суммарное число последовательностей при сравнении с данными GenBank составило 453.

Уже после окончания работы над диссертацией было опубликовано несколько статей о филогеографии бурого медведя, в которых были представлены интересные для нас данные (в частности, [Kosintsev et al., 2022; Salis et al., 2021]). Также для некоторых образцов из используемой в данной работе выборки коллекции Кабинета методов молекулярной диагностики ИПЭЭ РАН были получены последовательности полного митогенома в лабораториях Межинститутского центра секвенирования ДНК ИХБФМ СО РАН (г. Новосибирск) и кафедры Зоологии Института экологии и наук о земле Университета Тарту (г. Тарту, Эстония) в рамках независимых работ ([Molodtseva et al., 2022]). Эти последовательности также включены в описываемый ниже анализ. В частности, это образец Kk148 из Красноярского края, для которого в данной работе был получен только генотип по Y-хромосомным микросателлитным локусам.

Поскольку часть последовательностей размещена в GenBank без области СТ-политракта, этот фрагмент был исключен из анализа; длина исследуемого фрагмента составила 1843 п.н. Медианная сеть гаплотипов для последовательностей длиной 1843 п.н., полученных в рамках данной работы, приведена на Рисунке 1 Приложения. Исключение СТ-политракта не оказывает влияния на разделение выборки на гаплогруппы, однако уменьшает число гаплотипов и упрощает внутреннюю структуру гаплогрупп.

Исследуемые последовательности сформировали 153 гаплотипа, полученная медианная сеть гаплотипов приведена на Рисунке 4.3.

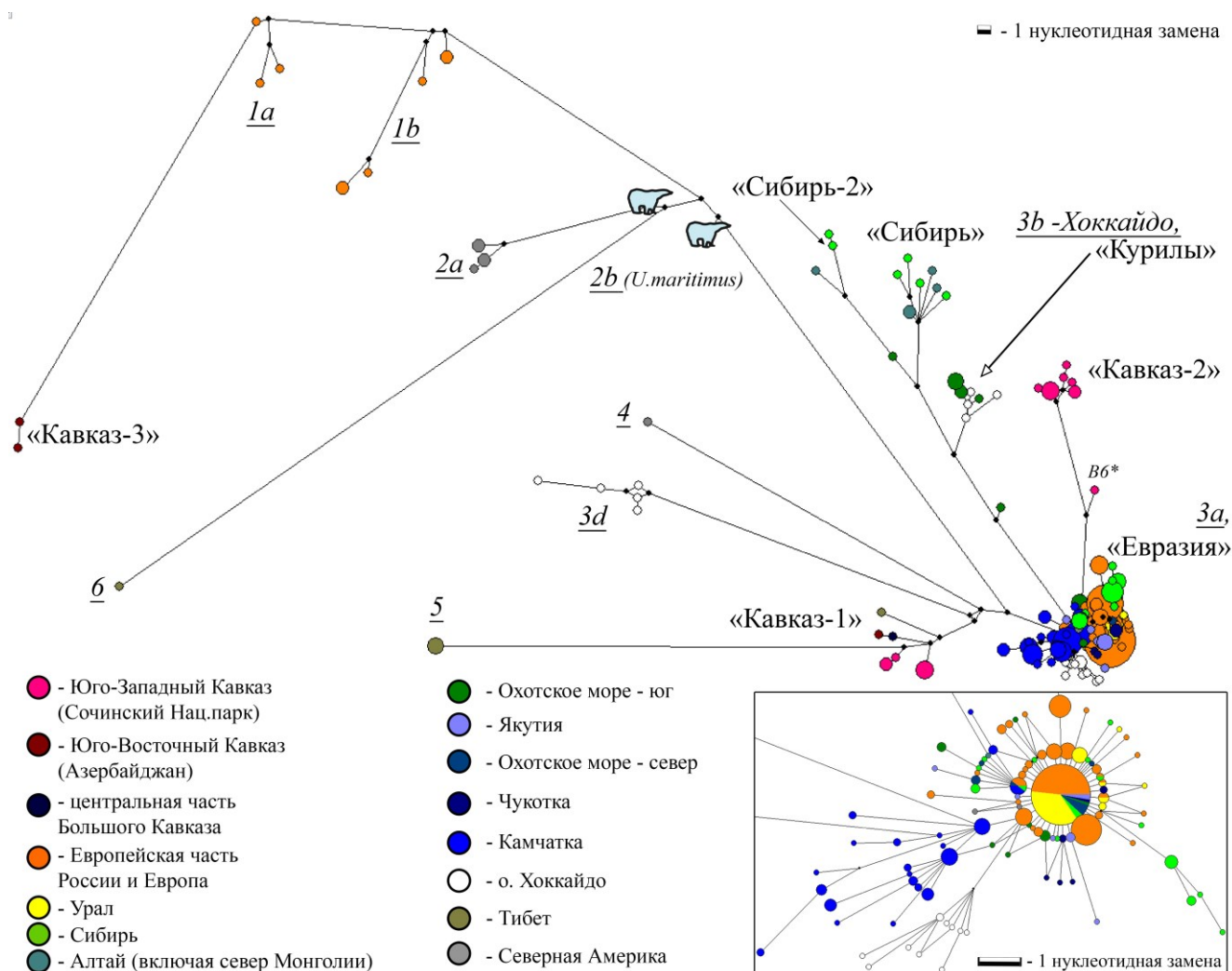


Рисунок 4.3. Медианная сеть гаплотипов, построенная на основании фрагмента контрольного региона длиной 1843 п.н. (с исключенной областью СТ-политракта) на основании полученных в этой работе данных и данных других исследователей. Диаметр кружков пропорционален числу особей, входящих в гаплотип, длина ветвей пропорциональна числу замен, разделяющих гаплотипы. Названия гаплогрупп, используемые в тексте, даны в кавычках, названия общепринятых митохондриальных клад (см. Таблицу 1.2) – подчеркнутым курсивом. Выноска – увеличенное изображение клады 3a. Гаплотип В6* - см. текст.

Гаплогруппа «Евразия» вошла в состав клады 3a, что согласуется с имеющимися данными о повсеместном распространении этой клады на территории континентальной Евразии.

Гаплогруппа «Курилы» вошла в состав клады 3b, для которой ранее было описано разделение на две ветви по территориальному признаку: одна ветвь выявлена на о. Хоккайдо и прилежащих островах Курильской гряды, вторая - на юге Дальнего Востока России и в Северной Америке [Davison et al., 2011; Гуськов, 2015]. Оба гаплотипа с Курильских островов, полученных в настоящей работе, вошли в состав клады 3b-Хоккайдо, при этом один из них влился в гаплотип, описанный ранее для острова Итуруп [Hirata et al., 2013], в то время как второй занял значительно более базальное положение на той же ветви.

В состав гаплогруппы «Сибирь» вошел еще один гаплотип, полученный от медведя из Иркутской области (образец Irk в работе [Molodtseva et al., 2022]), а в основании ветви оказался гаплотип, представленный медведем из Приморского края [Salis et al., 2021]. К гаплогруппе «Сибирь-2» оказался близок гаплотип Kk148 (оба образца происходят с юга Красноярского края), и чуть менее близок образец из Монгольского Алтая [Molodtseva et al., 2022; Salis et al., 2021].

Все упомянутые последовательности были описаны авторами оригинальных работ как принадлежащие к кладе 3b; таким образом, мы можем видеть, что гаплогруппы «Курилы», «Сибирь» и «Сибирь-2» входят в кладу 3b, однако формируют в ее составе несколько независимых ветвей.

Гаплогруппы «Кавказ-1» и «Кавказ-2», согласно медианной сети гаплотипов, остались уникальными и не изменили своего положения при включении в анализ данных других исследователей. В состав гаплогруппы «Кавказ-1» вошел гаплотип, описанный для медведя из центральной части Большого Кавказа [Salis et al., 2021]. Также в состав гаплогруппы «Кавказ-1» вошел гаплотип, описанный [Lan et al., 2017] для образца, зарегистрированного в Американском Музее Естественной Истории как *U. a. pruinosus*. К сожалению, этот образец был получен из Зоопарка Нью-Йорка, и авторам не удалось отследить его происхождение более детально, что делает невозможным построение каких-либо гипотез относительно факта родства этого гаплотипа с гаплотипами с Кавказа. Однако его положение, несколько удаленное от остальных гаплотипов этой гаплогруппы, позволяет предполагать, что при дальнейшем расширении выборки ее внутренняя структура окажется более сложной. Оба гаплотипа были описаны авторами оригинальных статей, как относящиеся к кладе 3a; их отношения с представителями клад 3a и «Кавказ-1» будут более подробно рассмотрены в Обсуждении.

Гаплогруппа «Кавказ-3» также осталась уникальной.

Для прояснения отношений между выявленными гаплогруппами и определения порядка ветвления была проведена филогенетическая реконструкция методом Байеса. В качестве внешней группы использовались гомологичные последовательности американского черного (*Ursus americanus*) и белогрудого (*Ursus thibetanus*) медведей. На данном этапе в анализ были включены только последовательности, полученные от современных образцов бурого медведя.

Филогенетическая реконструкция была проведена с помощью программы BEAST; сжатое филогенетическое дерево приведено на Рисунке 4.4. Полная филогенетическая реконструкция, показывающая отношения между гаплотипами внутри гаплогрупп, приведена на Рисунке 4.5.

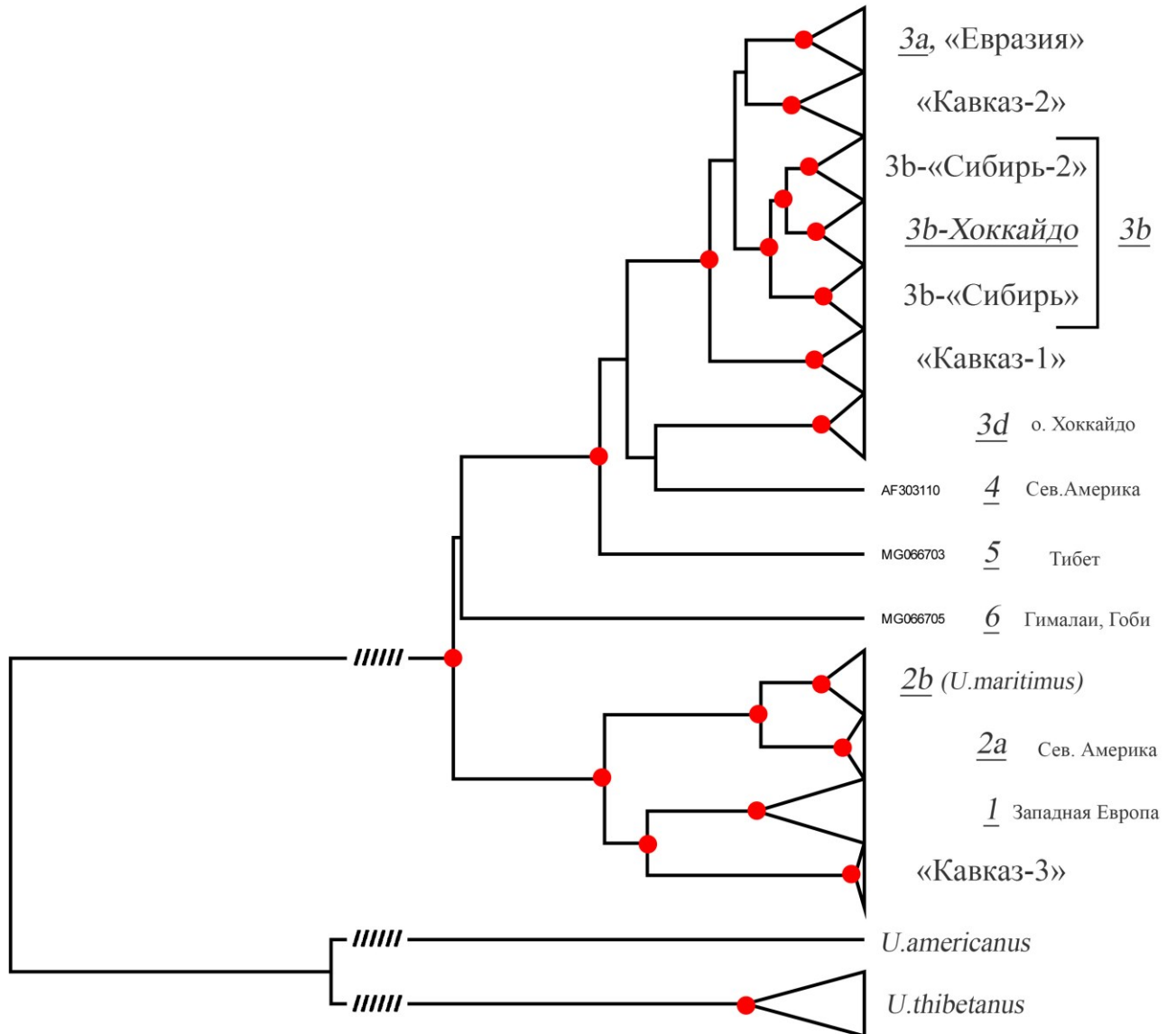


Рисунок 4.4. Сжатое филогенетическое дерево гаплотипов, построенное на основании фрагмента мтДНК длиной 1843 п.н. (с исключенной областью СТ-политракта) методом Байесовской реконструкции с помощью программы BEAST. Красные кружки указывают на узлы с поддержкой выше 0,95. Названия гаплогрупп, используемые в тексте, даны в кавычках, названия общепринятых митохондриальных клад (см. Таблицу 1.2) – подчеркнутым курсивом.

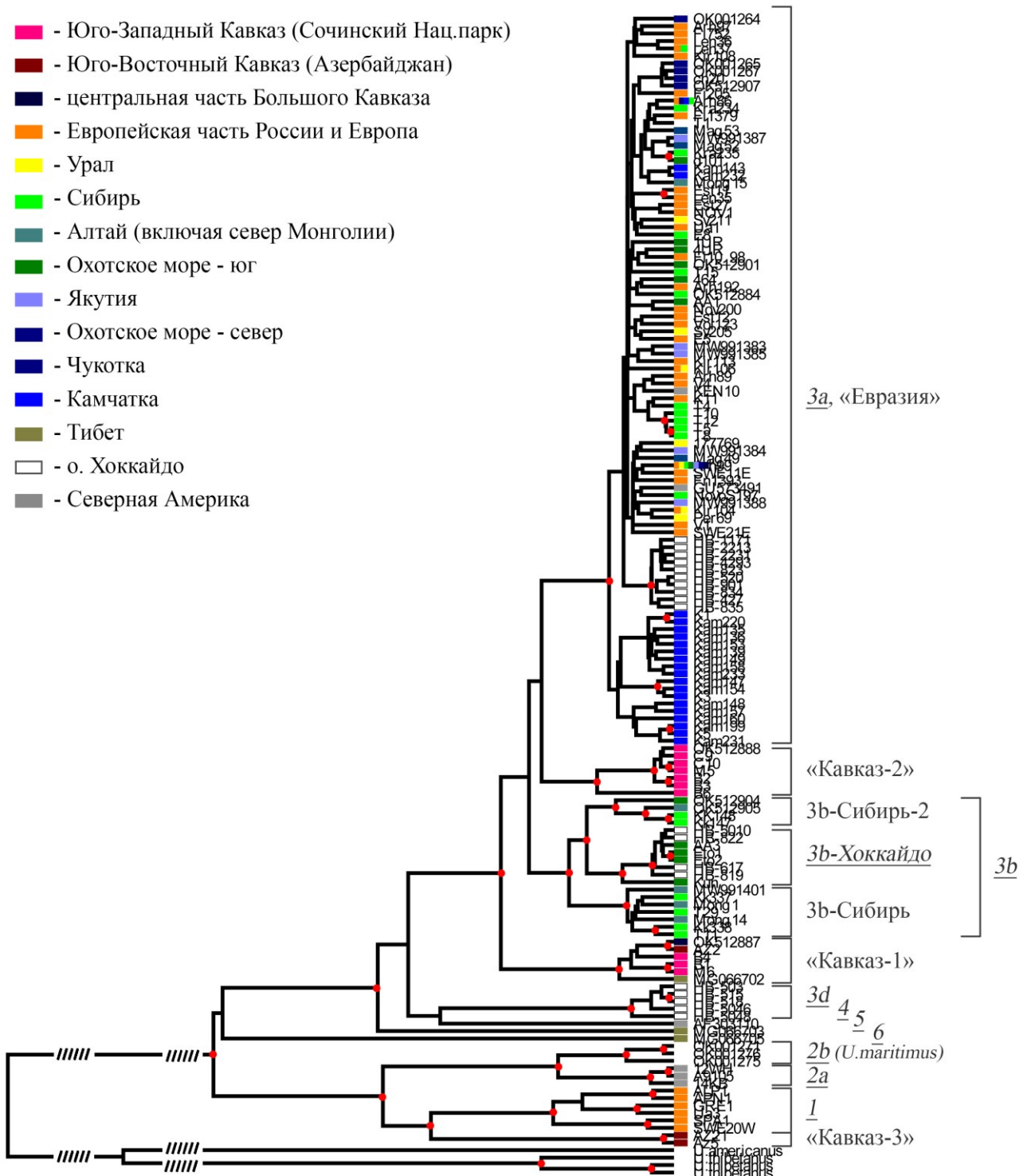


Рисунок 4.5. Полное филогенетическое дерево гаплотипов, построенное на основании фрагмента мтДНК длиной 1843 п.н. (с исключенной областью СТ-политракта) методом Байесовской реконструкции с помощью программы BEAST. Красные кружки указывают на узлы с поддержкой выше 0,95. Названия гаплогрупп, используемые в тексте, даны в кавычках, названия общепринятых митохондриальных клад – подчеркнутым курсивом.

Выделение в составе митохондриальных линий бурого медведя западной и восточной ветвей имеет высокий уровень статистической поддержки ($\text{posterior} \geq 0,95$, Рисунок 4.4). В составе западной ветви (бурые медведи Западной Европы (клада 1), а также бурые медведи архипелага Александра и белые медведи (клада2)) все узлы статистически достоверны, и полученные нами гаплотипы из гаплогруппы «Кавказ-3» входят в эту ветвь.

Выделение восточной ветви, включающей клады 3a, 3b, 3d, 4, 5, также статистически достоверно, однако дальнейший порядок ветвления не удалось реконструировать с достаточной степенью поддержки. Единственный достоверный узел высокого уровня в составе восточной ветви объединяет клады 3a, 3b, «Кавказ-1» и «Кавказ-2», отделяя их от клад 3d, 4, 5.

Гаплогруппы «Сибирь» и «Сибирь-2» статистически достоверно вошли в состав клады 3b, сформировав в ее составе монофилетические ветви-субклады. В дальнейшем мы будем называть эти гаплогруппы 3b-Сибирь и 3b-Сибирь-2, соответственно. Гаплогруппа 3b-Сибирь-2 сформировала монофилетическую ветвь, сестринскую по отношению к описанной ранее гаплогруппе 3b-Хоккайдо, в то время как гаплогруппа 3b-Сибирь заняла базальное положение по отношению к обеим этим субкладам.

Выраженность внутренней структуры клад различается (Рисунок 4.5). Во внутренней структуре клады 3a только очень небольшое число ветвей имеет статическую достоверность более 0,95. Среди всех крупных ветвей клады достоверно только объединение гаплотипов с о. Хоккайдо (клада 3a2), однако ее положение внутри клады 3a недостоверно и не соответствует имеющимся данным о базальном положении этих гаплотипов. Можно отметить ветвь камчатских гаплотипов, которая имеет недостаточный уровень статистической поддержки, однако, по-видимому, отражает две камчатские клады, которые были описаны при анализе полного митохондриального генома [Anijalg et al., 2018].

В составе клады «Кавказ-2» выделяется гаплотип B6, занимающий наиболее анцестральное положение, фактически сестринское по отношению ко всем остальным гаплотипам гаплогруппы.

Наиболее достоверной внутренней структурой среди субклад клады 3b обладает субклада 3b-Сибирь-2, в ее состав входят всего четыре гаплотипов, однако порядок их расхождения оказывается статистически достоверным. В составе субклады 3b-Хоккайдо выделяется гаплотип с о. Кунашир, полученный в результате данной работы – он занимает внешнее положение по отношению к остальным гаплотипам этой субклады, полученным от медведей островов Хоккайдо и Итуруп. Внутренняя структура гаплогруппы 3b-Сибирь является неразрешенной;

единственным узлом с высоким уровнем статистической поддержки является объединение двух гаплотипов – из Томской области и с юга Красноярского края.

В составе гаплогруппы «Кавказ-1» также есть только два гаплотипа, которые достоверно объединяются в монофилетическую ветку. Другие узлы в составе этой клады не имеют достаточной статистической поддержки.

Говорить о внутренней структуре гаплогруппы «Кавказ-3» на данном этапе анализа невозможно, так как она включает в себя всего два гаплотипа.

4.1.1.3 Анализ кодирующей последовательности гена *cyt b* (1140 п.н.).

Описанный выше анализ конкатенатной последовательности, включающей несколько генов митохондриальной ДНК, позволяет реконструировать отношения между гаплотипами с достаточно высоким уровнем разрешения. Однако, анализ более коротких фрагментов позволяет включить в анализ дополнительные образцы, описанные другими исследователями, для которых не было получено полной конкатенатной последовательности. Для сравнения полученных нами данных с результатами других исследователей использовались те же последовательности, что были включены в описанный выше анализ конкатенатной последовательности, а также дополнительные последовательности гена *cyt b*, полученные в работах [Matsuhashi et al., 1999; Salis et al., 2021; Talbot, Shields, 1996; Árnason et al., 1995; Гуськов и др., 2013], Korsten & Saarma (неопубликованное): 20 особей с Дальнего Востока России и Сахалина, 4 особи с о. Хоккайдо, 3 особи из Сибири, 24 особи из Северной Америки, 7 особей из Западной Европы, по одной особи с севера Турции, из центральной и западной частей Большого Кавказа, с Чукотки. Общее число последовательностей, включенных в анализ, составило 525.

Наиболее важным отличием в составе итоговой выборки по сравнению с описанным выше анализом является включение образцов из Северной Америки и с Дальнего Востока России.

Медианная сеть гаплотипов, полученная при объединении наших и опубликованных ранее данных, приведена на Рисунке 4.6. Гаплогруппы «Кавказ-2» и «Кавказ-3» остались уникальными. Гаплотип В6, который находился в основании ветви «Кавказ-2», оказался еще дальше от остальных гаплотипов этой гаплогруппы. В состав гаплогруппы «Кавказ-1» вошли два дополнительных образца из Турции и из центра Большого Кавказа, описанных в работах [Salis et al., 2021; Talbot, Shields, 1996]. Структура клады 3а и вошедшей в нее гаплогруппы «Евразия» несколько упростилась; добавленные в анализ последовательности с Аляски сформировали отдельную структуру, подобно гаплотипам с о. Хоккайдо и с Камчатки.

В результате добавления в анализ последовательностей медведей из Северной Америки и с Дальнего Востока немного изменилась структура клады 3b: ветви 3b-Хоккайдо и 3b-Сибирь практически не поменяли своих состава и структуры, однако гаплотипы 3b-Сибирь-2 оказались близки к последовательностям гена *cyt b* медведей Дальнего Востока России и Северной Америки.

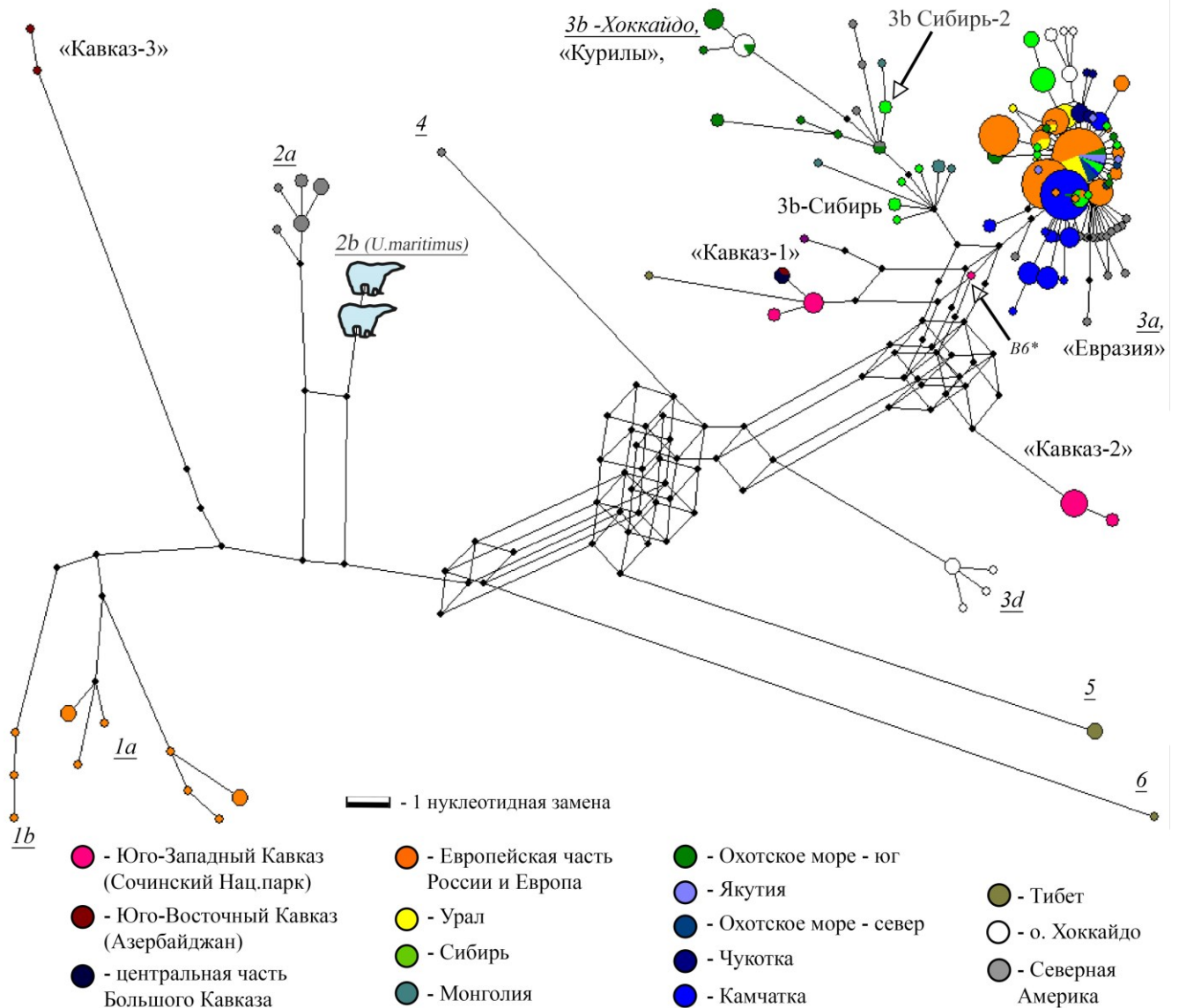


Рисунок 4.6. Медианная сеть гаплотипов, построенная на основании последовательности гена *cyt b* (1140 п.н.) на основании полученных в этой работе данных и данных других исследователей. Диаметр кружков пропорционален числу особей, входящих в гаплотип, длина ветвей пропорциональна числу замен, разделяющих гаплотипы. Названия гаплогрупп, используемые в тексте, даны в кавычках, названия общепринятых митохондриальных клад – подчеркнутым курсивом. В6* - см. текст.

Реконструкция филогенетических отношений методом Байеса с помощью программы BEAST (Рисунок 4.7) продемонстрировала структуру, сходную с описанной выше для конкатенатной последовательности. Структура группы, включающей клады 3a, 3b, "Кавказ-1" и "Кавказ-2", осталась неразрешенной.

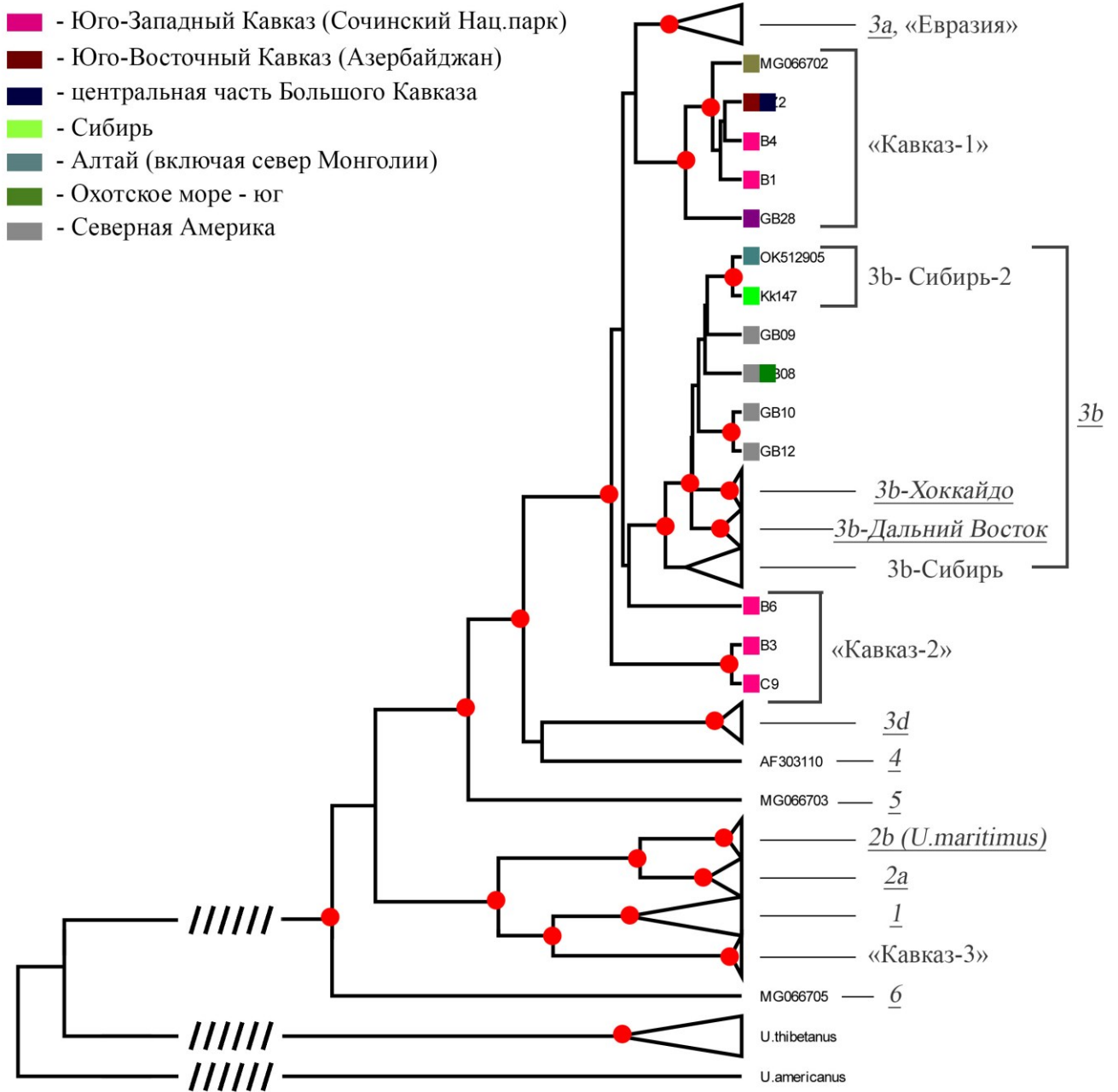


Рисунок 4.7. Филогенетическое дерево гаплотипов, построенное на основании последовательности гена *cyt b* (1140 п.н.) методом Байесовской реконструкции с помощью программы BEAST. Часть ветвей сжата для удобства отображения. Красные кружки указывают на узлы с поддержкой выше 0,95. Названия гаплогрупп, используемые в тексте, даны в кавычках, названия общепринятых митохондриальных клад – подчеркнутым курсивом.

Среди узлов высокого уровня можно отметить появление достаточной поддержки для узла, объединяющего все клады западной ветви, кроме клады 5.

Среди узлов более низкого уровня бросается в глаза, что гаплотип В6 не входит в состав гаплогруппы «Кавказ-2», а занимает неопределенное положение внутри ветви 3a+3b+«Кавказ-1»+«Кавказ-2». Поскольку при анализе конкатенатной последовательности он с высоким уровнем поддержки отделялся от остальных гаплотипов гаплогруппы «Кавказ-2», можно предположить, что разрешающей силы анализа гена *cyt b* недостаточно, чтобы уверенно определить его принадлежность; однако такой результат подчёркивает особое положение этого гаплотипа.

Внутренняя структура клады 3b несколько видоизменяется при добавлении в анализ последовательностей от медведей с Дальнего Востока и из Северной Америки. Ветвь 3b-Сибирь остаётся базальной по отношению к остальным ветвям клады 3b, отношения между которыми остаются неразрешенными. Выделение ветви 3b-Хоккайдо остается достоверным. На медианной сети гаплотипов (Рисунок 4.6) выделяется звездообразная структура гаплотипов медведей с Дальнего Востока, из Северной Америки и последовательностей, которые мы ранее определяли как ветвь 3b-Сибирь-2, и анализ медианной сети не позволяет разделить эти гаплотипы. Однако реконструкция их отношений методом Байеса позволяет достоверно выделить три гаплотипа с Дальнего Востока России в отдельную ветвь 3b-Дальний Восток. Остальные гаплотипы этой «розетки», а именно гаплотипы 3b-Сибирь-2 и последовательности от медведей Северной Америки, не формируют статистически достоверной субклады, и их отношения на данном этапе можно считать близкими, но неясными.

Внутренняя структура гаплотипов из гаплогруппы «Кавказ-1» остается неразрешенной, однако гаплотип из GenBank, полученный от медведя из Турции, оказывается в сестринском положении по отношению к остальным гаплотипам, включая образец *U. a. pruinosus*, с достаточным уровнем статистической достоверности.

4.1.2 Анализ гипервариабельного фрагмента контрольного региона и фланкирующего фрагмента гена *tRNA-Pro* (570 п.н.)

4.1.2.1 Полученные нами последовательности

Помимо описанной выше последовательности длиной 1860 п.н., полученной для 103 образцов тканей бурого медведя, еще для 58 образцов удалось получить только часть этого составного фрагмента – участок контрольного региона и примыкающий к нему участок гена *tRNA-Pro* общей длиной 570 п.н. В настоящее время в GenBank доступно большое число

нуклеотидных последовательностей бурого медведя для этого региона мтДНК. Также в многочисленных работах по филогеографии бурого медведя показано, что этот короткий высокоизменчивый фрагмент мтДНК позволяет реконструировать филогенетическую структуру этого вида, хотя и с меньшим разрешением, чем более длинные фрагменты. Ввиду этих обстоятельств был проведен дополнительный анализ на основании только фрагмента КР длиной 570 п.н. для всех (N=161) образцов. Включение в анализ дополнительных образцов позволило расширить выборку, в частности, увеличить число исследованных особей с Кавказа (как с западной, так и с восточной частей Большого Кавказского хребта), включить в анализ три образца из Армении, а также значительно увеличить исследуемую выборку с Урала и Чукотки (Рисунок 4.8).

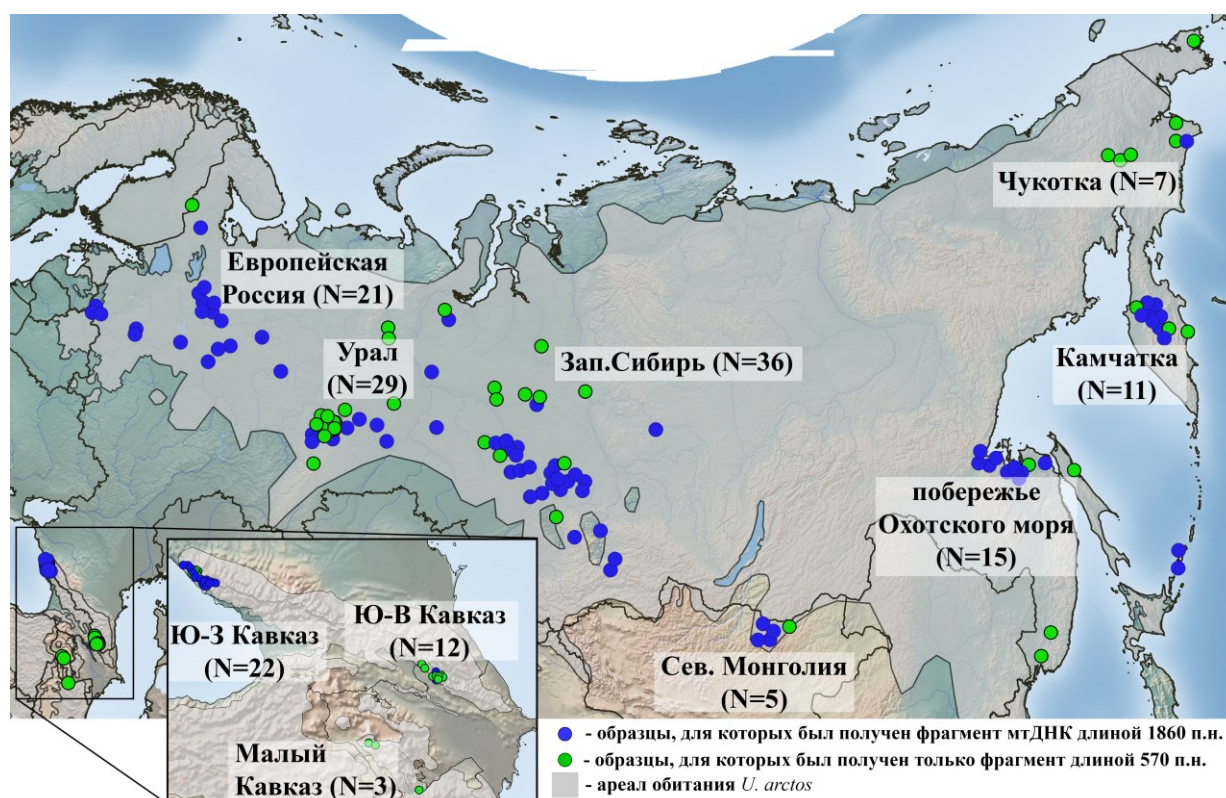


Рисунок 4.8. Карта мест сбора образцов бурого медведя *U. arctos*, для которых были получены фрагменты мтДНК различной длины, с указанием длины полученного фрагмента ДНК.

Среди полученных последовательностей фрагмента мтДНК длиной 570 п.н. (N=161) выявлено 70 гаплотипов. Общее выравнивание содержит 75 переменных позиций, среди которых отмечено 7 позиций с инделями (все локализованы в области СТ-политракта) и 68 позиций нуклеотидных замен, две из которых расположены в одной и той же позиции (7 трансверсий и 62 транзиции). Уровень гаплотипического разнообразия (h) для общей выборки для данного фрагмента КР равен 0,949 +/- 0,012; нуклеотидного (π) - 0,0174 +/- 0,0089.

Для выявления филогенетических отношений между гаплотипами бурого медведя из разных регионов была построена медианная сеть гаплотипов (Рисунок 4.9). Гаплогруппы «Кавказ-1» и «Кавказ-2» при анализе фрагмента длиной 570 п.н. (Рис.4.9А) сливаются в единую гаплогруппу, однако при исключении СТ-политракта (554 п.н., Рис.4.9Б) вновь распадаются. По всей видимости, включение крайне изменчивого политракта в данном случае приводит к некоторому артефактному притяжению длинных ветвей. В состав гаплогруппы «Кавказ-1» входит гаплотип из Армении, не участвовавший в анализе более длинного фрагмента.

Ветви 3b-Хоккайдо («Курилы») и 3b-Сибирь («Сибирь») при анализе фрагмента КР оказываются фактически единой гаплогруппой, в то время как гаплогруппа 3b-Сибирь-2 занимает гораздо более обособленное положение.

В состав гаплогруппы «Кавказ-3» входят несколько дополнительных образцов *U. arctos* из Азербайджана, а также два гаплотипа от двух особей из Армении. Медведи из Армении достаточно сильно отличаются от медведей из Азербайджана, однако, поскольку их отличия от других гаплотипов еще выше, мы объединили их в единую гаплогруппу

Гаплогруппа «Евразия» (клада 3а) при анализе, включающем участок СТ-политракта, формирует несколько сопряженных звездообразных структур, не упорядоченных географически; при исключении из анализа СТ-политракта внутренняя структура этой гаплогруппы представляет собой простую звездообразную структуру.

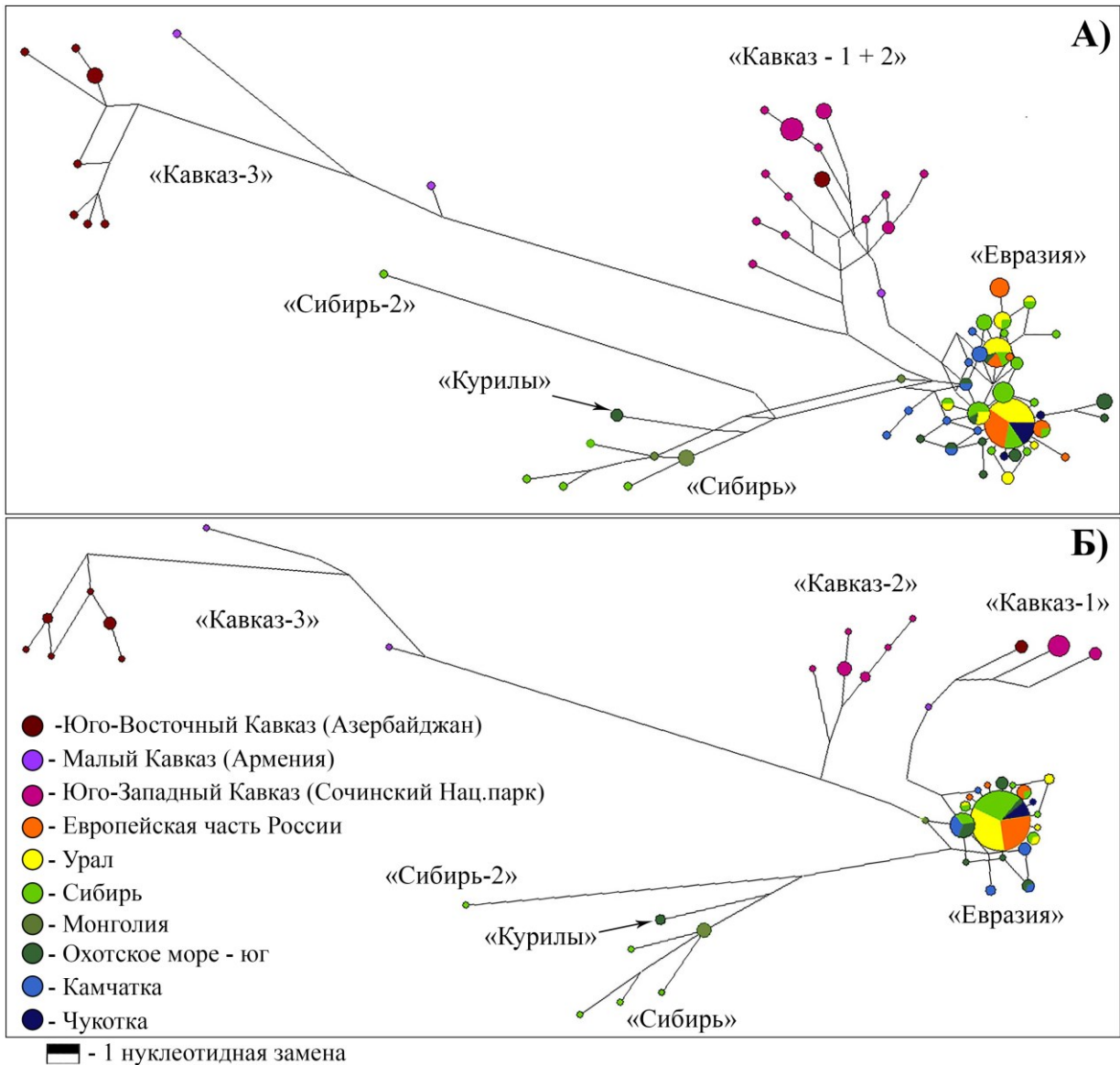


Рисунок 4.9. Медианые сети гаплотипов, построенные на основании фрагмента контрольного региона длиной А) 570 п.н.; Б) 554 п.н. (с исключенной областью СТ-политракта). Диаметр кружков пропорционален числу особей, входящих в гаплотип, длина ветвей пропорциональна числу замен, разделяющих гаплотипы. Названия гаплогрупп, используемые в тексте, даны в кавычках.

4.1.2.2 Сравнение с данными из GenBank

Гомологичный фрагмент контрольного региона длиной 570 п.н. к настоящему времени доступен (база GenBank) для представителей всех основных мт-клад (1a, 1b, 2, 3a, 3b, 3d, 4, 5, 6, 7). Перечень использованных последовательностей приведен в Таблице 5 Приложения. Всего в анализ было включено 606 последовательностей.

Основным отличием от описанного выше анализа конкатенатного фрагмента является возможность включить в сравнение последовательности медведей из Ирана, а также дополнительные последовательности медведей из Северной Америки. Поскольку часть важных

для анализа последовательностей была размещена в GenBank без области СТ-политракта, эта область была исключена из построения.

На полученной сети гаплотипов (Рисунок 4.10) видно, что итоговая структура довольно близка к аналогичным медианными сетями, построенными для конкатенатного фрагмента и последовательности гена *cyt b*. В отличие от медианной сети гаплотипов, построенной на основании последовательности гена *cyt b*, при анализе фрагмента КР гаплотипы медведей из Северной Америки формируют компактную ветвь, близкую к ветви 3b-Сибирь-2, но отдельную от нее.

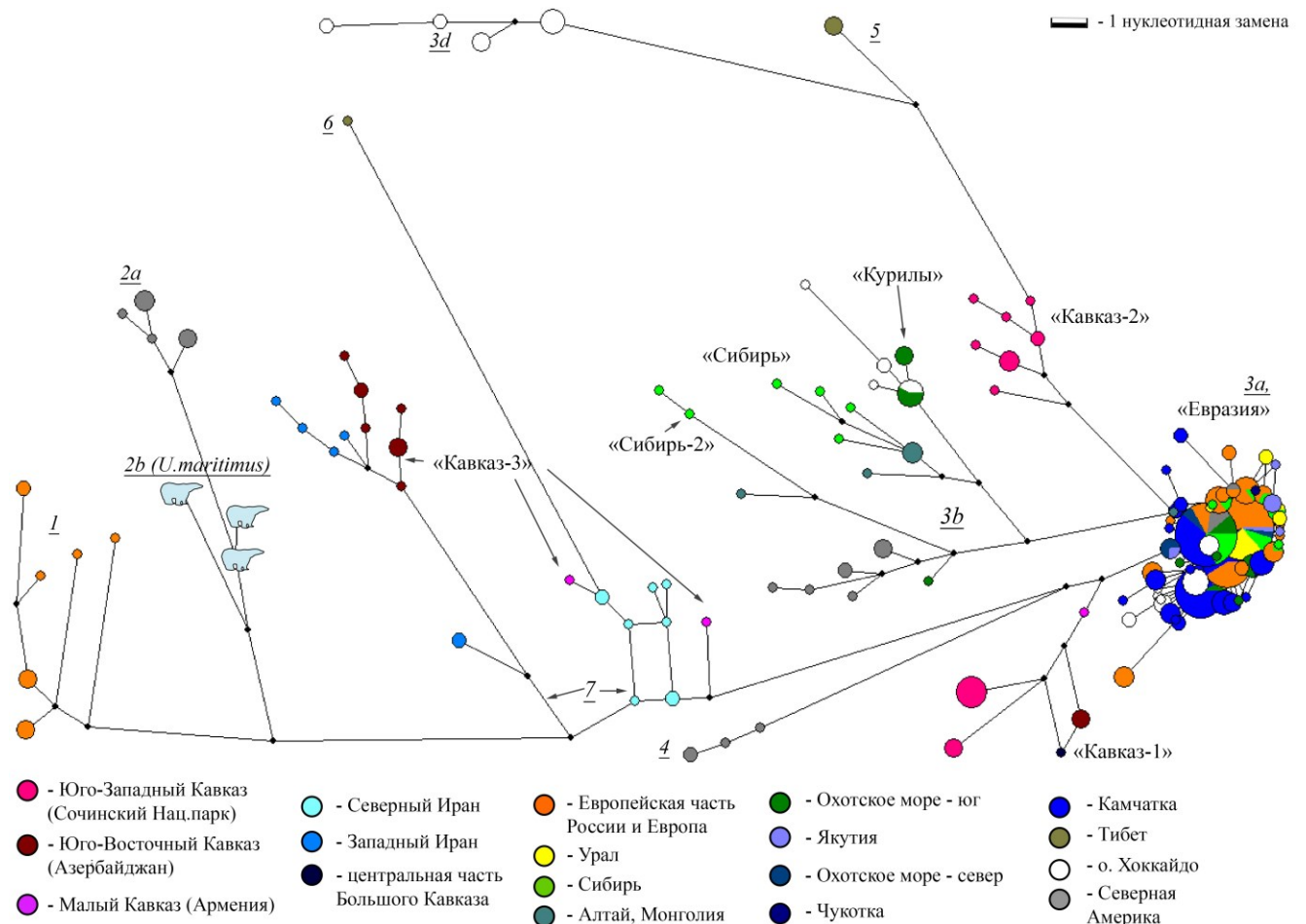


Рисунок 4.10. Медианная сеть гаплотипов, построенная на основании фрагмента контрольного региона длиной 554 п.н. (с исключенной областью СТ-политракта) на основании полученных в этой работе данных и данных других исследователей. Диаметр кружков пропорционален числу особей, входящих в гаплотип, длина ветвей пропорциональна числу замен, разделяющих гаплотипы. Названия гаплогрупп, используемые в тексте, даны в кавычках, названия общепринятых митохондриальных клад – подчеркнутым курсивом.

Основные изменения по сравнению с описанными ранее результатами произошли в положении гаплогруппы «Кавказ-3», вошедшей при данном анализе в состав клады 7. Гаплотипы из Азербайджана оказались близки к гаплотипам из Юго-Западного Ирана, сформировав с ними

единую кладу, но не образовав общих гаплотипов; гаплотипы из Армении оказались близки к гаплогруппе Северного Ирана, хотя и с различной степенью родства.

Филогенетическая реконструкция методом Байеса, построенная на основании анализа фрагмента длиной 554 п.н. с помощью программы BEAST, приведена на Рисунке 4.11.

В отличие от реконструкций, основанных на анализе конкатенатного фрагмента (включающего ген *cyt b* и КР) и гена *cyt b*, при анализе изолированного фрагмента КР статистически достоверны только корневые узлы гаплогрупп, а почти все узлы высокого уровня, показывающие отношения между ними, имеют недостаточный уровень поддержки. Достаточный уровень поддержки демонстрируют только узел 3а+3b+«Кавказ-1»+«Кавказ-2» и узел, объединяющий всю восточную ветвь.

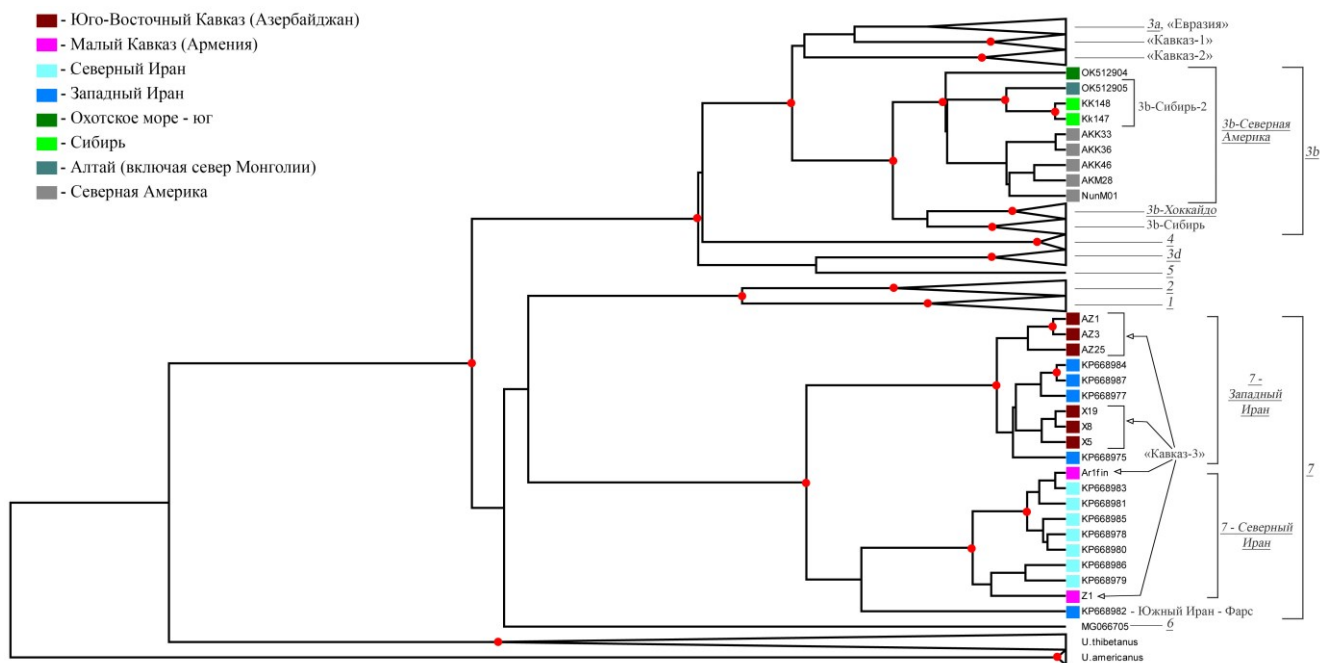


Рисунок 4.11. Филогенетическое дерево гаплотипов, построенное на основании фрагмента КР мтДНК (554 п.н., с исключенной областью СТ-политракта) методом Байесовской реконструкции с помощью программы BEAST. Часть ветвей сжата для удобства отображения. Красные кружки обозначают узлы с уровнем поддержки более 0,95. Названия гаплогрупп, используемые в тексте, даны в кавычках, названия общепринятых митохондриальных клад – цифрами, подчеркнутым курсивом.

В составе клады 3b выделяются субклады 3b-Сибирь и 3b-Хоккайдо, а также, в отличие от анализа последовательности гена *cyt b*, статистически достоверным оказывается объединение 3b-Сибирь-2 с гаплотипами медведей из Северной Америки. Эту ветвь можно назвать субкладой 3b-Северная Америка. При этом в ее составе достоверно выделяется ветвь трех гаплотипов из Сибири 3b-Сибирь-2, а гаплотипы из Северной Америки и единственный в этой кладе гаплотип из Приморья не образуют статистически достоверных ветвей.

Результат данного этапа анализа позволяет сказать, что некоторые из выявленных в Сибири гаплотипов мтДНК бурого медведя, принадлежащие к кладе 3b, филогенетически более близки к гаплотипам клады 3b Северной Америки, чем с Дальнего Востока России, о. Хоккайдо или другим гаплотипам клады 3b из Сибири.

Филогенетическое дерево гаплотипов подтверждает, что гаплотипы «Кавказ-3» достоверно входят в состав клады 7 (Иранская клада). В составе клады 7 ранее выявлены три субклады соответственно их географическому распространению: Северный Иран, Юго-Западный Иран и наиболее южная часть ареала – провинция Фарс [Ashrafzadeh, Kaboli, Naghavi, 2016]. Полученная нами филогенетическая реконструкция соответствует такому разделению, при этом гаплотипы с Юго-Восточного склона Большого Кавказа достоверно входят в кладу Юго-Западного Ирана, а гаплотипы из южной части Армении – в кладу Северного Ирана. Внутренняя структура субклад клады 7 остается неразрешенной, однако можно предположить, что более тонкая структура будет выявлена в дальнейшем по мере расширения исследованных выборок.

4.1.2.3 Анализ более короткого фрагмента (252 п.н.)

Анализ фрагмента КР мтДНК длиной 570 п.н. показал, что гаплогруппа «Кавказ-3» входит в состав клады 7. Для сравнения с медведями Юго-Восточного и Юго-Западного Кавказа интерес представляют звери Ирана и других частей Кавказского региона и примыкающих областей. К настоящему времени последовательности мтДНК получены для медведей из центральной части Большого Кавказского и Малого Кавказского хребтов – с территории Грузии и Турции.

К сожалению, для медведей Турции и Грузии получены только еще более короткие фрагменты КР – длиной около 350 п.н. без СТ-политракта для [Murtskhvaladze, Gavashelishvili, Tarkhnishvili, 2010] и около 270 п.н. с СТ-политрактом для Турции [Çilingir et al., 2016]. Для того, чтобы сравнить полученные нами последовательности с турецкими и грузинскими, был проведен анализ укороченного фрагмента итоговой длиной 252 п.н. без СТ-политракта. Использование такого короткого фрагмента позволило также включить в анализ последовательности фрагмента КР, описанные в работах [Calvignac et al., 2008; Calvignac, Hughes, Hänni, 2009] для современных медведей Ближнего Востока. Общее число последовательностей, включенных в анализ, составило 775. Полученная медианная сеть приведена на Рисунок 4.12.

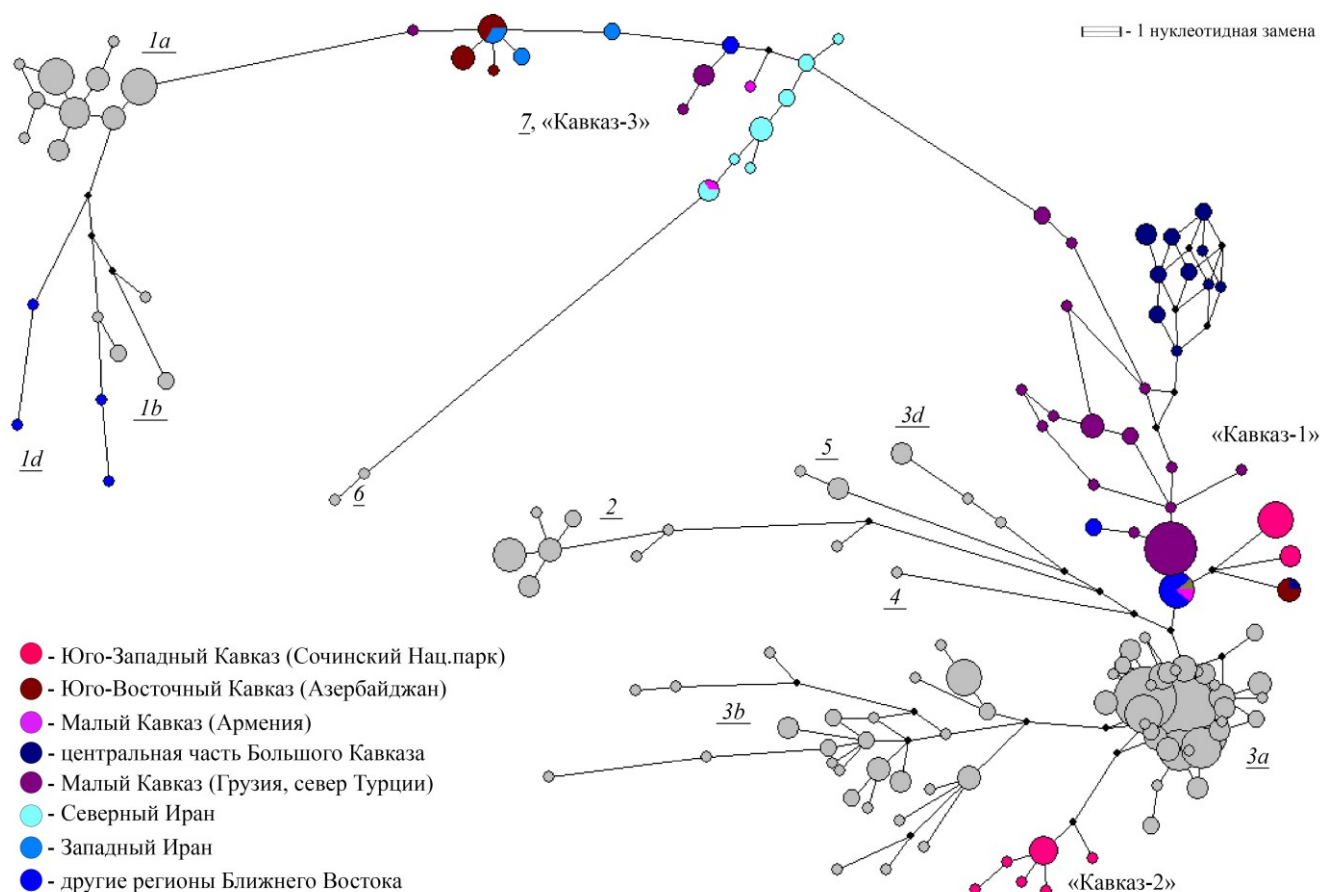


Рисунок 4.12. Медианная сеть гаплотипов, построенная на основании фрагмента контрольного региона длиной 252 п.н. (с исключенной областью СТ-политракта) на основании полученных в этой работе данных и данных других исследователей. Диаметр кружков пропорционален числу особей, с данным гаплотипом, длина ветвей пропорциональна числу замен, разделяющих гаплотипы. Названия общепринятых митохондриальных клад даны в кавычках, названия – подчеркнутым курсивом. Цветами отмечены только гаплотипы, включающие в себя последовательности от зверей с Ближнего Востока и с Кавказа.

В соответствии с результатами, полученными [Çilingir et al., 2016] и [Calvignac, Hughes, Hänni, 2009], часть гаплотипов из Турции и Ближнего Востока были отнесены к митохондриальнымкладам 7 и 1. Однако последовательности, описанные авторами ([Calvignac, Hughes, Hänni, 2009; Murtskhvaladze, Gavashelishvili, Tarkhishvili, 2010; Çilingir et al., 2016]) как принадлежащие к кладе 3a, вошли в состав клады «Кавказ-1».

Можно отметить, что несмотря на очень короткий фрагмент КР, используемый для анализа, всего два гаплотипа оказались представлены особями из разных частей региона. При этом структура сети позволяет выделить ветки Большого и Малого Кавказа, описанные при анализе медведей Грузии [Murtskhvaladze, Gavashelishvili, Tarkhishvili, 2010], в то время как медведи из турецкой части Малого Кавказа, из других регионов Закавказья и из Юго-Западной и Юго-Восточной частей Большого Кавказа демонстрируют гораздо меньший уровень разнообразия и простую структуру, состоящую из нескольких более крупных гаплотипов.

Гаплогруппа «Кавказ-2» по-прежнему осталась уникальной и не продемонстрировала родства ни с одной из описанных митохондриальных клад.

Реконструкция филогенетических отношений методом Байеса на основании фрагмента мтДНК длиной 252 п.н., полученных нами и другими исследователями (см. Таблица 5 Приложения), приведена на Рисунке 4.13.

При рассмотрении короткого фрагмента КР только небольшое количество узлов имеют достаточный уровень статистической поддержки. Фактически, среди узлов высокого уровня достоверен только узел, объединяющий восточную ветвь митохондриальных клад. На Рисунке 4.13 приведена филогенетическая реконструкция, на которой сжаты все ветви, кроме ветви «Кавказ-1», поскольку большинство гаплотипов с Кавказа и Закавказья, ради сравнения с которыми проводился анализ короткого фрагмента мтДНК, входят в эту кладу.

В отличие от ряда других митохондриальных клад, чья монофилия статистически достоверна, объединение гаплотипов из Грузии и Турции с полученной в данной работе гаплогруппой «Кавказ-1» не имело достаточного уровня поддержки. Статистически достоверно объединение нескольких гаплотипов с грузинской части Малого Кавказа, а ветвь гаплотипов с грузинской части центра части Большого Кавказа имеет уровень поддержки чуть ниже достоверного ($p=0.93$).

Несмотря на то, что узел, объединяющий гаплотипы, описанные нами как принадлежащие к кладе «Кавказ-1», с гаплотипами медведей Кавказа и Закавказья, описанными исходно как принадлежащие к кладе 3а, недостаточно достоверен, мы полагаем, что выделение клады «Кавказ-1» обосновано. Полученные нами последовательности и несколько последовательностей из базы GenBank, которые вошли в состав этой клады, были проанализированы с использованием более длинных фрагментов мтДНК (см. выше), и их объединение в отдельную кладу было статистически достоверно. Можно предположить, что недостаточный уровень статистической поддержки при анализе фрагмента КР длиной 252 п.н. объясняется сочетанием недостаточной разрешающей силы фрагмента и высокого уровня разнообразия гаплотипов этой ветви. Возможно также, что, по аналогии с кладой 3б, в данном случае имеет место сложная внутренняя структура клады. За неимением лучшего названия, эту общую полиморфную ветвь мы в дальнейшем также будем называть «Кавказ-1».

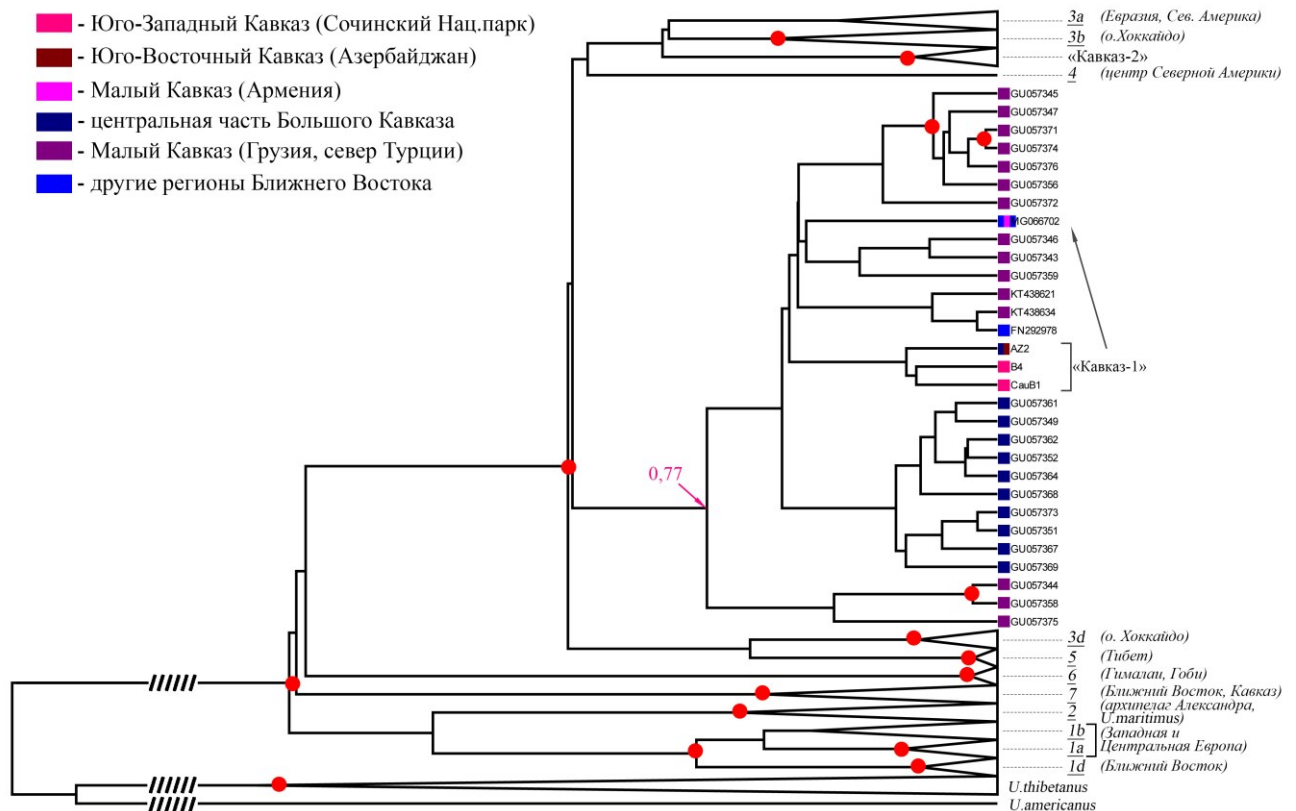


Рисунок 4.13. Сжатое филогенетическое дерево гаплотипов, построенное на основании фрагмента мтДНК длиной 252 п.н. (с исключенной областью СТ-политракта) методом Байесовской реконструкции с помощью программы BEAST. Красные кружки указывают на узлы с поддержкой выше 0,95. Названия гаплогрупп, используемые в тексте, даны в кавычках, названия общепринятых митохондриальных клад – подчеркнутым курсивом.

Таким образом, в ходе работы нам удалось выявить в составе исследуемой выборки митохондриальные клады 3а, 3b (субклады 3b-Сибирь, 3b-Хоккайдо, 3b-Сибирь-2), 7 (субклады 7-Северный Иран и 7-Западный Иран), «Кавказ-1», «Кавказ-2». Карта происхождения исследованных образцов, принадлежащих к разным митохондриальным кладам (включая образцы, для которых были отсеквенированы только фрагменты мтДНК длиной 570 п.н.), приведена на Рисунке 4.14.

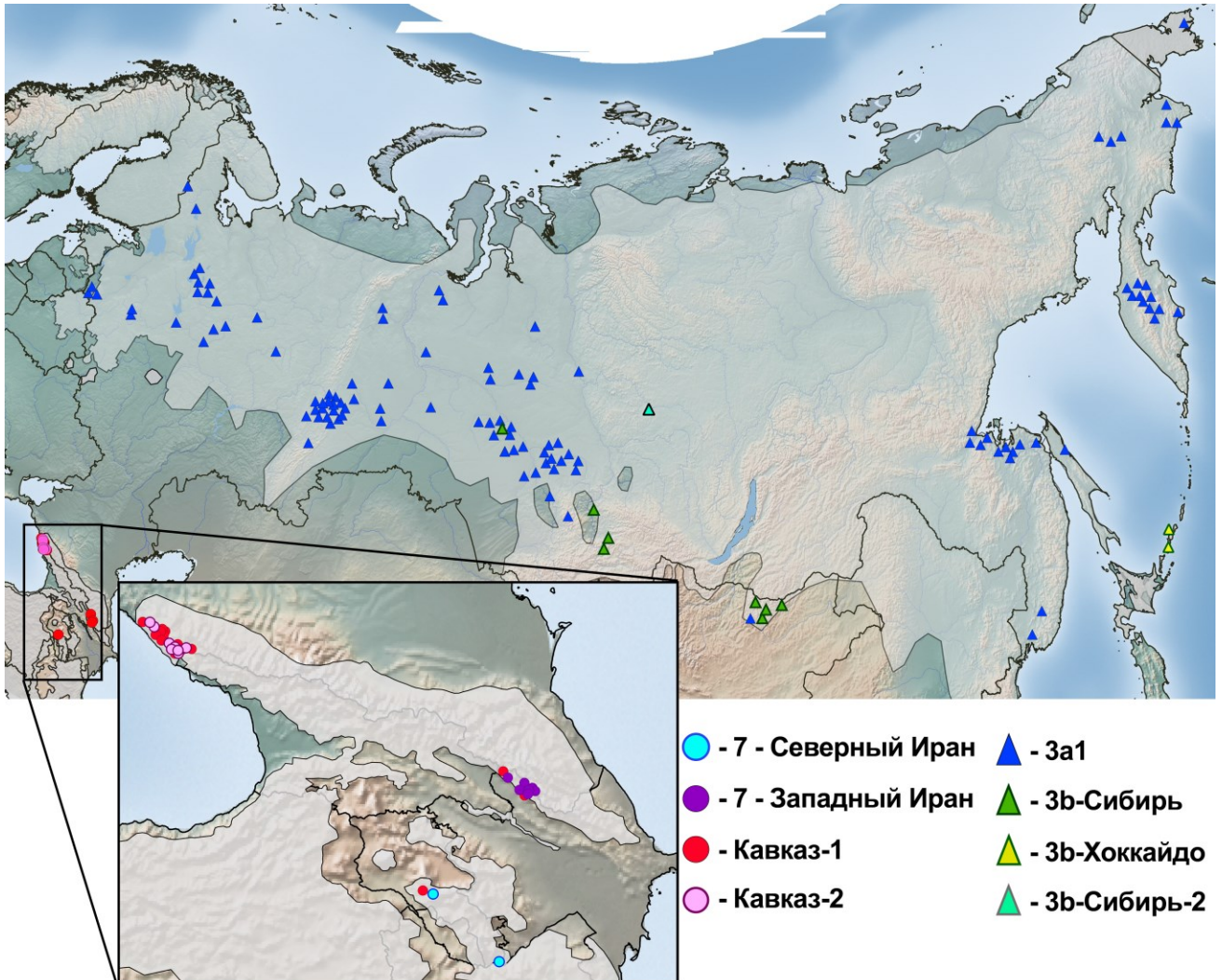


Рисунок 4.14. Митохондриальные клады, к которым принадлежат включенные в исследование образцы.

4.1.3 Оценка времени формирования и расхождения гаплогрупп

Для того, чтобы определить временные периоды, в которые мог существовать последний общий предок для выявленных гаплогрупп, была проведена реконструкция методом Байеса в программе BEAST с использованием размещенных в базе GenBank гомологичных последовательностей ДНК ископаемых и исторических бурых медведей. Перечень последовательностей, использованных для калибровки филогенетического дерева, приведен в Таблице 6 Приложения. Параметры расчета для реконструкции методом Байеса также приведены в главе Материалы и методы.

В предыдущих разделах этой главы проводился анализ полученных нами последовательностей в различных вариантах: в виде конкатенатной последовательности, изолированного гена *сyt b* и изолированного фрагмента КР мтДНК в двух вариантах длины. Это позволило максимально полно охватить последовательности мтДНК, представленные в GenBank.

Реконструкция хронологии формирования филогенетической структуры также проводилась в этих четырех вариантах. Поскольку количество доступных последовательностей различается для разных фрагментов, итоговые деревья включали разное количество гаплотипов.

Хотя в большинстве своем выборки гаплотипов, включенных в анализ различных фрагментов, перекрываются, необходимо отметить следующие различия:

- представители субклады 3b-Дальний Восток включены только в анализ последовательности гена *cyt b*;

- клада мтДНК вымерших медведей Северной Африки представлена только в анализе фрагмента КР длиной 252 п.н.;

- представители клады 2с, включающей вымерших медведей Северной Америки, формально включены во все варианты анализа, однако только при анализе последовательности гена *cyt b* их количество достаточно для оценки времени формирования клады 2с;

- представители клады 3a1 из Северной Америки наиболее полно представлены в анализе последовательности гена *cyt b*, чем объясняется более давнее реконструируемое время формирования клады 3a1 для этого анализа;

- состав клады «Кавказ-1» при анализе фрагмента КР длиной 252 п.н. значительно отличается от такового для других вариантов исследуемого фрагмента. Поэтому даты формирования клады «Кавказ-1» для фрагмента КР длиной 252 п.н. несопоставимы с результатами, полученными на основании других фрагментов;

- аналогично, в состав клады 7 при анализе конкатенатного фрагмента и последовательности гена *cyt b* входят только два гаплотипа из гаплогруппы «Кавказ-3», полученные нами, в то время как при анализе фрагментов КР длиной 550 п.н. и 252 п.н. в состав клады 7 включаются гаплотипы, описанные другими исследователями.

Полученные датированные филогенетические деревья приведены на Рисунках 4.15-4.18. Как уже описано выше для реконструкции филогенетических отношений между кладами, порядок расхождения ветвей может различаться, однако различия касаются узлов с недостаточным уровнем поддержки. В Таблице 4.1 приведены реконструированные даты существования последнего общего предка для основных митохондриальных клад бурого медведя, а также узлов, объединяющих клады.

Можно видеть, что в целом датировки, полученные в результате анализа разных фрагментов, не противоречат друг другу. Медианные значения времени существования

последнего общего предка в большинстве случаев близки друг к другу, а доверительные интервалы перекрываются.

В дальнейшем мы будем использовать датировки узлов для фрагментов, которые либо наиболее полно представляют данную митохондриальную кладу, либо основаны на анализе более длинного и информативного фрагмента мтДНК. Датировки, выбор которых кажется наиболее обоснованным, отмечены в Таблице 4.1.

Таблица 4.1. Реконструированные даты существования последнего общего предка (MRCA) для клад мтДНК. Приведены медианные значения и 95% доверительный интервал в тысячах лет. Серым шрифтом показаны значения для узлов с поддержкой менее 0,95; обведенные жирным ячейки указывают значения, которые далее будут считаться основными.

Названия клад	1849 п.н.		1140 п.н.		550 п.н.		252 п.н.	
	MRCA, т.л.н.	N	MRCA, т.л.н.	N	MRCA, т.л.н.	N	MRCA, т.л.н.	N
MRCA клад								
3a1	35 [23-49]	88	50 [33-70]	67	34 [20-49]	48	33 [19-51]	33
3a2	17 [8-29]	10	23 [7-46]	5	18 [7-33]	8	15 [4-33]	4
3a	41 [27-56]	98	56 [38-79]	72	41 [25-56]	56	38 [22-60]	37
3a с ископаемыми	61 [50-76]	101	71 [53-97]	75	60 [47-79]	59	74 [54-104]	39
«Кавказ-1» (часть)	33 [16-55]	6	47 [18-81]	5	24 [9-45]	6	25 [8-51]	4
«Кавказ-1» (включая Грузию)							71 [38-114]	30
3b-Хоккайдо	31 [17-47]	8	8 [1-19]	3	16 [5-31]	6	17 [5-36]	4
3b-Северная Америка					33 [23-47]	10		
3b-Дальний Восток			15 [4-32]	3				
3b-Сибирь-2	15 [7-25]	3	6 [0-18]	2	17 [7-30]	3	14 [5-27]	3
3b-Сибирь	27 [14-43]	7	36 [14-62]	7	24 [10-41]	6	26 [11-47]	6
3b	66 [47-89]	26	65 [40-98]	16	58 [38-83]	28	62 [38-93]	31
«Кавказ-2»	51 [29-78]	7			27 [10-51]	7	23 [8-46]	6
4	3 [1-10]	2	7 [1-20]	2	7 [1-18]	3		
3d	24 [10-44]	5	18 [4-43]	4	22 [7-44]	4	18 [3-44]	3
2a	15 [6-27]	4	21 [7-40]	5	14 [3-33]	4	16 [4-39]	5
2b	40 [20-66]	4	16 [2-43]	3	30 [10-55]	3	45 [24-78]	4
2c			107 [73-147]	4				
1 (1a + 1b)	85 [58-118]	12	115 [70-174]	12	63 [41-95]	14		
1 (1a + 1b + 1d)							91 [50-151]	22
«Кавказ-3»	6 [0-16]	2	7 [0-24]	2				
7-Юго-Западный Иран					22 [8-41]	10	15 [4-33]	5
7-Северный Иран					29 [11-54]	9	19 [7-40]	7
7					86 [43-143]	20	67 [30-121]	17
Северная Африка							30 [11-61]	2

Названия клад	1849 п.н.		1140 п.н.		550 п.н.		252 п.н.	
	MRCA, Т.Л.Н.	N	MRCA, Т.Л.Н.	N	MRCA, Т.Л.Н.	N	MRCA, Т.Л.Н.	N
Время расхождения клад								
3b-Сев.Америка + 3b-Сибирь-2	39 [28-54]		26 [11-46]		42 [28-60]			
3b-Сев.Америка + 3b-Сибирь-2 + 3b-Хоккайдо (+ 3b-Дальний Восток)	54 [38-74]		40 [21-64]					
3d + 4	143 [101-192]							
3a + 3b + «Кавказ-1» + «Кавказ-2»	120 [88-157]		135 [97-185]		94 [67-131]			
3a + 3b + «Кавказ-1» + «Кавказ-2» + 3d + 4	175 [132-229]		198 [142-275]					
3a + 3b + «Кавказ-1» + «Кавказ-2» + 3d + 4 + 5	201 [147-268]		263 [182-372]		139 [92-202]		128 [85-189]	
2a + 2b	125 [111-143]		129 [111-157]		141 [116-178]			
2a + 2b + 2c	242 [180-311]		270 [189-368]		165 [118-232]		141 [112-188]	
1 + 7	177 [123-241]		191 [120-278]				153 [89-235]	
1 + 2 + 7			285 [203-392]					
Все бурые и белые медведи, кроме клады 6			340 [244-468]					
Все бурые и белые медведи	322 [249-420]		373 [259-522]		260 [182-367]		262 [179-389]	

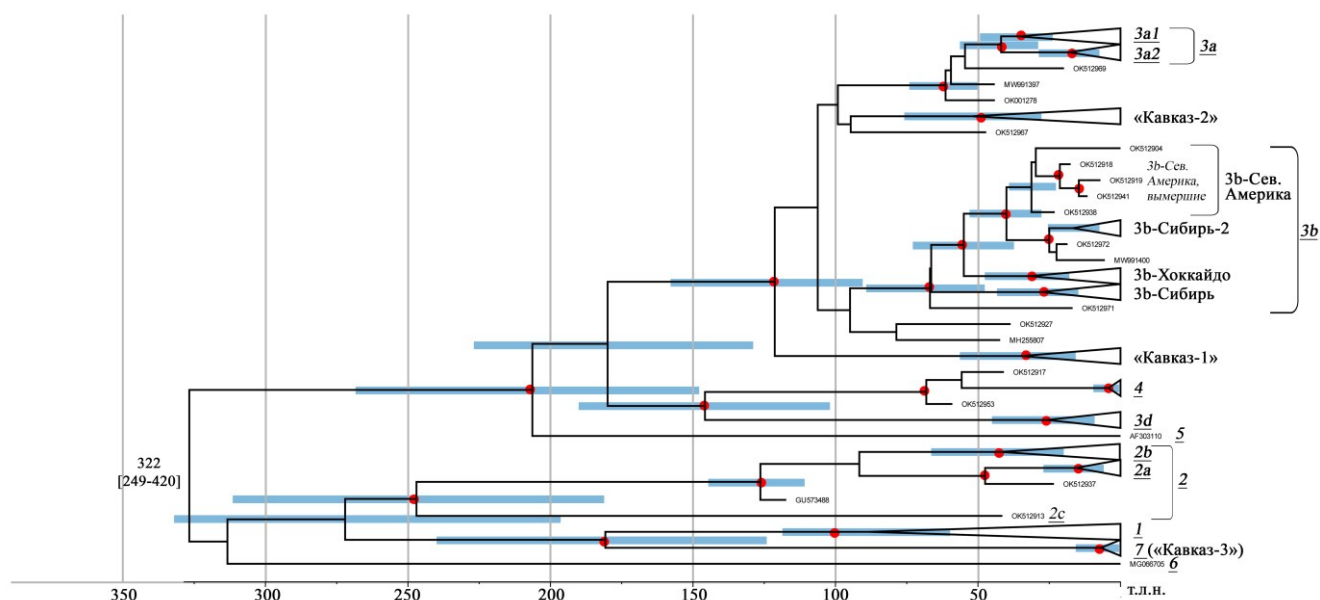


Рисунок 4.15. Результат реконструкции времени существования MRCA для митохондриальных гаплогрупп бурого медведя на основании анализа конкатенатного фрагмента мтДНК длиной 1849 п.н. Кружками помечены статистически достоверные узлы, синие прямоугольники соответствуют 95% доверительному интервалу датировки узлов.

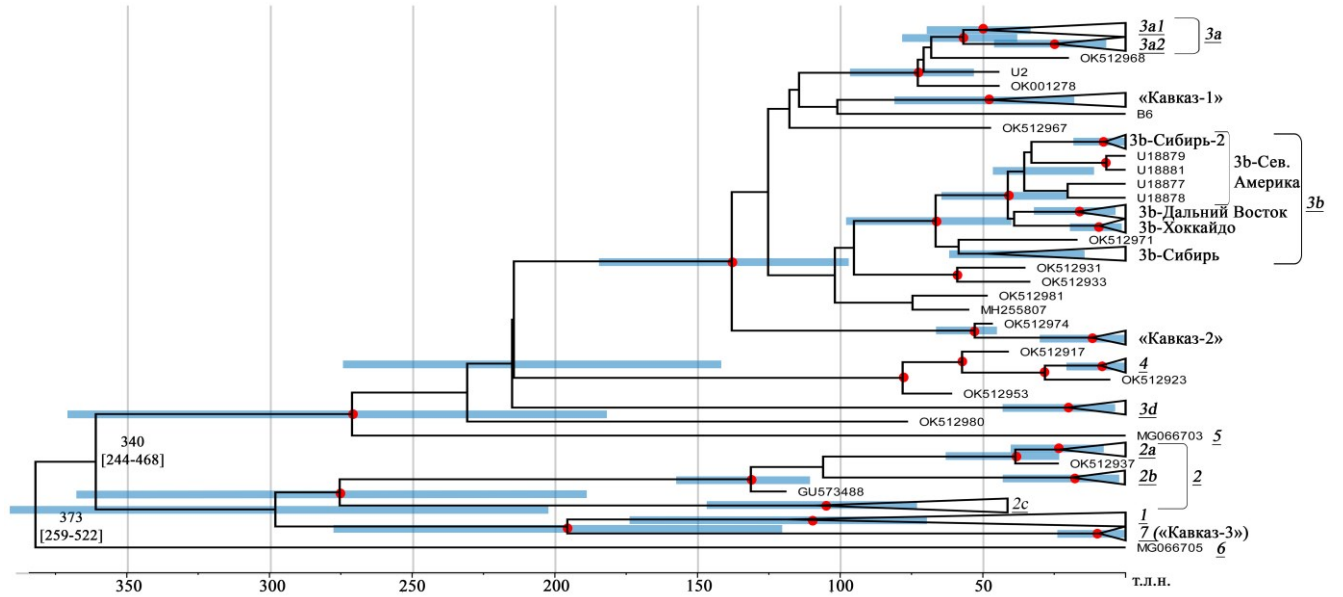


Рисунок 4.16. Результат реконструкции времени существования MRCA для митохондриальных гаплогрупп бурого медведя на основании анализа последовательности гена *cyt b* длиной 1140 п.н. Кружками помечены статистически достоверные узлы, синие прямоугольники соответствуют 95% доверительному интервалу датировки узлов.

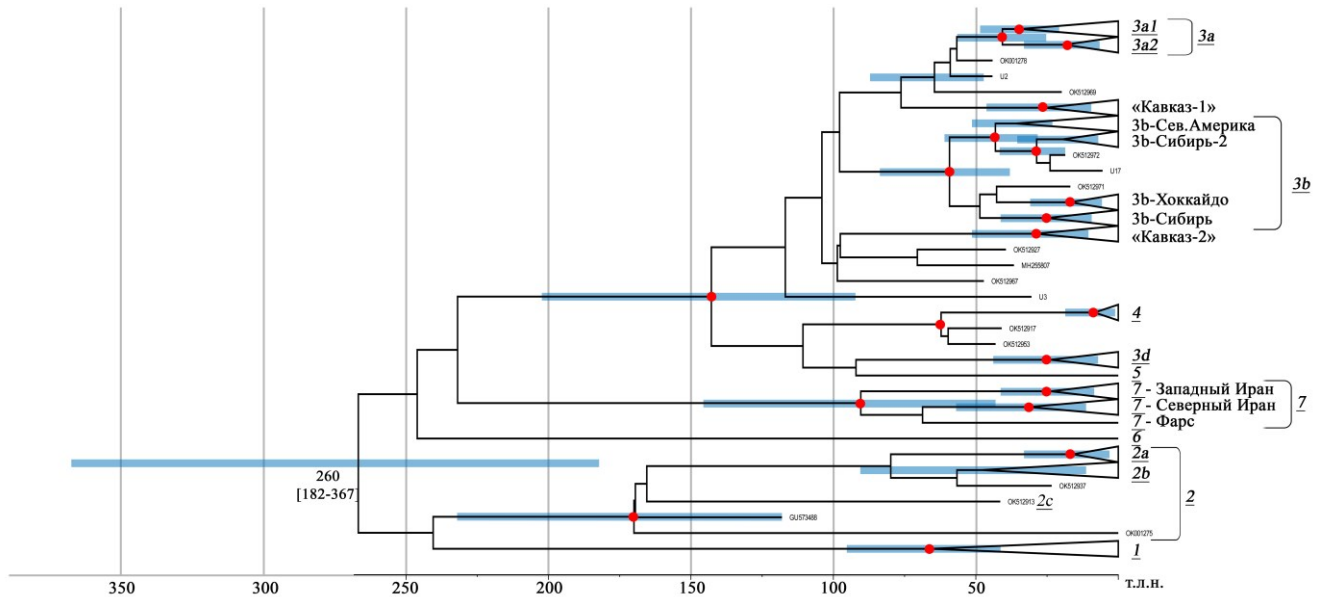


Рисунок 4.17. Результат реконструкции времени существования MRCA для митохондриальных гаплогрупп бурого медведя на основании анализа фрагмента КР длиной 550 п.н. Кружками помечены статистически достоверные узлы, синие прямоугольники соответствуют 95% доверительному интервалу датировки узлов.

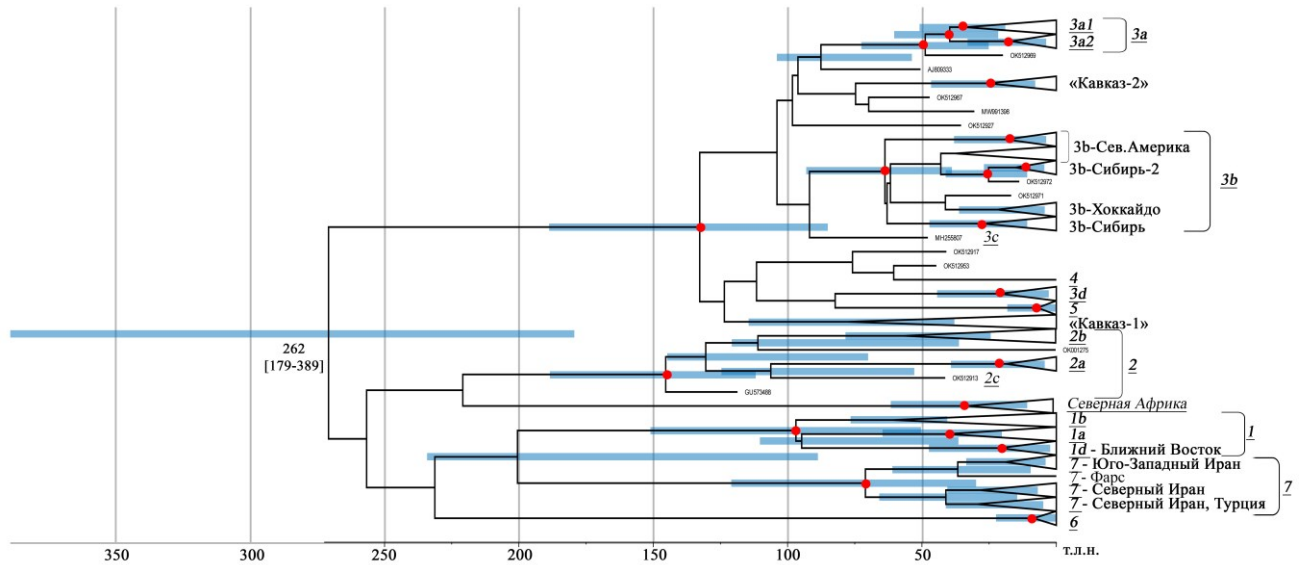


Рисунок 4.18. Результат реконструкции времени существования MRCA для митохондриальных гаплогрупп бурого медведя на основании анализа фрагмента КР длиной 252 п.н. Кружками помечены статистически достоверные узлы, синие прямоугольники соответствуют 95% доверительному интервалу датировки узлов.

Время формирования «небольших» митохондриальных клад, таких как 3d, 2a, 2b, 3a2, а также субклад клады 3b приходится на период последнего ледникового максимума, т.е. на период 15-30 т.л.н. На территории Евразии в этот период наиболее массивный ледниковый щит был расположен в Европе и практически не затрагивал Сибирь, в то время как в Северной Америке существовал массивный Кордильерский ледник.

Разделение клады 3a на субклады 3a2 (о. Хоккайдо) и 3a1 (Евразия и Северная Америка), произошедшее – 50-60 т.л.н, приходится на границу MIS3 и MIS4, или на начало карагинского межледниковья. Чуть позднее за этим следует и радиация субклады клады 3a1. При этом, судя по датировкам, учитывающим последовательности мтДНК ископаемых бурых медведей, клада 3a оформилась в период между массивным ранневалдайским оледенением и менее выраженным средне-вейхсельским оледенением. В этот же период существовали последние общие предки для всех субклад клады 3b и для всех современных представителей клады «Кавказ-1».

Разделение клад внутри ветвей 1+2+7 и 3a+3b+«Кавказ-1»+ «Кавказ-2»+3d+4+5 произошло не позднее MIS7. В этот период отделились предки нынешних клад 2 и 7, соответственно. Дальнейшая специация клад в этих узлах датируется московским оледенением ближе к его началу, а разделение клад «Кавказ-1» и «Кавказ-2», обитающих сейчас в более южных частях ареала, и клад 3a и 3b, обитающих в более северных регионах, относится к микулинскому межледниковью.

4.1.4 Оценка генетического разнообразия при использовании различных фрагментов мтДНК

Поскольку используемый в работе конкатенатный фрагмент мтДНК состоит из нескольких регионов с различной вариабельностью, а литературные данные, которые могут быть использованы для прямого сравнения, несколько различаются для разных фрагментов, была проведена оценка уровней генетического разнообразия одних и тех же зверей по разным фрагментам используемой конкатенатной последовательности. Это было сделано для того, чтобы выбрать оптимальный путь для сопоставления полученных нами данных с литературными. Также это позволило напрямую оценить вклад полиморфного СТ-политракта в рассчитываемое генетическое разнообразие.

Для того, чтобы проверить, будут ли сходиться уровни генетического разнообразия выборки бурого медведя из различных регионов при анализе разных вариантов исследуемого фрагмента, были проведены расчеты на основании нескольких вариантов длины фрагмента для различных регионов. Расчеты были проведены для особей, у которых удалось амплифицировать итоговый фрагмент длиной 1860 п.н. Регионы, представленные менее, чем пятью особями (Чукотка, Монголия, Юго-Западный Кавказ), были исключены, итоговое число включенных в анализ особей составило $N = 95$.

Показатели гаплотипического и нуклеотидного разнообразия для медведей из различных регионов на основании полученного полиморфизма различных фрагментов мтДНК приведены Таблице 4.2.

Ни Рисунке 4.19 приведены показатели гаплотипического и нуклеотидного разнообразия медведей из разных регионов с учетом и без учета СТ-политракта.

Гаплотипическое разнообразие (Рисунок 4.19, верхний ряд) более подвержено влиянию СТ-политракта, чем нуклеотидное разнообразие (Рисунок 4.19, нижний ряд). Интервалы отклонения среднего гаплотипического разнообразия при включении и при исключении СТ-политракта в большинстве случаев не перекрываются. Наиболее сильно исключение СТ-политракта влияет на уровень гаплотипического разнообразия при использовании самого короткого фрагмента КР (Рисунок 4.19-Б), наиболее слабо – при использовании конкатенатного фрагмента (Рисунок 4.19-В). Напротив, для нуклеотидного разнообразия стандартные отклонения для расчетов с учетом и без учета СТ-политракта перекрываются, а средние значения почти не различаются.

Таблица 4.2. Показатели генетического разнообразия географических выборок бурого медведя, полученные при анализе различных вариантов фрагментов мтДНК, рассматриваемых в данной работе. Для всех фрагментов мтДНК показатели рассчитывались для одной и той же выборки особей (N=95). Указаны среднее значение и стандартное отклонение.

	H (SD)					π (SD)				
	1860 п.н.	1849 п.н.*	<i>Cyt b</i> 1140 п.н.	КР 570 п.н.	КР 550 п.н.*	1860 п.н.	1849 п.н.*	<i>Cyt b</i> 1140 п.н.	КР 570 п.н.	КР 550 п.н.*
Юго-Западный Кавказ (N=17)	0,963 (0,033)	0,897 (0,048)	0,757 (0,071)	0,949 (0,037)	0,882 (0,047)	0,0089 (0,0047)	0,0082 (0,0043)	0,0054 (0,003)	0,0172 (0,0093)	0,0152 (0,0083)
Европейская Россия (N=19)	0,883 (0,046)	0,714 (0,103)	0,38 (0,134)	0,778 (0,072)	0,45 (0,128)	0,0019 (0,0011)	0,0007 (0,0005)	0,0005 (0,0005)	0,0048 (0,003)	0,0009 (0,0009)
Урал (N=14)	0,857 (0,056)	0,539 (0,115)	0,539 (0,115)	0,725 (0,104)	0,143 (0,119)	0,0015 (0,0009)	0,0004 (0,0004)	0,0005 (0,0005)	0,0038 (0,0025)	0,0003 (0,0004)
Западная Сибирь (N=26)	0,972 (0,02)	0,932 (0,029)	0,886 (0,04)	0,932 (0,034)	0,659 (0,099)	0,0063 (0,0033)	0,0052 (0,0027)	0,0033 (0,0019)	0,0122 (0,0066)	0,0088 (0,0049)
Охотское море - юг (N=11)	0,927 (0,067)	0,891 (0,074)	0,673 (0,123)	0,909 (0,066)	0,873 (0,071)	0,0053 (0,0029)	0,0045 (0,0025)	0,0041 (0,0024)	0,011 (0,0064)	0,0085 (0,0051)
Камчатка (N=8)	0,964 (0,077)	0,929 (0,084)	0,893 (0,086)	0,893 (0,111)	0,786 (0,151)	0,0025 (0,0016)	0,0019 (0,0013)	0,0015 (0,0011)	0,0052 (0,0034)	0,0033 (0,0024)

* политракт исключен

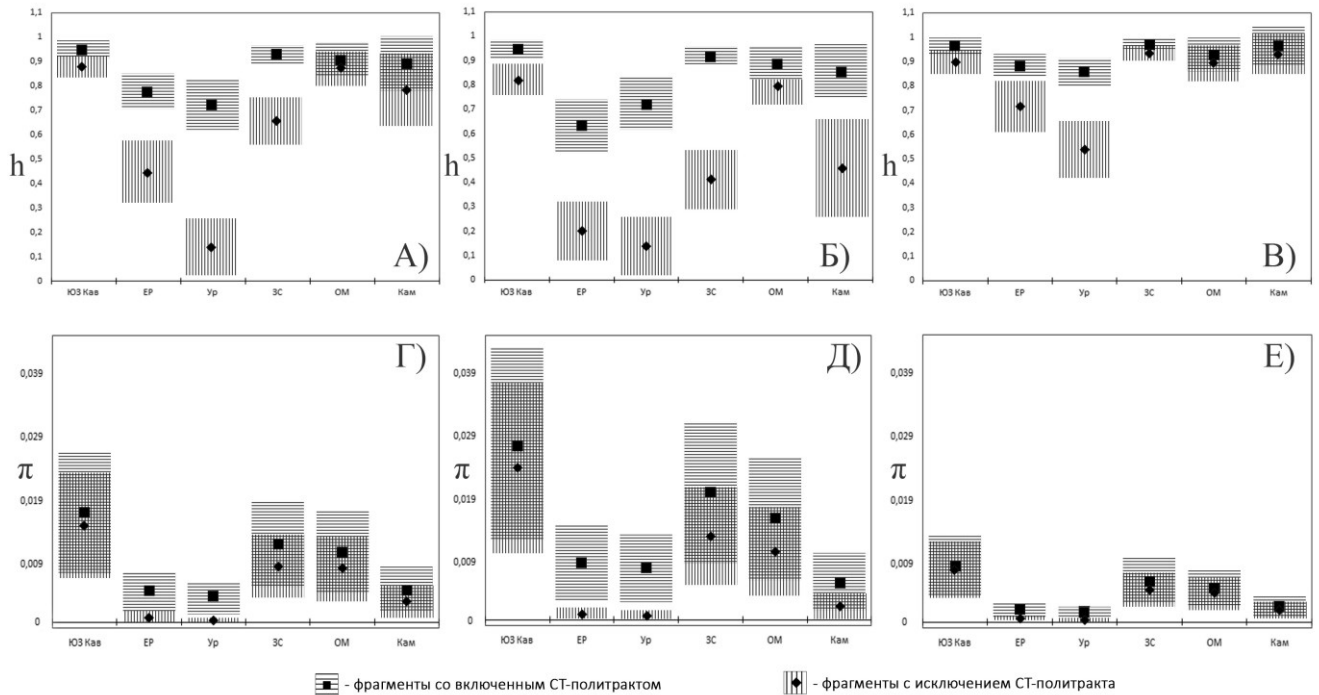


Рисунок 4.19. Сопоставление уровней генетического разнообразия последовательностей мтДНК медведей из различных регионов, полученных в рамках данной работы, рассчитанных с учетом и без учета СТ-политракта. По вертикальным осям – значения показателя разнообразия, по горизонтальным – регионы; указаны среднее значение и стандартное отклонение. Верхний ряд (А, Б, В) – уровень гаплотипического разнообразия, нижний ряд (Г, Д, Е) – уровень нуклеотидного разнообразия. Все расчеты проведены на основании одной и той же выборки особей (N=95). А), Г) – фрагмент КР длиной 570 п.н.; Б), Д) – фрагмент КР длиной 270 п.н.; В), Е) – конкатенатный фрагмент длиной 1860 п.н.

Интересно, что влияние СТ-политракта неодинаково для медведей разных регионов – оно наиболее сильно выражена для медведей Европейской части России и Урала. Только у медведей этих регионов интервалы стандартных отклонений нуклеотидного разнообразия «с политрактом» и «без политракта» не перекрываются, а уровень их гаплотипического разнообразия при исключении политракта падает сильнее, чем у медведей других регионов.

Если сравнивать показатели нуклеотидного и гаплотипического разнообразия, рассчитанные на основании фрагментов мтДНК разной длины (Рисунок 4.20), то видно, что влияние выбранного фрагмента более выражено для гаплотипического разнообразия (Рисунок 4.20-А, -Б), чем для нуклеотидного (Рисунок 4.20-В, -Г). Особенно значительные расхождения между результатами, полученными на основании анализа разных фрагментов, наблюдаются для гаплотипического разнообразия без учета СТ-политракта (Рисунок 4.20-Б). Показатели же нуклеотидного разнообразия медведей из различных регионов демонстрируют сходные между собой тренды как при включенном (Рисунок 4.20-Г), так и при исключенном СТ-политракте (Рисунок 4.20-Г).

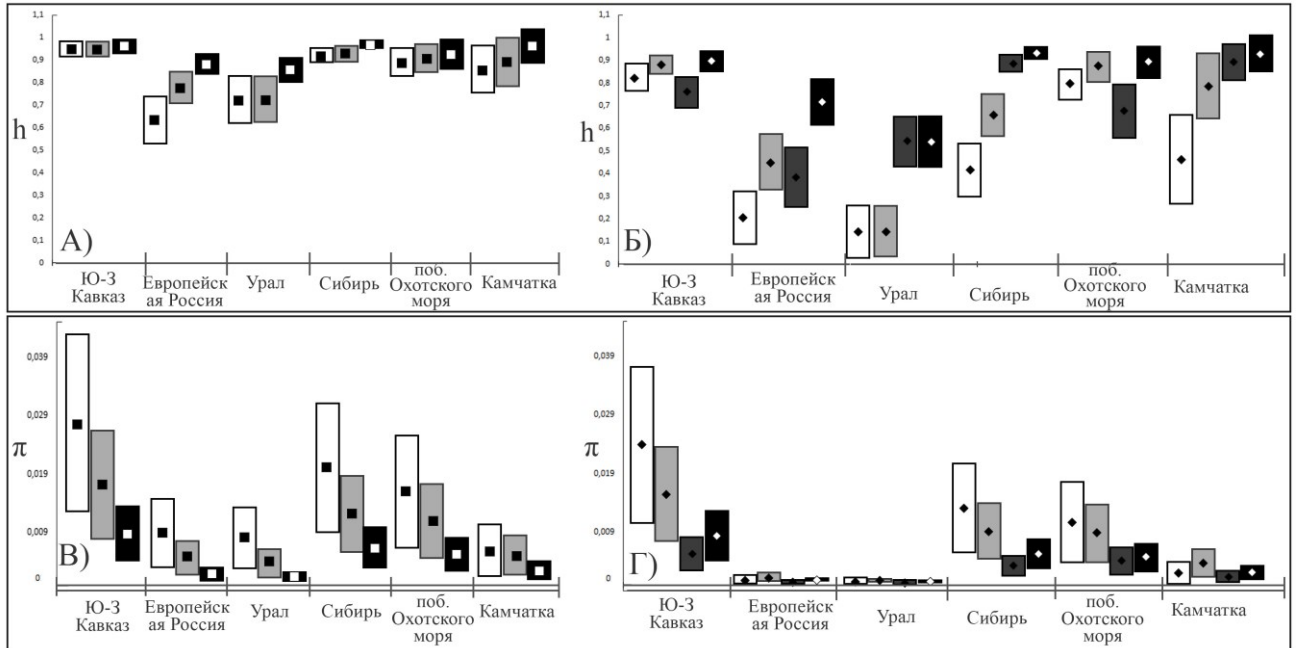


Рисунок 4.20. Сопоставление уровней генетического разнообразия последовательностей мтДНК медведей из различных регионов, полученных в рамках данной работы, рассчитанных с использованием фрагментов мтДНК разной длины. По вертикальным осям – значения показателя разнообразия, по горизонтальным – регионы; указаны среднее значение и стандартное отклонение. Верхний ряд (А, В) – уровень гаплотипического разнообразия, нижний ряд (Г, Д) – уровень нуклеотидного разнообразия. Все расчеты проведены на основании одной и той же выборки особей (N=95). А), В) – с учетом СТ-политракта; Б), Г) – без СТ-политракта. Белым цветом показаны результаты для фрагмента КР длиной 270 п.н.; светло-серым – для фрагмента КР длиной 570 п.н.; темно-серым – для последовательности гена *cyt b*; черным (с белым средним значением) – для конкатенатного фрагмент длиной 1860 п.н.

Таким образом, для данной выборки бурых медведей можно сказать, что влияние как гипервариабельного СТ-политракта, так и длины и специфики фрагмента в целом, выше для гаплотипического разнообразия, чем для нуклеотидного. Наиболее значительный вклад включение СТ-политракта вносит в разнообразие медведей Европейской части России и Урала.

4.2 Обсуждение

В составе исследуемой выборки мы выявили представителей митохондриальных клад 3a, 3b, 7, «Кавказ-1», а также описали новую митохондриальную кладу «Кавказ-2». Клады 3a и 3b были выявлены на территории Европейской России, Урала, Сибири и Дальнего Востока; класы 7, «Кавказ-1» и «Кавказ-2» были выявлены на территории Кавказа.

4.2.1 Материнские линии бурых медведей Кавказа

Нам удалось выявить на территории Кавказа и Закавказья три митохондриальные класы («Кавказ-1», «Кавказ-2», класа 7), две из которых были описаны другими исследователями в смежных регионах. Карта распространения представителей различных митохондриальных класов приведена на Рисунке 4.21.

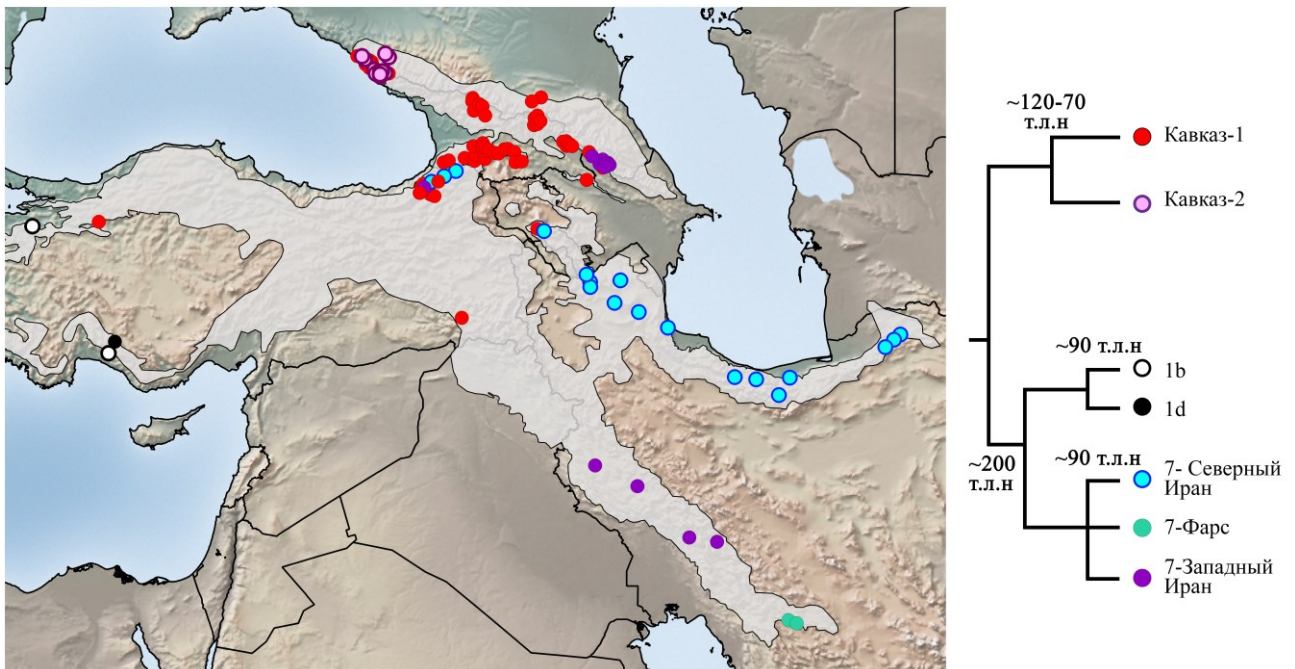


Рисунок 4.21. Карта распространения основных митохондриальных класов на территории Кавказа, Закавказья и Ближнего Востока.

4.2.1.1 Распространение и структура выявленных митохондриальных класов

4.2.1.1.1 Класа 7

На территории Ирана единственной выявленной кладой является «иранская» класа 7 [Ashrafzadeh, Kaboli, Naghavi, 2016], представители которой также обитают в Турции [Çilingir et al., 2016], в Закавказье (Армения) и на южном склоне Большого Кавказа (данная работа). Выявление представителей класы 7 в Армении не вызывает удивления, так как эта страна граничит с Ираном как раз в том регионе, который населяют бурые медведи, и полевые наблюдения показывают, что звери с разных сторон границы могут перемещаться между странами (А. Малхасян, личное сообщение).

Две основные работы, посвященные медведям Ирана и Турции [Ashrafzadeh, Kaboli, Naghavi, 2016; Çilingir et al., 2016], вышли практически одновременно, в результате чего сопоставление полученных данных не могло быть проведено ни в одной из них. В рамках настоящей работы мы сопоставили доступные последовательности мтДНК медведей из Турции и из Ирана с полученными нами последовательностями мтДНК медведей из Азербайджана (Юго-Восточный Кавказ) и Армении (Малый Кавказ).

Выделение в составе клады 7 ветвей Северного и Западного Ирана было статистически достоверным как в работе [Ashrafzadeh, Kaboli, Naghavi, 2016], так и в нашем анализе фрагмента КР длиной 550 п.н. (Рисунок 4.11). Сопоставление последовательностей мтДНК медведей Ирана и Турции было возможно только при анализе фрагмента КР длиной 252 п.н., и в таком варианте выделение ветвей клады 7 было недостоверным, однако выявленная структура (Рисунки 4.12, 4.13) соответствовала статистически достоверным результатам анализа более длинного фрагмента. Поэтому мы можем предполагать, что структура, видимая при анализе короткого фрагмента, отражает действительное положение дел.

Два образца из Армении и четыре образца из Турции оказались принадлежащими к ветви Северного Ирана; один образец из Турции и 9 образцов из Азербайджана – к ветви Юго-Западного Ирана. Таким образом, представители митохондриальной клады 7-Юго-Запад обитают в южной и северной частях регионального ареала вида, а в центральной части ареала в их распространение вклинивается зона обитания представителей клады 7-Север, населяющих горную систему Эльбурс, Малый Кавказ и Лазистанский хребет.

Распространение различных субклад клады 7 на территории Закавказья и Ближнего Востока может указывать на относительно недавнюю экспансию с востока на запад, т.е. с территории Северного Ирана через Армению в горы востока Турции.

При этом полученные нами времена существования последнего общего предка для субклад 7-Север и 7-Юго-Запад составляют 29 [11-54] т.л.н. и 22 [8-41] т.л.н. соответственно (Таблица 4.1), и таким образом противоречат этой гипотезе. Исходя из времени существования последнего общего предка, можно предположить, наоборот, более раннее расселение представителей субклады 7-Север по территории нынешних Ирана и Турции, и последующее вселение представителей субклады 7-Юго-Запад с юга на север на склоны Большого Кавказа.

Внутренняя структура клады 7 требует дополнительного изучения, но имеющиеся данные указывают на достаточно высокое генетическое разнообразие этой клады.

4.2.1.1.2 Клады суперклады 3 - «Кавказ-1» и «Кавказ-2»

Второй доминирующей митохондриальной кладой региона является клада «Кавказ-1», преобладающая на территории Кавказа и Закавказья; она же является наиболее разнообразной и представлена наибольшим числом гаплотипов.

В обзоре литературы на Рисунке 1.4 звери, которые согласно сопоставлению наших и литературных данных относятся к кладе «Кавказ-1», помечены как представители клады 3a1, поскольку авторы работ, посвященных этим популяциям, оценивали их как относящихся к этой кладе [Murtskhvaladze, Gavashelishvili, Tarkhnishvili, 2010; Salis et al., 2021; Çilingir et al., 2016].

Однако, данные, приведенные этих в работах, при ближайшем рассмотрении не позволяют уверенно отнести полученные авторами гаплотипы к кладе 3a. Так, в работе, посвященной медведям Грузии, полученные авторами гаплотипы сформировали несколько ветвей – отдельную ветвь медведей Большого Кавказа и несколько ветвей медведей Малого Кавказа; все эти ветви с разной степенью статистической достоверности группировались в составе ветви «медведей Европы и Азии». При этом внимательное рассмотрение таблицы последовательностей, взятых авторами [Murtskhvaladze, Gavashelishvili, Tarkhnishvili, 2010] из базы GenBank и приведенных в Таблице 1 соответствующей статьи, показывает, что представитель медведей Хоккайдо принадлежал к кладе 3d, а не 3a, и одна из ветвей гаплотипов с Малого Кавказа оказалась внешней по отношению к нему, то есть, она никак не может входить в состав клады 3a.

В работе же, посвященной медведям Турции, часть особей также описывается, как принадлежащая к кладе 3a [Çilingir et al., 2016], однако количество использованных гаплотипов клады 3a из Европы явно недостаточно, чтобы обеспечить корректное отображение отношений между медведями из Турции и из Восточной Европы.

В работе [Salis et al., 2021] среди прочих были получены последовательности мтДНК от четырех современных и одного ископаемого образца бурого медведя с Кавказа, и, поскольку все эти последовательности сформировали отдельные веточки, внешние по отношению к «заведомой» кладе 3a, авторы сочли, что все они также входят в состав 3a. Однако, когда мы включили эти образцы в анализ вместе с полученными нами последовательностями мтДНК, они достоверно вошли в состав клад «Кавказ-1» и «Кавказ-2» (Рисунок 4.22).

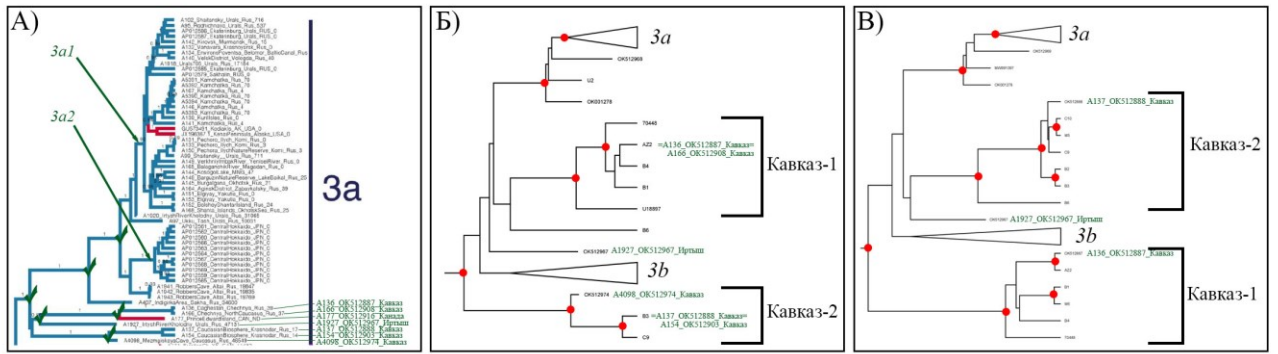


Рисунок 4.22. Сопоставление интерпретации принадлежности гаплотипов бурого медведя с Кавказа, полученных в работе [Salis et al., 2021], с нашими данными. А) – репродукция фрагмента филогенетического дерева гаплотипов на основании полного митогенома, приведенного в работе [Salis et al., 2021], с пометками. Зеленым сделаны пометки, обозначающие субклады 3a1 и 3a2, а также образцы, которые согласно нашим данным относятся к кладам «Кавказ-1» и «Кавказ-2». Зеленые галочки отмечают статистически достоверные узлы в обсуждаемой зоне. Б) – фрагмент филогенетического дерева гаплотипов на основании анализа последовательности гена *cyt b*, полученного в данной работе, с отмеченными последовательностями из работы [Salis et al., 2021]; Б) – фрагмент филогенетического дерева гаплотипов на основании анализа конкатенатного фрагмента длиной 1843 п.н., полученного в данной работе, с отмеченными последовательностями из работы [Salis et al., 2021],

Генетические дистанции, отделяющие кладу 3a от клад «Кавказ-1» и «Кавказ-2» соответствуют уровню различий, разделяющих общепризнанные митохондриальные клады 3a и 3b бурого медведя (Таблица 4.3).

Таблица 4.3. Генетические дистанции F_{st} между различными митохондриальными кладами бурого медведя. Под диагональю – на основании анализа конкатенатной последовательности (1849 п.н.); над диагональю – на основании анализа фрагмента КР длиной 252 п.н. Все значения статистически достоверны.

	3a	3b	3d	«Кавказ-1»	«Кавказ-2»
3a		0,804	0,911	0,713	0,847
3b	0,809		0,601	0,567	0,537
3d	0,918	0,728		0,529	0,794
«Кавказ-1»	0,83	0,611	0,861		0,583
«Кавказ-2»	0,86	0,662	0,876	0,819	

Сопоставление последовательностей мтДНК медведей Грузии и Турции с полученными нами данными убедительно показывает, что медведи Кавказа, Закавказья и Турции все же должны быть выделены в отдельные митохондриальные клады уровня клад 3a и 3b.

Нам не удалось реконструировать порядок расхождения клад 3a, 3b, «Кавказ-1» и «Кавказ-2» со статистической достоверностью. Однако мы можем в этом вопросе опереться на результаты [Salis et al., 2021] поскольку знаем, что несколько последовательностей, включенных в его анализ, входят в состав клад «Кавказ-1» и «Кавказ-2». В дополнительных материалах к статье приведено филогенетическое дерево, показывающее, что последовательности, которые согласно

нашим результатам входят в состав клад «Кавказ-1» и «Кавказ-2», достоверно объединяются с кладой 3a в монофилетический узел, однако порядок их ветвления не удается достоверно установить даже при использовании полного митогенома (Рисунок 4.22).

Также можно отметить работу [Endo et al., 2021], в которую был включен единственный образец бурого медведя из Грузии, для которого был секвенирован полный митогеном. Этот образец на филогенетическом дереве оказался между кладами 3a и 3b, не относясь ни к одной из них. К сожалению, в рамках данной работы мы не можем непосредственно сопоставить последовательности, полученные в работе [Endo et al., 2021], с другими последовательностями.

Таким образом, мы можем сказать, что отделение клад «Кавказ-1» и «Кавказ-2» от клады 3a произошло после отделения клады 3b, и что, скорее всего, обособление предков двух кавказских клад происходило независимо друг от друга. Вероятно, это разделение происходило либо одновременно, либо в течение очень короткого промежутка времени, поскольку даже использование полного митогенома не позволяет достоверно определить порядок ветвления этого узла.

Внутренняя структура клады «Кавказ-1» на основании имеющихся данных не может быть достоверно реконструирована, так как для медведей Грузии и Турции, принадлежащих к этой клада, описаны только короткие последовательности КР мтДНК. При этом уровень разнообразия, который демонстрируют последовательности, размещенные в базе GenBank двумя группами исследователей, значительно различаются. Если последовательности КР мтДНК медведей Грузии, описанные в работе [Murtskhvaladze, Gavashelishvili, Tarkhishvili, 2010], в основном представлены уникальными гаплотипами, которые на медианной сети позволяют разделить Большой и Малый Кавказские хребты, то гомологичные последовательности медведей Турции, описанные в работе [Çilingir et al., 2016], формируют всего три гаплотипа, один из которых включает 20 особей. В свете таких сильных расхождений между результатами двух работ обсуждать внутреннюю структуру клады «Кавказ-1» не представляется целесообразным.

4.2.1.1.3 Обсуждение сообщений о находках представителей клады 3b на Кавказе

В работе [Hirata et al., 2014], в которой проводился анализ APLP, и [Mizumachi et al., 2020], где комбинировались APLP и секвенирование фрагмента КР мтДНК, в числе прочих образцов фигурировали медведи с Кавказа, из Ирана и Турции. В работе [Hirata et al., 2014] из 11 медведей с Кавказа шесть особей описываются как несущие кладу 3b, три – как несущие кладу E2, близкую к 3a, и еще двое – как несущие кладу W1, близкую к митохондриальным кладам 1 и 2. К этой же клада W1 принадлежал один из двух иранских образцов, а второй принадлежал к клада E1, входящей в ветвь клад 3a-3b-4 и выявленной авторами также в Киргизии и Казахстане.

Сопоставить результаты анализа APLP и анализа сиквенсов достаточно сложно. К счастью, в работе [Mizumachi et al., 2020] авторы параллельно с анализом APLP секвенировали фрагмент КР мтДНК для двух медведей из Турции, которые согласно APLP принадлежали к кладе W1, и выяснили, что этот профиль APLP соответствует в общепринятой номенклатуре митохондриальной кладе 7, т.н. Иранской. Поскольку для данной работы выборка медведей с Кавказа и из Ирана представляет большой интерес, мы попытались ретроспективно сопоставить результаты APLP анализа из этих работ и данные секвенирования полного митогенома, полученные и опубликованные другими исследователями, проверив в последовательностях митогеномов нуклеотиды в позициях, которые были использованы для APLP. Результаты такого сопоставления приведены в Таблице 4.4.

Как и предполагалось, прямое сведение этих двух типов данных затруднительно. С одной стороны, профили APLP, сформированные непосредственно методом APLP, и профили, ретроспективно сконструированные в результате анализа последовательностей мтДНК, действительно совпадают у представителей клады 3a1, клады 5 и клады 1. Однако, с другой стороны, APLP-профиль представителей клады 2 идентичен таковому для представителей клады 1, а также совпадают APLP-профили представителей клад 3d и 4, что указывает на низкую разрешающую способность метода по сравнению с анализом даже короткого фрагмента мтДНК. Также на несопоставимость методик указывает APLP-профиль представителя клады 6 (MG066705, [Lan et al., 2017]): он близок к профилям митохондриальных клад 3d-4 и 7, отличаясь от них всего по одной позиции (10116 для клад 3d-4 и 7257 для клады 7, см. Таблицу 4.4), в то время как при анализе полного митогенома клада 6 предлагается в качестве третьего «ствола» высокого уровня, отделившегося от остальных митохондриальных линий еще до разделения предков ветвей 3-4-5 и 1-2-7 [Lan et al., 2017].

В таком контексте не вызывает удивления, что APLP профили особей, определенных данным методом как принадлежащие к кладе 3b, совпадают с профилем, полученным в результате анализа митогеномов, принадлежность которых к кладе «Кавказ-1» была показана нами выше. APLP профиль последовательностей, которые, согласно нашим результатам, принадлежат к кладе «Кавказ-2», отличаются от них только по позиции 8392. По всей видимости, анализ APLP на основании тех позиций, которые были выбраны авторами, не позволяет различать эти клады, и поэтому в результате анализа у них и получилось выявить представителей клады 3b на Кавказе, которые фактически, скорее всего, являлись представителями клады «Кавказ-1».

Отождествление гаплогруппы W1, описанной [Hirata et al., 2014], с общепринятой митохондриальной кладой 7 в целом оправдано, поскольку в работе [Mizumachi et al., 2020] профиль APLP-W1 и последовательность КР мтДНК, принадлежащая к кладе 7, были получены от физически одних и тех же образцов. Также данные об обитании представителей клады 7 в Иране и в различных регионах Кавказа соответствует данным других исследователей и нашим данным.

Таблица 4.4. Сопоставление данных секвенирования полного митогенома, размещенных в базе GenBank, и анализа APLP [Hirata et al., 2014; Mizumachi et al., 2020, 2021]. Жирным обведены идентичные профили APLP. Слева от приведенных полиморфизмов приведены результаты выделения клад в работах [Hirata et al., 2014; Mizumachi et al., 2020, 2021] по результатам APLP, справа от полиморфизмов – результаты выделения клад на основании анализа последовательности мтДНК обычными методами (построение медианных сетей и филогенетических деревьев).

N	Происхождение образцов (APLP)	Клада по APLP	Полиморфизмы мтДНК (нумерация по последовательности AF303110)									Клада по сиквенсу мтДНК	Происхождение образцов (сиквенс мтДНК)	N
			7257	7770	8392	8776	9271	10116	11585	13180	16259			
1	Северная Америка	4	C	T	G	T	C	G	A	C	A	4	Северная Америка	1
			3d	о. Хоккайдо	5
			.	.	.	C	.	A	G	T	.	3a1	Евразия, Северная Америка	14
20	Европейская часть России, Урал, Сибирь, Забайкалье, Камчатка, Киргизия (Тянь-Шань), Сахалин	3a1	.	.	.	C	.	A	G	T	.			
			.	.	.	C	T	A	G	.	.	3a2	о. Хоккайдо	11
			.	.	A	.	.	A	G	.	.	3b-Хоккайдо	о. Хоккайдо, Курильские острова	9
10	Алтай, Кавказ	3b	.	.	A	.	.	A	G	.	.			
			.	.	A	.	.	A	G	.	.	«Кавказ-1»	<i>U.a. pruinosus</i> , Кавказ *	4
			A	G	.	.	«Кавказ-2»	Кавказ *	3
			.	C	.	.	.	A	.	.	G	5	Тибет	3
8	Тибет	5	.	C	.	.	.	A	.	.	G			
			A	.	.	.	6	Индия (MG066705)	1
8	Казахстан (Каратау), Киргизия (Иссык-Куль, Тянь-Шань), Иран	E1	A	.	.	.			
5	Кавказ, Монголия, Киргизия (Тянь-Шань)	E2 (3a)	A	G	.	.			

5	<u>Кавказ, Иран, Турция</u>	W1	T	A	.	.	.	7 **	Турция **	2 **
			T	A	.	.	G	1	Западная Европа	36
12	Болгария	1	T	A	.	.	G	1b **	Болгария **	6 **
			T	A	.	.	G	2	Северная Америка	5

* -принадлежность данных последовательностей к кладам «Кавказ-1» и «Кавказ-2» установлена в данной работе.

** -два образца из Турции и 6 из Болгарии были проанализированы обоими способами в работе [Mizumachi et al., 2020]

Однако выявление особей, несущих профили APLP-E1 и APLP-E2, одновременно в Средней Азии и на Ближнем Востоке может являться артефактом, аналогично описанной выше ситуации с невозможностью разделить клады 3b и «Кавказ-1» с помощью APLP, что привело к ложному описанию такого же «разорванного» ареала для клады 3b.

4.2.1.2 История формирования филогеографической структуры медведей региона

Как было показано выше, вопреки предыдущим данным, на территории Кавказа и Закавказья не было выявлено представителей клад 3a и 3b. В то же время, не было выявлено особей, которые бы принадлежали ккладам «Кавказ-1», «Кавказ-2» и 7, за пределами Кавказского и Ближневосточного регионов. То есть, в настоящее время, согласно имеющимся данным, популяция медведей Кавказа и Закавказья состоит из зверей, несущих уникальный набор материнских линий.

Интересно, что как на Юго-Западном Кавказе (район Сочинского Нац. парка), так и на Юго-Восточном Кавказе (Азербайджан) медведи из различных митохондриальных клад существуют симпатрически. Высокий уровень морфологического разнообразия бурого медведя Кавказа известен давно [Адлерберг, 1935; Гептнер и др., 1967], при этом известно, что различные экоморфы медведя обитают симпатрически [Chestin, Mikeshina, 1998]. Наши данные не позволяют провести прямого сопоставления генетических и морфологических данных, однако можно предположить, что морфологическая изменчивость является отражением древней гетерогенности популяции так же, как сосуществование на одной территории нескольких сильно различающихся материнских линий.

Палеонтологические данные показывают, что медведь обитает на территории Кавказа на протяжении последних сотен тысяч лет [Барышников, 2007; Верещагин, 1959]. Несмотря на то, что в определенные периоды ледниковые шапки на вершинах Кавказа могли увеличиваться в размере, нет оснований полагать, что медведь когда-либо полностью исчезал из этого региона. Неясно, каковы были митохондриальные линии медведей, обитавших на Кавказе и Ближнем Востоке более 200 т.л.н., однако дата отделения предка клады 7 от предка западноевропейской клады 1, реконструируемая нами в районе 177 [123-241] т.л.н., позволяет предположить, что представители клады 7 населяют этот регион в течение по меньшей мере 150 тысяч лет.

Время расхождения предков ныне живущих представителей субклад клады 7 определяется как 86 [43-143] т.л.н.; то есть, примерно в это время медведи разделились на более северную и более юго-западную части ближневосточного ареала. Время существования последнего общего предка для всех ныне живущих представителей клады «Кавказ-1» определяется как 77 [41-123] т.л.н. Можно предположить, что это примерное время появления

предков этой клады на Кавказе. Неясно, произошло ли вселение предков клад «Кавказ-1» и «Кавказ-2» одновременно или поочередно, однако разделение линий их мтДНК должно было произойти до их появления на Кавказе, поскольку иначе клады «Кавказ-1» и «Кавказ-2» формировали бы монофилетическую ветвь.

Полученные нами даты существования последнего общего предка для современных представителей клад «Кавказ-1» и «Кавказ-2» указывают скорее на более раннее расселение клады «Кавказ-1». Последний общий предок для клады «Кавказ-2» реконструируется в районе 51 [29-78] т.л.н., то есть позднее, чем для «Кавказ-1». При этом мы можем сказать, что представители клады «Кавказ-1» присутствовали на Кавказе уже в период около 46 т.л.н, поскольку именно такова датировка ископаемого образца бурого медведя из пещеры Межмайская на Кавказе, который был секвенирован в рамках работы [Salis et al., 2021], и достоверно родственен современным представителям клады «Кавказ-2». Дата существования последнего общего предка для этого образца и современных представителей клады «Кавказ-2» (51 [45-66] т.л.н.) хорошо согласуется с датой формирования этой клады без учета этого ископаемого образца, что дополнительно подтверждает активное расселение именно в этот период.

4.2.2 Материнские линии бурых медведей севера Евразии (за исключением Кавказа)

В результате работы мы выяснили, что в Западной и Южной Сибири бурые медведи несут не только митохондриальную кладу 3a, как предполагалось ранее, но и кладу 3b [Саломашкина и др., 2014]. До появления наших данных считалось, что представители клады 3b обитают на территории о. Хоккайдо [Matsushashi et al., 1999], в восточной части Аляски [Talbot, Shields, 1996] и на Дальнем Востоке России [Гуськов и др., 2013].

Через несколько лет после публикации наших результатов данные о распространении клады 3b в Сибири были опубликованы и другими исследователями. Представители клады 3b были найдены среди медведей регионов, находящихся на границе России и Монголии – на Алтае, в Саянах и прилегающих горных системах [Tumendemberel et al., 2019]. Однако в работе [Tumendemberel et al., 2019] авторы секвенировали короткий фрагмент КР мтДНК и последовательность гена COXII, поэтому данные, полученные нами, сложно напрямую сравнивать с данными, полученными [Tumendemberel et al., 2019], ввиду чего они и не были использованы в главе Результаты. В дальнейшем представители клады 3b были описаны в работах [Salis et al., 2021] и [Molodtseva et al., 2022], в том числе и среди ископаемых медведей.

Также существует работа [Hirata et al., 2014], в рамках которой были выявлены представители клады 3b в Сибири и на Алтае. Однако, как уже обсуждалось выше в разделе о медведях Кавказа, авторы использовали не секвенирование, а анализ AFLP. Мы выше показали, что прямое сравнение данных [Hirata et al., 2014] с результатами работ, основанных на секвенировании, сложно осуществимо.

4.2.1.1 Распространение митохондриальной клады 3b

На сегодняшний день генетические данные о бурых медведях Евразии достаточно неравномерно распределены: наибольшее количество данных собрано о медведях Европы, Европейской части России, Урала и Камчатки. В этих регионах все звери, для которых были получены последовательности мтДНК, несут митохондриальную кладу 3a. Благодаря достаточно хорошему покрытию отсеквенированными образцами этих регионов мы можем с большой долей уверенности экстраполировать этот результат и сказать, что на Камчатке и на территории западнее Урала все медведи несут митохондриальную кладу 3a.

Несколько меньше образцов проанализировано и опубликовано из разных частей Дальнего Востока – из Магаданской области, Приморского и Хабаровского края; слабее всего изучены регионы, расположенные между Уральскими горами и побережьем Охотского моря. Небольшое количество исследованных образцов снижает достоверность и надежность представлений о генетических характеристиках медведей Сибири и Дальнего Востока, в частности, о частотах встречаемости представителей клад 3a и 3b. Для этих частей ареала мы можем предполагать, что в северной части побережья Охотского моря (например, в Магаданской области) медведи представлены только митохондриальной кладой 3a, однако не можем это утверждать с уверенностью.

В южной части побережья Охотского моря – в Приморском и Хабаровском краях, а также на нескольких островах Курильской гряды были выявлены представители клады 3b [Miller, Waits, Joyce, 2006; Salis et al., 2021; Гуськов и др., 2013]. В рамках настоящей работы и работ других исследователей представители клады 3b были также обнаружены в Западной Сибири. Однако как для побережья Охотского моря, так и для Западной Сибири общее число исследованных образцов все еще относительно невелико (49 и 47, соответственно), поэтому наблюдаемые частоты встречаемости представителей клады 3b (25% и 12%, соответственно) имеют довольно условный характер. Можно лишь констатировать, что в обоих случаях большинство медведей региона несет материнские линии клады 3a, а представители клады 3b в меньшинстве.

Напротив, совокупность данных, опубликованных в работах [Tumendemberel et al., 2019], [Molodtseva et al., 2022] и [Salis et al., 2021], и полученных в рамках данной работы показывает, что в южной части Сибири, на границе Монголии и России, представители клады 3b преобладают.

Все опубликованные на данный момент данные о распространении представителей митохондриальных клад 3a и 3b на территории материковой Евразии приведены на Рисунке 4.23.

На данный момент особенности распространения клады 3b по Евразийскому континенту указывает именно на Южную Сибирь как на центр расселения представителей этой клады.

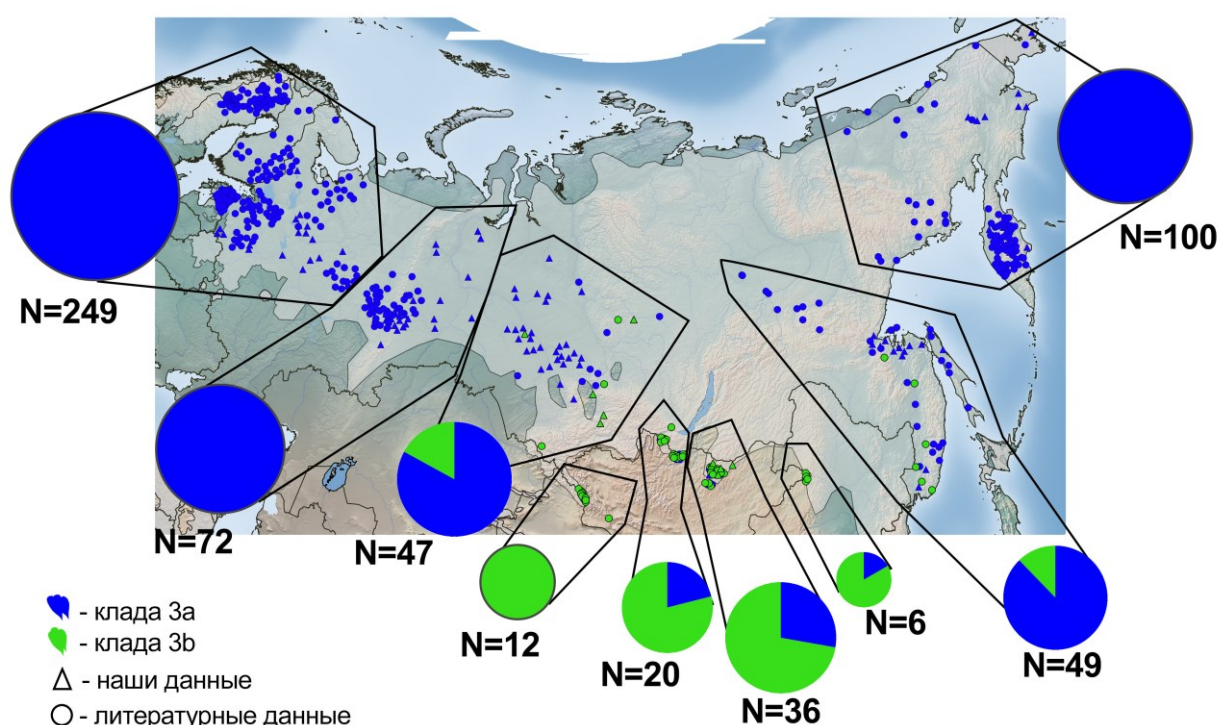


Рисунок 4.23. Распространение представителей митохондриальных клад 3a и 3b на территории Евразии (за исключением острова Хоккайдо) на основании анализа наших данных и данных других исследователей. Диаграммы показывают соотношение количества исследованных особей, принадлежащих к разным кладам; цифры под диаграммами обозначают общее количество исследованных особей.

4.2.1.1 Внутренняя структура клады 3b

Опираясь на результаты анализа нескольких вариантов рассматриваемых фрагментов мтДНК (см. Рисунки 4.4, 4.7, 4.11 и Рисунок 4.25), мы можем выделить в составе клады 3b несколько субклад: 3b-Сибирь, 3b-Хоккайдо, 3b-Дальний Восток, а также субкладу 3b-Сев.Америка, включающую преимущественно зверей из Северной Америки и одного медведя из Приморского края, и входящую в ее состав субкладу 3b-Сибирь-2, включающую особей из разных регионов Сибири.

Субклада 3b-Сибирь занимает анцестральное положение относительно всех остальных субклад, а отношения между субкладами 3b-Хоккайдо, 3b-Дальний Восток и 3b-Сев.Америка остаются не проясненными (Рисунок 4.25).

Для того, чтобы включить в анализ последовательности медведей клады 3b из Сибири, полученные [Tumendemberel et al., 2019], приходится еще уменьшать длину рассматриваемого фрагмента, получая фрагмент КР длиной 241 п.н., т.е. еще меньше, чем в самом коротком из описанных выше вариантов нашего анализа (253 п.н.). И хотя разница в 12 пар нуклеотидов кажется небольшой, фактически итоговые построения имеют очень низкий уровень статистической значимости, а медианная сеть гаплотипов трудна для интерпретации (Рисунок 4.24). В исходной работе авторы смогли выделить среди медведей клады 3b из Алтае-Саянского региона две субклады (3b1, 3b2), используя конкатенатную последовательность фрагмента КР и гена СОХII [Tumendemberel et al., 2019], однако разрешающей силы только фрагмента КР оказывается недостаточно, чтобы воспроизвести это разделение и соотнести его с нашими результатами. Медианная сеть гаплотипов позволяет сказать, что часть из последовательностей, полученных в работе [Tumendemberel et al., 2019], входит в состав субклады 3b-Сибирь, поскольку они формируют с описанными нами последовательностями мтДНК из этой субклады два общих гаплотипа. Также одна из последовательностей, согласно структуре филогенетического дерева гаплотипов, достоверно относится к субкладе, называемой здесь 3b-Сибирь-2.

При этом добавление последовательностей, описанных [Tumendemberel et al., 2019], значительно увеличивает количество гаплотипов и увеличивает разнообразие клады 3b, даже несмотря на очень короткий рассматриваемый фрагмент. Фактически, мы можем сделать два дополнительных вывода. Во-первых, генетическое разнообразие бурых медведей, несущих кладу 3b и обитающих в Сибири, крайне высоко. Во-вторых, вероятно, внутреннюю структуру клады 3b не описывают по-отдельности ни данная работа, ни работа [Tumendemberel et al., 2019], а их прямое сопоставление затруднительно.

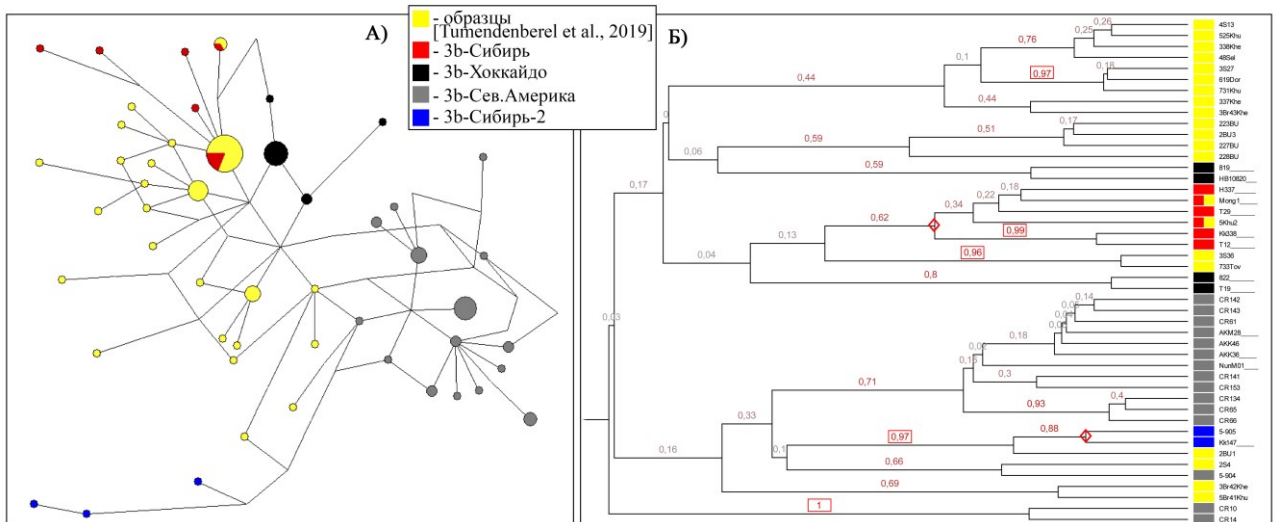


Рисунок 4.24. Медианная сеть гаплотипов (А) и фрагмент филогенетического дерева гаплотипов (Б), построенные на основании анализа фрагмента КР длиной 241 п.н., включающие последовательности, полученные [Tumendemberel et al., 2019]. Медианная сеть построена только для представителей клады 3b; филогенетическое дерево построено для всех имеющихся гаплотипов, однако на рисунке приведена только ветвь 3b. Цветами кроме желтого отмечены образцы, для которых установлена принадлежность к одной из обсуждаемых субклад. Над ветвями указаны значения правдоподобности узлов, достоверные значения ($p > 0.95$) обведены.

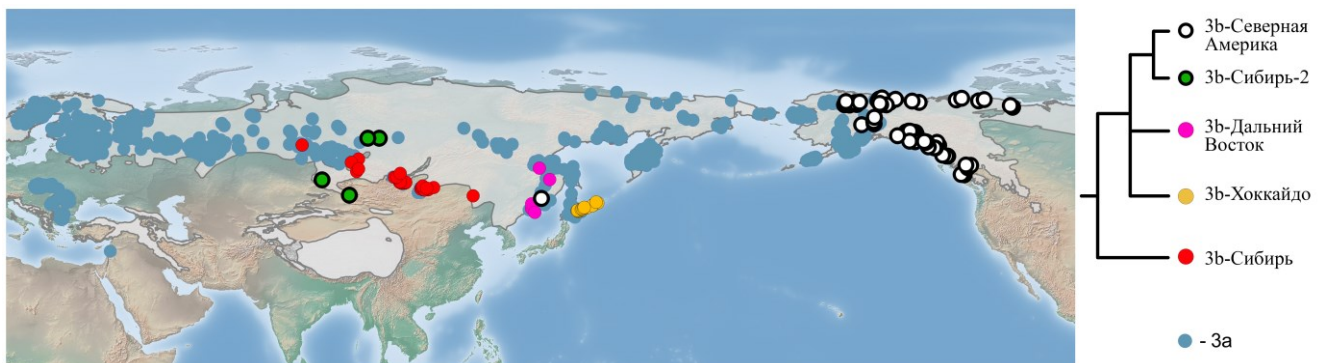


Рисунок 4.25. Географическое происхождение образцов тканей бурого медведя, относящихся к различным субкладам клады 3b, и схема филогенетических отношений между этими субкладами.

4.2.1.2 Центр переживания и расселения бурого медведя на территории Сибири

Преобладание представителей клады 3b и большое разнообразие выявленных субклад этой клады в южной части Сибири указывают на существование в этом регионе центра переживания, в котором предки представителей клады 3b-Сибирь непрерывно существовали на протяжении многих лет. Предположение о наличии центра расселения бурого медведя на территории Южной Сибири, либо в Алтае-Саянском регионе, основанные на генетических данных, высказывались ранее [Korsten et al., 2009; Saarma et al., 2007], хотя тогда речь шла исключительно о кладе 3a. Уже после того, как полученные нами данные были опубликованы, вышло исследование полного митогенома бурых медведей, принадлежащих к кладе 3a, авторы которого опирались на существование центра расселения в этом регионе и реконструировали

филогеографическую историю формирования клады 3a, используя Алтае-Саянский регион как основную отправную точку [Anijalg et al., 2018].

Палеонтологические данные показывают, что бурый медведь обитал на территории Урала, Сибири и Дальнего Востока во время среднего и позднего неоплейстоцена и голоцена [Kosintsev et al., 2022; Rey-Iglesia et al., 2019, p. ; Алексеева, Барышников, 2020; Боескоров, Барышников, 2013; Васильев и др., 2020, 2018; Шпанский, Черноус, 2012]. Предполагается, что по крайней мере, на территории Якутии медведи обитали непрерывно последние 300-400 тысяч лет [Боескоров, Барышников, 2013].

В отличие от территорий Севера Европы, которые были закрыты ледниковым щитом несколько раз за последние 200 тысяч лет, в Сибири, судя по имеющимся данным, последнее массивное оледенение имело место в период MIS6, 130-191 т.л.н., а наиболее выраженным из относительно недавних оледенений было самаровское (MIS8, 300-240 т.л.н.), когда южная граница ледника доходила до 60-60° с.ш. [Трегуб, Старухин, 2020]. В этот же период оледенения могли существовать и в Забайкалье [Еникеев, 2009]. В дальнейшем же территории Сибири и Дальнего Востока были гораздо менее затронуты оледенениями.

Реконструкции фаунистических комплексов в разные периоды позднего плейстоцена с учетом распространения оледенений различных ледниковых эпох позволяют предположить, что на территориях южнее 50-60° СШ даже в периоды наиболее интенсивного ледникового покрова могли существовать местообитания, пригодные для выживания бурого медведя [Величко и др., 2009].

Таким образом, предполагается, что бурый медведь в течение прошедших 200-300 тысяч лет не исчезал на территории Сибири совсем, и даже в периоды наиболее суровых климатических условий обитал в ряде регионов.

Полученные данные о сосуществовании на территории Сибири медведей, несущих митохондриальную ДНК из различных клад, не только согласуются с палеонтологическими данными, но и показывают, что современные медведи Сибири сохранили часть генетического разнообразия предковой популяции. Это также указывает на то, что размер популяции бурых медведей (или системы из нескольких популяций) всегда был достаточно велик, чтобы в ее составе сохранялись представители различных генетических линий.

Учитывая выявленное разнообразие в составе клады 3b, можно реконструировать историю формирования современной филогеографической структуры клады, приведенную на Рисунке 4.26. Однако необходимо отметить, что эта предполагаемая история формирования

опирается только на описанные здесь субклады клады 3b, поскольку учесть другие, вероятнее всего, существующие, субклады (см. сопоставление с результатами [Tumendemberel et al., 2019] выше) на данный момент невозможно.

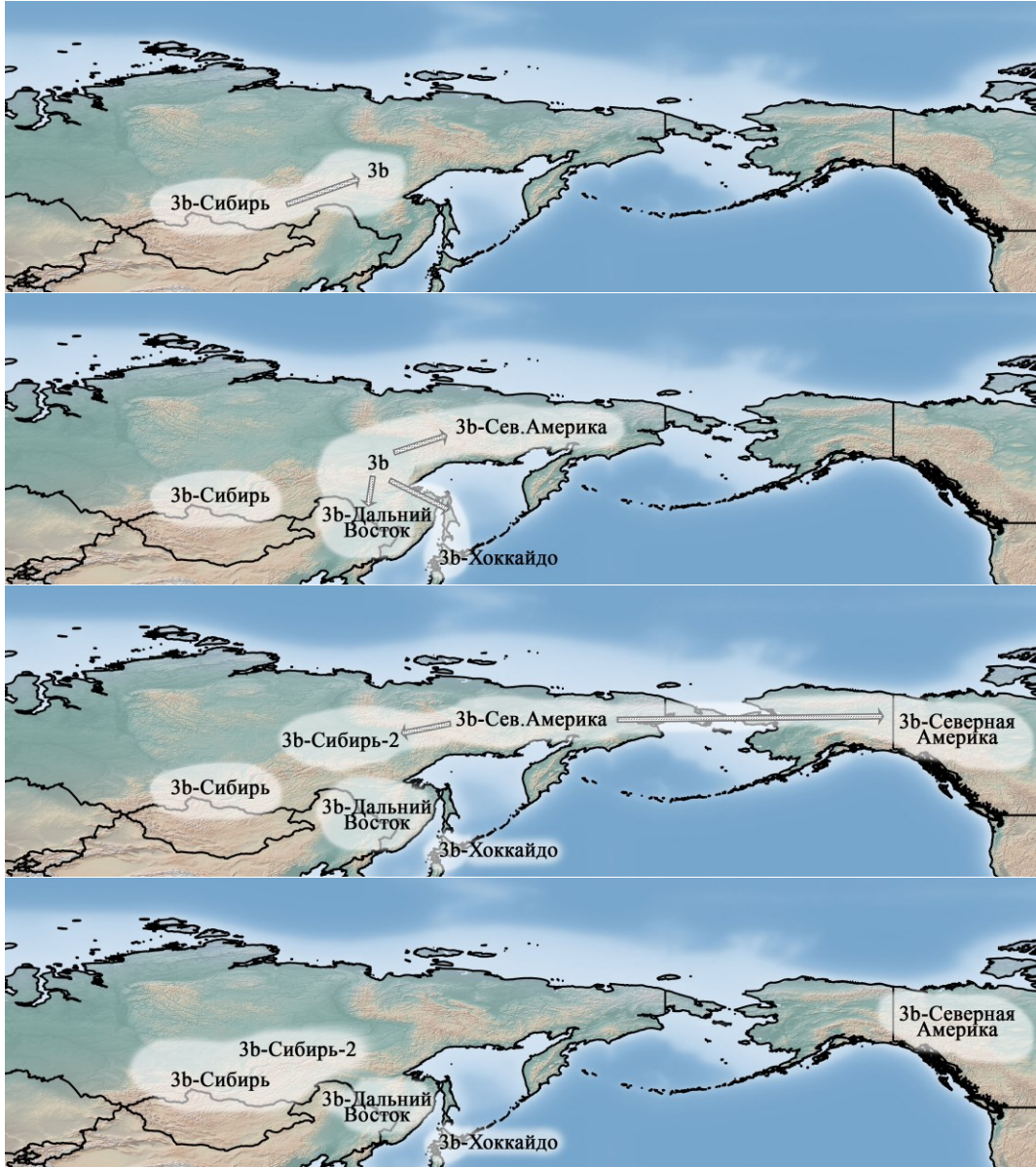


Рисунок 4.26. Предполагаемая история формирования современной филогеографической структуры бурого медведя в составе митохондриальной клады 3b.

4.2.1.3 Сопоставление популяционной истории клад 3a и 3b

В отличие от филогеографической структуры Северной Америки и острова Хоккайдо, где представители митохондриальных клад 3a, 3b и 4 (3d) обитают аллопатрически [Matsushashi et al., 1999; Waits et al., 1998a], на территории Сибири и Дальнего востока не наблюдается географического разделения между представителями клад 3a и 3b (см. Рис.4.23, 4.25). Для о. Хоккайдо и Северной Америки предполагаются как минимум три последовательных волны

заселения, каждая из которых состояла только из представителей одной из клад [Davison et al., 2011; Hirata et al., 2013; Salis et al., 2021]. При этом существуют данные о совместном обитании представителей разных митохондриальных клад в отдаленном прошлом [Barnes et al., 2002; Leonard, Wayne, Cooper, 2000], однако предполагается, что это скорее результат смешения потомков волн колонизации в ходе их дальнейшего расселения [Salis et al., 2021]. В Западной Европе, где представители митохондриальных клад 1a, 1b и 3a тоже большей частью распространены аллопатрически, для бурых медведей также предполагалась простая модель расселения из разных рефугиумов, однако по мере накопления данных о генетических линиях ископаемых медведей эта модель заменилась на более сложную [Bray et al., 2013; Edwards et al., 2014; Ersmark et al., 2019].

Тот факт, что на территории Сибири представители клад 3a и 3b обитают симпатрически, оставляет открытым вопрос о составе предковой популяции, потомки которой населяют сейчас Сибирь и Дальний Восток России.

Представители клад 3b отсутствуют среди довольно неплохо изученных медведей Восточной Европы и Европейской части России, а также на Урале. Такая закономерность наиболее просто объясняется независимым расселением предков современных медведей из клад 3a, заселивших территории вплоть до Центральной Европы, и предков медведей из клад 3b, не продвинувшихся западнее Уральских гор. Что, в свою очередь, указывает на возможность существования нескольких независимых центров расселения, в каждом из которых медведи несли только одну митохондриальную кладу.

На основании зоогеографического подхода для многих видов животных Евразии были выделены европейский и восточноазиатский центры расселения, и в качестве локации последнего предлагается Дальний Восток [Матюшкин, 2005]. Но по всей видимости, у бурого медведя потомки европейского центра расселения занимают только самый запад континента и несут митохондриальную кладу 1, в то время как представители обеих митохондриальных клад 3a и 3b расселялись из восточного центра.

Если мы предполагаем существование несколько независимых рефугиумов, в каждом из которых обитали только представители одной из клад, отсутствие представителей клад 3b к западу от Урала можно объяснить их более поздним вселением на эту территорию. В таком случае присутствовавшие в регионе в тот момент представители клад 3a могли сформировать подобие естественного барьера расселения. Такой эффект был показан для современных медведей [Støen et al., 2006].

Если предполагается единая популяция-источник, состоящая из особей, несущих как линии 3a, так и 3b, присутствие только представителей клады 3a на Урале и к западу от него можно объяснить случайной сортировкой линий по мере продвижения расселяющейся популяции. Аналогично случайным образом представители клады 3b-Сибирь могли «не дойти» до Камчатки и Аляски.

Прямой ответ на вопрос о генетическом составе предковых популяций и хронологии расселения зверей из разных генетических линий может дать анализ ДНК ископаемых образцов, как это делается для медведей Европы. Однако в Европе палеонтологические отложения хорошо описаны и изучены, к тому же часто они расположены в пещерах, что повышает их сохранность, благодаря чему для медведей Европы количество доступных и проанализированных образцов уже позволяет говорить о полноценной палео-филогеографии: [Bray et al., 2013; Edwards et al., 2014; Ersmark et al., 2019; García-Vázquez, Pinto Llona, Grandal-d'Anglade, 2019; Hofreiter et al., 2004; Valdiosera et al., 2007, 2008]. Ситуация с Сибирью и Дальним Востоком России принципиально иная: хотя существует довольно много палеонтологических сайтов, из которых извлечены ископаемые остатки бурого медведя, данных об их генетических характеристиках достаточно мало. Одиночные последовательности мтДНК от ископаемых медведей были описаны в работах [Barnes et al., 2002], посвященной медведям Северной Америки, где в выборке оказался один образец из верхнеколымского разреза Дуваный Яр (поздний неоплейстоцен), и [Rey-Iglesia et al., 2019], где авторам удалось отсеквенировать полный митогеном ископаемого бурого медведя из Якутии, датируемый периодом 60-90 т.л.н. Оба эти образца считаются принадлежащими к кладе 3c, хотя в рамках работы [Salis et al., 2021] последовательность медведя из Якутии вошла в состав клады 3b вместе с ископаемым образцом из Китая. Также описаны два образца из Якутии, датируемые периодами около 40 т.л.н и около 30 т.л.н, формирующие ветвь, внешнюю по отношению к современным представителям клады 3a, однако не входящие в состав клады 3b [Kosintsev et al., 2022]. В рамках наиболее объемной на сегодняшний день работы, посвященной митохондриальному разнообразию ископаемых бурых медведей, все образцы из Евразии, датируемые периодом от 31 т.л.н и старше, принадлежали к кладе 3a, за исключением упомянутого выше образца из Китая [Salis et al., 2021]. Результаты анализа мтДНК медведей из пещеры Разбойничья на Алтае показали, что эти медведи несли мтДНК обеих клад и обитали в сходный временной период, однако датировки этих образцов слишком близки к современности: 19,7-19,8 т.л.н. для представителей клады 3a и 16,7-18,6 т.л.н. для представителей клады 3b [Salis et al., 2021]. То есть, скорее всего, эта находка отражает состояние популяции бурого медведя уже после того, как в той или иной степени сформировались современные филогеографические

закономерности, и не может ответить на вопрос о том, заселяли медведи клад 3a и 3b Евразию совместно или порознь.

Хотя в последние годы был опубликован довольно большой объем данных о материнских линиях ископаемых медведей Сибири, распределение изученных образцов во времени и пространстве не позволяет напрямую ответить на вопрос, происходило ли расселение представителей клад 3a и 3b независимо или в составе единой популяции.

Косвенное указание на то, была ли у представителей клад 3a и 3b-Сибирь единая популяционная история, может дать сопоставление истории расселения, реконструируемой на основании генетических данных.

С одной стороны, разделение клады 3b на субкладу 3b-Сибирь, населяющую более западную часть ареала, и совокупность субклад 3b-Хоккайдо, 3b-Северная Америка и 3b-Дальний Восток, населяющих более восточные части ареала и Новый Свет, напоминает реконструкцию истории расселения представителей клады 3a в работе [Anijalg et al., 2018]. Там авторы предполагают расселение медведей на восток в две волны (вначале на Камчатку и Аляску, потом на Дальний Восток России) с последующим расселением из того же центра на запад. Наиболее простой сценарий расселения предков клады 3b на основании имеющихся сейчас данных выглядит сходно: вначале разделение западной (будущая 3b-Сибирь) и восточной (будущие 3b-Хоккайдо, 3b-Северная Америка и 3b-Дальний Восток) ветвей, потом – расселение восточной на о. Хоккайдо и расселение оставшейся на континенте предковой восточной популяции в Северную Америку. При этом существование представителей субклады 3b-Северная Америка в Сибири предполагает, что уже после этого этапа часть расселяющейся популяции начала расселение в Евразии, в то время как основная часть продвигалась на восток по Берингийскому мосту.

С другой стороны, сходство предполагаемых процессов расселения контрастирует с реконструируемыми временами этих процессов. Клада 3a крайне генетически мономорфна, и получить филогеографическую структуру в ее составе удалось только при анализе полного митогенома. В соответствии с этим, существование последнего общего предка для всех представителей клады 3a определяется [Anijalg et al., 2018] как 53 (38-71) т.л.н., а для представителей субклады 3a1 - 45 [31-58] т.л.н. Эти цифры хорошо согласуются с нашими данными – 56 (38-79) т.л.н. и 50 [33-70] т.л.н., соответственно. Клада 3b же гораздо более разнообразна, и, как было показано выше, выделение субклад в ее составе возможно уже на коротких фрагментах КР. И время существования последнего общего предка для представителей клады 3b, согласно нашим данным, более древнее – 66 [47-89] т.л.н. При этом последний общий

предок для всех представителей 3b, кроме анцестральной 3b-Сибирь, мог существовать уже в районе 54 [38-74] т.л.н.

То есть, к моменту, когда представители клады 3a начали расселяться по Евразии и началось формирование современной филогеографической структуры клады, в составе клады 3b уже существовало несколько генетических линий.

Также гипотетический сценарий согласованного расселения противоречит положению медведей острова Хоккайдо во внутренней структуре клады 3a и 3b. В составе клады 3a медведи о. Хоккайдо формируют анцестральную субкладу 3a2, противопоставленную всем остальным представителям этой клады материковой Евразии и в Америке, которые объединяются в субкладу 3a1. В составе клады 3b такое анцестральное положение занимает субклада 3b-Сибирь, в то время как субклада 3b-Хоккайдо оказывается внутри основной ветви 3b.

Другим способом косвенного сравнения истории формирований генетических групп может быть анализ типа экспансии и распределения попарных различий (mismatch distribution). В данном случае, поскольку нас интересует, был ли этот процесс синхронным для клады 3a и 3b на территориях Сибири, Дальнего Востока, Хоккайдо и Северной Америки, мы вынуждены использовать последовательности гена *cyt b*, поскольку только для него представлены все интересующие нас субклады 3b. Сопоставление профилей числа попарных различий представителей клады 3a и 3b из разных регионов представлено на Рисунке 4.27. В анализ включены только современные образцы тканей (т.е. исключена часть музейных образцов, описанных в работе [Salis et al., 2021] и приведенных на Рисунках 4.24 и 4.26).

Распределения попарных различий между последовательностями ДНК медведей, принадлежащих к кладам 3a и 3b в Северной Америке и на о. Хоккайдо, демонстрируют сходные паттерны при анализе фрагмента КР длиной 553 п.н. При анализе последовательности гена *cyt b* длиной 1140 п.н. наблюдаемые распределения различий представителей клады 3a и 3b для острова Хоккайдо очень похожи, а для Северной Америки различаются несколько сильнее. Для медведей с Дальнего Востока России сравнение возможно только для гена *cyt b*, т.к. для представителей клады 3b доступен только этот фрагмент мтДНК; наблюдаемое распределение попарных различий имеет разную форму для представителей клады 3a и 3b. Наиболее сильно различаются картины распределения различий между представителями клады 3a и 3b в Сибири, при этом различия наблюдаются при анализе обоих фрагментов мтДНК.

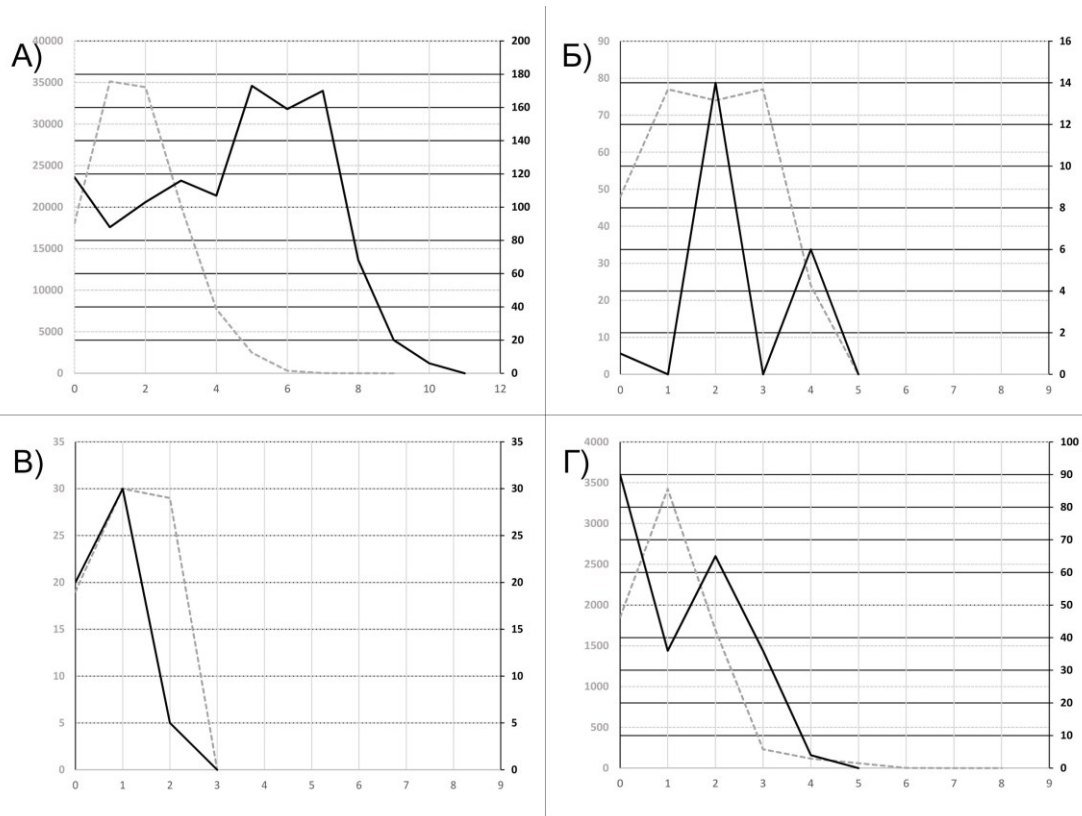


Рисунок 4.27. Распределения числа попарных различий между последовательностями мтДНК современных бурых медведей, принадлежащих к клатам 3а и 3б. По оси X на каждом рисунке – число замен; по оси Y – число пар последовательностей, различающихся на это число замен. А) – весь ареал клаты; Б) – Сибирь; В) – о. Хоккайдо; Г) – Северная Америка. Пунктирная линия – клата 3а, жирная линия – клата 3б.

Анализ возможных сценариев экспансии для представителей клат 3а и 3б из разных регионов также не смог однозначно указать, были ли эти сценарии разными, поскольку ни быстрого, ни постепенного расселения не могут быть статистически достоверно отвергнуты в большинстве случаев (Таблица 4.5).

Таблица 4.5. Показатели популяционной экспансии для представителей митохондриальных клат 3а 3б их регионов совместного обитания. Жирным шрифтом выделены значения $p < 0,05$. “-” – анализ распределения попарных различий невозможен (Least-square procedure to fit expected to observed mismatch distribution did not converge after 2000 steps)

		N	sudden expansion model (p)	spatial expansion model (p)	Tajima's D	p (Tajima's D)	Fu's F	p (Fu's F)
Хоккайдо	3а	13	-	-	-0,42	0,34	-1,45	0,075
	3б	15	-	-	0,199	0,672	-0,019	0,375
Северная Америка	3а	122	-	-	-1,776	0,012	-8,87	0
	3б	22	0,5	0,7	0,405	0,661	0,644	0,665
Сибирь	3а	25	0,3	0,3	-0,74	0,259	-2,98	0,035
	3б	7	-	-	-1,27	0,119	-2,71	0,015
Весь ареал клаты	3а	487	-	-	-2,331	0	-27,2	0
	3б	48	0,57	0,66	-0,966	0,135	-22,29	0

Показатели влияния экспансии Tajima's D и Fu's F демонстрируют сложные для интерпретации результаты. Статистически достоверные отрицательные значения этих показателей указывает на недавнюю экспансию популяции после бутылочного горлышка. Показатель Tajima's D был достоверно ниже 0 только для представителей клады 3a: представители клады 3a из Северной Америки при анализе последовательности гена *cyt b*; из Сибири – при анализе фрагмента КР; все доступные последовательности медведей из клады 3a – при анализе обоих фрагментов. Показатель Fu's F считается более чувствительным [Ramírez-Soriano et al., 2008], и он статистически достоверен в этих же выборках, а также для медведей клады 3a с о. Хоккайдо при рассмотрении фрагмента КР, медведей клад 3a из Сибири и представителей субклады 3b-Сибирь – при рассмотрении последовательности гена *cyt b*, а при рассмотрении обеих клад в целом. Можно заметить тенденцию: эти показатели популяционной экспансии являются достоверно негативными для клады 3a чаще, чем для клады 3b.

Таким образом, в целом, косвенные данные скорее указывают на разные пути формирования современной генетической структуры клад 3b и 3a в регионах их совместного распространения. Реконструируемые даты существования последнего общего предка медведей, населяющих одним и те же регионы, не совпадают для представителей клад 3a и 3b. Анализ показателей экспансии популяции указывает на недавний рост численности для представителей клады 3a, но не 3b. Распределение числа попарных различий демонстрирует разные паттерны у медведей из Сибири, принадлежащих к разным митохондриальнымкладам. Можно предположить, что унимодальное распределение попарных различий, наблюдаемое среди медведей Хоккайдо, отражает совместную популяционную историю представителей клад 3a и 3b в относительно недавнее время.

4.2.3 Реконструкция истории формирования митохондриальных клад бурого медведя и сопоставление с литературными данными

Сравнение дат существования последнего общего предка для различных клад мтДНК бурого медведя, полученных нами, с результатами других исследователей приведено в Таблице 4.6. Обозначения узлов соответствуют схеме филогеографической структуры мтДНК современных бурых медведей, приведенной на Рисунке 4.28. Даты, полученные нами, взяты из Таблицы 4.1, согласно обозначенной выше логике.

В Таблице 4.6 сведены датировки узлов, состав которых мы считаем соответствующим друг другу. Однако необходимо отметить, что из-за того, что разные исследователи проводили анализ на основании несколько различающихся наборов данных, фактически в состав узла могли включаться не все клады, которые должны в него входить. К примеру, представители клады

«Кавказ-2» есть только в данной работе и в статье [Salis et al., 2021], а клада «Кавказ-1» в большинстве случаев представлена только одним образцом (MG066702 из работы [Lan et al., 2017]). Также в большинстве работ отсутствуют представители клады 7. Для того, чтобы иметь возможность сопоставить наши данные с литературными, в таких случаях мы считали узел соответствующим обозначенному на Рисунке 4.28, если в его состав входили *только* клады, обозначенные на Рисунке 4.28 как входящие в соответствующий узел, но не обязательно *все* входящие в него на Рисунке 4.28 клады.

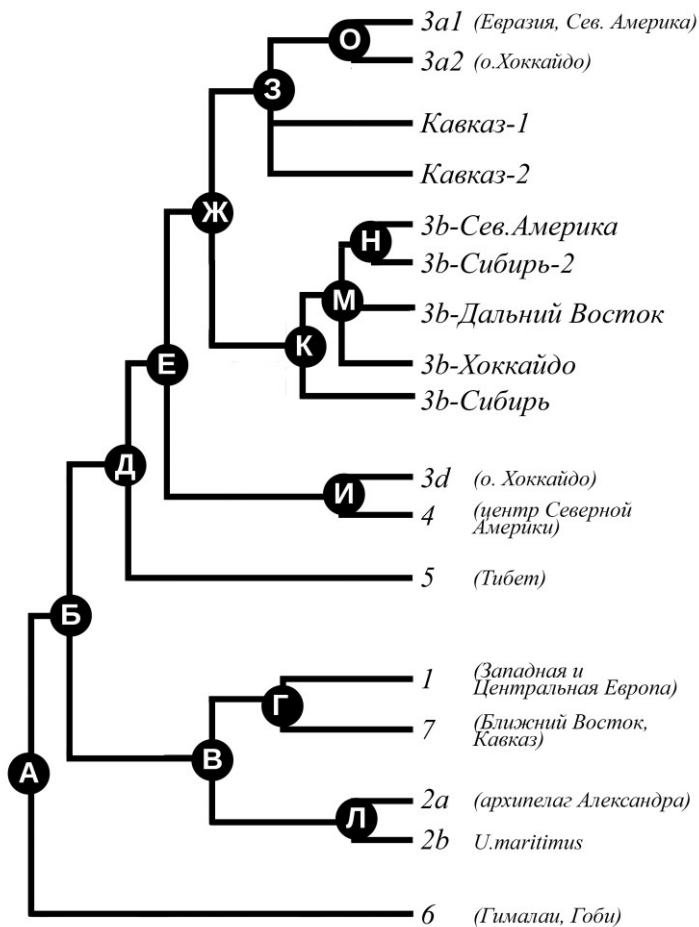


Рисунок 4.28. Схема филогеографической структуры митохондриальной ДНК современных бурых медведей.

Таблица 4.6. Время существования последнего общего предка для различных митохондриальных клад современных бурых медведей – медианное значение и 95% доверительный интервал. Обозначения соответствуют таковым на Рисунке 4.28.

*	Данная работа	[Hirata et al., 2013]	[Çilingir et al., 2016]	[Anijalg et al., 2018]	[Lan et al., 2017]**	[Salis et al., 2021]	[Kosintsev et al., 2022]	[Segawa et al., 2021]**	[Molodtseva et al., 2022]
П.н.	252-1849 п.н.	Полный митогеном	269 п.н.	Полный митогеном	Полный митогеном	Полный митогеном	Полный митогеном	Полный митогеном	Полный митогеном
MRCА клад									
3a1	50 [33-70]	40 [15-72]		45 [31-58]	49		41 [32-54]	29	46 [36-58]
3a2	23 [7-46]	27 [10-49]		22 [14-32]	29			17	30 [21-39]
«Кавказ-1»	77 [41-123]								
«Кавказ-2»	51 [29-78]								
3b-Сев.Америка	33 [23-47]					25 [23-28]			
3b-Сибирь-2	15 [7-25]								
3b-Дальний Восток	15 [4-32]								
3b-Хоккайдо	31 [17-47]	42 [14-80]		30 [19-43]	41			26	
3b-Сибирь	27 [14-43]								
3d	24 [10-44]	36 [12-67]		29 [18-42]	40				27 [18-38]
1 (1a+1b)	85 [58-118]	140 [42-260]	57 [40-84]	151 [111-195]	141			116	122 [95-154]
7	86 [43-143]		50 [20-96]						
2a	15 [6-27]	31 [9-60]		31 [19-43]	38	20 [17-24]		21	36 [25-48]
2b	40 [20-66]	41 [18-68]			47				53 [41-66]
MRCА расхождения клад									
А	373 [259-522]				658 [336-1 258]			513	529 [436-642]
Б	340 [244-468]	566 [251-944]		514 [406-640]	515 [303-800]			445	457 [376-549]
В	285 [203-392]	336 [174-545]		319 [259-397]	322			270	285 [239-340]
Г	191 [120-278]								
Д	201 [147-268]	343 [139-582]		340 [263-432]	342 [99-618]			288 [216-367]	307 [253-371]

Е	175 [132-229]	268 [109-457]		279 [218-358]	283		269 [219-325]	245 [186-313]	265 [219-322]
Ж	120 [88-157]	165 [63-292]			177		166 [138-200]	146 [109-188]	158 [128-192]
З ***						✓			
И	143 [101-192]	194 [67-399]			210	177 [155-202]		203 [150-259]	216 [173-263]
К	66 [47-89]								118 [93-144]
Л	125 [111-143]	161 [125-216]		149 [132-174]	164			134	146 [239-340]
М	54 [38-74]								82 [63-103]
Н	42 [28-60]					39 [32-46]			
О	56 [38-79]	53 [21-95]		53 [38-71]	61		51 [38-65]	36 [24-51]	55 [43-68]

* - время существования последнего общего предка для современных представителей клад, обозначенных на Рисунке 4.28, либо для узлов, объединяющих эти клады

** - в данной работе для части датировок не приведены доверительные интервалы

*** - этот узел статистически достоверен только в работе [Salis et al., 2021] однако для него не приведены данные о времени существования последнего общего предка.

Таблица 4.6 показывает, что полученные нами датировки хорошо согласуются с данными других исследователей при датировании общего предка отдельных клад, а также для узлов низкого уровня, но отличаются в меньшую сторону для узлов высокого уровня.

Такое расхождение можно объяснить длиной ветвей – вероятно, длинные ветви, которые соединяют клады, в реальности еще длиннее, чем по результатам нашего анализа, и при расчетах искусственно укорачиваются из-за насыщения заменами, которое делает невозможным корректную реконструкцию времени расхождения ветвей. В таком случае использование полного митогенома может позволить более корректную реконструкцию дат для узлов наиболее высокого уровня, поскольку в его состав входят консервативные фрагменты в большем количестве. К тому же сама длина рассматриваемой последовательности ДНК (около 16 тысяч п.н.) в таком случае может повысить вероятность того, что в составе последовательности найдется фрагмент, не перенасыщенный заменами. Действительно, в работах, где датировки узлов проводились на основании более коротких фрагментов, реконструируемые даты существования последнего общего предка для всех современных материнских линий бурого медведя оказывались в диапазоне 120-300 т.л.н. [Davison et al., 2011; Edwards et al., 2011; Korsten et al., 2009], а в работах, использовавших полный митогеном – 500 т.л.н. и более [Lan et al., 2017; Molodtseva et al., 2022; Segawa et al., 2021].

[Lan et al., 2017] предполагают, что отделение медведей из клады 6 (узел А на Рисунке 4.28), ныне обитающих в Гималаях и пустыне Гоби, было вызвано локальным оледенением Тибета Nyanyaxungla. Последующее разделение двух основных ветвей мтДНК современных бурых медведей (восточной и западной, узел В), если опираться на датировки, полученные для полного митогенома, произошло прямо перед или во время ледниковой эпохи MIS12, имевшей место 478-424 т.л.н., а существование последнего общего предка для обеих ветвей попадает на лихвинское (тобольское) межледниковье. В этот период произошло разделение в западной ветви предков клад 1+7 и клад 2 (узел В), в восточной ветви – предков клад 5 и клад 3+4+кавказские клад (узел Д). Не вполне ясно, оформились ли клад 2a+2b отдельно от клад 2c, или у них был общий предок, но формирование ныне вымершей клад 2c также датируется примерно этим временным интервалом [Salis et al., 2021].

Далее в конце самаровского (днепровского) оледенения или начале межледниковья MIS7 (180-250 т.л.н., узел Е на Рисунке 4.28) от общего предка отделяются предки клад 4+3d, которые далее разделяются на предков двух соответствующих клад. Предки клад 3d останутся в Евразии, а предки клад 4 уже в следующее (московское или саале) оледенение, когда сформировалась Берингийская суша, вместе с представителями клад 2c заселят Северную

Америку. В этот же ледниковый период в западной ветви происходит разделение предков клад 1 и 7 (узел Г), а в восточной – отделение предков клад 3b и 3c от группы, которая в последующем даст клад 3a, «Кавказ-1» и «Кавказ-2 Б» (120-160 т.л.н., узел Ж). Клада 1 практически сразу делится на несколько субклад, одна из которых сейчас представлена в Анатолии, а другие – в Европе [Ersmark et al., 2019; Çilingir et al., 2016], а представители клад 7, судя по всему, обитают и обитали исключительно на Ближнем Востоке. Существование последнего общего предка для разных субклад клад 7 датируется периодом ранневалдайского оледенения.

Расхождение клад 3a, «Кавказ-1» и «Кавказ-2» (узел З) должно было случиться в период между отделением предков клад 3b (120-160 т.л.н.) и существованием последнего общего предка для представителей каждой из этих клад. Согласно нашим данным, происхождение клад 3a, если учитывать ее ископаемых представителей, определяется как 60-70 т.л.н., и как около 55 т.л.н., если учитывать только нынеживущих особей (узел О). А в Европе представители клад 3a выявляются начиная с примерно 50 т.л.н. [Ersmark et al., 2019]. Последние общие предки для представителей клад «Кавказ-1» и клад «Кавказ-2» реконструируются в районе 70 и 50 т.л.н., соответственно. То есть, расхождение клад 3a, «Кавказ-1» и «Кавказ-2» должно было произойти в период 120-70 т.л.н., что включает микулинское межледниковье и ранневалдайское оледенение. В работе [Salis et al., 2021] датировка этого узла не приведена, однако визуально он попадает на начало MIS5, что также соответствует микулинскому межледниковью.

Интересно существование последовательности ископаемого бурого медведя древностью около 47 т.л.н. из окрестностей реки Иртыш, который генетически близок к представителям клад «Кавказ-1», а также последовательности гораздо менее древнего (7-8 т.л.н.) медведя с побережья Канады, который еще более родственен современным представителями этой клад [Salis et al., 2021]. Можно предположить, что разделение клад 3a, «Кавказ-1» и «Кавказ-2» могло иметь характер взрывного расселения предковой популяции по территории Евразии, в частности, в направлении Кавказа и Ближнего Востока. В таком случае представители клад «Кавказ-1» и «Кавказ-2» – это единственные выжившие потомки этого быстрого расселения, сохранившиеся только на Кавказе, хотя в период около 50 т.л.н. их предки встречались по всей территории Евразии, а потом были в числе колонизировавших Северную Америку.

Предки вымершей ныне клад 3c обособляются от предков клад 3b в районе 114-125 т.л.н. [Rey-Iglesia et al., 2019; Salis et al., 2021], что соответствует микулинскому межледниковью. Их вселение на территорию Северной Америки происходит уже в период вейхсельского (middle weichselian) оледенения [Salis et al., 2021].

Интересно расхождение в датах существования последнего общего предка для современных представителей клады 3b между нашими данными и данными [Molodtseva et al., 2022] (узел К на Рисунке 4.28): наши данные указывают на период около 65 т.л.н., а данные других исследователей – на дату в 118 т.л.н. Наш результат указывает на период прямо перед вейхсельским оледенением, а результат Молодцевой и соавторов – на период перед ранневалдайским оледенением. Соответственно, и дата существования последнего общего предка для субклад клады 3b, не включая субкладу 3b-Сибирь (узел М), соответствует датам окончаний этих оледенений: около 55 т.л.н. или около 80 т.л.н. Это пример ярко показывает, что любая реконструкция истории формирования современной структуры вида в условиях недостаточности данных имеет довольно условный характер, и, хотя основные события реконструируются одинаково, их привязка к геологическим событиям имеет точность с погрешностью в оледенение.

Предполагается, что представители клады 3b заселили Северную Америку в период последнего ледникового максимума (29-14 т.л.н., [Salis et al., 2021]); наши данные согласуются такой хронологией, указывая на расхождение клад 3b-Северная Америка и 3b-Америка-Сибирь в районе 40 т.л.н. (узел Н).

4.2.4 Сопоставление уровней генетического разнообразия с учетом данных других исследователей

Сравнение уровней нуклеотидной изменчивости для фрагментов разной длины (Рисунки 4.19 и 4.20) показывает, что данный показатель демонстрирует сходные результаты практически независимо от длины фрагмента. Это позволяет использовать любой из доступных фрагментов мтДНК, предполагая, что он аккуратно отражает соотношения уровней нуклеотидной изменчивости между особями разных регионов. Однако уровни гаплотипической изменчивости сильнее зависят от длины и специфики используемого фрагмента (Рисунки 4.19 и 4.20). Для гаплотипического разнообразия также существенно влияние СТ-политракта (Рисунок 4.19), однако в числе последовательностей, размещенных в GenBank, преобладают последовательности с удаленным или унифицированным СТ-политрактом. Ввиду этого, для анализа генетического разнообразия с учетом литературных данных будут использованы: для анализа нуклеотидного разнообразия – фрагмент КР длиной 550 п.н. (без СТ-политракта); для анализа гаплотипического разнообразия – фрагмент КР длиной 550 п.н. (без СТ-политракта) и конкатенатный фрагмент длиной 1843 п.н. (без СТ-политракта).

Для прямого сравнения уровней генетического разнообразия показатели нуклеотидного и гаплотипического разнообразия для литературных данных были рассчитаны заново на основании

размещенных в базе GenBank последовательностей. Для нескольких локалитетов результаты были получены как нами, так и другими исследователями: Европейская часть России (и прилегающие страны Европы); Урал; Западная Сибирь, Камчатка и юг побережья Охотского моря. Для других локалитетов данные получены либо только нами, либо только другими исследователями.

Показатели генетического разнообразия для бурых медведей из различных частей ареала приведены на Рисунках 4.29, 4.30. Генетическое разнообразие полученных нами последовательностей хорошо согласуется с генетическим разнообразием последовательностей, полученных другими авторами.

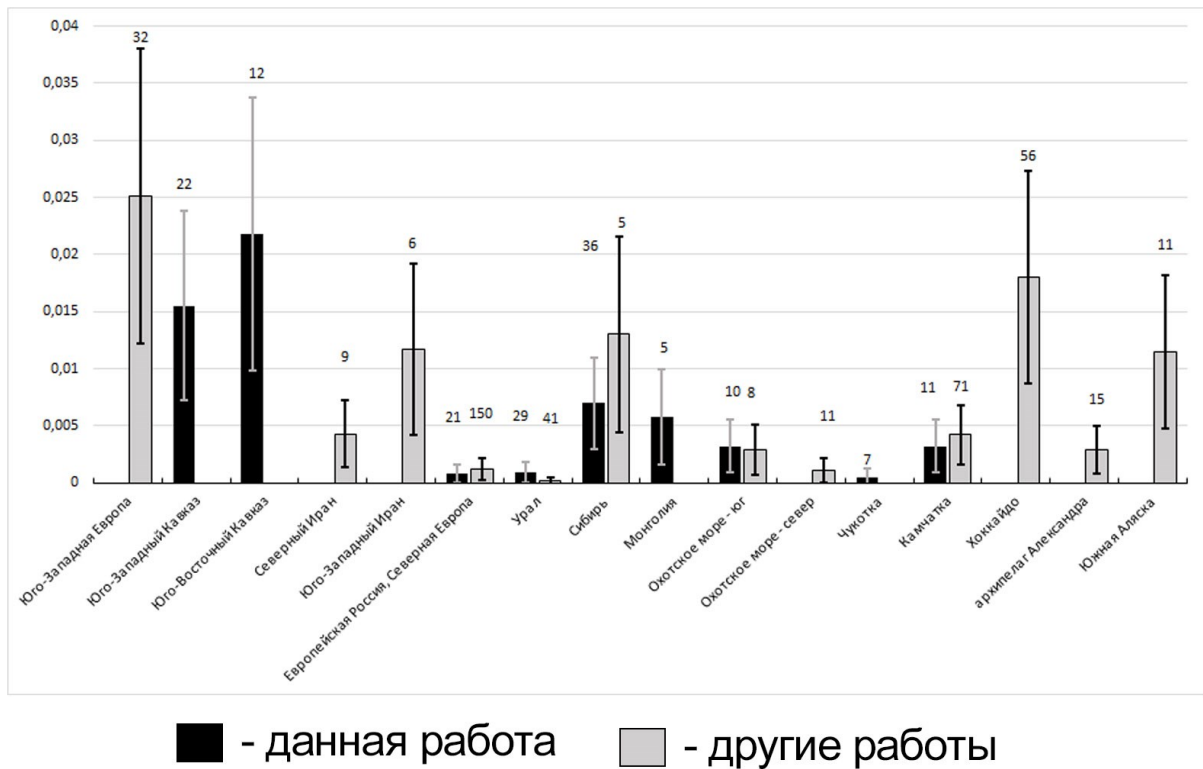


Рисунок 4.29. Средние значения нуклеотидного разнообразия бурых медведей из различных частей ареала, рассчитанного на основании анализа фрагмента КР длиной 550 п.н., с исключенным СТ-политрактом. Показатели разброса значений соответствуют стандартному отклонению. Числа над столбцами показывают число особей, включенных в анализ.

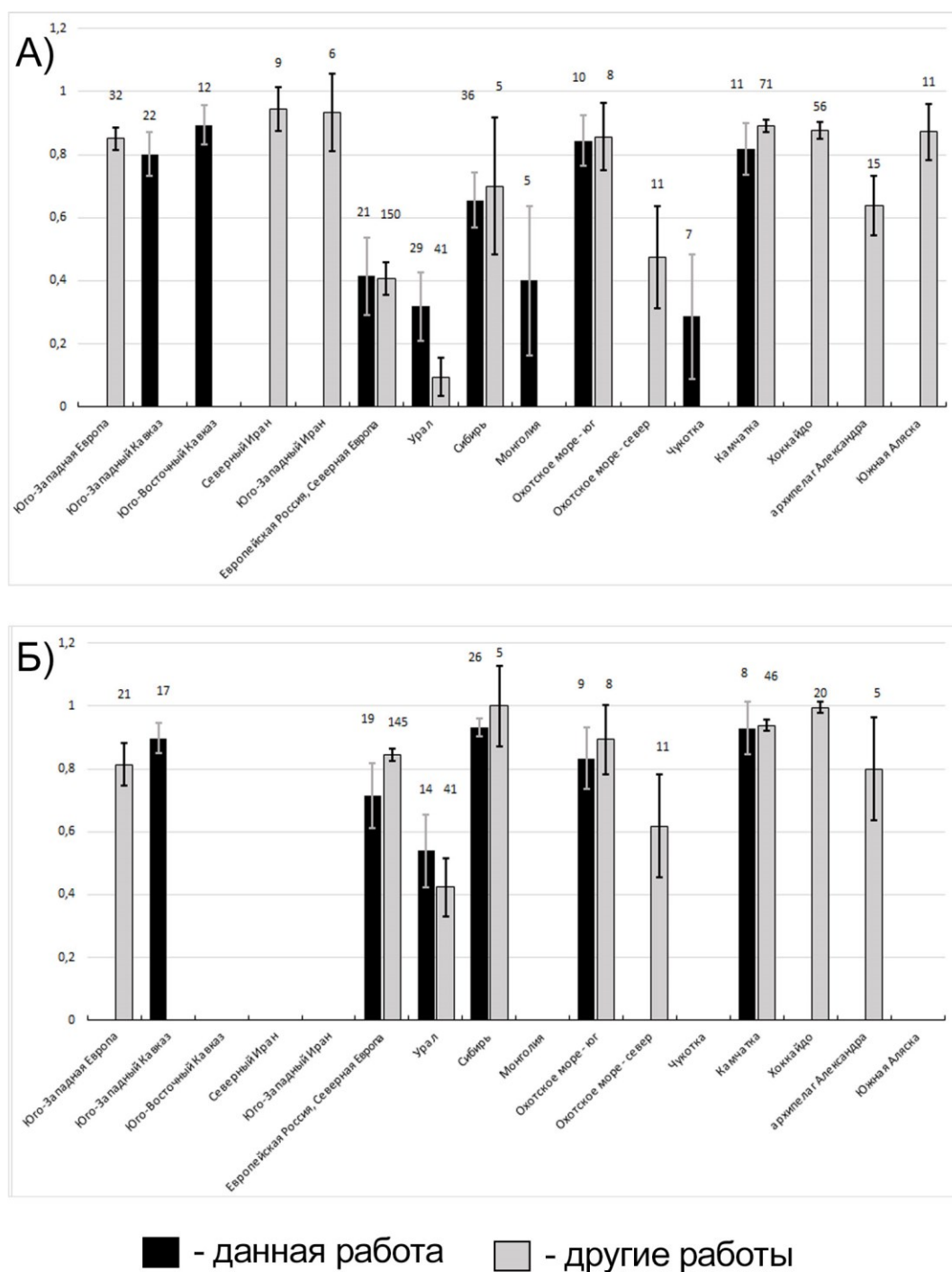


Рисунок 4.30. Средние значения гаплотипического разнообразия бурых медведей из различных частей ареала, рассчитанного на основании анализа фрагмента КР длиной 550 п.н., с исключенным СТ-политрактом (А) и конкатенатного фрагмента длиной 1843 п.н., с исключенным СТ-политрактом (Б). Показатели разброса значений соответствуют стандартному отклонению. Числа над столбцами показывают число особей, включенных в анализ.

Средние значения и доверительные интервалы нуклеотидного и гаплотипического разнообразия наших и литературных данных практически совпадают для медведей Камчатки и южной части побережья Охотского моря.

Для медведей Сибири наши данные согласуются с литературными для гаплотипического разнообразия, но уровень нуклеотидного разнообразия наших данных несколько ниже, чем для опубликованных другими исследователями последовательностей. По всей видимости, высокий уровень нуклеотидного разнообразия литературных данных объясняется маленькой выборкой, включающей всего пять особей, включая образец Kk148, который относится к кладе 3b [Molodtseva et al., 2022]. Хотя в составе нашей выборки присутствуют представители нескольких субклад клады 3b, итоговое нуклеотидное разнообразие выборки оказывается несколько ниже литературного.

Для медведей Урала, наоборот, наши данные согласуются с литературными для нуклеотидного разнообразия, однако превышают их для гаплотипического, в особенности если рассматривать фрагмент КР длиной 550 п.н., для которого доверительные интервалы наших и литературных данных не перекрываются. В данном случае эффект не может быть объяснен размерами выборки, поскольку разница между нашими и литературными данными больше при рассмотрении фрагмента КР длиной 550 п.н., чем при рассмотрении конкатенатного фрагмента длиной 1843 п.н., хотя выборка для более длинного фрагмента вдвое меньше, чем для более короткого.

Медведи из Европейской части России и прилегающих стран также имели сходные уровни генетического разнообразия для данной работы и литературных данных (как нуклеотидного, так и гаплотипического) при рассмотрении фрагмент КР длиной 550 п.н., но при анализе конкатенатного фрагмента длиной 1843 п.н. образцы, которые рассматриваем мы, имели более низкий уровень гаплотипического разнообразия.

4.2.4.1 Нуклеотидное разнообразие

Уровень нуклеотидного разнообразия был определен для фрагмента КР (550 п.н.); полученные значения приведены на Рисунок 4.298.

Наиболее высокий уровень нуклеотидного разнообразия ожидаемо демонстрируют медведи из регионов, где встречаются представители нескольких митохондриальных клад: Южная и западная Европа (клады 1a, 1b, 3a), Юго-Западный Кавказ («Кавказ-1» и «Кавказ-2»), Юго-Восточный Кавказ («Кавказ-1» и клада 7, Рисунок 4.21) и о. Хоккайдо (клады 3a, 3b и 3d). Интересно, что группы медведей из Сибири, Северной Монголии, Аляски и Ирана имеют более низкий уровень нуклеотидного разнообразия, хотя также включают представителей нескольких митохондриальных клад.

Наименьший уровень нуклеотидного разнообразия зафиксирован в Европейской части России и прилегающих странах Северной и Восточной Европы, на Урале, на северном побережье Охотского моря и на Чукотке. Если низкий выявленный уровень нуклеотидного разнообразия медведей Чукотки и северного побережья Охотского моря может объясняться небольшой выборкой (всего 7 и 11 особей), то для Европейской части России и Урала влияние выборки исключено, т.к. оба региона представлены достаточно большими выборками.

Относительно невысокий уровень нуклеотидного разнообразия показали выборки Северного Ирана, Камчатки, юга побережья Охотского моря и североамериканского архипелага Александра. По-видимому, этот уровень соответствует популяциям, включающим представителей единственной митохондриальной клады, но образовавшимся достаточно давно и/или из относительно разнообразных предковых популяций. В то же время, крайне низкое нуклеотидное разнообразие Европейской России, Урала и, возможно, Чукотки, соответствует более мономорфным и более молодым популяциям.

4.2.4.2 Гаплотипическое разнообразие

Уровень гаплотипического разнообразия был определен для фрагмента КР (550 п.н.) и конкатенатной последовательности (1849 п.н.). Полученные значения приведены на Рисунке 4.30.

Анализ обоих фрагментов показал высокий уровень разнообразия популяций бурого медведя Юго-Западной Европы, Юго-Западного Кавказа, Камчатки, южного побережья Охотского моря, о. Хоккайдо. Для обоих фрагментов также показан низкий уровень разнообразия выборок особей с Урала. Медведи нескольких регионов были включены только в анализ фрагмента длиной 550 п.н.; среди них высокий уровень гаплотипического разнообразия показали звери из Ирана и с Аляски, а наиболее низкий – медведи с Чукотки и Монголии. При этом, как уже было отмечено выше, показатели разнообразия для медведей из этих регионов следует оценивать осторожно из-за небольшого размера выборки.

Интересно, что для нескольких регионов уровень гаплотипического разнообразия для разных фрагментов мтДНК оказался разным по сравнению с наиболее генетически разнообразными группами. Так, медведи из Европейской России и прилегающих стран продемонстрировали один из наиболее низких уровней генетического разнообразия при рассмотрении фрагмента длиной 550 п.н., но средневысокий - при рассмотрении фрагмента длиной 1843 п.н. Также и медведи Сибири при анализе фрагмента длиной 1843 п.н. имели один из наиболее высоких показателей гаплотипического разнообразия, а при анализе фрагмента длиной 550 п.н. этот показатель оказался скорее средним.

ГЛАВА 5. ИЗМЕНЧИВОСТЬ Y-ХРОМОСОМНЫХ МАРКЕРОВ НА АРЕАЛЕ БУРОГО МЕДВЕДЯ РОССИИ

5.1 Результаты

В предыдущих разделах описана региональная изменчивость бурого медведя Евразии на основании анализа аутосомных микросателлитных локусов, характеризующих эволюцию обеих родительских линий, и мтДНК, характеризующей только материнскую линию наследования. Для бурого медведя показаны различия в паттернах расселения между полами – филопатрия самок и дисперсия самцов. Ввиду этого, существенный интерес представляет характеристика изменчивости отцовских генетических линий бурого медведя.

5.1.1 Характеристика исследуемой выборки и изменчивости выбранных микросателлитных локусов

Для доступных образцов тканей бурых медведей было проведено определение пола (подробнее см. Материалы и методы). Удалось достоверно определить пол для 150 особей, из которых 41 (27%) оказались самками и 109 (73%) оказались самцами. Особи, определенные как самцы, были включены в работу по изучению отцовских линий, и 73 из них удалось успешно генотипировать по выбранным генетическим маркерам.

К сожалению, резкое уменьшение числа исследуемых образцов по сравнению с выборками, описанными ранее для мтДНК и ядерных микросателлитных локусов, привело к тому, что число особей из некоторых территориальных группировок оказалось небольшим. В состав исследования отцовских линий бурого медведя вошли особи из юго-западной и юго-восточной частей Большого Кавказского хребта (9 и 2 особи, соответственно), из Европейской части России (14 особей), с Урала (9 особей), из Западной Сибири (22 особи), из Северной Монголии (3 образца), с южной части побережья Охотского моря, Сахалина и островов Курильской гряды (8 особей) и с Камчатки (6 особей). В отличие от описанного выше анализа аутосомных локусов и мтДНК, в анализ Y-хромосомных локусов не вошли особи с Чукотки и Малого Кавказа. Происхождение образцов показано на Рисунке 5.1.

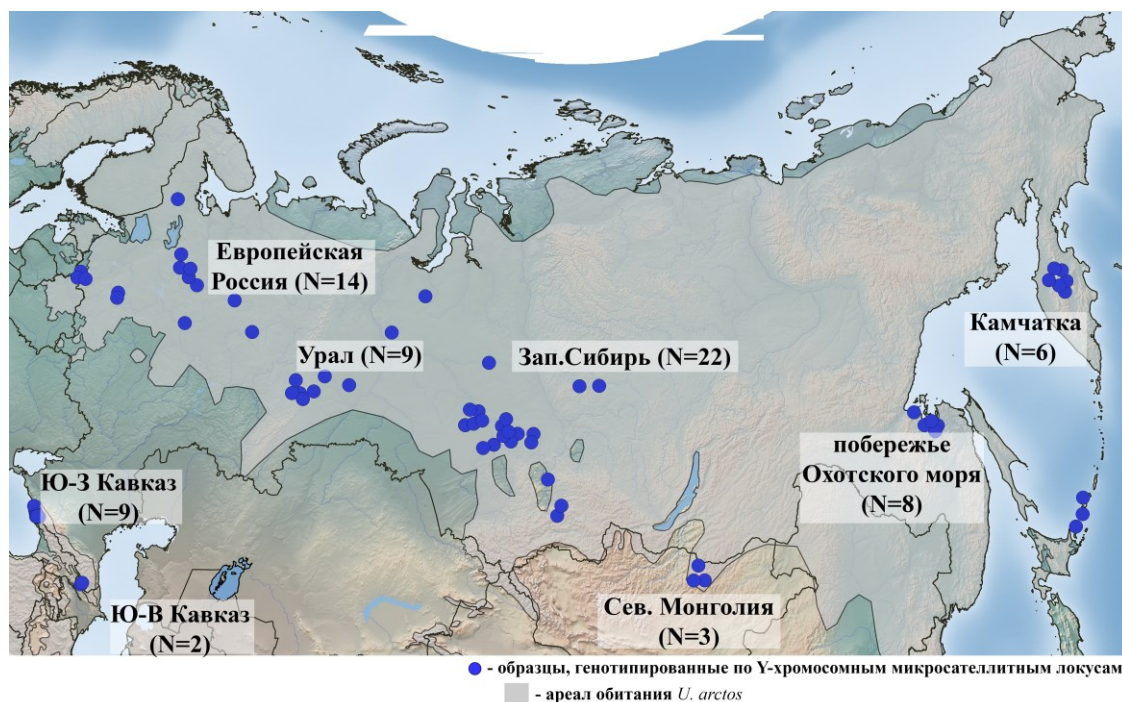


Рисунок 5.1. Карта мест сбора образцов бурого медведя *U. arctos*, включенных в анализ Y-хромосомных локусов.

В качестве генетических маркеров для изучения изменчивости отцовских линий бурого медведя были выбраны восемь микросателлитных локусов (Y15020.1, Y369.1, Y369.4, Y318.1, Y318.2, Y318.4, Y318.6, Y318.9, [Bidon et al., 2014]) и один однонуклеотидный полиморфизм (Y-579.1B, [Bidon et al., 2014]), расположенные на Y-хромосоме. Поскольку Y-хромосома не имеет гомологов среди других хромосом и представлена в каждой клетке организма в единственном экземпляре, все особи мужского пола являются гемизиготами по Y-хромосоме, т.е. несут только одну аллель по каждому из локусов, расположенных на ней.

Все выбранные Y-хромосомные микросателлитные локусы оказались полиморфны; число выявленных аллелей варьировало от 3-х для локуса Y318.4 до 8-и для локуса Y369.4. Длины и частоты выявленных аллелей приведены в Таблице 5.1.

Таблица 5.1. Аллели Y-хромосомы и их частоты для общей выборки бурого медведя. Жирным шрифтом выделена мажорная аллель, курсивом – минорная аллель (при их наличии).

Название локуса (N / Na)	Длина аллели	N	Доля особей с данной аллелью, %
Y318.1 (71 / 4)	286	2	2,8%
	282	21	29,6%
	274	24	33,8%
	278	24	33,8%
Y318.2 (73 / 3)	226	2	2,7%
	234	3	4,1%

Название локуса (N / Na)	Длина аллели	N	Доля особей с данной аллелью, %
	232	68	93,2%
Y318.4 (73 / 3)	220	1	1,4%
	216	3	4,1%
	218	69	94,5%
Y318.6 (71 / 5)	403	4	5,6%
	401	6	8,5%
	409	17	23,9%
	407	22	31%
	405	22	31%
Y318.9 (73 / 4)	137	1	1,4%
	135	10	13,7%
	131	10	13,7%
	133	52	71,2%
Y369.1 (73 / 7)	261	3	4,1%
	251	4	5,5%
	273	5	6,8%
	267	8	11%
	265	10	13,7%
	271	14	19,2%
	269	29	39,7%
Y369.4 (72 / 8)	203	1	1,4%
	187	1	1,4%
	199	4	5,6%
	193	6	8,3%
	201	8	11,1%
	189	16	22,2%
	195	17	23,6%
	197	19	26,4%
Y1502.1 (73 / 4)	185	12	16,5%
	189	16	21,9%
	181	20	27,4%
	187	25	34,2%

N – число особей

Na – число аллелей, выявленных для данного локуса

% - процент особей, несущих данную аллель, от общего числа особей, генотипированных по данному локусу

Используемые локусы различаются как по числу выявленных аллелей, так и по индексам разнообразия, учитывающим частоты аллелей. Из частот аллелей, приведенных в Таблице 5.1, видно, что процентный состав аллелей в локусе может значительно варьировать. К примеру, локусы Y318.4 и Y318.2 имеют одинаковое число аллелей ($N_a=3$) и сходную частотную структуру: одну из аллелей, мажорную, несет подавляющее большинство особей (94,5% и 93,1% выборки для Y318.4 и Y318.2, соответственно), в то время как оставшиеся две минорных аллели встречаются только у 1,4-4,1% выборки, т.е. у 1-3 особей. Локусы с четырьмя выявленными аллелями, Y318.9, Y318.1 и Y1502.1, ощутимо различаются по аллельному профилю: в первом случае выявляется одна мажорная и одна минорная аллель, во втором – только минорная, в третьем отсутствуют как мажорные, так и минорные аллели. Наиболее явно это различие иллюстрирует соотношение числа особей с различными аллелями: в локусе Y318.9 оно равно 10 10 52 (т.е. на одну особь с наиболее редкой аллелью приходится примерно 52 особи с наиболее частой); в локусе Y318.1 – 1 10,5 12 12; в локусе Y1502.1 – 1 1,3 1,6 2.

Показатели разнообразия Y-хромосомных микросателлитных локусов, учитывающие соотношение частот аллелей, приведены в Таблице 5.2.

Таблица 5.2. Показатели генетического разнообразия для исследуемых Y-хромосомных микросателлитных локусов бурого медведя.

	N	N_a	Ar	I	H
Y318.1	71	4	4	0,519	0,683
Y318.2	73	3	3	0,128	0,130
Y318.4	73	3	2.9	0,106	0,105
Y318.6	71	5	5	0,625	0,740
Y318.9	73	4	3.9	0,367	0,455
Y369.1	73	7	7	0,726	0,765
Y369.4	73	8	8	0,768	0,802
Y1502.1	73	4	4	0,587	0,733

N_a – число аллелей;

Ar – аллельное разнообразие (среднее число аллелей в пересчете на минимальную выборку);

I – коэффициент Шэннона, рассчитанный на основании натурального логарифма;

H – уровень разнообразия гаплоидной выборки.

На Рисунке 5.2 отображены изменения показателей количества выявленных аллелей (N_a) и показателей разнообразия I (коэффициент Шэннона) и H (генетическое разнообразие) для исследуемых локусов. Хотя в целом эти показатели демонстрируют сходные тренды, структуры гистограмм различаются: показатели I и H позволяют разделить локусы с одинаковым числом аллелей, но разным соотношением их частот. В первом приближении можно считать локусы с низкими значениями I и H более консервативными, а локусы с более высокими значениями – более вариабельными.

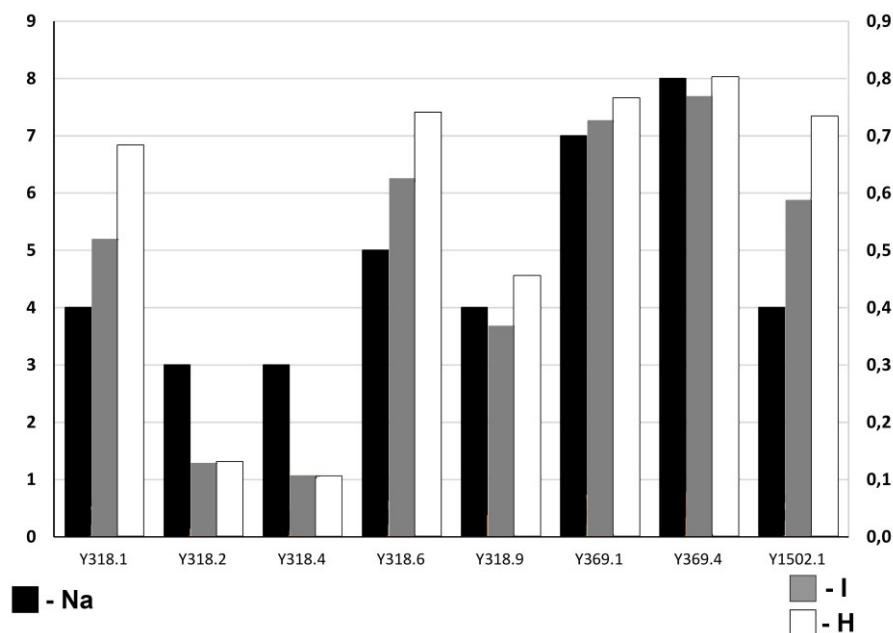


Рисунок 5.2. Показатели генетического разнообразия, Y-хромосомных микросателлитных локусов. Na – среднее количество аллелей на локус; H – гаплотипическое разнообразие; I – коэффициент Шэннона

5.1.2 Генетическая структура бурого медведя по данным Y-хромосомных микросателлитных локусов

5.1.2.1 Медианная сеть гаплотипов

Поскольку выбранные микросателлитные локусы расположены на Y-хромосоме, не имеющей гомологичных фрагментов для рекомбинации, между локусами невозможен кроссинговер. Это позволяет рассматривать комбинацию аллелей Y-хромосомных локусов как единый гаплотип. Для реконструкции филогенетической сети с помощью программы Network исследуемым локусам был присвоен различный уровень значимости («вес»), обратно пропорциональный уровню разнообразия H, приведенным в Таблице 5.2 и на Рисунке 5.2. Локусам Y318.4 и Y318.2 (локусы с наиболее выраженными мажорными и минорными аллелями) был присвоен уровень значимости 9, локусу Y318.9 – уровень значимости 5, локусам Y318.1 и Y1502.1 – уровень значимости 3, а локусам с наиболее равномерным распределением частот аллелей Y318.6, Y369.1 и Y369.4 – уровень значимости 2. Данный подход рекомендуется руководством по использованию программы Network [Forster, 2020] и используется в разных работах, в том числе, в работе Хираты [Hirata et al., 2017], который использовал для ранжирования локусов их вариабельность.

Медианная сеть гаплотипов, построенная на основании анализа восьми Y-хромосомных микросателлитных локусов, приведена на Рисунке 5.3. В составе выборки выделено 52 гаплотипа. Большинство (N=40) гаплотипов включает одну особь, 12 гаплотипов представлены несколькими (2-5) особями.

Три гаплотипа представлены особями из двух разных регионов: из Западного и Восточного Кавказа; из Западной Сибири и Монголии; из Западной Сибири и Европейской части России. Один гаплотип встречен у медведей из трех регионов (Западная Сибирь, Монголия и Урал). Остальные гаплотипы включают особей только из одного региона каждый.

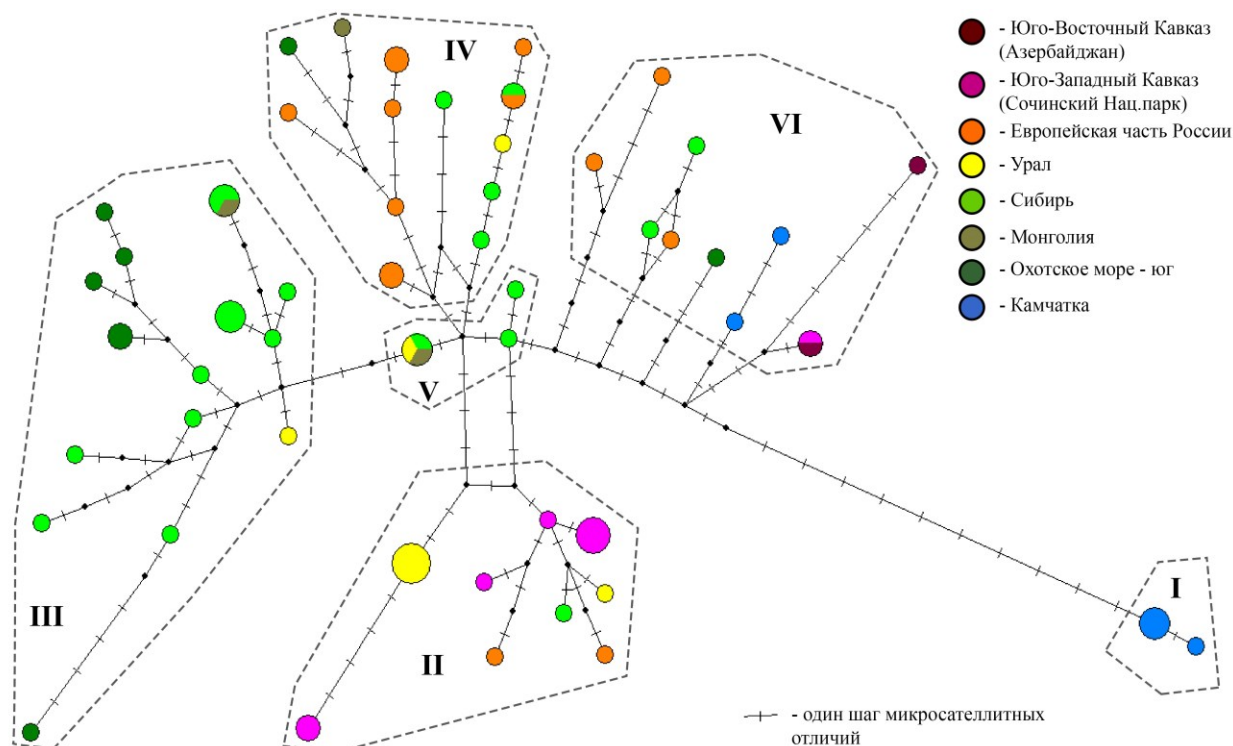


Рисунок 5.3. Медианная сеть Y-хромосомных гаплотипов на основании анализа 8 микросателлитных локусов.

Конфигурация медианной сети позволяет выделить несколько ветвей (гаплогрупп), которым мы присвоили номера I-VI. Наиболее сильно отличающаяся гаплогруппа – гаплогруппа I - представлена двумя гаплотипами, выявленными у четырех медведей с Камчатки.

В составе гаплогрупп II, III и IV присутствуют достаточно сильно отличающиеся гаплотипы. В частности, в составе гаплогруппы II можно визуальнo выделить две ветви, в составе гаплогруппы IV – три ветви.

Гаплогруппа V занимает центральное положение на сети и находится в месте расхождения ветвей, ведущих к другим гаплотипам.

Гаплогруппа VI фактически является сборной - гаплотипы в ее составе формируют отдельные ветви, в каждую из которых входит по 1-3 гаплотипа; отношения между этими ветвями неясны. Наблюдаемая на медианной сети гаплотипов структура не позволяет предполагать монофилетического происхождения этих гаплотипов; более вероятно, что при расширении выборки они сформировали бы несколько независимых гаплогрупп.

5.1.2.2 Анализ генетических дистанций между образцами

Помимо построения медианной сети гаплотипов, был проведен анализ генетических дистанций между гаплоидными генотипами на основании доли общих аллелей. Для полученной матрицы генетических дистанций был проведен анализ методом главных координат, результат которого представлен на Рисунке 5.4; две оси описывают 84% вариальности генетических дистанций.

Особи, входящие в гаплогруппу I, как и на медианной сети гаплотипов, оказались значительно отличающимися от остальных образцов (Рисунок 5.4-А, -Б). Также достаточно явно выделяется гаплогруппа II.

Поскольку гаплотипы из гаплогруппы I очень сильно отличаются от остальных гаплотипов и расположены на графике главных координат очень далеко от них, было проведено аналогичное построение, где из анализа были исключены представители гаплогруппы I (Рисунок 5.4-В, -Г). Две оси главных координат описывают 74% изменчивости. На рисунке видно, что анализ генетических дистанций подтверждает выделение гаплогруппы III, хотя один из гаплотипов (как и на медианной сети гаплотипов) значительно отличается от остальных.

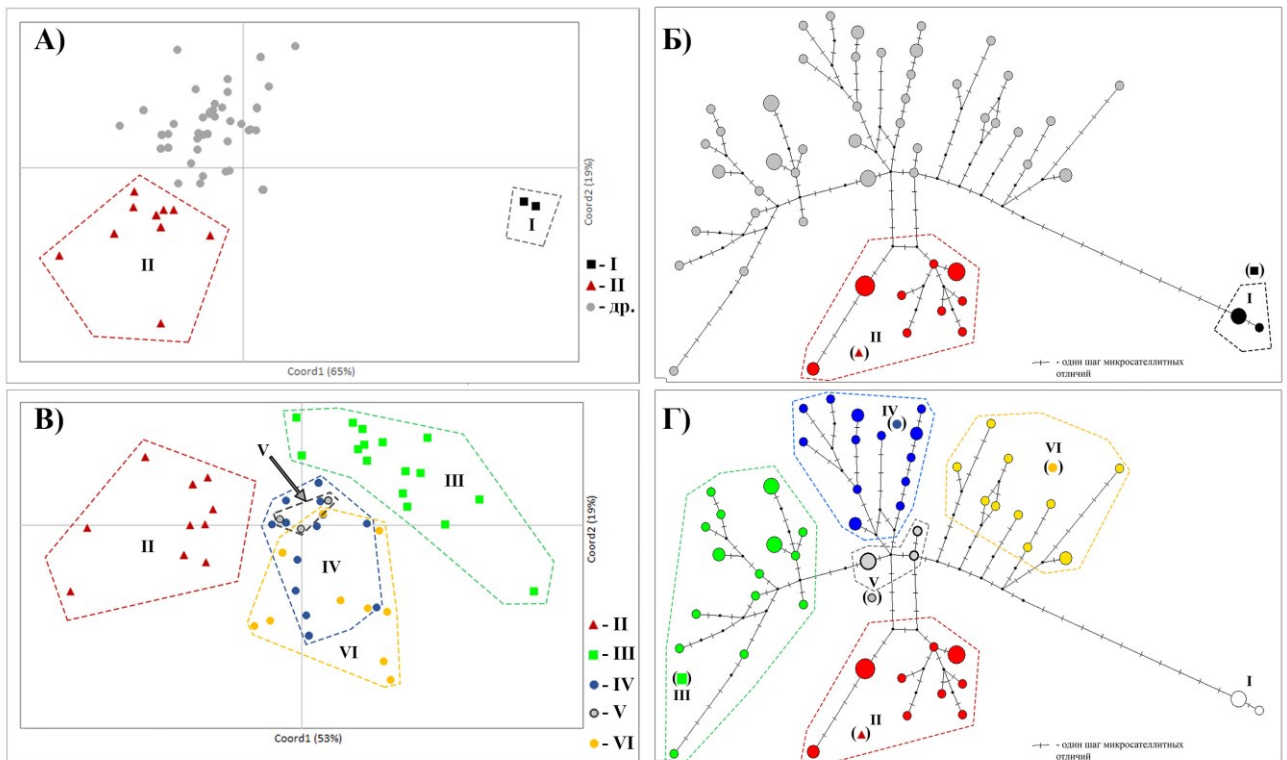


Рисунок 5.4. Результат анализа генетических дистанций между Y-хромосомными генотипами особей методом главных координат. А) – результат анализа всей выборки методом главных координат; В) – результат анализа методом главных координат для выборки, не включающей представителей гаплогруппы I; Б, Г) – сопоставление результатов анализа методом главных координат с соответствующей медианной сетью гаплотипов.

При этом анализ главных координат не позволяет разделить гаплогруппы IV-VI, поскольку координаты особей, которые согласно медианной сети гаплотипов относятся к этим гаплогруппам, на графике главных координат полностью перекрываются.

Анализ генетических дистанций между гаплогруппами (Таблица 5.3) может быть истолкован как в виде аргумента против выделения гаплогрупп IV, V и VI, так и в виде аргумента за их разделение.

Таблица 5.3. Генетические дистанции F_{st} (под диагональю) и R_{st} (над диагональю) между предполагаемыми гаплогруппами (I - VI) в составе исследуемой выборки. Статистически достоверные значения ($p < 0.05$) выделены жирным шрифтом. Наименьшие значения для каждого из типов дистанций выделены серым.

Fst Rst	I	II	III	IV	V	VI
I		0,95	0,89	0,85	0,98	0,89
II	0,68		0,8	0,62	0,74	0,74
III	0,52	0,44		0,5	0,48	0,62
IV	0,47	0,41	0,29		0,14	0,24
V	0,81	0,43	0,33	0,30		0,24
VI	0,35	0,30	0,31	0,14	0,46	

Все генетические дистанции F_{st} были статистически значимы, а их значения были достаточно близки друг к другу, но можно отметить, что генетические дистанции, разделяющие гаплогруппы IV, V и VI, несколько ниже, чем дистанции, отделяющие гаплогруппы I, II, III друг от друга и от гаплогрупп IV, V и VI (хотя эта разница очень небольшая). При этом генетические дистанции, отделяющие гаплогруппу I от всех остальных гаплогрупп, также незначительно отличались от дистанций, разделяющих гаплогруппы II-VI между собой, что отличается от картины, видимой на медианной сети гаплотипов и при анализе индивидуальных генетических дистанций между образцами.

Дистанции R_{st} были статистически значимы во всех случаях, кроме одного (дистанция между гаплогруппами IV и V была недостоверна). При этом генетические дистанции, отделяющие гаплогруппу I от остальных гаплогрупп, были значительно больше, чем дистанции между этими гаплогруппами. Дистанции между гаплогруппами IV, V и VI имели наименьшие значения, т.е. они различаются между собой меньше, чем гаплогруппы I, II и III.

Сопоставление результатов анализа медианной сети гаплотипов, индивидуальных генетических дистанций между особями и генетических дистанций между предполагаемыми гаплогруппами позволяет нам выделить в составе выборки три достаточно четко очерченных гаплогруппы I, II и III, а также «сборную» группу, которая объединяет всех особей из исследуемой выборки, не вошедших в упомянутые три гаплогруппы. Для дальнейшего

обсуждения мы будем называть эту группу гаплогруппой IV, включая в нее гаплотипы, которые выше рассматривались как входящие в гаплогруппы IV, V и VI. Выбранные для рассмотрения гаплогруппы размечены на медианной сети на Рисунке 5.5.

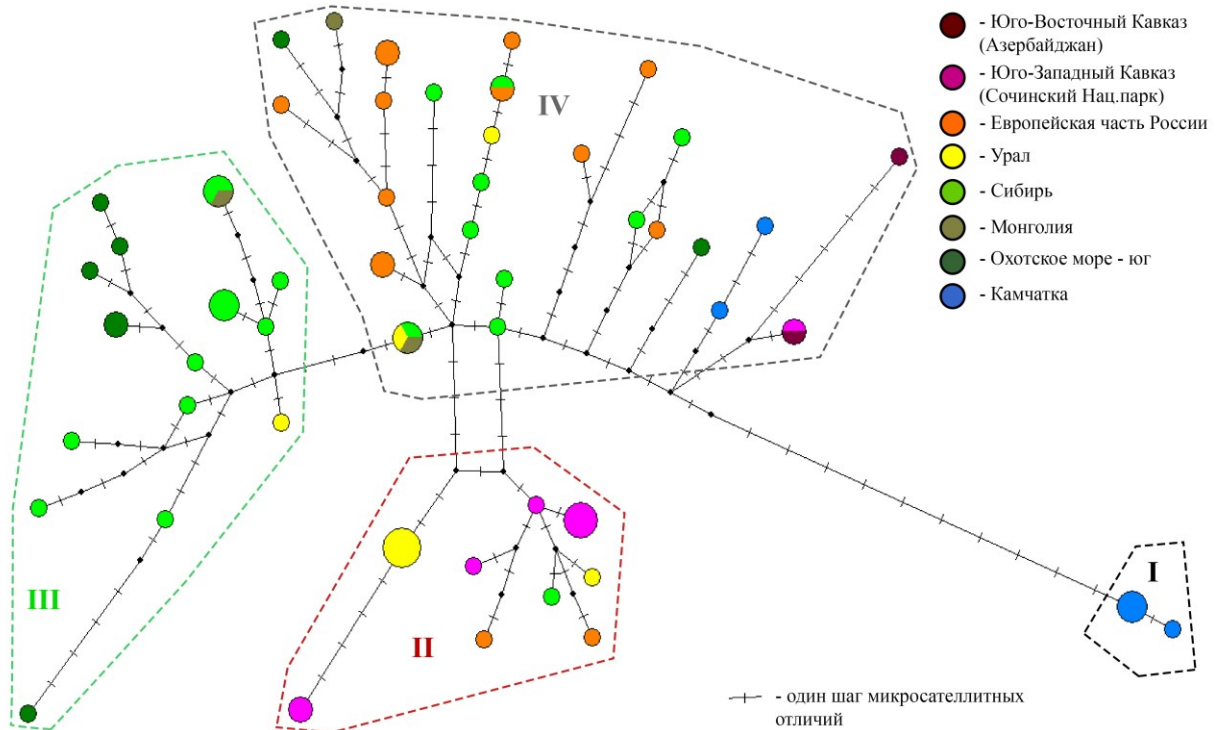


Рисунок 5.5. Медианная сеть гаплотипов Y-хромосомных локусов с отмеченными гаплогруппами, выделенными в результате сопоставления анализа медианной сети, анализа главных координат для генетических дистанций между особями, и генетических дистанций между группами особей.

5.1.3 Y-хромосомный SNP Y-579.1B

Помимо анализа восьми Y-хромосомных микросателлитных локусов, включенные в анализ отцовских генетических линий самцы бурого медведя были генотипированы по Y-хромосомному однонуклеотидному полиморфизму (SNP) Y-579.1B.

Этот локус изменчив у бурого медведя [Bidon et al., 2014; Schregel et al., 2015], и, как и в работах других исследователей, в составе нашей выборки для него было выявлено две аллели - Y579-G и Y579-T. Распределение аллелей оказалось неравномерным: аллель Y579-T была выявлена у 51 особи из 73 исследованных, в то время как аллель Y579-G – у 22 особей (70 % и 30 % выборки, соответственно). Соотношение количества особей из разных регионов, несущих аллели Y579-G и Y579-T, приведено в Таблице 5.4.

Таблица 5.4. Распределение аллелей локуса Y579.1B среди медведей из разных регионов. Жирным шрифтом выделены регионы, где доля особей, несущих аллель Y579-G, составляет более 50%.

Регион	Доля особей, несущих аллель Y579-T, N (%)	Доля особей, несущих аллель Y579-G, N (%)
Юго-Восточный Кавказ (N=2)	2 (100%)	
Юго-Западный Кавказ (N=9)		9 (100%)
Европейская часть России (N=14)	12 (86%)	2 (14%)
Урал (N=9)	3 (33%)	6 (67%)
Сибирь (N=22)	18 (82%)	4 (18%)
Монголия (N=3)	2 (67%)	1 (33%)
поб. Охотского моря (N=8)	8 (100%)	
Камчатка (N=6)	6 (100%)	
Всего	51 (70%)	22 (30%)

Все исследуемые медведи с Юго-Западного Кавказа несли аллель 579-G. Помимо этого локалитета, преобладание аллели 579-G мы выявили только среди медведей Урала. В Европейской части России и в Сибири носители этого аллеля представляли меньшую часть выборки (14% и 18% выборки, соответственно).

Необходимо отметить, что из-за небольшого размера выборки в данном исследовании выявленные частотные закономерности распределения Y-хромосомных линий в различных регионах имеют предварительный характер. В особенности это касается регионов, представленных совсем небольшим числом особей, таких как Монголия или Юго-Восточный Кавказ.

5.1.3.1 Сопоставление генотипов особей по локусу Y579.1B с генетической структурой, выявленной при анализе Y-хромосомных микросателлитных локусов

Чтобы выяснить, есть ли закономерности в распределении аллелей SNP Y579.1B относительно выявленной при анализе Y-хромосомных микросателлитных локусов филогеографической структуры, мы отметили на медианной сети гаплотипов особей, несущих более редкую аллель Y579-G (Рисунок 5.6). Количественные данные о представленности разных аллелей SNP Y579.1B в составе разных гаплогрупп приведены в Таблице 5.5.

Таблица 5.5. Распределение аллелей полиморфизма Y579.1B среди медведей, принадлежащих к различным гаплогруппам, выделенным на основании анализа Y-хромосомных микросателлитных локусов.

Гаплогруппа	Доля особей, несущих аллель Y579-T, N (%)	Доля особей, несущих аллель Y579-G, N (%)
I (N=4)	4 (100%)	
II (N=17)		17 (100%)
III (N=20)	18 (90%)	2 (10%)
IV (N=32)	29 (90,6%)	3 (9,4%)

Обращает на себя внимание тот факт, что все исследованные особи, определенные при анализе Y-хромосомных микросателлитных локусов как принадлежащие к гаплогруппе II, несли более редкую аллель 579-G. Это подчёркивает общность происхождения отцовских линий этой ветви.

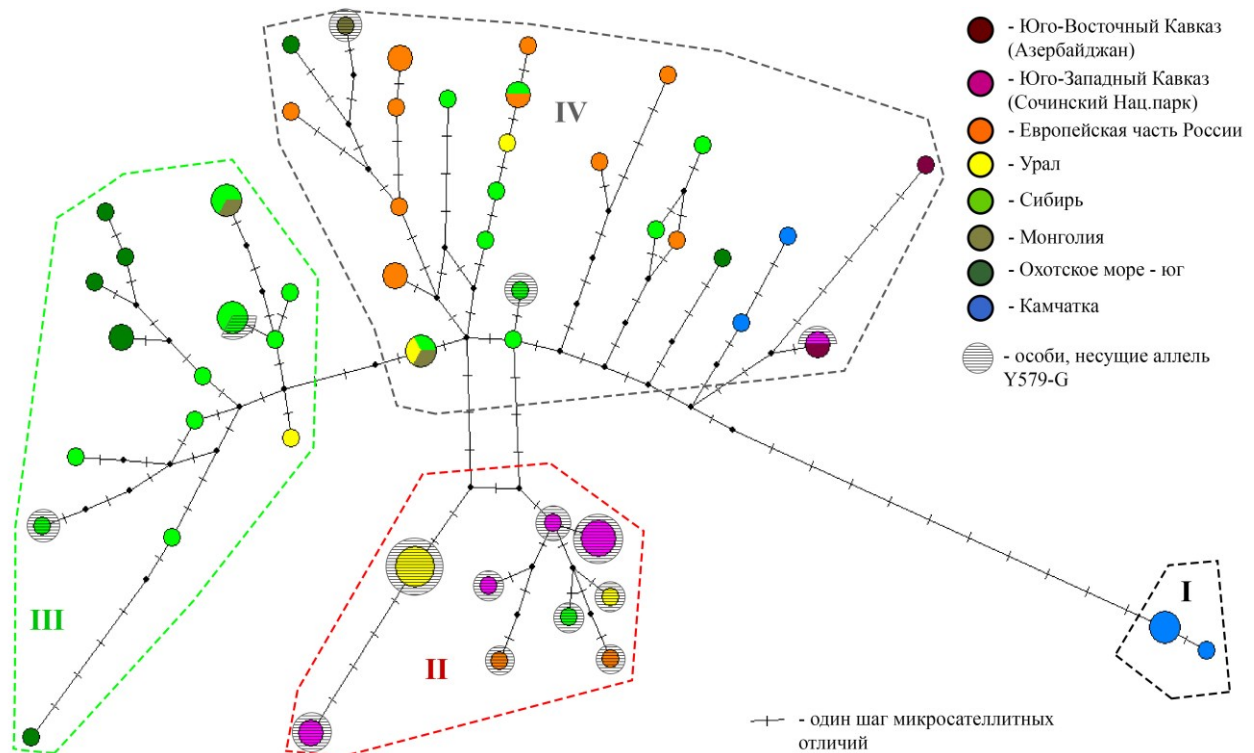


Рисунок 5.6. Медианная сеть гаплотипов Y-хромосомных локусов с отмеченными гаплогруппами и наложенными на сеть данными об аллелях особей по локусу Y579.1B.

Сопоставление структуры, реконструируемой на основании анализа микросателлитных локусов, и однонуклеотидного полиморфизма Y579.1B позволяет предположить несколько независимых событий-замен в локусе Y579.1B (Y579 T>G). Только в случае гаплогруппы II можно предположить, что такая замена произошла однократно и достаточно давно, при формировании этой гаплогруппы, таким образом демонстрируя эффект основателя. Во всех остальных случаях отдельные особи, несущие аллель 579-G, не формировали отдельных гаплогрупп, а в двух случаях в состав одного и того же микросателлитного гаплотипа входили особи с разными аллелями Y579.1B.

5.1.4 Географические закономерности, выявленные при анализе Y-хромосомных генетических маркеров

Несмотря на то, что выявляемая при анализе Y-хромосомных маркеров филогеографическая структура гораздо менее четкая, чем при анализе мтДНК, мы все же можем отметить некоторые закономерности в географическом распределении выявленных генетических линий.

В Таблице 5.6 приведены данные о количестве и процентном соотношении особей из различных регионов, принадлежащих к разным Y-хромосомным гаплогруппам.

Немногочисленная гаплогруппа I представлена только особями с Камчатки.

В гаплогруппе II доминируют особи с Юго-Западного Кавказа и Урала, суммарно составляя более 80% от общего числа особей в гаплогруппе. При этом в обоих регионах гаплогруппа II была доминирующей.

В гаплогруппе III более половины особей происходили из Сибири, а вторым по представленности был регион побережья Охотского моря. При этом если рассматривать всех особей из этих регионов, то оказывается, что в выборке с побережья Охотского моря гаплогруппа III доминировала, в то время как в Сибири к ней принадлежало около половины особей, а оставшиеся в основном несли генетические линии, принадлежащие к гаплогруппе IV.

Суммарно более половины всех представителей гаплогруппы IV происходили из Европейской части России и из Сибири (37,5 % и 28,12% выборок, соответственно). Среди исследованных медведей Европейской части России эта гаплогруппа оказывается доминирующей (85,7% особей из этого региона принадлежат к гаплогруппе IV). При этом, в отличие от гаплогрупп I-III, представители гаплогруппы IV выявлены среди медведей из всех исследованных локалитетов, что подчеркивает сборный характер этой гаплогруппы.

На карте, приведенной на Рисунке 5.7, показана принадлежность исследованных образцов бурого медведя к обсуждаемым Y-хромосомным гаплогруппам, а также распространение среди них аллелей локуса Y-579.1B.

Таблица 5.6. Количество особей бурого медведя из различных регионов, принадлежащих к различным гаплогруппам, выделенным на основании анализа Y-хромосомных микросателлитных локусов. Жирным шрифтом отмечены случаи, когда особи из региона преобладают в составе гаплогруппы, и случаи, когда особи, принадлежащие к определенной гаплогруппе, преобладают в составе выборки из региона.

Регион	N					% от числа особей из региона					% от числа особей в гаплогруппе			
	I	II	III	IV	Всего	I	II	III	IV	Всего	I	II	III	IV
Юго-Восточный Кавказ				2	2				100	100				6,25
Юго-Западный Кавказ		8		1	9		89		11	100		47,1		3,13
Европейская часть России		2		12	14		14,3		85,7	100		11,8		37,5
Урал		6	1	2	9		66,7	11,1	22,2	100		35,3	5	6,25
Сибирь		1	12	9	22		4,5	54,5	40,9	100		5,9	60	28,12
Монголия			1	2	3			33,3	66,7	100			5	6,25
поб. Охотского моря			6	2	8			75	25	100			30	6,25
Камчатка	4			2	6	66,7			33,3	100	100			6,25
Всего	4	17	20	32	73						100	100	100	100

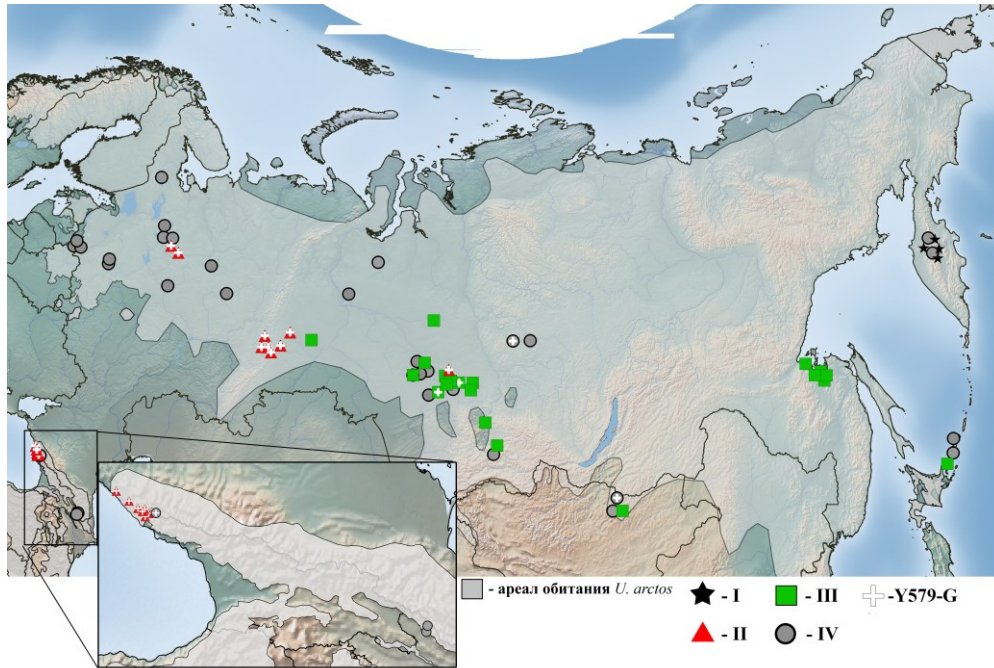


Рисунок 5.7. Происхождение образцов бурого медведя, включенных в анализ Y-хромосомных генетических линий и отнесенных к различным гаплогруппам на основании анализа Y-хромосомных микросателлитных локусов, а также полиморфизм Y-579.1В. Черным кружком внутри фигуры обозначены особи, несущие более редкую аллель Y579-G; особи без отметки несут аллель Y579-T.

5.2 Обсуждение

Нам удалось выявить несколько гаплогрупп отцовских генетических линий в составе исследуемой выборки. Изначально на основании медианной сети гаплотипов мы выделяли шесть гаплогрупп, однако в дальнейшем три из них были объединены. Наиболее сильно отличается гаплогруппа I, выявленная среди медведей Камчатки. Среди остальных генетических линий выделяются гаплогруппа II, выявленная на Урале и Кавказе, и гаплогруппа III, преобладающая в более восточных частях евразийского ареала – в Сибири и на побережье Охотского моря. Гаплогруппа IV, представляющая собой сборную группу гаплотипов, отличающихся от гаплотипов из гаплогрупп I, II и III, но не различающихся между собой, встречается на всей исследуемой территории.

5.2.1 Сопоставление полученных данных с данными других исследователей

В настоящее время опубликовано три работы, посвященных разнообразию отцовских линий бурого медведя: [Bidon et al., 2014], [Hirata et al., 2017], [Schregel et al., 2015]. В работах [Bidon et al., 2014] и [Hirata et al., 2017] авторы использовали выборки образцов тканей бурых медведей из разных частей мирового ареала. Это обеспечило обеим работам глобальный охват и возможность рассматривать изменчивость Y-хромосомных линий в масштабе всего вида, однако количество особей из каждого отдельного региона было относительно небольшим. Поэтому при большом территориальном охвате, географическое покрытие для большей части регионов было невысоким. Выборка особей, включенных в работу [Schregel et al., 2015], была основана на ином принципе: в работу было включено очень большое (более 400) число особей, происходящих из относительно небольшой части ареала: из Швеции, Норвегии, Финляндии и крайнего северо-востока Европейской части России. Это обеспечило высокое покрытие и дало авторам возможность детально изучить генетическую структуру отцовских линий медведей отдельного взятого региона. При этом из-за такой разницы в подходах напрямую сравнивать работу [Schregel et al., 2015] с работами [Bidon et al., 2014] и [Hirata et al., 2017] достаточно сложно, поскольку фактически речь идет об анализе на разных популяционных уровнях.

Наше исследование по структуре выборки, несомненно, ближе к работам [Bidon et al., 2014] и [Hirata et al., 2017]: относительно небольшие выборки особей, происходящих из разных частей ареала, разделенных огромными расстояниями. Так же, как и в этих исследованиях, в данной работе некоторые регионы были представлены буквально единичными особями.

В исследованиях [Bidon et al., 2014] и [Hirata et al., 2017] авторам не удалось выделить гаплогрупп в составе выборки особей из разных частей ареала, за исключением отличий отдельных особей с

Камчатки и из других регионов и монофилии медведей Хоккайдо. Несмотря на то, что монофилетическая структура медведей Хоккайдо и наличие на Камчатке нескольких сильно отличающихся отцовских линий указывали на возможность существования некоторой структуры, авторы обеих работ по результатам анализа полученных данных пришли к выводу об отсутствии филогеографической структуры отцовских линий в составе вида, и высказали предположение, что такая картина может объясняться интенсивной миграцией самцов и/или гомогенностью анцестральной группы, вытеснившей все более разнообразные отцовские линии в ходе быстрого расселения.

Филогеографическая структура отцовских генетических линий бурого медведя, которую удалось выявить в данной работе, более четкая по сравнению с результатами наших зарубежных коллег. Только в нашей работе было показано существование выраженных гаплогрупп в масштабе континентального ареала. В работе [Schregel et al., 2015] авторам также удалось выявить три гаплогруппы, однако они достаточно слабо отличались друг от друга, а специфика выборки не позволила поместить описанные гаплотипы в контекст вида в целом.

Такой отличающийся результат может объясняться различиями в выборке: только в нашей работе были представлены медведи с Кавказа, а выборка особей из Западной Сибири, хотя и небольшая, значительно превышает число образцов, имевшихся в распоряжении других авторов.

Кроме того, нельзя исключать вероятность влияния на результат использованной методики статистической обработки данных, поскольку в разных работах медианные сети Y-хромосомных гаплотипов строились с использованием немного разных алгоритмов.

Для того, чтобы нивелировать влияние метода расчета при построении медианной сети, логично провести построение одними и теми же методами и с использованием одних и тех же условий. Однако, к сожалению, специфика воспроизводимости микросателлитных локусов требует калибровки длин наблюдаемых аллелей с использованием одних и тех же образцов для прямого объединения результатов работы разных лабораторий. Плотное сотрудничество между лабораториями наших европейских коллег, и в частности, лабораториями, в которых проводились исследования отцовских линий бурого медведя, позволяет проводить такую калибровку. Однако отсутствие общих проб между нашими и зарубежными выборками делает невозможным прямое сравнение.

Сопоставление полученных нами данных с результатами других исследователей возможно только через визуальное сравнение полученных медианных сетей.

Филогеографическую структуру, описанную в работах [Bidon et al., 2014] и [Hirata et al., 2017], можно описать как некую центральную гаплогруппу, в состав которой входит большинство особей выборки, и в составе которой авторы практически не могут вычленить структуры, за исключением явно монофилетической ветви отцовских линий Хоккайдо и Курильских островов; и несколько гаплотипов, сильно отличающихся от этой группы. Эти отличающиеся гаплотипы либо расположены отдельно по одному, либо объединены в ветви по 2-4 гаплотипа, причем эти ветви визуально не формируют никакой структуры и отходят от центральной гаплогруппы независимо друг от друга.

Наиболее явная параллель между нашими данными и данными [Bidon et al., 2014] и [Hirata et al., 2017] – это уникальные отцовские линии, выявленные среди медведей Камчатки. Можно предполагать, что эти гаплотипы соответствуют описываемой нами гаплогруппе I.

Другим возможным объяснением параллели между положением на медианных сетях гаплогруппы I и гаплотипов BR2 может быть существование на Камчатке нескольких групп отцовских линий, которые значительно отличаются от остальных гаплотипов в исследуемых выборках, но при этом не близки между собой. Хотя опровергнуть эту версию в настоящий момент мы не можем, с точки зрения экономичности объяснения она кажется менее привлекательной, чем версия о прямом соответствии гаплогруппы I и гаплотипов BR2.

Сопоставить другие описываемые нами гаплогруппы с медианными сетями других авторов сложно, поскольку разница в географическом охвате исследуемых выборок и используемых статистических методов оставляют слишком много неопределенности.

Авторы обеих работ полагают, что отсутствие генетической структуры отцовских линий согласуется с представлением о дисперсии самцов, характерной для бурого медведя. Однако анализ отцовских линий медведей Фенноскандии показал наличие локальных группировок, более выраженных в западной части Скандинавии и менее выраженных в Финляндии и примыкающей Европейской части России, а анализ примерно той же выборки с использованием аутосомных микросателлитных локусов показал, что локальные генетические кластеры можно выделить как для самок, так и для самцов [Schregel et al., 2017, 2015]. Таким образом, дисперсия самцов оказывается достаточно ограниченной, чтобы обеспечить структурирование популяции даже в масштабе сотен километров; можно ожидать, что некоторые закономерности должны были выявляться и при анализе выборок в масштабе тысяч километров.

Средние дистанции расселения для самцов бурого медведя варьируют в зависимости от методики расчета и работы в диапазоне от 34-43 до 108 км [Matosiuk et al., 2019; Norman, Spong,

2015; Støen et al., 2006]. При этом в статье [Støen et al., 2006] отмечается, что из 60 самцов из числа скандинавских медведей, вошедших в исследование, 36 (60%) расселились, но 24 (40%) остались вблизи своего натального участка. В работе [Norman, Spong, 2015] около 20% самцов переместились не далее 20 км от материнского участка. При этом в некоторых случаях для самцов бурого медведя отмечаются увеличенные расстояния расселения. Один из шести медведей в работе [Bartoń et al., 2019] переместился за два года примерно на 360 км, однако для пяти других медведей дистанция перемещения составила 43.3 ± 13.0 км. В работе [Schregel et al., 2017] было отмечено перемещение двух самцов примерно на 400 км, а в работе [Støen et al., 2006] описано расселение самца на расстояние в 467 км.

Можно сказать, что среди самцов бурого медведя присутствует достаточно значимая доля стационарных, не расселяющихся, особей, а также большая доля особей, расселяющихся на расстояния порядка 30-100 км, и небольшое число особей, осуществляющих сверхдальнее расселение на дистанции 300-400 км. Такая структура популяции создает двойственную ситуацию: с одной стороны, особи-резиденты поддерживают генетическое структурирование внутри протяженной популяции и существование устойчивых генетических кластеров; с другой стороны, особи-мигранты обеспечивают связь между этими кластерами.

Большая часть гаплотипов в составе нашей выборки выявлена только в одном регионе. В работах [Bidon et al., 2014] и [Hirata et al., 2017] также подчеркивается, что при рассмотрении особей из различных частей ареала в выборке преобладают региональные гаплотипы. В случае, если время формирования отцовских гаплогрупп на континенте исчисляется десятками тысяч лет, а скорость мутирования исследуемых локусов невелика, можно было бы ожидать большего числа гаплотипов, объединяющих особей из нескольких регионов. Отсутствие более точных данных о скорости мутирования Y-хромосомных микросателлитных локусов бурого медведя не позволяет определить исторический период, на который должно быть направлено наше внимание, хотя бы до порядка. Наблюдаемая же структура допускает трактовку этих локусов как по типу крайне консервативных, так и по типу относительно вариабельных.

5.2.2 Распространение аллелей Y-хромосомного SNP Y-579.1B

5.2.2.1 Географическое распространение особей, несущих разные аллели

Полученные нами данные о распространении двух выявленных аллелей Y-579.1B (Y579-G и Y579-T) выявили закономерное распространение особей, несущих аллель Y579-G: они преобладали в Уральском регионе и на Кавказе. Однако сравнение с данными [Schregel et al., 2015] и [Bidon et al., 2014], в которых исследованные особи также были генотипированы по этому полиморфизму, показывает, что при расширении выборки просматривающиеся закономерности

выглядят не столь однозначно. На Рисунке 5.8 показаны образцы с разными аллелями, описанные другими исследователями и полученные в рамках данной работы, а также процентное соотношение особей с различными аллелями в разных регионах.

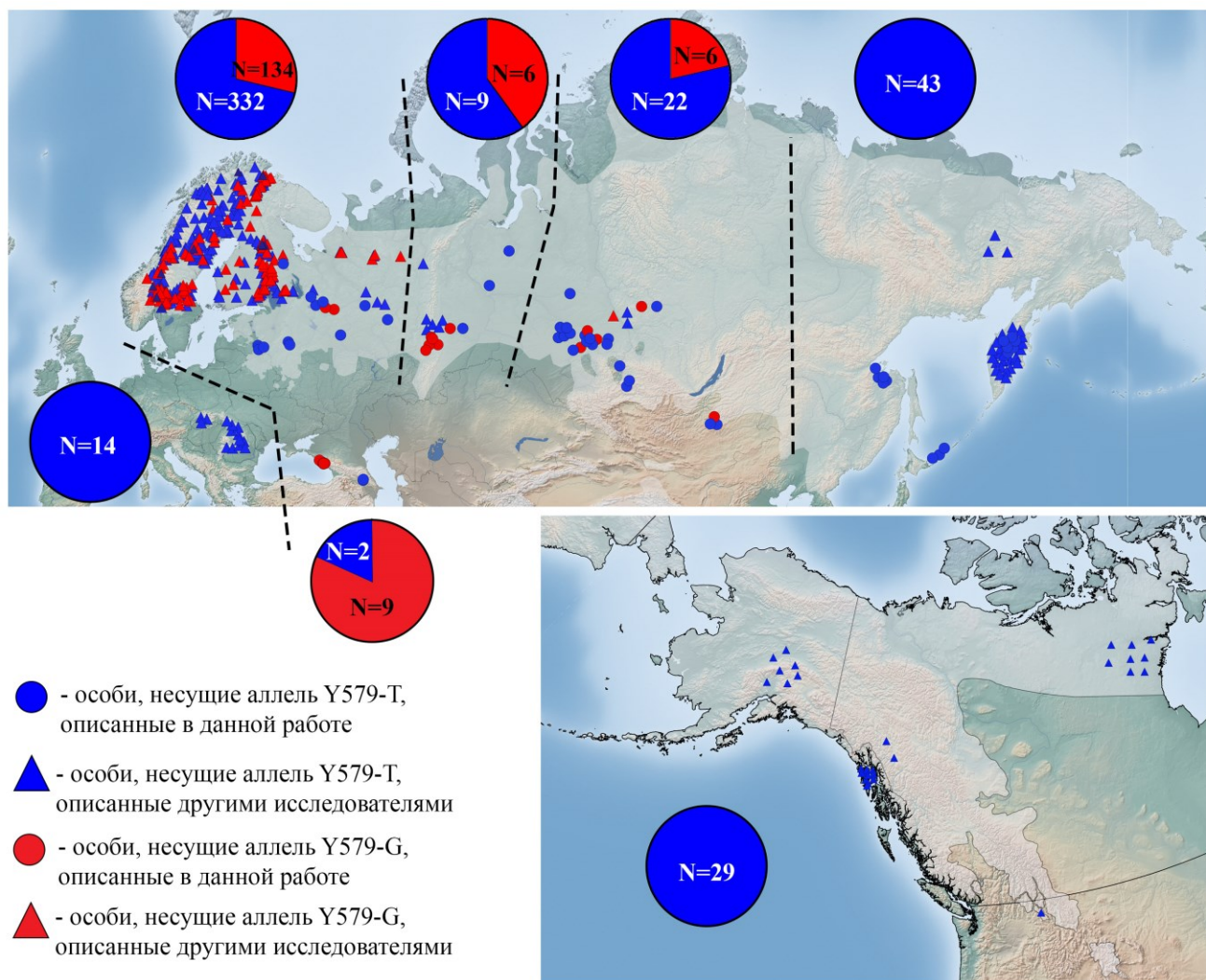


Рисунок 5.8. Происхождение образцов бурого медведя, несущих разные аллели Y-хромосомного SNP Y-579.1B.

При объединении наших данных с данными других авторов (в особенности при рассмотрении результатов [Schregel et al., 2015]) становится видно, что значимая доля особей с аллелью Y579-G не является уникальным явлением. Выборки особей с Урала и Кавказа по-прежнему демонстрируют наибольший процент таких особей (40% и 100%, соответственно), однако их отличие от выборок Сибири и Северной Европы (21% и 28%, соответственно) становится не настолько радикальным.

При этом среди медведей из Северной Америки, с Камчатки и с Дальнего Востока до сих пор не описано особей, несущих аллель Y579-G.

5.2.2.2 Обсуждение эволюции и скорости изменения Y-579.1B

Наблюдаемое распределение частот аллелей Y579-G и Y579-T в различных частях ареала бурого медведя может объясняться либо анцестральным полиморфизмом предковой популяции, либо миграциями, либо многократным независимым происхождением той или иной аллели в результате повторяющихся мутаций (*de novo*).

Известно, что локусы Y-хромосомы по определению не рекомбинируют, они наследуются как единый гаплотип. Поскольку предполагается, что микросателлитные локусы эволюционируют быстрее, чем уникальные (не сателлитные) участки ДНК, в которых расположены однонуклеотидные полиморфизмы [Fan, Chu, 2007], логично ожидать, что среди Y-хромосомных гаплотипов, происходящих от единого предкового гаплотипа и несущих одну и ту же аллель Y-SNP, со временем произойдет некоторое количество мутаций в сопряженных Y-хромосомных микросателлитных локусах. Тогда такие Y-микросателлитные гаплотипы будут более родственны друг другу, чем любым другим гаплотипам, с которыми они имели общего предка в более отдаленном прошлом. В случае, если предковая популяция обладала анцестральным полиморфизмом по консервативному локусу Y-SNP, то, при отсутствии в этом локусе обратных мутаций, можно ожидать, что в составе современной популяции будет представлено несколько таких групп Y-микросателлитных гаплотипов, каждая из которых происходит от одного предкового гаплотипа. При этом в каждой из Y-микросателлитных гаплогрупп будут особи только с одной, либо только с другой аллелью Y-SNP.

В составе исследуемой выборки есть такая гаплогруппа – гаплогруппа II (гаплогруппу I в данном случае мы не рассматриваем, так как она представлена очень малым числом особей). Можно полагать, что все особи гаплогруппы II имеют монофилетическое происхождение, и что предковый гаплотип этих гаплотипов имел аллель Y579-G.

В то же время, в числе описанных нами образцов присутствует пять особей, несущих аллель Y579-G, но не входящих в состав гаплогруппы II, и рассредоточенных по гаплогруппам III и IV, в которых большинство гаплотипов несет аллель Y579-T. Для этих гаплотипов, по всей видимости, имели место независимые замены Y579 (T>G). При этом гаплотипы с «отклоняющимися» аллелями Y-SNP 579 занимают концевое положение в структуре гаплогруппы, что также подтверждает недавнее происхождение аллели Y579-G из Y579-T, характерной для гаплогруппы в целом.

Существование гаплотипов, носители которых идентичны по всем исследованным микросателлитным локусам, однако имеют различные аллели Y-SNP 579, также указывает на достаточно высокую частоту замен в данном локусе.

5.2.3 Интерпретация наблюдаемой структуры отцовских линий бурого медведя

Наблюдаемое родство отцовских линий медведей Урала и Кавказа может объясняться вселением мигрантов (в относительно недавнем или в более далеком прошлом) либо происхождением части медведей этих регионов из общего центра расселения. Гипотеза о миграции самцов между популяциями Урала и Кавказа в историческое время может иметь под собой основания. Отмечается, что еще в начале XX века могла существовать связь между популяциями медведей Ирана и Сибири через систему горных хребтов на границе современных Казахстана и Китая [Жириков, Грачев]: включая Алтай с севера, Копетдаг с юга, Гиндукуш, Памиро-Алтай, и Тянь-Шань в центральной части. Однако северная оконечность этого «связующего коридора» соединяется с Западной Сибирью, а не Уралом. Известно и о существовании центра переживания и расселения для бурого медведя на территории как Сибири, Алтая и Урала [Величко и др., 2009; Шпанский, Черноус, 2012], так и Кавказа [Верещагин, 1959]. Не исключено, что существовала и связь между этими центрами расселения.

Интерпретация неравномерного распространения Y-хромосомной гаплогруппы III также может быть проведена в ключе древних эволюционных событий. Поскольку в Алтае-Саянском регионе, скорее всего, существовала станция переживания для бурого медведя, можно предположить, что преимущественное распространение этой кланды на более восточной части Евразии объясняется ее происхождением в популяции, обитавшей в этом регионе.

5.2.4 Генетическое разнообразие отцовских линий бурого медведя

Было проведено сопоставление уровней генетического разнообразия отцовских линий бурого медведя, выявленных в данной работе, и полученных другими исследователями [Bidon et al., 2014; Hirata et al., 2017; Schregel et al., 2015]. Показатели генетического разнообразия для литературных данных были рассчитаны заново на основании опубликованных длин микросателлитных локусов и приведены в Таблице 5.7.

Средние значения показателей генетического разнообразия, полученные для нашей выборки, согласуются со значениями, полученными для выборок особей, описанных другими исследователями.

Таблица 5.7. Показатели генетического разнообразия отцовских линий медведей из различных частей ареала, описанных в данной работе и в работах других исследователей. Приведены средние значения \pm стандартное отклонение.

Регион	NL	N	H	Na	MPD	Hd	Источник
--------	----	---	---	----	-----	----	----------

Центральная Европа	6	14	8	2,667 ± 0,494	2,68 ± 1,517	0,447 ± 0,284	[Bidon et al., 2014]
Ю-З Кавказ	8	9	5	2 ± 0,189	2,64 ± 1,55	0,329 ± 0,22	Наши данные
Северная Европа и Европейская Россия	6	11	5	2,833 ± 0,401	2,62 ± 1,514	0,436 ± 0,285	[Bidon et al., 2014; Hirata et al., 2017]
Северная Европа и Европейская Россия	9	443	36	3,444 ± 0,784	3,78 ± 1,91	0,42 ± 0,235	[Schregel et al., 2015]
Европейская часть России	8	14	12	3,5 ± 0,627	3,99 ± 2,12	0,499 ± 0,298	Наши данные
Урал	6	59	28	4 ± 0,966	3,21 ± 1,681	0,535 ± 0,311	[Bidon et al., 2014; Hirata et al., 2017]
Урал	8	9	5	2,25 ± 0,313	3,42 ± 1,93	0,427 ± 0,273	Наши данные
Западная Сибирь	8	22	18	3,375 ± 0,596	3,86 ± 2,01	0,482 ± 0,281	Наши данные
юг поб. Охотского моря	8	8	7	2,375 ± 0,375	3,25 ± 1,87	0,406 ± 0,266	Наши данные
о. Хоккайдо	6	55	8	2,167 ± 0,543	1,23 ± 0,792	0,205 ± 0,146	[Hirata et al., 2017]
о. Итуруп	6	10	2	1,167 ± 0,167	0,36 ± 0,375	0,059 ± 0,071	[Hirata et al., 2017]
Камчатка	6	27	11	3,667 ± 0,76	2,35 ± 1,322	0,391 ± 0,245	[Bidon et al., 2014; Hirata et al., 2017]
Камчатка	8	6	4	1,625 ± 0,263	2,13 ± 1,37	0,267 ± 0,198	Наши данные
Аляска	6	7	4	1,833 ± 0,307	1,86 ± 1,21	0,31 ± 0,229	[Bidon et al., 2014]
Канада	6	8	2	1,5 ± 0,227	0,75 ± 0,614	0,125 ± 0,117	[Bidon et al., 2014]
арх. Александра	6	11	5	2,167 ± 0,477	1,45 ± 0,954	0,242 ± 0,179	Bidon

NL – количество использованных микросателлитных локусов

N – количество особей

H – количество гаплотипов

Na – среднее количество аллелей на локус

MPD – среднее число попарных различий

Hd – гаплотипическое разнообразие

Особи из Европейской России, с Урала и Камчатки были представлены как нашими данными, так и данными других исследователей. Показатели генетического разнообразия медведей Европейской части России, рассчитанные для наших данных, хорошо согласуются с показателями для выборки из Европейской части России и Северной Европы, описанной в работе [Schregel et al., 2015], и немного превышают таковые для объединенной выборки из работ [Bidon et al., 2014] и [Hirata et al., 2017]. Это соотношение не связано с размером используемой выборки, поскольку количество особей из нашей работы (N=14) значительно ближе к количеству особей в выборке [Bidon et al., 2014] и [Hirata et al., 2017] (N=11), чем выборке из работы [Schregel et al., 2015] (N=443). По всей видимости, в работах [Bidon et al., 2014] и [Hirata et al., 2017] медведи из Северной Европы и Европейской части России были представлены особями из других

субпопуляций, относительно нашей работы (центральная и северо-западная часть Европейской части России) и работы [Schregel et al., 2015] (север Европейской части России и Скандинавский полуостров).

Выборки медведей с Урала и Камчатки продемонстрировали сходный паттерн: число средних различий между особями этих регионов практически совпадало для нашей и литературной выборок; уровень гаплотипического разнообразия в наших выборках был чуть ниже, чем в литературных; среднее число аллелей на локус в наших выборках было значительно ниже, чем в литературных (доверительные интервалы средних значений не перекрывались). Можно предположить влияние размера выборки (в обоих случаях размер выборки для нашей работы был значительно меньше, чем для работ [Bidon et al., 2014] и [Hirata et al., 2017]); в таком случае следует отметить, что размер выборки влияет только на среднее число аллелей, но не на число попарных отличий и гаплотипическое разнообразие.

Наиболее высокие значения для нашей выборки все три используемых показателя (среднее число аллелей на локус, среднее число попарных различий и гаплотипическое разнообразие) продемонстрировали среди медведей Европейской части России и из Западной Сибири. Наименьшие значения продемонстрировали медведи с Кавказа и Камчатки.

При рассмотрении данных других исследователей видно, что наименьшие уровни генетического разнообразия по трем параметрам среди всех медведей демонстрируют звери с острова Итуруп и из Канады. Наибольшие уровни разнообразия по разным параметрам показывают звери из Центральной и Северной Европы, с Урала и Камчатки. Среднее число аллелей на локус имеет наиболее узкий коридор колебания (минимальное и максимальное значения различаются в 3,4 раза), гаплотипическое разнообразие изменяется намного сильнее, а среднее число попарных различий является наиболее варибельным параметром (минимальное и максимальное значения различаются в 9 и 11 раз, соответственно).

ГЛАВА 6. СОПОСТАВЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ МАРКЕРОВ

Мы получили данные по трем генетическим маркерам для нескольких региональных выборок образцов бурого медведя. Для некоторых образцов были получены все три маркера, для других – только один или два. Всего в работу вошло 178 образцов.

Использованные генетические маркеры различаются по типу наследования (мтДНК наследуется по материнской линии, Y-хромосомные локусы – по отцовской, аутосомные микросателлитные локусы – по обеим линиям), скорости изменения (мтДНК изменяется значительно медленнее, чем микросателлитные локусы) и типу получаемых данных (мтДНК представляет собой последовательность нуклеотидов, замены в которой позволяют реконструировать эволюцию последовательностей, в то время как использование микросателлитных локусов позволяет только анализ на популяционном уровне).

6.1 Сопоставление выявленных филогеографических паттернов

Карты распространения выявленных генетических кластеров приведены на Рисунке 6.1. Индивидуальное распределение исследованных особей бурого медведя по генетическим кластерам для трех использованных генетических маркеров приведены на Рисунке 2 Приложения.

Как и можно было ожидать, при рассмотрении отдельных особей результаты анализа разных генетических маркеров не совпадают. Однако при рассмотрении генетических групп и их географического распространения можно выявить несколько закономерностей.

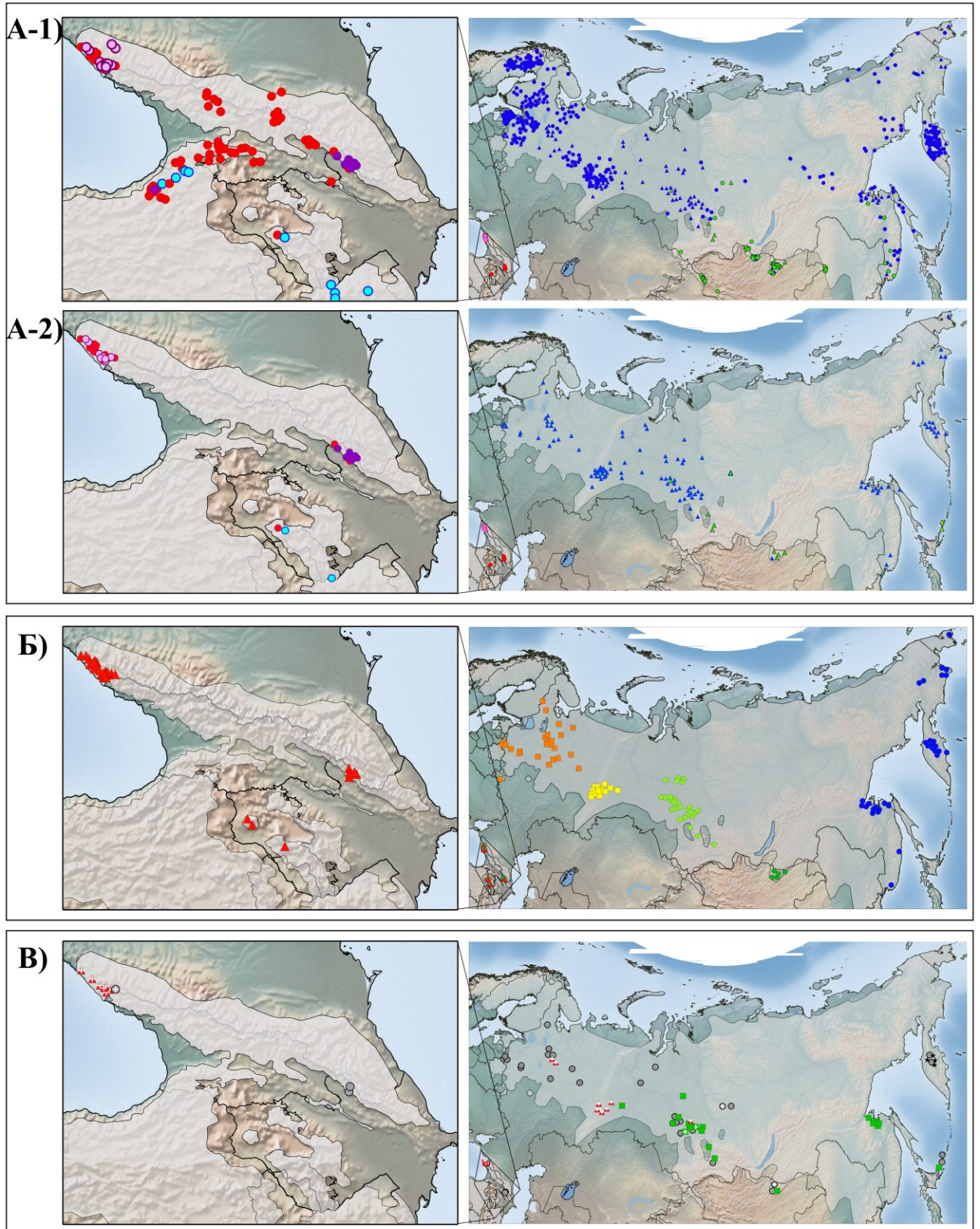


Рисунок 6.1. Карты происхождения образцов бурого медведя, принадлежащих к выявленным генетическим кластерам, на основании анализа трех использованных генетических маркеров. А) мтДНК; А-1 – обобщенные данные, включающие результаты данной работы и литературные данные; А-2 – только образцы, включенные в данную работу; Б) аутосомные микросателлитные локусы; В) Y-хромосомные микросателлитные локусы. Цветовые обозначения соответствуют таковым на Рисунках 4.14, 6.4 и 5.7.

6.1.1 Генетическое своеобразие медведей Кавказа

Все три использованных в данной работе генетических маркера указывают на своеобразие генетических линий медведей Кавказа.

Согласно анализу аутосомных микросателлитных локусов, Кавказский кластер выделяется в составе исследуемой выборки первым, и сохраняется по мере увеличения количества предполагаемых кластеров и соответствующего разделения остальных образцов. В рамках данной работы нам не удалось выявить внутренней структуры в составе этого кластера.

Отличие медведей Кавказа согласно анализу мтДНК выражается иначе: медведи этого региона не формируют единой генетической группы, а, напротив принадлежат к трем митохондриальным кладам, уникальным для Кавказского и Ближневосточного регионов. Ни одна из этих клад не выявлена среди медведей из других частей ареала. И наоборот, среди медведей с Кавказа не было выявлено представителей митохондриальной клады За, преобладающей среди медведей материковой части Евразии.

При анализе Y-хромосомных микросателлитных локусов своеобразие медведей Кавказа проявляется в преобладании в составе исследованной выборки Y-хромосомной гаплогруппы II, все представители которой, к тому же, имеют более редкий аллель Y-хромосомного SNP Y-579-1.B (G).

Как уже отмечалось, генетическая обособленность медведей Кавказа согласно анализу аутосомных микросателлитных локусов хорошо согласуется с данными о недавней динамике ареала вида [Вайсфельд и др., 2008; Гептнер и др., 1967]. Совокупность данных мтДНК и аутосомных микросателлитных локусов указывает на древность происхождения и уникальную историю медведей Кавказа, а также на изоляцию современной популяции с севера. Однако существование Y-хромосомной гаплогруппы, объединяющей медведей Кавказа и Урала, дополняет эту картину: это указывает на возможность исторической связи популяции Кавказа с более северными частями ареала посредством исключительно или преимущественно миграции самцов, либо на некоторую общность происхождения современных медведей Кавказа и Урала.

Анализ мтДНК указывает на существование плотной связи медведей Кавказа с медведями Ближнего Востока. Поскольку мтДНК имеет относительно небольшую скорость изменения, можно предположить, что это результат исторических событий. Современные отношения между медведями Кавказа и Ближнего Востока могут быть прояснены с использованием более изменчивых генетических маркеров. В рамках данной работы мы не можем исследовать этот вопрос, поскольку в нашей выборке отсутствуют медведи с Ближнего Востока, а прямое

сопоставление результатов анализа микросателлитных локусов между лабораториями невозможно. Однако интересно, что в работе [Ashrafzadeh et al., 2018] была показана изоляция медведей Арасбарана – области Ирана, непосредственно примыкающей к границе с Арменией и Азербайджаном – от медведей других частей Ирана. Эта находка указывает на вероятное ограничение потока генов между медведями Малого Кавказа и медведями Ирана. Наличие таких барьеров расселения может накладывать отпечаток и на наблюдаемое распределение материнских линий, осложняя его трактовку.

6.1.2 Существование долготной структуры в составе материковой популяции бурых медведей Евразии

Результаты анализа всех трех использованных генетических маркеров указывают на существование различий между более западными и более восточными частями материковой евразийской популяции бурого медведя, а именно между медведями Урала и Сибири.

На территории севера и запада материковой Евразии (за исключением центральной и западной частей Европы) выявлены только бурые медведи, принадлежащие к митохондриальной кладе 3a. Однако в Юго-Восточной Сибири, Западной Сибири и на Дальнем Востоке России встречаются также представители митохондриальной клады 3b, при этом представители клады 3b не выявлены на Урале и к западу от него.

Анализ аутомсомных микросателлитных локусов также указывает на существование разделения между медведями Урала и Сибири: медведи Урала и Европейской части России объединяются в Западный генетический кластер, а медведи Сибири принадлежат к отдельному Центральному кластеру. При этом, несмотря на показанное влияние изоляции расстоянием, различия между особями Урала и Западной Сибири выглядят более выраженными, чем можно было бы ожидать, исходя только из географических дистанций. Географическое расстояние, разделяющее включенные в исследование образцы с Урала и из Сибири, гораздо меньше, чем разделяющее образцы из Сибири и с Дальнего Востока: ≈ 1490 (756-2292) км и ≈ 4130 (2651-5400) км, соответственно. При этом генетические дистанции, разделяющие этих особей, примерно одинаковы (Таблица 6.1).

Таблица 6.1. Генетические дистанции между бурыми медведями из различных частей евразийского ареала на основании анализа 10 аутосомных микросателлитных локусов. Под диагональю – дистанции F_{st} , над диагональю – среднее число попарных различий. Все значения статистически достоверны.

	Европейская часть России	Урал	Сибирь	Дальний Восток
Европейская часть России		0,123	0,287	0,403
Урал	0,02		0,203	0,432
Сибирь	0,044	0,032		0,227
Дальний Восток	0,061	0,066	0,035	

Также показательны результаты Байесовской кластеризации с менее чувствительным алгоритмом, при котором вся исследуемая выборка разделяется на три кластера (аналоги Кавказского, Западного и Восточного, см. раздел 3.1.2.2). Наиболее резкое изменение долей особей, относящихся к Западному и Восточному кластерам, происходит при переходе от Уральской группировки к Западносибирской (Рисунок 6.2-А)

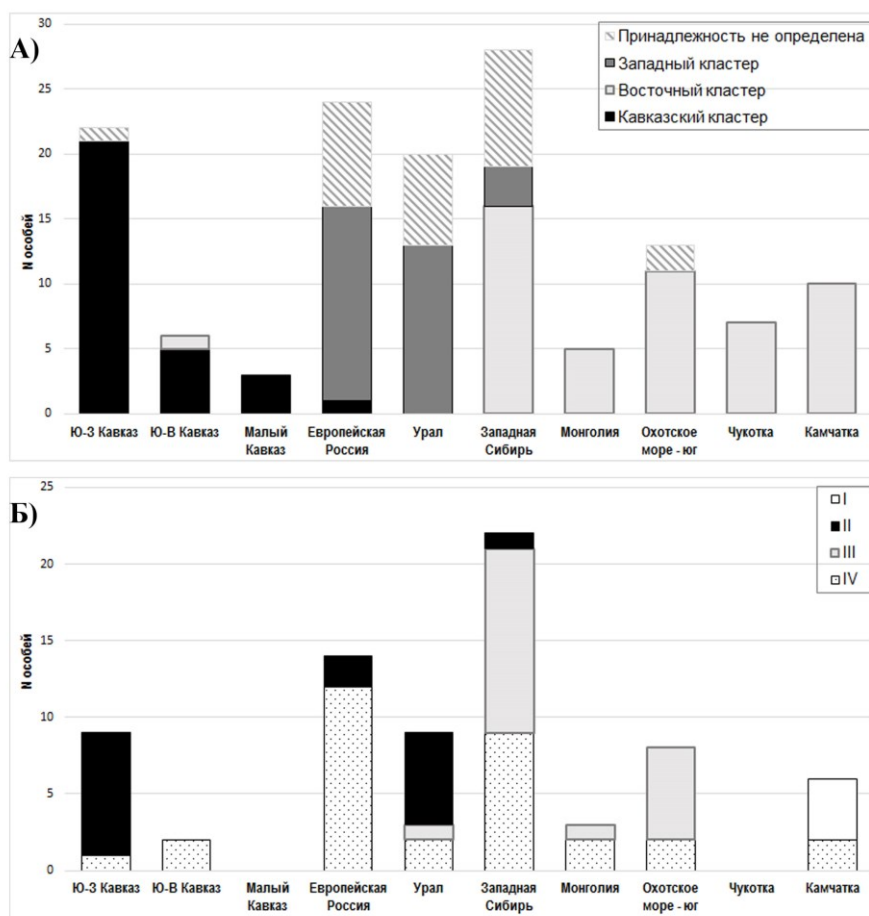


Рисунок 6.2. Количество особей бурого медведя из разных регионов, принадлежащих к А) трем генетическим кластерам на основании анализа в программе *Structure* без опции *Locprior*; Б) четырем гаплогруппам на основании анализа Y-хромосомных микросателлитных локусов.

Что касается Y-хромосомных микросателлитных локусов, то они также косвенно указывают на разделение между медведями Урала и Сибири. В данном случае представители этих регионов не формируют отдельных генетических кластеров, однако частота встречаемости Y-хромосомной гаплогруппы III резко падает именно при переходе между этими регионами: она выявлена у 53% медведей из Сибири и только у 11% медведей Урала (Рисунок 6.2-Б, см. Таблица 5.7).

В одной из наиболее недавних работ, посвященных генетической структуре бурого медведя, авторы описывают существование разрыва между уральскими (и западнее) и сибирскими (и восточнее) медведями, опираясь на данные полногеномного анализа [Jong de et al., 2023]. Мы считаем, что данные авторов этой работы подтверждают наши выводы, и можно предположить несколько возможных объяснений для существования таких различий.

В нашем исследовании представлены медведи с Урала (самый восточный образец с координатой $68,9^\circ$ восточной долготы (ВД), все остальные расположены на долготе $58,2^\circ$ ВД и западнее) и из Сибири (образцы с координатами $77,3^\circ$ ВД и восточнее). В разделяющей эти локалитеты зоне, не представленной в данной работе, проходит русло реки Обь.

Также интересно, что в двух исследованиях изменчивости аутосомных микросателлитных локусов евразийской рыси разделение выборки на генетические кластеры также проходило примерно в этом регионе (Рисунок 6.3). К сожалению, как в случае бурого медведя в данной работе, так и в случае рыси в работах других исследователей изучаемые образцы распределены по ареалу неравномерно, и полностью отбрасывать влияние состава выборки невозможно. Однако на данном этапе полученные сведения указывают на существование в Западной Сибири некой области, функционирующей как барьер расселения для крупных хищников.

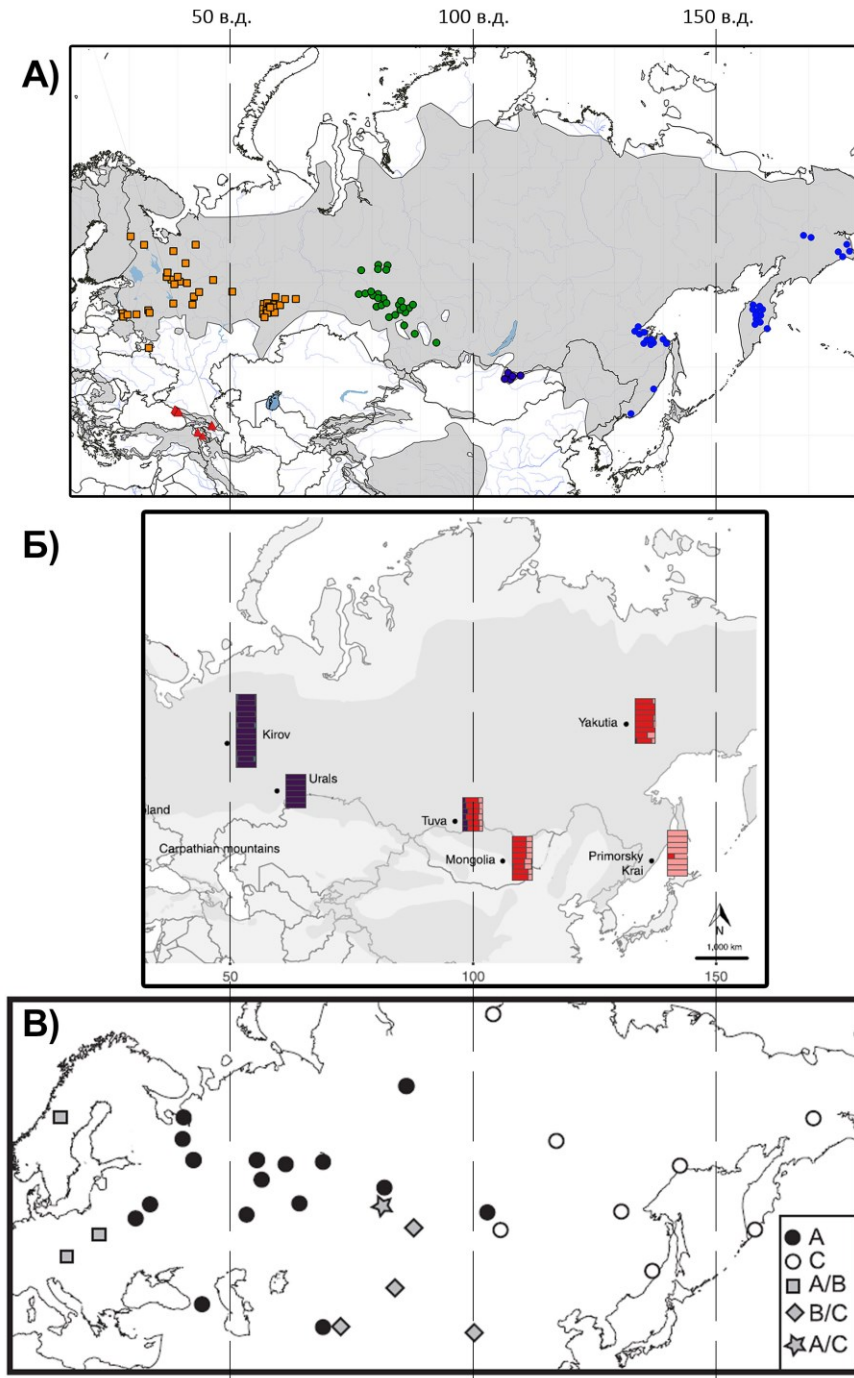


Рисунок 6.3. Сравнение выявленных генетических кластеров: А) бурого медведя, данная работа, принадлежность к генетическим кластерам на основании микросателлитной изменчивости показана цветом и формой значков; Б) евразийской рыси, [Lucena-Perez et al., 2020], принадлежность образцов к генетическим кластерам на основании ядерной ДНК показаны цветом вертикальных гистограмм; В) евразийской рыси, [Rueness et al., 2014], принадлежность к генетическим кластерам на основании микросателлитной изменчивости показана цветом и формой значков. Рисунки Б) и В) взяты из соответствующих статей с некоторыми изменениями.

Фактором, вносящим вклад в отделение медведей, обитающих на Урале и западнее, от медведей, обитающих в Сибири и восточнее, может быть различный уровень антропогенного влияния на среду обитания в разных регионах России. На Рисунке 6.4 приведены генетические кластеры, выявленные нами при анализе аутомных микросателлитных локусов, наложенные

на карту автомобильных и железных дорог России. Можно увидеть, какая огромная разница в плотности антропогенных элементов между Европейской частью России и Уралом и восточными регионами. В некоторых исследованиях было показано, что присутствие человека вносит наибольший вклад в формирование барьеров для перемещения бурых медведей [Ashrafzadeh et al., 2018; Kendall et al., 2009; Proctor et al., 2012]. Можно предположить, что в наиболее восточных регионах страны, где плотность населенных пунктов и соединяющих их дорог минимальна, медведи имеют минимальные ограничения по передвижению и расселению. При этом наиболее плотная сеть дорог начинается как раз западнее места добычи включенных в наш анализ образцов из Сибири.

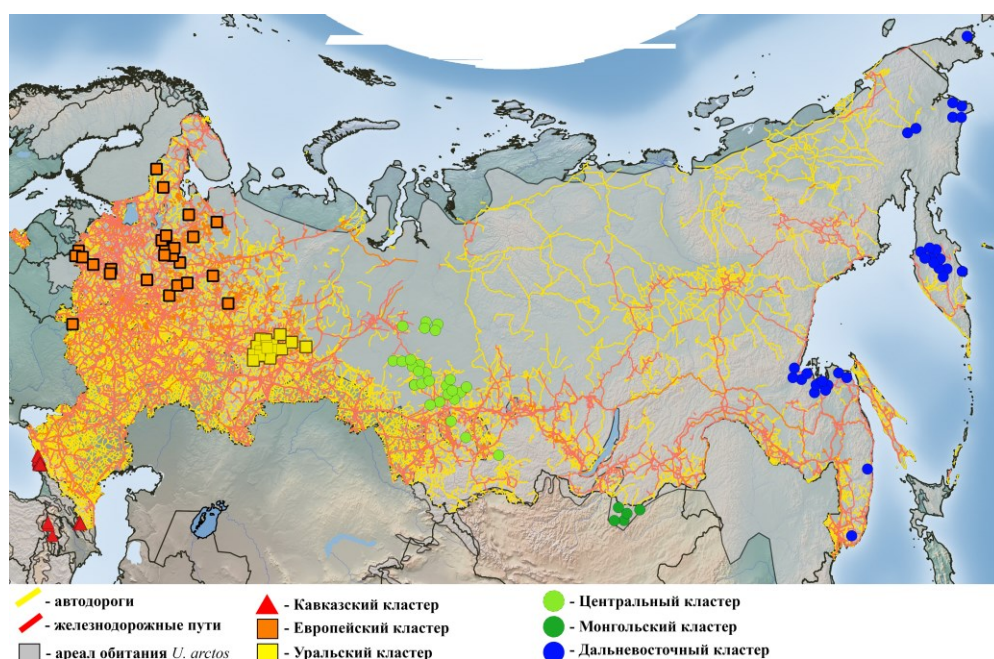


Рисунок 6.4. Сопоставление генетических кластеров бурого медведя (аутосомные микросателлитные локусы) и расположения дорог на территории Российской Федерации.

Различная плотность населения означает также и различное давление охоты, однако влияние данного фактора на популяции бурого медведя более сложно. На примере медведей Швеции было показано, что изъятие зверей охотниками приводит, с одной стороны, к нарушению тонкой генетической структуры популяции на уровне семей, поскольку выжившие звери занимают участки убитых, с другой стороны – к уменьшению дальности дисперсии самок [Frank, 2017]. При этом уменьшения дальности дисперсии самцов не наблюдалось, более того, увеличивалась доля успешно размножавшихся самцов-мигрантов. Если эти данные можно экстраполировать на все равнинные участки ареала медведя, то фактор охоты также вносит существенные различия в условия обитания медведей запада и востока Евразии. Можно предположить, что медведи, населяющие малонаселенные районы Сибири и Дальнего Востока, формируют более «естественные» популяции, в которых влияние человека на генетическую

структуру минимально. Медведи же Европейской части России и Урала формируют популяцию, которая под действием человека является парадоксально одновременно фрагментированной, с более оседлыми самками, и подвергающейся постоянному искусственному перемешиванию за счет изъятия особей охотниками. К сожалению, имеющаяся в нашем распоряжении выборка не позволяет более подробно исследовать генетическую структуру медведей каждого из регионов отдельно. В работах, посвященных западной части протяженной континентальной популяции медведей Евразии, действительно удалось показать существование нескольких генетических кластеров [Koratz et al., 2014; Tammeleht et al., 2010]. Несмотря на то, что их ареал достаточно сильно перекрывается, а также было выявлено много особей, являющихся гибридами между этими генетическими кластерами, уровень генетических различий между ними остаётся достаточно значимым. Предполагается, что на западе Европейской части России может существовать мозаика генетических кластеров, лишь часть из которых была представлена в исследовании. Однако для восточной части ареала данных с сопоставимым уровнем подробности на настоящий момент не опубликовано.

Однако антропогенный фактор является значительной силой только на протяжении последних сотен лет, и может служить объяснением для структуры, выявленной на основе быстро эволюционирующих генетических маркеров, таких как аутосомные микросателлитные локусы. Формирование же филогеографической структуры мтДНК происходит достаточно медленно и предполагается, что наблюдаемая структура отражает события, происходившие десятки или сотни тысяч лет назад. Поэтому отсутствие на Европейской части России и на Урале представителей клады 3b не может объясняться таким же образом.

Другим фактором может быть неравномерная пригодность среды для обитания и расселения медведей. Как уже упоминалось, предполагаемая граница генетических кластеров расположена в районе реки Обь и Обской низменности, известной болотистыми биотопами и труднопроходимостью. Заболоченность и повышенная влажность Обской низменности может вносить вклад в ограничение расселения бурого медведя через этот регион, создавая проницаемый барьер в составе континуального ареала вида.

Для серого волка было показано, что генетические кластеры, выявленные на основании анализа микросателлитных локусов и SNP, часто определяются в большей степени переходами между типами вегетации [Carmichael et al., 2007; Musiani et al., 2007; Pilot et al., 2006; Schweizer et al., 2016] или биогеографической структурой континента [Geffen, Anderson, Wayne, 2004], чем непосредственно изоляцией расстоянием, хотя последняя всегда является статистически

значимой. Аналогично было показано, что в формирование крупных генетических кластеров красной рыси влияет количество осадков и разделение на экорегионы [Reding et al., 2012].

В более древние периоды (во времена ранневалдайского и средне-вейхсельского оледенений, а также последнего ледникового максимума) в районе нынешнего русла Оби располагались ледниковые озера и стоки ледниковых рек [Mangerud, 2004]. В этот же период предки нынешних медведей из митохондриальной клады 3а, видимо, появляются в Европе, а также происходит оформление клад «Кавказ-1» и «Кавказ-2». Если предполагать, что зона нынешнего русла Оби была очень обводнена и мало подходила для расселения, то вероятно, что медведи расселялись на запад по более южным территориям. Основная радиация региональных ветвей в составе клады 3а реконструируется в период карагинского межледниковья, когда отсутствие ледниковой массы на севере Зауралья должно было снизить интенсивность потока воды через современное русло Оби. Возможно, предки ветви 3а+«Кавказ-1»+«Кавказ-2» населяли в тот период более западную часть Евразии и расселялись преимущественно на юго-запад, а предки клады 3б обитали восточнее и расселялись преимущественно в восточном направлении.

Аналогичное объяснение можно предложить и для распределения Y-хромосомных гаплогрупп бурого медведя, где в роли аналога митохондриальной клады 3б будет выступать гаплогруппа III, а в роли комплекса из клады 3а и кавказских клад – сборная гаплогруппа IV.

Выявленные различия между медведями, обитающими по разные стороны Обской низменности, могут быть результатом комплексного действия исторических, географических и антропогенных элементов, однако для выявления конкретных действующих факторов в настоящее время недостаточно данных.

6.1.3 Генетическая структура медведей Камчатки

В рамках данной работы были получены данные об изменчивости трех используемых генетических маркеров для относительно небольшой выборки медведей Камчатки.

Изменчивость отцовских и материнских генетических линий демонстрирует сходный паттерн (Рисунок 6.5.). В обоих случаях наблюдается разделение выборки на две основные категории: часть особей несет генетические линии, близкие к распространенным на материковой части ареала, а другая часть – линии, отличающиеся от материковых.

Все исследованные на настоящий момент медведи с Камчатки являются представителями митохондриальной клады 3а. Анализ полного митохондриального генома [Anijalg et al., 2018] позволил выделить в составе популяции медведей Камчатки представителей трех ветвей: двух

уникальных камчатских (Восточная Камчатская и Западная Камчатская) и одной континентальной, распространенной на материке.

В нашей работе использование фрагмента мтДНК длиной 1843 п.н. позволяет выделить в составе клады 3а ветвь гаплотипов с Камчатки (см. Рисунок 4.3), но статистической поддержки она не имеет (см. Рисунок 4.5). Из-за недостоверности выделения этой ветви на филогенетическом дереве, а также поскольку она имеет более низкий иерархический уровень, чем «большие» митохондриальные клады, она не отражена на рисунках, иллюстрирующих распространение клад мтДНК, и не обсуждается в главе 4.2.2. Однако использование последовательностей, описываемых [Anijalg et al., 2018], позволило нам подтвердить, что наши данные о структуре материнских линий медведей Камчатки соответствуют результатам анализа полного митогенома.

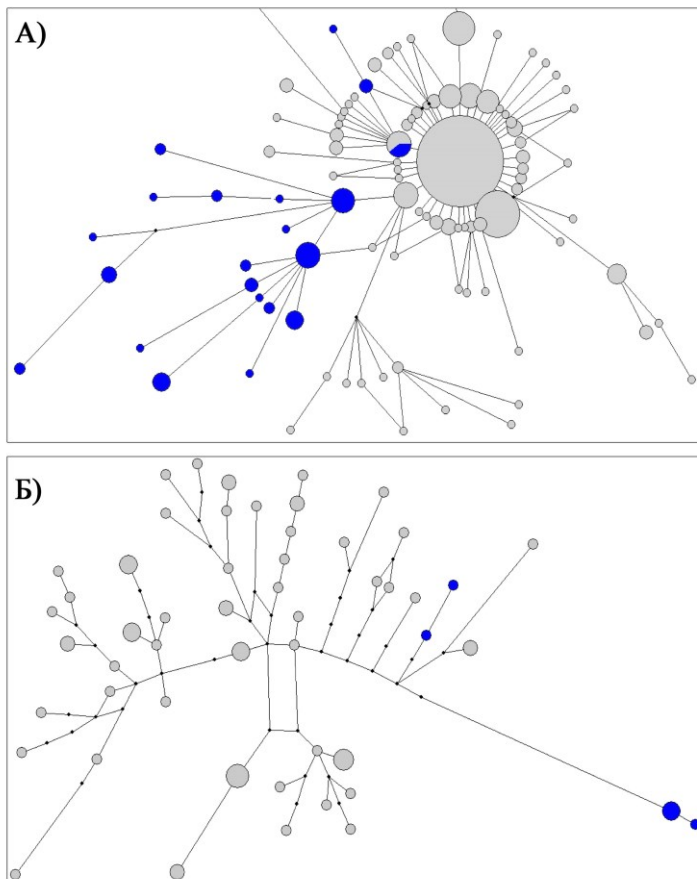


Рисунок 6.5. Медианные сети гаплотипов, полученные на основании анализа конкатенатного фрагмента мтДНК длиной 1849 п.н. (А) и 8 Y-хромосомных микросателлитных локусов (Б). Отмечены только бурые медведи с Камчатки.

Y-хромосомные микросателлитные локусы медведей Камчатки также включают некоторое количество (одну или несколько гаплогрупп, см. главу 5.2.1) уникальных генетических линий, значительно отличающихся от генетических линий медведей из других регионов, наряду с отцовскими генетическими линиями, сходными с линиями медведей континента.

Несмотря на то, что эволюция материнских и отцовских линий может идти несколько по-разному, а итоговая филогеографическая структура подвержена значительному влиянию половых особенностей расселения, все же в основе и той, и другой структуры лежат реальные исторические процессы формирования популяций. Так, сценарий, предполагающий волны заселения и стадии переживания, обычно включает в себя представителей обоих полов. Можно предполагать, что наблюдаемые параллели в структуре генетической изменчивости Y-хромосомных маркеров и мтДНК являются отражением одних и тех же событий.

Время существования последнего общего предка камчатских ветвей митохондриальной клады 3а оценивается в работе [Anijalg et al., 2018] в 27 (19-36) т.л.н., а время отделения ветви, объединяющей камчатские и аляскинскую ветви – в 37 (27-48) т.л.н.. Поскольку в период примерно с 30 до 25 т.л.н. на Камчатке предполагается период отступления массивного оледенения [Barr, Solomina, 2014], П. Анъялг предполагает, что именно в этот период произошло первое заселение Камчатки предками нынешних камчатских медведей, несущих уникальные камчатские материнские линии. Заселение же полуострова медведями, несшими континентальную ветвь мтДНК, произошло позже.

Если скорость эволюции Y-хромосомных микросателлитных локусов сопоставима со скоростью изменения мтДНК, то логично предположить, что в составе первой волны колонизации медведями Камчатки были предки камчатских современных отцовских линий (гаплогруппа I в нашей работе, гаплотипы BR.2 в работах [Bidon et al., 2014; Hirata et al., 2017]).

Основное различие между генетическими структурами, полученными для мтДНК и Y-хромосомных локусов, касается уровня выделения уникальных камчатских гаплотипов. Согласно Y-хромосомным маркерам, камчатские линии являются наиболее отличающимися в масштабе вида в целом, тогда как согласно мтДНК они оказываются одной из небольших и молодых ветвей.

Интересно, что существование камчатских и материковых линий для мтДНК и Y-хромосомных маркеров не противоречит отсутствию значительных различий между медведями Камчатки и континента согласно аутосомным микросателлитным локусам. Поскольку ни мтДНК, ни Y-хромосома не рекомбинируют, разные, даже сильно отличающиеся, генетические линии могут сосуществовать в составе единой популяции, не размываясь и не смешиваясь между собой. Аутосомные же микросателлитные локусы отражают степень связанности популяций, со временем буквально гомогенизируясь за счет рекомбинации. Отсутствие разделения между медведями полуострова и континента согласно анализу аутосомных локусов может показывать, что существующее количество мигрантов на поколение достаточно, чтобы обеспечить

генетическую общность, при этом не вытесняя уникальные камчатские генетические линии мтДНК и Y-хромосомы.

6.2 Сопоставление уровней генетического разнообразия медведей разных регионов

Показатели генетического разнообразия бурых медведей из различных регионов, включенных в исследование, приведены в Таблице 6.2, часть из них также отображена на Рисунке 6.6.

Показатели гетерозиготности аутомсомных микросателлитных локусов у медведей из различных регионов различаются незначительно, демонстрируя высокий для вида уровень. Уровни разнообразия Y-хромосомных микросателлитных локусов также мало отличаются для медведей из различных регионов. Единственным отличающимся регионом можно назвать Камчатку, медведи которой имеют несколько пониженное разнообразие отцовских линий. Наиболее значительную вариабельность демонстрируют уровни разнообразия митохондриальной ДНК.

Таблица 6.2. Показатели генетического разнообразия исследуемых выборок образцов по используемым генетическим маркерам.

Регион	Y-хромосомные микросателлитные локусы			мтДНК				Аутомсомные микросат. локусы	
	Na	MPD	Hd	π (552 п.н.)	π (570 п.н.)	h (552 п.н.)	h (570 п.н.)	Ho	He
Ю-З Кавказ	2 ± 0,189	2,64 ± 1,55	0,329 ± 0,22	0,0155 ± 0,0083	0,0173 ± 0,0092	0,801 ± 0,069	0,892 ± 0,055	0,755	0,748
Ю-В Кавказ				0,0218 ± 0,012	0,0247 ± 0,0135	0,894 ± 0,063	0,909 ± 0,065	0,783	0,722
Европейская Россия	3,5 ± 0,627	3,99 ± 2,12	0,499 ± 0,298	0,0008 ± 0,0008	0,0045 ± 0,0028	0,414 ± 0,124	0,738 ± 0,081	0,816	0,802
Урал	2,25 ± 0,313	3,42 ± 1,93	0,427 ± 0,273	0,0009 ± 0,0009	0,0038 ± 0,0024	0,318 ± 0,11	0,759 ± 0,066	0,757	0,796
Западная Сибирь	3,375 ± 0,596	3,86 ± 2,01	0,482 ± 0,281	0,007 ± 0,004	0,0105 ± 0,0057	0,656 ± 0,088	0,949 ± 0,02	0,789	0,823
Монголия				0,0058 ± 0,0042	0,0067 ± 0,0047	0,4 ± 0,237	0,7 ± 0,218	0,79	0,82
Охотское море - юг	2,375 ± 0,375	3,25 ± 1,87	0,406 ± 0,266	0,0032 ± 0,0023	0,0063 ± 0,0039	0,844 ± 0,08	0,911 ± 0,077	0,767	0,786
Чукотка				0,0005 ± 0,0007	0,001 ± 0,0011	0,286 ± 0,196	0,524 ± 0,209	0,857	0,728
Камчатка	1,625 ± 0,263	2,13 ± 1,37	0,267 ± 0,198	0,0032 ± 0,0023	0,0052 ± 0,0033	0,818 ± 0,083	0,946 ± 0,066	0,791	0,732

Уровень гаплотипического разнообразия при анализе фрагмента КР длиной 570 п.н. оказывается сниженным у медведей Чукотки, и также Европейской России, Урала и Северной Монголии. Еще более выраженным это снижение оказывается при исключении гипервариабельного участка СТ-политракта. Уровень нуклеотидного разнообразия также

демонстрирует резкое снижение в этих регионах, за исключением Монголии, где совместно обитают представители клад 3а и 3б.

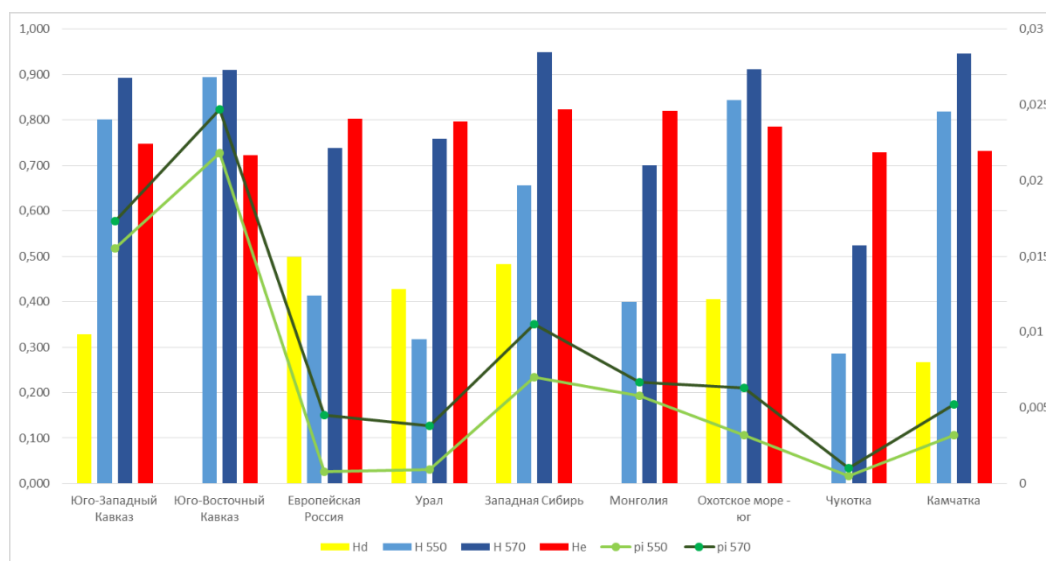


Рисунок 6.6. Уровни генетической изменчивости бурых медведей из различных регионов, включенных в анализ, согласно анализу трех использованных генетических маркеров.

Примечательно, что эти регионы демонстрируют снижение уровня разнообразия только материнских линий, но не отцовских и не уровня гетерозиготности. Можно предположить, что поддержание разнообразия отцовских линий осуществляется за счет расселения самцов, а то время как ассоциированные с более филопатричными самками материнские линии все еще несут следы недавнего формирования популяций Европейской России, Урала и Чукотки.

6.3 Сопоставление подвидовой и генетической структуры бурого медведя

Бурый медведь является одним из тех видов, для которых подвидовая структура вида не соответствует его генетической структуре. При этом отдельные подвиды, выделенные на основании морфологических признаков, могут в той или иной мере поддерживаться либо ядерными, либо митохондриальными маркерами.

Для бурого медведя Северной Америки нет единой устоявшейся подвидовой структуры, однако существует два примечательных региона.

Во-первых, это медведи архипелага Александра, которые никогда не выделялись в отдельный подвид, и даже при наиболее дробном делении объединялись в подвид *U.a. sitkensis* с медведями прилегающих частей побережья [Hall, 1984]. В других вариантах подвидового разделения медведи архипелага Александра объединялись с материковыми медведями (Kurten, 1973, цит. по [Talbot, Shields, 1996; Барышников, 2007]); [Rausch, 1963]. При этом согласно изменчивости мтДНК, медведи архипелага Александра выделяются, поскольку несут

митохондриальную кладу 2а, в то время как все остальные медведи североамериканского континента, включая прилежащие к архипелагу части побережья, несут только клады 3а, 3б или 4 [Shields et al., 2000; Talbot, Shields, 1996; Waits et al., 1998a, 1998b]. В противовес мтДНК, ядерные локусы показывают связь медведей архипелага Александра с медведями побережья, и предполагается, что между островами и материком поддерживается поток генов за счет миграции самцов [Jong de et al., 2023; Paetkau, Shields, Strobeck, 1998]. Таким образом, объединение медведей архипелага Александра в единый подвид с медведями прилегающих регионов континента поддерживается ядерными локусами, но прямо противоречит мтДНК.

Во-вторых, примечателен случай медведей архипелага Кадьяк, где ситуация в некотором смысле зеркальна ситуации медведей архипелага Александра. Очень крупные медведи, обитающие на архипелаге Кадьяк, единогласно выделяются в отдельный подвид *U.a. middendorffi* (Kurten, 1973, цит. по [Talbot, Shields, 1996; Барышников, 2007]); [Hall, 1984; Rausch, 1963]. При этом согласно анализу мтДНК, медведи этого архипелага входят в состав митохондриальной клады 3а, не формируя отдельных ветвей [Talbot et al., 2006]. Анализ же ядерных локусов указывает на полную изоляцию медведей архипелага Кадьяк от медведей материка вкупе с крайне низким уровнем генетического разнообразия и гетерозиготности [Paetkau, Shields, Strobeck, 1998; Talbot et al., 2006]. То есть, выделение кадьякского медведя в отдельный подвид также поддерживается ядерными локусами, но прямо противоречит мтДНК.

Для медведей Евразии существование устоявшейся подвидовой классификации позволяет рассмотреть картину в масштабе континента более предметно (Таблица 6.3).

Анализ ядерных маркеров, как правило, проводится для небольших изолированных популяций [Ashrafzadeh et al., 2018; Gonzalez et al., 2016; Lorenzini et al., 2004; Matosiuk et al., 2019; Pérez et al., 2010; Straka et al., 2012; Tumendemberel et al., 2015], либо для выбранных частей более протяженного ареала [Fedorca et al., 2019; Graban et al., 2013; Hagen et al., 2015; Karamanlidis et al., 2012; Lewis, Pyare, Hundertmark, 2015; Murtskhvaladze, Gavashelishvili, Tarkhnishvili, 2010; Schregel et al., 2012; Skrbinšek et al., 2012; Tammeleht et al., 2010; Śmietana и др., 2014; Waits et al., 2000]. Настоящая работа является одним из немногих исследований, включающих особей из нескольких значительно удаленных частей ареала [Jong de et al., 2023; Pylidis et al., 2021; Tumendemberel et al., 2019].

Сопоставление генетической структуры, полученной для аутосомных микросателлитных локусов, с подвидовой структурой медведей Евразии показывает отсутствие прямого соответствия (Рисунок 6.7). Выделение Кавказского кластера соответствует разделению медведей подвида *U.a. caucasicus* и номинативного *U.a. arctos*. При этом образцы тканей из

Армении, где предполагается северная граница ареала подвида *U.a. syriacus*, не сформировали отдельного генетического кластера (Рисунок 3.2).

Также не наблюдается прямого соответствия между подвидовым делением и генетическими кластерами бурых медведей основной материковой популяции Евразии. Включенные в исследование медведи из Сибири происходили с территории, медведей которой относят к подвиду *U.a. arctos*, так же как медведей Урала и Европейской части России, однако согласно нашим результатам, они принадлежат к разным микросателлитным генетическим кластерам.

Нам не удалось выявить четкой генетической структуры среди медведей побережья Охотского моря, Чукотки и Камчатки, хотя полученные результаты и позволяют предположить, что она может быть выявлена при проведении более подробного исследования этого региона (Рисунок 3.2). Однако на данный момент мы не можем сказать, что полученные нами данные соответствуют подвидовому делению медведей Дальнего Востока.

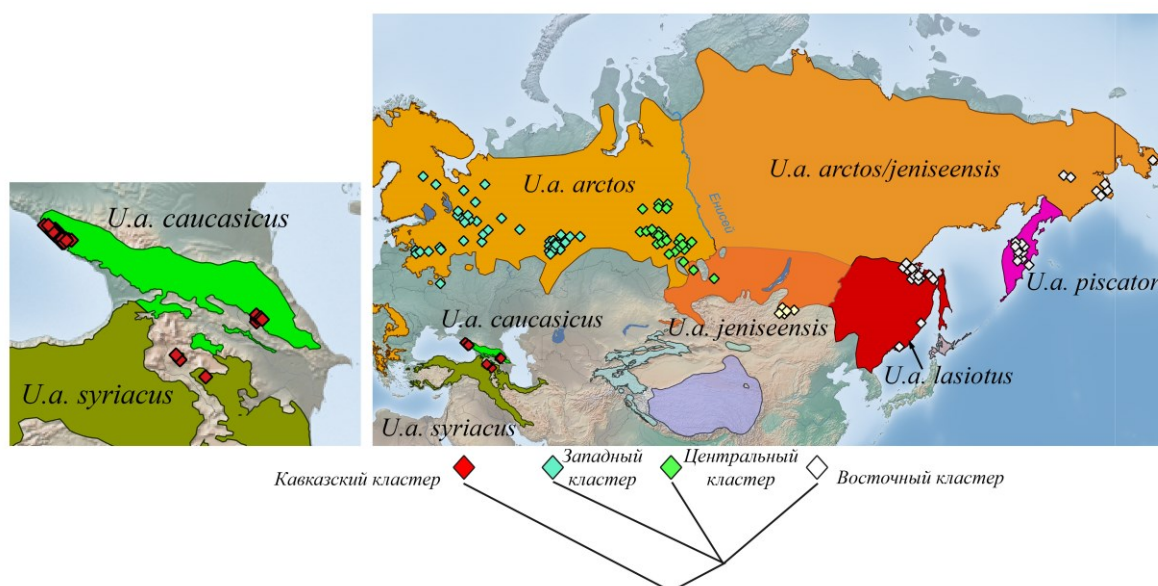


Рисунок 6.7. Карта распространения подвидов бурого медведя на территории Евразии по литературным данным (см. Рисунок 1.3) с наложенными локалитетами происхождения образцов, использованных в данной работе для анализа аутомных микросателлитных локусов, и их принадлежностью к выявленным генетическим кластерам.

В работе [Tumendemberel et al., 2019] авторы выявили большие генетические дистанции, отделяющие медведей Гоби (*U.a. gobiensis*) и южной части Гималаев (*U.a. isabellinus*) друг от друга и от медведей Алтая (*U.a. jeniseensis*). Это в совокупности с полученными нами данными позволяет сказать, что при анализе аутомных микросателлитных локусов наиболее полное соответствие между генетическими кластерами и подвидами наблюдается в тех случаях, когда присутствует разрыв ареала, разделяющий зоны обитания подвидов. В тех же случаях, когда

подвиды выделяются в составе континуального ареала, как, например, подвиды *U.a. arctos* и *U.a. lasiotus* или *U.a. jenseiensis*, генетическая структура не совпадает с подвидовым делением. При этом существует и пример разрыва ареала, где обе части считаются принадлежащими к одному и тому же подвиду (*U.a. arctos*), но демонстрируют высокие генетические дистанции в силу ограниченного потока генов – это медведи Рило-Родопского и Динарского горных массивов в работе [Pyliadis et al., 2021].

Как уже было отмечено выше, распространение генетических кластеров, полученных нами при анализе Y-хромосомных микросателлитных локусов, в большей степени соответствует таковому для аутосомных микросателлитных локусов. На Рисунке 6.8 показано, как соотносятся выявленные нами гаплогруппы Y-хромосомных микросателлитных локусов с подвидовой структурой бурого медведя. Как и для аутосомных микросателлитных локусов, медведи из Сибири отличаются от медведей Урала и Европейской России. Как и в случае с аутосомными микросателлитными локусами, медведей побережья Охотского моря, которые, как предполагается, принадлежат к подвиду *U.a. lasiotus*, не удается отделить от медведей Сибири (*U.a. arctos*/*U.a. jenseiensis*).

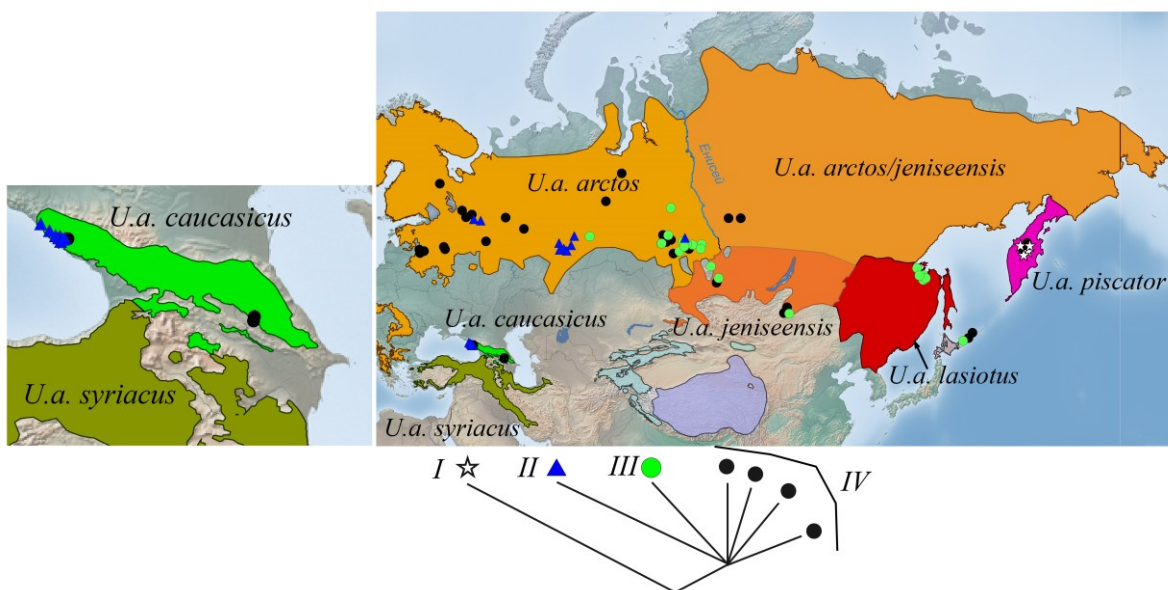


Рисунок 6.8. Карта распространения подвидов бурого медведя на территории Евразии по литературным данным (см. Рисунок 1.3) с наложенными локалитетами происхождения образцов, использованных в данной работе для анализа Y-хромосомных микросателлитных локусов, и их принадлежностью к выявленным гаплогруппам.

При этом Y-хромосомные микросателлитные локусы не поддерживают выделение подвида *U.a. caucasicus*, поскольку преобладающая в составе выборки с Кавказа гаплогруппа II (на Рисунке 6.8 показана синими треугольниками) объединяет медведей Кавказа с медведями Урала.

В отличие от аутосомных микросателлитных локусов, Y-хромосомные микросателлитные локусы указывают на своеобразие генетических линий медведей полуострова Камчатка (*U.a. piscator*). Однако, как уже обсуждалось выше, отцовские генетические линии и генетические линии мтДНК указывают на сосуществование на полуострове медведей более древней и более «свежей» волн заселения, что в совокупности с результатами анализа аутосомных микросателлитных локусов позволяет предположить обмен особями с континентом.

Анализ соотношения подвидовой структуры бурого медведя с филогеографической структурой мтДНК возможен на более обширном материале, поскольку возможно прямое объединение результатов работы многих исследователей.

На Рисунке 6.9 изображены ареалы подвидов бурого медведя в Евразии и распространение митохондриальных клад высокого уровня. Можно видеть, что единственным случаем, когда все проанализированные представители подвида принадлежат к одной кладе мтДНК является тибетский бурый медведь *U.a. pruinosus* (клада 5, Рисунок 6.9-А) [Lan et al., 2017; Masuda et al., 1998; Miller, Waits, Joyce, 2006; Tumendemberel et al., 2019].

Медведи двух других подвидов Средней Азии – *U.a. isabellinus* и *U.a. gobiensis* несут одну и ту же генетическую кладу 6 [Galbreath, Groves, Waits, 2007; Lan et al., 2017; Masuda et al., 1998; McCarthy, Waits, Mijiddorj, 2009; Miller, Waits, Joyce, 2006; Tumendemberel et al., 2019].

Для других подвидов, обитающих на территории Евразии, также не наблюдается прямого соответствия между подвидовым статусом и линиями мтДНК. Медведи Апеннинских гор, которых выделяют в отдельный подвид *U.a. marsicanus*, несут только митохондриальную кладу 1b, однако ее же несут медведи южной части Скандинавского полуострова, которых относят к подвиду *U.a. arctos*. Аналогично, все медведи Пиренеев (*U.a. pyrenaicus*) относятся к кладе 1a, однако ее же несет часть медведей Балканского полуострова - подвид *U.a. arctos* (Рисунок 6.9-Б).

Медведи Ближнего Востока, Кавказа и Закавказья принадлежат к двум подвидам (*U.a. caucasicus* и *U.a. syriacus*) и к пяти митохондриальным клadam – 1a, 1d, 7, «Кавказ-1» и «Кавказ-2» (Рисунок 6.9-В). При этом на данный момент все исследованные звери из Иранской части ареала *U.a. syriacus* несут митохондриальную кладу 7, в то время как на Турецкой части ареала выявлены представители клад 1a, 1d, 7 и «Кавказ-1». При рассмотрении медведей этого региона в целом выявляются определенные закономерности в распространении митохондриальных клад, однако они не соотносятся с разделением на подвиды *U.a. caucasicus* и *U.a. syriacus*. Медведей региона иногда рассматривают как единый подвид *U.a. syriacus* [Kitchener, 2010; Swenson et al., 2020], что с точки зрения структуры мтДНК лучше согласуется с обнаружением представителей

митохондриальных клад «Кавказ-1» и 7 в различных частях Ближнего Востока, Кавказа и Закавказья, однако существование трех других клад приходится оставить за скобками. Также необходимо отметить, что из пяти митохондриальных клад, выявленных среди медведей этого региона, только клада 1a выявлена у медведей из других частей ареала.

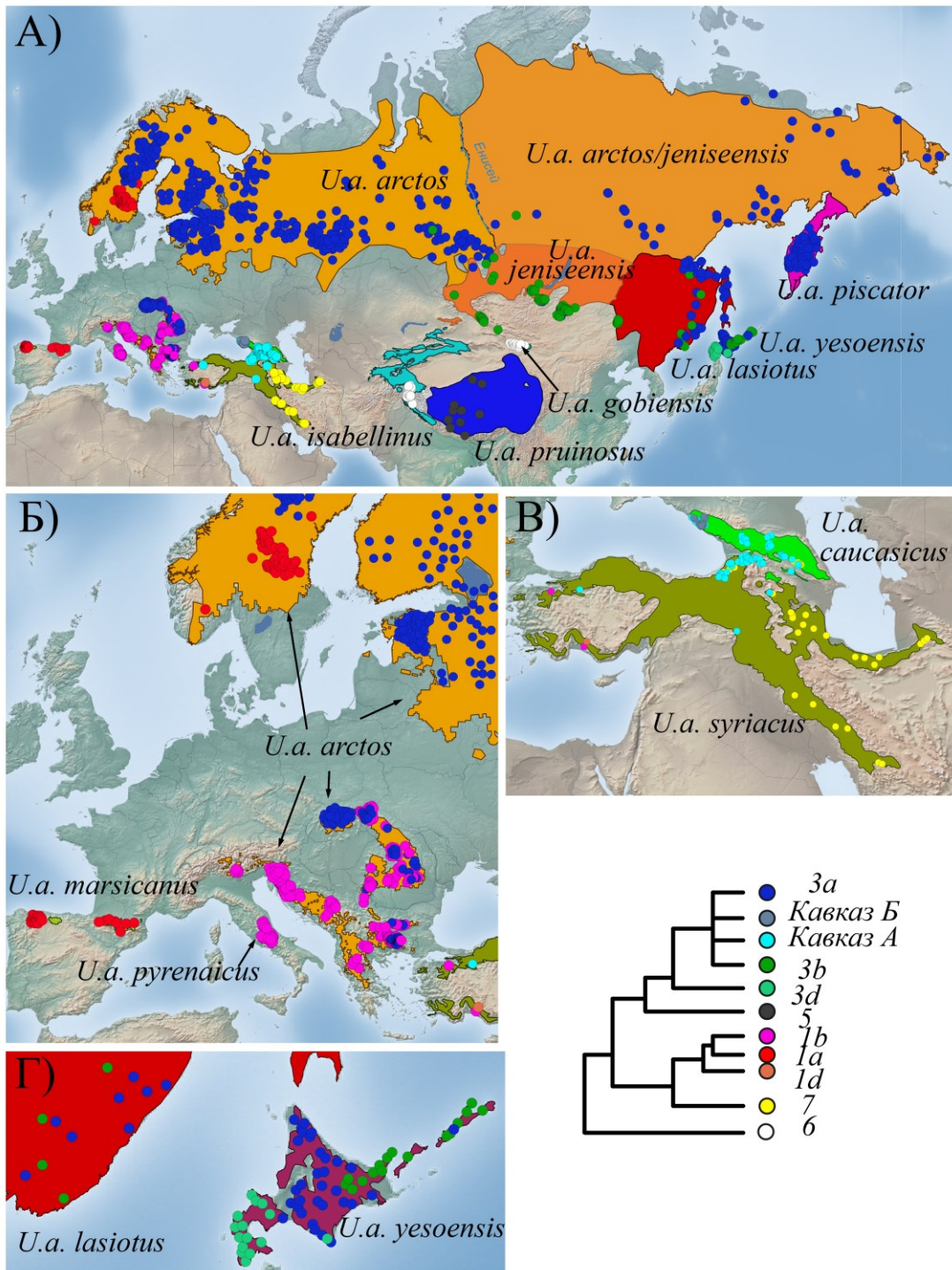


Рисунок 6.9. Карта распространения подвидов бурого медведя на территории Евразии по литературным данным (см. Рисунок 1.3) с наложенными локалитетами происхождения образцов, относящихся к различным митохондриальным кладам. На основании литературных данных и результатов данной работы.

Другим ярким примером выявления нескольких клад мтДНК на территории обитания одного подвида бурого медведя являются остров Хоккайдо и прилегающие острова Курильской гряды. Медведи этих островов относятся к подвиду *U.a. yesoensis*, но несут митохондриальные клады 3a, 3b и 3d (Рисунок 6.9-Г). Хотя в дальнейшем среди медведей о. Хоккайдо была описана краниологическая изменчивость, совпадающая с филогеографической структурой [Baryshnikov, Mano, Masuda, 2005; Барышников, Пузаченко, 2009], медведи Хоккайдо все же считаются единым подвидом.

Для медведей наиболее протяженной материковой части ареала сопоставление предполагаемых подвидовой и филогеографической структур осложняется, с одной стороны, недостатком данных молекулярного анализа, с другой – отсутствием физической изоляции медведей разных подвидов. Предполагаемые ареалы обитания разных подвидов условно ограничены горными цепями или реками, однако с большой вероятностью медведи прилегающих к «границе» регионов фактически составляют более или менее непрерывную популяцию. Также неясна подвидовая принадлежность медведей Сибири, поскольку они могут быть отнесены как к подвиду *U.a. jenseensis*, так и к номинативному *U.a. arctos* [Барышников, 2007; Гептнер и др., 1967; Чернявский, Кречмар, 2001]. Тем не менее, можно отметить отсутствие прямой связи между предполагаемым подвидовым статусом медведей и их митохондриальными линиями (Рисунок 6.9-А).

Номинативный подвид *U.a. arctos* в зоне своего минимального распространения (от западной границы европейского ареала до р. Енисей) представлен преимущественно кладой 3a, однако на западе ареала медведи несут также митохондриальные клады 1a и 1b, а на востоке начинают встречаться представители клады 3b. При этом, хотя и медведи Балкан, и медведи, к примеру, Европейской части России относятся к подвиду *U.a. arctos*, их филогеографические характеристики значительно различаются: медведи Балканского полуострова несут митохондриальные клады 1a и 3a либо только кладу 1a, в то время как медведи Европейской части России представлены только очень мономорфной кладой 3a. В «ядерной» части ареала *U.a. jenseensis* медведи преимущественно несут кладу 3b, причем представленную по меньшей мере двумя субкладами, однако также присутствуют и представители клады 3a (Рисунок 4.23, 4.25). Аналогично и в области обитания подвида *U.a. lasiotus* выявлены представители этих двух клад, хотя, насколько можно судить, кладу 3b представлена в этом регионе другой субкладой. Для территории от Енисея до восточного побережья материка данных о филогеографической структуре медведей мало, однако на данный момент большинство исследованных образцов принадлежит к кладу 3a, за исключением единичных представителей клады 3b, выявленных

ближе к Енисею. Таким образом, если предположить, что характерной генетической чертой подвида *U.a. jenseensis* является значительное количество представителей клады 3b, то имеющиеся данные лучше согласуются с представлением о том, что к этому подвиду принадлежат только медведи юга Сибири, в то время как медведи севера и северо-востока относятся к номинативному *U.a. arctos*. Хотя, как уже можно видеть, для бурого медведя подвидовая и генетическая структуры не соответствуют друг другу в привычном смысле.

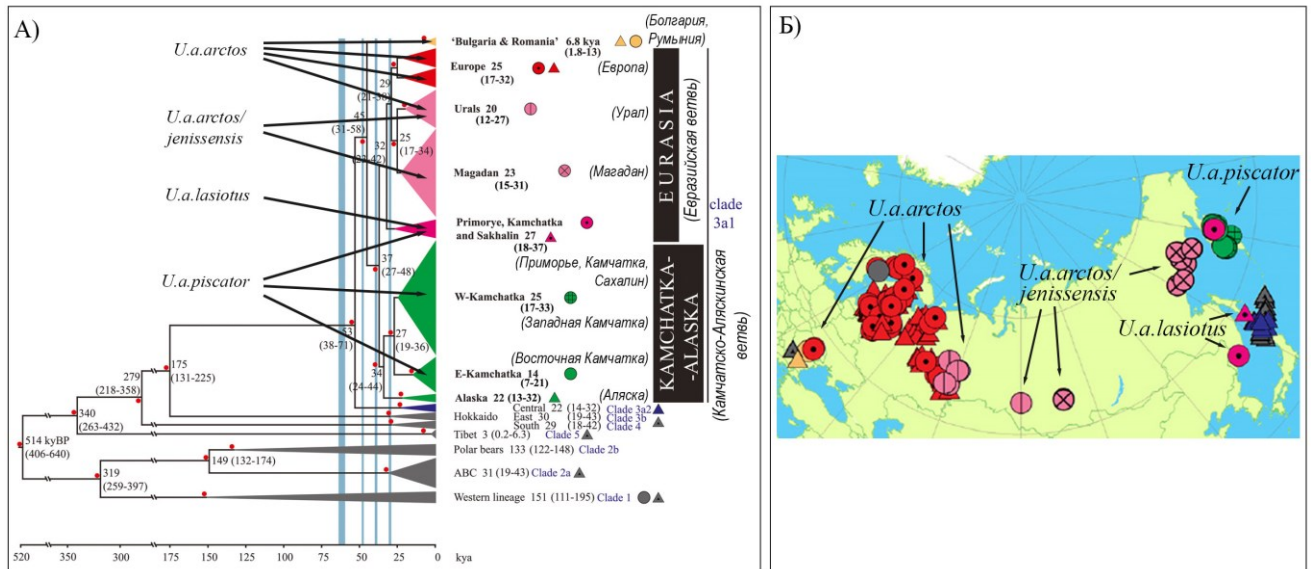


Рисунок 6.10. Сопоставление подвидовой структуры бурого медведя основной континентальной части ареала и генетической структуры в составе клады 3а – воспроизведено из работы [Anijalg et al., 2018] с переводом и изменениями: А) филогенетическое дерево образцов на основании анализа полного митогенома (Рисунок 2 в работе [Anijalg et al., 2018]); Б) карта происхождения исследованных авторами образцов и их принадлежность к выявленным авторами ветвям в составе клады 3а (Рисунок 2 в работе [Anijalg et al., 2018]). В обоих случаях предполагаемая подвидовая принадлежность образцов указана автором настоящей работы на основании данных об ареалах подвидов бурого медведя Евразии.

Медведи Камчатки, принадлежащие к морфологически обособленному подвиду *U.a. piscator*, относятся к митохондриальной кладе 3а, как и большинство медведей континента. Поскольку клада 3а крайне мономорфна, филогеографическая структура в ее составе была выявлена только при анализе полной последовательности митогенома [Anijalg et al., 2018], и мы используем результаты именно этого исследования (Рисунок 6.10). Анализ полного митогенома показывает, что медведи Камчатки все же могут быть отделены от медведей континента (Западная и Восточная Камчатка на Рисунке 6.10-А), хотя их отличия гораздо меньше, чем различия между общемировыми кладами. При рассмотрении на таком уровне разрешения также отделяются медведи северной части побережья Охотского моря, которые могут принадлежать к подвиду *U.a. jenseensis* или *U.a. arctos*. Однако тогда и в минимальной области распространения *U.a. arctos* выявляется дополнительная генетическая структура, которая оказывается как бы

«вложенной» в уже описанное разнообразие митохондриальных клад медведей, точно принадлежащих к этому подвиду (Рисунок 6.9-Б).

В Таблице 6.3 сведены имеющиеся данные о степени географической и генетической изоляции подвидов бурого медведя Евразии.

Таблица 6.3. Подвиды бурого медведя Евразии и уровень их поддержки по результатам анализа различных генетических маркеров, имеющих разные типы наследования и скорость эволюции.

Подвид	Географическая изоляция	Аутосомные локусы (бипарентальное; быстрые)	Y-хромосомные локусы (отцовское; неизвестно)	мтДНК (материнское; медленная)
<i>U.a. arctos</i> Linnaeus, 1758	Нет	Существует внутренняя структура, более подробных данных нет (данная работа)	Существует внутренняя структура, более подробных данных нет (данная работа)	Клады 1a, 1b, 3a – на Европейской части ареала, клада; только 3a на Европейской части России и Урале; 3a и 3b на границе с <i>U.a. jenseiensis</i> [Korsten et al., 2009; Pylidis et al., 2021; Taberlet, Bouvet, 1994], данная работа. Существует дополнительная внутренняя структура в составе клады 3a [Anijalg et al., 2018].
<i>U.a. marsicanus</i> Altobello, 1921	Да	Нет данных	Нет данных	Клада 1b [García-Vázquez, Pinto Llona, Grandal-d' Anglade, 2019; Taberlet, Bouvet, 1994]
<i>U.a. pyrenaicus</i> Fischer, 1829	Да	Нет данных	Нет данных	Клада 1a [Taberlet, Bouvet, 1994]
<i>U.a. jenseiensis</i> Ognev, 1924 (<i>U.a. jenseiensis</i>) = <i>U.a. collaris</i> Geoffroy et Cuvier, 1824 (= <i>U.a. baicalensis</i> , <i>kolymensis</i>)	Нет	Нет данных	Нет данных	Клады 3b и 3a (данная работа, [Molodtseva et al., 2022; Tumendemberel et al., 2019])
<i>U.a. caucasicus</i> Smirnov, 1916= <i>U.a. meridionalis</i> Middendorff, 1851	Да (от <i>U.a. arctos</i> и других) / Нет (от <i>U.a. syriacus</i>)	Отделяется от <i>U.a. arctos</i> (данная работа), степень изоляции от <i>U.a. syriacus</i> неясна	Объединяется с медведями с Урала (<i>U.a. arctos</i> , данная работа)	Клады «Кавказ-1», «Кавказ-2», 7, встречающиеся только у этого подвида и у <i>U.a. syriacus</i> (данная работа, [Ashrafzadeh et al., 2018])

Подвид	Географическая изоляция	Аутосомные локусы (бипарентальное; быстрые)	Y-хромосомные локусы (отцовское; неизвестно)	мтДНК (материнское; медленная)
<i>U.a. syriacus</i> Hemprich et Ehrenberg, 1828 = <i>U.a. lasistanicus</i> Satunin, 1913	Да (от <i>U.a. arctos</i> и других) / Нет (от <i>U.a. caucasicus</i>)	Существует внутренняя структура; степень изоляции от <i>U.a. caucasicus</i> неясна [Ashrafzadeh et al., 2018; Çilingir et al., 2016]	Нет данных	Клады 1d, «Кавказ-1», «Кавказ-2», 7, встречающиеся только у этого подвида и у <i>U.a. syriacus</i> ; клада 1a, встречающаяся у <i>U.a. arctos</i> (данная работа, [Ashrafzadeh, Kaboli, Naghavi, 2016; Çilingir et al., 2016])
<i>U.a. isabellinus</i> Horsfield, 1826	Да	Отделяется от <i>U.a. gobiensis</i> и <i>U.a. jenseensis</i> [Tumendemberel et al., 2019]	Нет данных	Клада 6, как и <i>U.a. gobiensis</i> [Lan et al., 2017; Tumendemberel et al., 2019]
<i>U.a. pruinosus</i> Blyth, 1854	Да	Нет данных	Нет данных	Клада 5 [Lan et al., 2017]
<i>U.a. gobiensis</i> Sokolov et Orlov, 1992	Да	Отделяется от <i>U.a. isabellinus</i> и <i>U.a. jenseensis</i> [Tumendemberel et al., 2019]	Нет данных	Клада 6, как и <i>U.a. isabellinus</i> [Lan et al., 2017; Tumendemberel et al., 2019]
<i>U.a. piscator</i> Pucheran, 1855	Нет	Не отделяется от <i>U.a. arctos</i> (<i>U.a. jenseensis</i>) Чукотки (данная работа)	Как сильно отличающиеся, так и общие с материковыми генетические линии (данная работа, [Bidon et al., 2014; Hirata et al., 2017])	Клада 3a; три субклады в ее составе, две из них уникальные, одна – общая с материком [Anijalg et al., 2018]
<i>U.a. lasiotus</i> Gray, 1867 = <i>U.a. beringianus</i> Middendorff, 1851	Нет	Не отделяется от <i>U.a. arctos</i> (<i>U.a. jenseensis</i>) Чукотки; отделяется от <i>U.a. arctos</i> Урала и Сибири (данная работа)	Не отделяется от <i>U.a. arctos</i> Сибири (данная работа)	Клады 3a и 3b (данная работа, [Гуськов и др., 2013])
<i>U.a. yesoensis</i> Lydekker, 1897 = <i>U.a. ferox</i> Temmnick, 1844	Да	Нет данных	Формирует компактную гаплогруппу [Hirata et al., 2017]	Клады 3a, 3b, 3d [Matsuhashi et al., 1999]

Данные анализа микросателлитных локусов в целом лучше соответствуют предполагаемым подвидам в случаях, когда их обособление вызвано фактической изоляцией в результате разрыва ареала вида. Данные митохондриальной ДНК в большинстве случаев не отражают современного состояния популяций и могут быть использованы при обсуждении подвидового статуса только с большой осторожностью. Во многом это объясняется сложной историей вида, которая определяет современную филогеографическую структуру. Анализ Y-хромосомных маркеров для данного вида в целом затруднителен, поскольку еще не выработано достаточного массива данных для более уверенной интерпретации получаемых результатов.

Совокупность имеющихся на настоящий момент данных показывает, что ни один из используемых генетических маркеров не является подходящим для использования в качестве значимого аргумента при выделении подвидов в составе вида *Ursus arctos*. Результаты генетического анализа могут служить только дополнительным указанием на существование в том или ином регионе изолированных и самостоятельно поддерживающихся групп особей, однако не дают указаний на то, может ли та или иная группа иметь подвидовой статус.

У разных видов животных подвиды, выделенные на основании морфологических признаков, достаточно часто не подтверждаются генетическими данными [Винарский, 2015]. Винарский предполагает, что решением проблемы расхождения морфологических и генетических данных на подвидовом уровне могло бы быть использование расширенной номенклатуры около-видового уровня (алловид, вид, подвид, морфовид и т.д.), а также включение в исследования кодирующих частей генома [Винарский, 2015]. При этом для бурого медведя изучение филогеографической структуры представляет интерес и вне контекста подвидовой систематики.

Отдельно можно отметить, что в составе семейства медвежьих присутствуют виды с различным числом общепризнанных подвидов и степенью их корреляции с генетической структурой. Существуют два монотипических вида, один с ярко выраженной (*Tremarctos ornatus*, [Ruiz-García et al., 2020]), другой с гораздо менее выраженной (*Ursus maritimus*, [Kutschera et al., 2016; Malenfant et al., 2016]) генетической структурой. Большая панда считалась монотипической, однако относительно недавно в составе вида был выделен подвид, причем на основании генетических данных (*Ailuropoda melanoleuca qinlingensis*, [Wan, Wu, Fang, 2005]). Американский черный медведь (*Ursus americanus*) демонстрирует ситуацию, сходную с таковой у бурого – несколько вариантов подвидовой систематики и отсутствие прямой связи между предполагаемыми подвидами на основании морфологических данных и выявляемыми генетическими кластерами [Puckett et al., 2015]. Белогрудый медведь (*Ursus thibetanus*), напротив,

является примером хорошей корреляции между подвидовой структурой, сформированной на основании морфологического анализа, и структурой, полученной при анализе мтДНК [Kadariya et al., 2018]. Для двух оставшихся политических видов недостаточно молекулярных данных (*Melursus ursinus* и *Ursus malayanus*). Можно видеть, что соотношение морфологической и генетической структур в составе вида не является характеристикой семейства или размера животного; с большей вероятностью это соотношение определяется динамикой ареала и историей вида.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современная филогеографическая структура бурого медведя Евразии формировалась в течение последних 150-299 т.л.н. Можно предположить, что основной центр расселения, являвшийся источником волн колонизации, находился в Южной Сибири или на Дальнем Востоке. Представители митохондриальных клад, преобладающих сейчас на Кавказе, появляются в этом регионе около 50 т.л.н. В это же время они встречаются на юге Урала. Судя по тому, что около 8 т.л.н. представитель одной из этих клад находился на острове возле берега Канады, можно предположить, что состав материнских линий популяции, населявшей в то время территорию Сибири, был гораздо богаче, чем сейчас.

Кавказский регион являлся стацией переживания для бурого медведя на протяжении десятков тысяч лет, однако у нас нет оснований предполагать, что он служил источником или реципиентом при относительно недавнем формировании современной популяции медведей Европы.

Современные бурые медведи материковой популяции Евразии демонстрируют существование ограничения для потока генов в широтном направлении между Уралом и Сибирью. Такой частично проницаемый барьер сейчас может быть результатом антропогенной трансформации среды, а в прошлом мог существовать из-за климатических особенностей региона и расположения в нем перигляционных озер.

Нам удалось выявить филогеографическую структуру отцовских линий для бурого медведя. Полученные нами данные показывают, что, хотя анализ Y-хромосомных данных и интерпретация результатов анализа сложнее, чем для более разработанных генетических маркеров (мтДНК и аутомных микросателлитных локусов), этот тип данных может быть перспективным направлением для реконструкции истории вида.

Выявленные особенности генетической структуры для бурого медведя слабо соответствуют подвидовому подразделению. Наибольшее сходство между подвидовой и генетической структурой наблюдается при использовании наиболее переменных аутомных локусов.

Перспективы дальнейшей разработки темы. Бурый медведь продолжает оставаться перспективным видом для исследования с точки зрения филогеографии и генетических характеристик. Большой интерес представляют исследования медведей, обитающих на северном склоне Большого Кавказского хребта; интересными могут быть также данные о

филогеографической структуре медведей Кавказа в исторический период, до сокращения ареала XX века. По-прежнему актуальны данные о медведях таких труднодоступных и малонаселенных человеком регионов как Якутия и север Красноярского края. Медведи Средней Азии также могут быть источником ценной информации о филогеографической структуре вида. Отдельный интерес представляет вопрос о влиянии на поток генов в популяции медведей реки Енисей, которую ранее выдвигали в качестве возможной границы подвидов.

ВЫВОДЫ

1. На основании анализа 10 аутосомных микросателлитных локусов среди бурых медведей России и сопредельных стран выявлена генетическая структура иерархического типа, состоящая из региональных кластеров нескольких уровней. Отдельно выделяется кластер Кавказской популяции. Генотипы медведей обширной протяженной части материкового ареала Евразии разделяются на Западный (Европейская Россия и Урал), Центральный (Западная Сибирь) и Восточный (Северная Монголия, Дальний Восток, Чукотка, Камчатка) кластеры. Разделение этих кластеров в значительной степени определяется изоляцией расстоянием.
2. На территории Кавказа описана сложная структура материнских линий, выявлены три гаплогруппы мтДНК: одна («Кавказ-3») относится к общемировой кладе 7 (Иранская клада), две другие («Кавказ-1» и «Кавказ-2») описаны впервые.
3. Для образцов из Сибири (Томская область, Хакасия, Красноярский край) впервые были описаны гаплотипы мтДНК, принадлежащие к общемировой кладе 3b, распространенной на о. Хоккайдо и в Северной Америке. В составе клады 3b гаплотипы из Сибири занимают базальное положение, что указывает на их древность и близость к анцестральному типу.
4. Анализ филогеографической структуры мтДНК позволил предложить сценарий расселения бурого медведя по территории Евразии. Предполагается быстрое расселение по материку, разделившее предков клад 3a, 3b, «Кавказ-1» и «Кавказ-2». При этом часть предковой популяции клады 3b, обитавшей в Сибири, расселилась восточнее: на Дальний Восток, о. Хоккайдо и в Америку; в дальнейшем американская ветвь дифференцировалась на две группы, и медведи с гаплотипами одной из них мигрировали обратно в Сибирь.
5. На основании анализа восьми микросателлитных локусов и SNP, расположенных на Y-хромосоме, впервые для бурого медведя выявлена внутривидовая структура отцовских линий. В качестве отдельных гаплогрупп выделяются гаплотипы с Камчатки (группа I), из Сибири и Дальнего Востока (группа II), и гаплотипы с Урала и Кавказа, объединяющиеся в гаплогруппу III. Представители слабо организованной гаплогруппы IV встречаются во всех исследованных частях ареала.
6. Анализ полиморфизма аутосомных микросателлитных локусов для медведей всех исследованных регионов выявил высокий уровень гетерозиготности (He), ассоциирующийся с благополучным состоянием современных популяций. Звери Европейской части России и

Урала характеризуются высоким разнообразием аутомных микросателлитов и наиболее низким разнообразием мтДНК среди исследованных нами популяций, что свидетельствует об относительно недавнем заселении медведями этой территории.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адлерберг Г. П. Медведи Кавказа (систематический очерк): Отделение математических и естественных наук / Г. П. Адлерберг // Известия Академии наук СССР. – 1935. – № 1. – С. 73-100.
2. Алексеева Э. В. Позднеплейстоценовые и голоценовые остатки хищных млекопитающих (Carnivora) из пещеры Близнец на юге Дальнего Востока России / Э. В. Алексеева, Г. Ф. Барышников // Труды Зоологического института РАН. – 2020. – Т. 324. – № 3. – С. 388-444.
3. Амгалан Л. Обзор исследований гобийского медведя (*Ursus arctos gobiensis* Sokolov et Orlov, 1992) / Л. Амгалан, Г. Рейнольдс, Я. Адъяа, Ц. Туяа, А. Баясгалан, Т. Одбаяр // Аридные экосистемы. – 2016. – Т. 22. – № 3 (68). – С. 76-83.
4. Барышников Г. Ф. Краниометрическое разнообразие островных популяций бурого медведя (*Ursus arctos*, Carnivora) с Хоккайдо, Сахалина и Южных Курил / Г. Ф. Барышников, А. Ю. Пузаченко // Труды Зоологического института РАН. – 2009. – Т. 313. – № 2. – С. 119-142.
5. Барышников Г. Ф. Фауна России и сопредельных стран. Млекопитающие. Том 1. Выпуск 5. Медвежьи (Carnivora, Ursidae). Т. 1 / Г. Ф. Барышников. – Санкт-Петербург: Наука, 2007. – 541 с.
6. Беликов С. Е. Медведи: бурый медведь, белый медведь, гималайский медведь: Промысловые животные России и прилегающих стран и среда их обитания / С. Е. Беликов, М. А. Вайсфельд, Ю. А. Грачев, и др. – Москва: Наука, 1993. – 519 с.
7. Боескоров Г. Г. К проблеме географической изменчивости бурого медведя (*Ursus arctos*) в Якутии / Г. Г. Боескоров, А. Ю. Пузаченко, Г. Ф. Барышников // Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отдел биологический. – 2011. – Т. 116. – № 1. – С. 3-9.
8. Боескоров Г. Г. Позднечетвертичные хищные млекопитающие Якутии / Г. Г. Боескоров, Г. Ф. Барышников. – Санкт-Петербург: Наука, 2013. – 210 с.
9. Вайсфельд М. А. Динамика южной границы ареала бурого медведя в европейской России / М. А. Вайсфельд, Л. М. Баскин, Ю. П. Губарь, Ф. Раделофф, Е. Ф. Ситникова, Н. С. Новоселова // Известия Российской Академии Наук. Серия Географическая. – 2008. – № 3. – С. 81-91.
10. Васильев С. К. Позднеплейстоценовая мегафауна юга Западной и Средней Сибири: новые данные по радиоуглеродному датированию и новые находки из аллювиальных местонахождений в 2020 году / С. К. Васильев, Е. В. Пархомчук, М. А. Середнёв, К. И. Милютин, С. А. Растигеев, В. В. Пархомчук // Проблемы археологии, этнографии, антропологии Сибири и сопредельных территорий. – 2020. – Т. 26. – С. 43-50.
11. Васильев С. К. Радиоуглеродное датирование остатков редких видов плейстоценовой мегафауны Южной Сибири / С. К. Васильев, Е. В. Пархомчук, М. А. Середнёв, К. И. Милютин, Я. В. Кузьмин, П. Н. Калинин, С. А. Растигеев // Проблемы археологии, этнографии, антропологии Сибири и сопредельных территорий. – 2018. – Т. 24. – С. 42-46.

12. Величко А. А. Палеоклиматы и палеоландшафты внетропического пространства Северного полушария. Поздний плейстоцен-голоцен. Атлас-монография. Отв. редактор Величко А.А / А. А. Величко, О. К. Борисова, В. П. Гричук, и др. – Геос. – Москва, Россия, 2009. – 120 с.
13. Верещагин Н. К. Млекопитающие Кавказа / Н. К. Верещагин. – Ленинград: Труды зоологического института АН СССР, 1959. – 703 с.
14. Винарский М. В. Судьба категории подвида в зоологической систематике. 2. Современность / М. В. Винарский // Журнал общей биологии. – 2015. – Т. 76. – № 2. – С. 99-110.
15. Гептнер В. Г. Млекопитающие Советского Союза. Т. 2, (ч. 1): Морские коровы и хищные: in 3 т. Т. 2 / В. Г. Гептнер, Н. П. Наумов, П. Б. Юргенсон, и др. – Москва: Высшая школа, 1967. – 1004 с.
16. Гуськов В. Ю. Изменчивость митохондриального гена цитохрома b бурого медведя (*Ursus arctos* Linnaeus, 1758) юга Дальнего Востока России / В. Ю. Гуськов, И. Н. Шереметьева, И. В. Середкин, А. П. Крюков // Генетика. – 2013. – Т. 49. – № 11. – С. 1-6.
17. Гуськов В. Ю. Морфологическая и генетическая изменчивость бурого медведя *Ursus arctos* Linnaeus, 1758 Дальнего Востока России: Кандидатская / В. Ю. Гуськов. – Россия, Владивосток: ФГБУН «Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии» Дальневосточного отделения Российской академии наук, 2015. – 180 с.
18. Еникеев Ф. И. Плейстоценовые оледенения Восточного Забайкалья и юго-востока Средней Сибири / Ф. И. Еникеев // Геоморфология. – 2009. – Т. 2. – С. 33-49.
19. Матюшкин Е. Н. Избранные труды / Е. Н. Матюшкин. – Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2005. – 660 с.
20. Пажетнов В. С. Бурый медведь / В. С. Пажетнов. – Москва: Модерн, 2017. – 300 с.
21. Рожнов В. В. Генетический анализ популяций соболя (*Martes zibellina*) и лесной куницы (*M. martes*) в районах совместного обитания на северном Урале / В. В. Рожнов, И. Г. Мещерский, С. Л. Пищулина, Л. В. Симакин // Генетика. – 2010. – Т. 46. – № 4. – С. 553-557.
22. Саломашкина В. В. Новые данные о филогеографии и генетическом разнообразии бурого медведя *Ursus arctos* Linnaeus, 1758 Северо-восточной Евразии (анализ полиморфизма контрольного региона мтДНК) / В. В. Саломашкина, М. В. Холодова, О. Ю. Тютеньков, Н. С. Москвитина, Н. Г. Ерохин // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. – 2014. – Т. 2014. – № 1. – С. 30-39.
23. Талала М. С. Генетическая дифференциация популяций волка *Canis lupus* L. Сибири по микросателлитным локусам / М. С. Талала, А. Я. Бондарев, Е. С. Захаров, Д. В. Политов // Генетика. – 2020. – Т. 56. – № 1. – С. 67-77.
24. Трегуб А. И. Геоморфология и четвертичная геология: учебное пособие для вузов / А. И. Трегуб, А. А. Старухин. – Москва: Юрайт, 2020. – 179 с.
25. Чернявский Ф. Б. Бурый медведь (*Ursus arctos* L.) на Северо-Востоке Сибири / Ф. Б. Чернявский, М. А. Кречмар. – Магадан: Рос. акад. наук, Дальневост. отд-ние, Сев.-Вост. науч. центр, Ин-т биол. проблем Севера, 2001. – 73 с.

26. Шпанский А. В. Ископаемые медведи (Carnivora, Ursidae) из местонахождения Красный Яр (Кривошеинский район, Томская область). 2. Посткраниальные остатки и вопросы палеоэкологии / А. В. Шпанский, А. В. Черноус // Вестник Томского государственного университета. – 2012. – Т. 362. – С. 197-202.
27. Abu-Amero K. K. Saudi Arabian Y-Chromosome diversity and its relationship with nearby regions / K. K. Abu-Amero, A. Hellani, A. M. González, J. M. Larruga, V. M. Cabrera, P. A. Underhill // BMC Genetics. – 2009. – Vol. 10. – № 1. – P. 59.
28. Allendorf F. W. Conservation and the genetics of populations / F. W. Allendorf, G. Luikart. – Malden, MA: Blackwell Pub, 2007. – 642 p.
29. Ambarli H. Current status, distribution, and conservation of brown bear (Ursidae) and wild canids (gray wolf, golden jackal, and red fox; Canidae) in Turkey / H. Ambarli, A. Ertürk, A. Soyumert // Turkish Journal of Zoology. – 2016. – Vol. 40. – P. 944-956.
30. Ambarlı H. Population genetics of the main population of brown bears in southwest Asia / H. Ambarlı, D. Mengüllüoğlu, J. Fickel, D. W. Förster // PeerJ. – 2018. – Vol. 6. – P. e5660.
31. Anijalg P. Large-scale migrations of brown bears in Eurasia and to North America during the Late Pleistocene / P. Anijalg, S. Y. W. Ho, J. Davison, M. Keis, E. Tammehleht, K. Bobowik, I. L. Tumanov, A. P. Saveljev, E. A. Lyapunova, A. A. Vorobiev, N. I. Markov, A. P. Kryukov, I. Kojola, J. E. Swenson, S. B. Hagen, H. G. Eiken, L. Paule, U. Saarma // Journal of Biogeography. – 2018. – Vol. 45. – № 2. – P. 394-405.
32. Árnason Ú. A molecular view of pinniped relationships with particular emphasis on the true seals / Ú. Árnason, K. Bodin, A. Gullberg, C. Ledje, M. Suzette // Journal of Molecular Evolution. – 1995. – Vol. 40. – № 1. – P. 78-85.
33. Arthur S. M. Effects of grizzly bear predation on muskoxen in northeastern Alaska / S. M. Arthur, P. A. D. Vecchio // Ursus. – 2017. – Vol. 28. – № 1. – P. 81-91.
34. Aryal A. Brown bear conservation action plan in Nepal: efforts, challenges and achievements / A. Aryal. – 2012. – P. 5.
35. Ashrafzadeh M. Landscape heterogeneity and ecological niche isolation shape the distribution of spatial genetic variation in Iranian brown bears, *Ursus arctos* (Carnivora: Ursidae) / M. Ashrafzadeh, R. Khosravi, M. Ahmadi, M. Kaboli // Mammalian Biology. – 2018. – Vol. 93. – P. 64-75.
36. Ashrafzadeh M. Mitochondrial DNA analysis of Iranian brown bears (*Ursus arctos*) reveals new phylogeographic lineage / M. Ashrafzadeh, M. Kaboli, M. R. Naghavi // Mammalian Biology. – 2016. – Vol. 81. – № 1. – P. 1-9.
37. Avise J. C. Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics / J. C. Avise, J. Arnold, R. M. Ball, E. Bermingham, T. Lamb, J. E. Neigel, C. A. Reeb, N. C. Saunders // Annual Review of Ecology and Systematics. – 1987. – Vol. 18. – № 1. – P. 489-522.
38. Avise J. C. Phylogeography: the history and formation of species / J. C. Avise. – Cambridge, Mass: Harvard University Press, 2000. – 447 p.

39. Babiy U. V. First evidence of a brown bear on Wrangel Island, Russia / U. V. Babiy, V. V. Salomashkina, P. S. Kulemeev, M. V. Kholodova, A. R. Gruzdev, E. V. Regehr // *Ursus*. – 2022. – Vol. 2022. – № 33e4.
40. Bandelt H. J. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies / H. J. Bandelt, P. Forster, A. Rohl // *Molecular Biology and Evolution*. – 1999. – Vol. 16. – № 1. – P. 37-48.
41. Barnes I. Dynamics of Pleistocene population extinctions in Beringian brown bears / I. Barnes, P. Matheus, B. Shapiro, D. Jensen, A. Cooper // *Science*. – 2002. – Vol. 295. – № 5563. – P. 2267-2270.
42. Barr I. D. Pleistocene and Holocene glacier fluctuations upon the Kamchatka Peninsula / I. D. Barr, O. Solomina // *Global and Planetary Change*. – 2014. – Vol. 113. – P. 110-120.
43. Barrett M. A. Testing bear-resistant trash cans in residential areas of Florida / M. A. Barrett, D. J. Telesco, S. E. Barrett, K. M. Widness, E. H. Leone // *Southeastern Naturalist*. – 2014. – Vol. 13. – № 1. – P. 26-39.
44. Bartoń K. A. Bears without borders: Long-distance movement in human-dominated landscapes / K. A. Bartoń, T. Zwiłacz-Kozica, F. Zięba, A. Sergiel, N. Selva // *Global Ecology and Conservation*. – 2019. – Vol. 17. – P. e00541.
45. Baryshnikov G. F. Taxonomic differentiation of *Ursus arctos* (Carnivora, Ursidae) from south Okhotsk Sea islands on the basis of morphometrical analysis of skull and teeth. / G. F. Baryshnikov, T. Mano, R. Masuda // *Russian Journal of Theriology*. – 2005. – Vol. 3. – № 2. – P. 77-88.
46. Bellemain E. Genetic tracking of the brown bear in northern Pakistan and implications for conservation / E. Bellemain, M. A. Nawaz, A. Valentini, J. E. Swenson, P. Taberlet // *Biological Conservation*. – 2007. – Vol. 134. – № 4. – P. 537-547.
47. Bellemain E. Improved noninvasive genotyping method: application to brown bear (*Ursus arctos*) faeces / E. Bellemain, P. Taberlet // *Molecular Ecology Notes*. – 2004. – Vol. 4. – № 3. – P. 519-522.
48. Bellemain E. Mating strategies in relation to sexually selected infanticide in a non-social carnivore: the brown bear. / E. Bellemain, J. E. Swenson, P. Taberlet // *Ethology*. – 2006. – Vol. 112. – № 3. – P. 238-246.
49. Bellemain E. The dilemma of female mate selection in the brown bear, a species with sexually selected infanticide / E. Bellemain, A. Zedrosser, S. Manel, L. P. Waits, P. Taberlet, J. E. Swenson // *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. – 2006. – Vol. 273. – № 1584. – P. 283-291.
50. Benazzo A. Survival and divergence in a small group: The extraordinary genomic history of the endangered Apennine brown bear stragglers / A. Benazzo, E. Trucchi, J. A. Cahill, P. Maisano Delser, S. Mona, M. Fumagalli, L. Bunnefeld, L. Cornetti, S. Ghirotto, M. Girardi, L. Ometto, A. Panziera, O. Rota-Stabelli, E. Zanetti, A. Karamanlidis, C. Groff, L. Paule, L. Gentile, C. Vilà, S. Vicario, L. Boitani, L. Orlando, S. Fuselli, C. Vernesi, B. Shapiro, P. Ciucci, G. Bertorelle // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2017. – Vol. 114. – № 45. – P. E9589-E9597.

51. Bidon T. Brown and polar bear Y chromosomes reveal extensive male-biased gene flow within brother lineages / T. Bidon, A. Janke, S. R. Fain, H. G. Eiken, S. B. Hagen, U. Saarma, B. M. Hallström, N. Lecomte, F. Hailer // *Molecular Biology and Evolution*. – 2014. – Vol. 31. – № 6. – P. 1353-1363.
52. Bouckaert R. BEAST 2.5: An advanced software platform for Bayesian evolutionary analysis / R. Bouckaert, T. G. Vaughan, J. Barido-Sottani, S. Duchêne, M. Fourment, A. Gavryushkina, J. Heled, G. Jones, D. Kühnert, N. De Maio, M. Matschiner, F. K. Mendes, N. F. Müller, H. A. Ogilvie, L. du Plessis, A. Poppinga, A. Rambaut, D. Rasmussen, I. Siveroni, M. A. Suchard, C.-H. Wu, D. Xie, C. Zhang, T. Stadler, A. J. Drummond // *PLOS Computational Biology*. – 2019. – Vol. 15. – № 4. – P. e1006650.
53. Bragina E. V. Rapid declines of large mammal populations after the collapse of the Soviet Union: wildlife decline after collapse of socialism / E. V. Bragina, A. R. Ives, A. M. Pidgeon, T. Kuemmerle, L. M. Baskin, Y. P. Gubar, M. Piquer-Rodríguez, N. S. Keuler, V. G. Petrosyan, V. C. Radeloff // *Conservation Biology*. – 2015. – Vol. 29. – № 3. – P. 844-853.
54. Bray S. C. E. Ancient DNA identifies post-glacial recolonisation, not recent bottlenecks, as the primary driver of contemporary mtDNA phylogeography and diversity in Scandinavian brown bears / S. C. E. Bray, J. J. Austin, J. L. Metcalf, K. Østbye, E. Østbye, S.-E. Lauritzen, K. Aaris-Sørensen, C. Valdiosera, C. J. Adler, A. Cooper // *Diversity and Distributions*. – 2013. – Vol. 19. – № 3. – P. 245-256.
55. Bronk Ramsey C. Bayesian analysis of radiocarbon dates / C. Bronk Ramsey // *Radiocarbon*. – 2009. – Vol. 51. – № 1. – P. 337-360.
56. Cahill J. A. Genomic evidence of widespread admixture from polar bears into brown bears during the Last Ice Age / J. A. Cahill, P. D. Heintzman, K. Harris, M. D. Teasdale, J. Kapp, A. E. R. Soares, I. Stirling, D. Bradley, C. J. Edwards, K. Graim, A. A. Kisleika, A. V. Malev, N. Monaghan, R. E. Green, B. Shapiro // *Molecular Biology and Evolution*. – 2018. – Vol. 35. – № 5. – P. 1120-1129.
57. Calvignac S. Ancient DNA evidence for the loss of a highly divergent brown bear clade during historical times / S. Calvignac, S. Hughes, C. Tougaard, J. Michaux, M. Thevenot, M. Philippe, W. Hamdine, C. Hänni // *Molecular Ecology*. – 2008. – Vol. 17. – № 8. – P. 1962-1970.
58. Calvignac S. Genetic diversity of endangered brown bear (*Ursus arctos*) populations at the crossroads of Europe, Asia and Africa / S. Calvignac, S. Hughes, C. Hänni // *Diversity and Distributions*. – 2009. – Vol. 15. – № 5. – P. 742-750.
59. Carmichael L. E. Historical and ecological determinants of genetic structure in arctic canids / L. E. Carmichael, J. Krizan, J. A. Nagy, E. Fuglei, M. Dumond, D. Johnson, A. Veitch, D. Berteaux, C. Strobeck // *Molecular Ecology*. – 2007. – Vol. 16. – № 16. – P. 3466-3483.
60. Charpentier M. J. E. Inbreeding depression in ring-tailed lemurs (*Lemur catta*): genetic diversity predicts parasitism, immunocompetence, and survivorship / M. J. E. Charpentier, C. V. Williams, C. M. Drea // *Conservation Genetics*. – 2008. – Vol. 9. – № 6. – P. 1605-1615.
61. Chestin I. E. Variation in skull morphology of brown bears (*Ursus arctos*) from Caucasus / I. E. Chestin, N. G. Mikeshina // *Journal of Mammalogy*. – 1998. – Vol. 79. – № 1. – P. 118-130.

62. Çilingir F. G. Exceptional maternal lineage diversity in brown bears (*Ursus arctos*) from Turkey / F. G. Çilingir, Ç. Akın Pekşen, H. Ambarlı, P. Beerli, C. C. Bilgin // Zoological Journal of the Linnean Society. – 2016. – Vol. 176. – № 2. – P. 463-477.
63. Ciucci P. Estimating abundance of the remnant Apennine brown bear population using multiple noninvasive genetic data sources / P. Ciucci, V. Gervasi, L. Boitani, J. Boulanger, D. Paetkau, R. Prive, E. Tosoni // Journal of Mammalogy. – 2015. – Vol. 96. – № 1. – P. 206-220.
64. Colangelo P. Cranial distinctiveness in the Apennine brown bear: genetic drift effect or ecophenotypic adaptation? / P. Colangelo, A. Loy, D. Huber, T. Gomerčić, A. Vigna Taglianti, P. Ciucci // Biological Journal of the Linnean Society. – 2012. – Vol. 107. – № 1. – P. 15-26.
65. Cotovelea A. Testing the influence of habituation on genetic structure of brown bear (*Ursus arctos*) / A. Cotovelea, O. Ionescu, N. Şofletea, G. Ionescu, R. Jurj, G. Sîrbu, M. Popa, M. Fedorca, C. Mariş, A. L. Curtu // Annals of Forest Research. – 2015. – Vol. 58. – № 1. – P. 81.
66. Craighead L. Microsatellite analysis of paternity and reproduction in Arctic grizzly bears / L. Craighead, D. Paetkau, H. V. Reynolds, E. R. Vyse, C. Strobeck // Journal of Heredity. – 1995. – Vol. 86. – № 4. – P. 255-261.
67. Cronin M. A. Genetic variation and relatedness in grizzly bears in the Prudhoe Bay region and adjacent areas in northern Alaska / M. A. Cronin, R. Shideler, L. Waits, R. J. Nelson // Ursus. – 2005. – Vol. 16. – № 1. – P. 70-84.
68. Cronin M. A. Interspecific and intraspecific mitochondrial DNA variation in North American bears (*Ursus*) / M. A. Cronin, S. C. Amstrup, G. W. Garner, E. R. Vyse // Canadian Journal of Zoology. – 1991. – Vol. 69. – № 12. – P. 2985-2992.
69. Croteau E. K. Microsatellites and mitochondrial DNA reveal regional population structure in bobcats (*Lynx rufus*) of North America / E. K. Croteau, E. J. Heist, C. K. Nielsen, J. R. Hutchinson, E. C. Hellgren // Conservation Genetics. – 2012. – Vol. 13. – № 6. – P. 1637-1651.
70. D'Amato M. E. Evaluation of 21 Y-STRs for population and forensic studies / M. E. D'Amato, M. Benjeddou, S. Davison // Forensic Science International: Genetics Supplement Series. – 2009. – Vol. 2. – № 1. – P. 446-447.
71. Davison J. Late-Quaternary biogeographic scenarios for the brown bear (*Ursus arctos*), a wild mammal model species / J. Davison, S. Y. W. Ho, S. C. Bray, M. Korsten, E. Tammelleht, M. Hindrikson, K. Østbye, E. Østbye, S.-E. Lauritzen, J. Austin // Quaternary Science Reviews. – 2011. – Vol. 30. – № 3-4. – P. 418-430.
72. Davoli F. Infanticide in brown bear: a case-study in the Italian Alps – Genetic identification of perpetrator and implications in small populations / F. Davoli, M. Cozzo, F. Angeli, C. Groff, E. Randi // Nature Conservation. – 2018. – Vol. 25. – P. 55-75.
73. Delisle I. Conserved primers for rapid sequencing of the complete mitochondrial genome from carnivores, applied to three species of bears / I. Delisle, C. Strobeck // Molecular Biology and Evolution. – 2002. – Vol. 19. – № 3. – P. 357-361.

74. Desanges J. Ours : Période antique, sources littéraires / J. Desanges // Encyclopédie berbère. – 2013. – № 36. – C. 5983-5984.
75. Drummond A. J. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees / A. J. Drummond, A. Rambaut // BMC Evolutionary Biology. – 2007. – Vol. 7. – № 1. – P. 214.
76. Earl D. A. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method / D. A. Earl, B. M. vonHoldt // Conservation Genetics Resources. – 2012. – Vol. 4. – № 2. – P. 359-361.
77. Edwards C. J. Ancient hybridization and an Irish origin for the modern polar bear matriline / C. J. Edwards, M. A. Suchard, P. Lemey, J. J. Welch, I. Barnes, T. L. Fulton, R. Barnett, T. C. O'Connell, P. Coxon, N. Monaghan, C. E. Valdiosera, E. D. Lorenzen, E. Willerslev, G. F. Baryshnikov, A. Rambaut, M. G. Thomas, D. G. Bradley, B. Shapiro // Current Biology. – 2011. – Vol. 21. – № 15. – P. 1251-1258.
78. Edwards C. J. Continuity of brown bear maternal lineages in northern England through the Last-glacial period / C. J. Edwards, S. Y. W. Ho, R. Barnett, P. Coxon, D. G. Bradley, T. C. Lord, T. O'Connor // Quaternary Science Reviews. – 2014. – Vol. 96. – P. 131-139.
79. Eiken H. G. Population data for 12 STR loci in Northern European brown bear (*Ursus arctos*) and application of DNA profiles for forensic casework / H. G. Eiken, R. J. Andreassen, A. Kopatz, S. G. Bjervamoen, I. Warttinen, C. Tobiassen, P. M. Knappskog, P. E. Aspholm, M. E. Smith, J. Aspi // Forensic Science International: Genetics Supplement Series. – 2009. – Vol. 2. – № 1. – P. 273-274.
80. Endo Y. Demographic history of the brown bear (*Ursus arctos*) on Hokkaido Island, Japan, based on whole-genomic sequence analysis / Y. Endo, N. Osada, T. Mano, R. Masuda // Genome Biology and Evolution. – 2021. – Vol. 13. – № 9. – P. evab195.
81. Ennis S. A PCR-based sex-determination assay in cattle based on the bovine amelogenin locus / S. Ennis, T. F. Gallagher // Animal Genetics. – 2009. – Vol. 25. – № 6. – P. 425-427.
82. Ersmark E. Genetic turnovers and northern survival during the last glacial maximum in European brown bears / E. Ersmark, G. Baryshnikov, T. Higham, A. Argant, P. Castañós, D. Döppes, M. Gasparik, M. Germonpré, K. Lidén, G. Lipecki, A. Marciszak, R. Miller, M. Moreno-García, M. Pacher, M. Robu, R. Rodriguez-Varela, M. Rojo Guerra, M. Sabol, N. Spassov, J. Storå, C. Valdiosera, A. Villaluenga, J. R. Stewart, L. Dalén // Ecology and Evolution. – 2019. – Vol. 9. – № 10. – P. 5891-5905.
83. Ersts P. J. Geographic distance matrix generator / P. J. Ersts. – [Internet]: American Museum of Natural History, Center for Biodiversity and Conservation, 2019.
84. Evanno G. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study / G. Evanno, S. Regnaut, J. Goudet // Molecular Ecology. – 2005. – Vol. 14. – № 8. – P. 2611-2620.
85. Excoffier L. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows / L. Excoffier, H. E. L. Lischer // Molecular Ecology Resources. – 2010. – Vol. 10. – № 3. – P. 564-567.

86. Falush D. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies / D. Falush, M. Stephens, J. K. Pritchard // *Genetics*. – 2003. – Vol. 164. – № 4. – P. 1567-1587.
87. Fan H. A brief review of short tandem repeat mutation / H. Fan, J.-Y. Chu // *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*. – 2007. – Vol. 5. – № 1. – P. 7-14.
88. Fedorca A. Inferring fine-scale spatial structure of the brown bear (*Ursus arctos*) population in the Carpathians prior to infrastructure development / A. Fedorca, I.-R. M. Russo, O. Ionescu, G. Ionescu, M. Popa, M. Fedorca, A. L. Curtu, N. Sofletea, G. M. Tabor, M. W. Bruford // *Scientific Reports*. – 2019. – Vol. 9. – № 1. – P. 9494.
89. Forster M. Network 10.2.0.0. User Guide / M. Forster. – Fluxus Technology Ltd, 2020.
90. Forster P. A short tandem repeat–based phylogeny for the human Y chromosome / P. Forster, A. Röhl, P. Lünemann, C. Brinkmann, T. Zerjal, C. Tyler-Smith, B. Brinkmann // *The American Journal of Human Genetics*. – 2000. – Vol. 67. – № 1. – P. 182-196.
91. Fortes G. G. Ancient DNA reveals differences in behaviour and sociality between brown bears and extinct cave bears / G. G. Fortes, A. Grandal-d'Anglade, B. Kolbe, D. Fernandes, I. N. Meleg, A. García-Vázquez, A. C. Pinto-Llona, S. Constantin, T. J. de Torres, J. E. Ortiz, C. Frischauf, G. Rabeder, M. Hofreiter, A. Barlow // *Molecular Ecology*. – 2016. – Vol. 25. – № 19. – P. 4907-4918.
92. Frank S. C. The effects of harvest on the socio-spatial and genetic structure of a solitary-living large carnivore, the brown bear *Ursus arctos* / S. C. Frank. – Kongsberg, Norway: University College of Southeast Norway, 2017. – 192 p.
93. Frosch C. Case report of a fatal bear attack documented by forensic wildlife genetics / C. Frosch, A. Dutsov, G. Georgiev, C. Nowak // *Forensic Science International: Genetics*. – 2011. – Vol. 5. – № 4. – P. 342-344.
94. Frosch C. Noninvasive genetic assessment of brown bear population structure in Bulgarian mountain regions / C. Frosch, A. Dutsov, D. Zlatanova, K. Valchev, T. E. Reiners, K. Steyer, M. Pfenninger, C. Nowak // *Mammalian Biology*. – 2014. – Vol. 79. – № 4. – P. 268-276.
95. Galbreath G. J. Genetic resolution of composition and phylogenetic placement of the isabelline bear / G. J. Galbreath, C. P. Groves, L. P. Waits // *Ursus*. – 2007. – Vol. 18. – № 1. – P. 129-131.
96. García-Vázquez A. Post-glacial colonization of Western Europe brown bears from a cryptic Atlantic refugium out of the Iberian Peninsula / A. García-Vázquez, A. C. Pinto Llona, A. Grandal-d'Anglade // *Historical Biology*. – 2019. – Vol. 31. – № 5. – P. 618-630.
97. Geffen E. Climate and habitat barriers to dispersal in the highly mobile grey wolf / E. Geffen, M. J. Anderson, R. K. Wayne // *Molecular Ecology*. – 2004. – Vol. 13. – № 8. – P. 2481-2490.
98. Gervasi V. Addressing challenges in non invasive capture-recapture based estimates of small populations: a pilot study on the Apennine brown bear / V. Gervasi, P. Ciucci, F. Davoli, J. Boulanger, L. Boitani, E. Randi // *Conservation Genetics*. – 2010.

99. Giangregorio P. First data on north-eastern distribution of the Apennine brown bear (*Ursus arctos marsicanus*) using non-invasive genetic sampling / P. Giangregorio, F. Davoli, A. Antonucci, M. Fabrizio, D. Gentile, A. Monaco, E. Randi. – 2014.
100. Goda N. Allelic diversity of the MHC class II *DRB* genes in brown bears (*Ursus arctos*) and a comparison of *DRB* sequences within the family Ursidae / N. Goda, T. Mano, P. A. Kosintsev, A. A. Vorobiev, R. Masuda // *Tissue Antigens*. – 2010. – Vol. 76. – № 5. – P. 404-410.
101. Gonzalez E. G. Genetic and demographic recovery of an isolated population of brown bear *Ursus arctos* L., 1758 / E. G. Gonzalez, J. C. Blanco, F. Ballesteros, L. Alcaraz, G. Palomero, I. Doadrio // *PeerJ*. – 2016. – Vol. 4. – P. e1928.
102. Goudet J. Fstat (ver. 2.9.4), a program to estimate and test population genetics parameters / J. Goudet. – 2003.
103. Graban J. Genetic analysis for geographic isolation comparison of brown bears living in the periphery of the Western Carpathians Mountains with bears living in other areas / J. Graban, J. Kisková, P. Pepich, R. Rigg // *Open Journal of Genetics*. – 2013. – Vol. 03. – № 03. – P. 174-182.
104. Grugni V. Reconstructing the genetic history of Italians: new insights from a male (Y-chromosome) perspective / V. Grugni, A. Raveane, F. Mattioli, V. Battaglia, C. Sala, D. Toniolo, L. Ferretti, R. Gardella, A. Achilli, A. Olivieri, A. Torroni, G. Passarino, O. Semino // *Annals of Human Biology*. – 2018. – Vol. 45. – № 1. – P. 44-56.
105. Hagen S. B. Evidence of rapid change in genetic structure and diversity during range expansion in a recovering large terrestrial carnivore / S. B. Hagen, A. Kopatz, J. Aspi, I. Kojola, H. G. Eiken // *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. – 2015. – Vol. 282. – № 1807. – P. 20150092.
106. Hailer F. Nuclear genomic sequences reveal that polar bears are an old and distinct bear lineage / F. Hailer, V. E. Kutschera, B. M. Hallström, D. Klassert, S. R. Fain, J. A. Leonard, U. Arnason, A. Janke // *Science*. – 2012. – Vol. 336. – № 6079. – P. 344-347.
107. Hall E. R. Geographic variation among brown and grizzly bears (*Ursus arctos*) in North America Special publication of the Museum of Natural History, University of Kansas / E. R. Hall. – Lawrence, Kansas: Natural History Museum, University of Kansas, 1984. – 13. – 16 p.
108. Hall T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT / T. A. Hall // *Nucleic acids symposium series*. – 1999. – Vol. 41. – P. 95-98.
109. Hamdine W. Histoire récente de l'ours brun au Maghreb / W. Hamdine, M. Thévenot, J. Michaux // *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III - Sciences de la Vie*. – 1998. – T. 321. – № 7. – C. 565-570.
110. Hardy O. J. Microsatellite allele sizes: a simple test to assess their significance on genetic differentiation / O. J. Hardy, N. Charbonnel, H. Fréville, M. Heuertz // *Genetics*. – 2003. – Vol. 163. – № 4. – P. 1467-1482.

111. Hardy O. J. spagedi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels / O. J. Hardy, X. Vekemans // *Molecular Ecology Notes*. – 2002. – Vol. 2. – № 4. – P. 618-620.
112. Haroldson M. A. Genetic analysis of individual origins supports isolation of grizzly bears in the Greater Yellowstone Ecosystem / M. A. Haroldson, C. C. Schwartz, K. C. Kendall, K. A. Gunther, D. S. Moody, K. Frey, D. Paetkau // *Ursus*. – 2010. – Vol. 21. – № 1. – P. 1-13.
113. Hirata D. Mitochondrial DNA haplogrouping of the brown bear, *Ursus arctos* (Carnivora: Ursidae) in Asia, based on a newly developed APLP analysis / D. Hirata, A. V. Abramov, G. F. Baryshnikov, R. Masuda // *Biological Journal of the Linnean Society*. – 2014. – Vol. 111. – № 3. – P. 627-635.
114. Hirata D. Molecular phylogeography of the brown bear (*Ursus arctos*) in Northeastern Asia based on analyses of complete mitochondrial DNA sequences / D. Hirata, T. Mano, A. V. Abramov, G. F. Baryshnikov, P. A. Kosintsev, A. A. Vorobiev, E. G. Raichev, H. Tsunoda, Y. Kaneko, K. Murata, D. Fukui, R. Masuda // *Molecular Biology and Evolution*. – 2013. – Vol. 30. – № 7. – P. 1644-1652.
115. Hirata D. Paternal phylogeographic structure of the brown bear (*Ursus arctos*) in northeastern Asia and the effect of male-mediated gene flow to insular populations / D. Hirata, T. Mano, A. V. Abramov, G. F. Baryshnikov, P. A. Kosintsev, K. Murata, R. Masuda // *Zoological Letters*. – 2017. – Vol. 3. – № 1. – P. 21.
116. Hofreiter M. Lack of phylogeography in European mammals before the last glaciation / M. Hofreiter, D. Serre, N. Rohland, G. Rabeder, D. Nagel, N. Conard, S. Munzel, S. Paabo // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2004. – Vol. 101. – № 35. – P. 12963-12968.
117. Holderegger R. Landscape Genetics / R. Holderegger, H. H. Wagner // *BioScience*. – 2008. – Vol. 58. – № 3. – P. 199-207.
118. Howard J. T. Inbreeding in the genomics era: Inbreeding, inbreeding depression, and management of genomic variability / J. T. Howard, J. E. Pryce, C. Baes, C. Maltecca // *Journal of Dairy Science*. – 2017. – Vol. 100. – № 8. – P. 6009-6024.
119. Hwang D.-S. A comprehensive analysis of three Asiatic black bear mitochondrial genomes (subspecies *ussuricus*, *formosanus* and *mupinensis*), with emphasis on the complete mtDNA sequence of *Ursus thibetanus ussuricus* (Ursidae) / D.-S. Hwang, D.-S. Hwang, J.-S. Ki, D.-S. Hwang, J.-S. Ki, D.-H. Jeong, B.-H. Kim, B.-K. Lee, S.-H. Han, J.-S. Lee // *DNA Sequence*. – 2008. – Vol. 19. – A comprehensive analysis of three Asiatic black bear mitochondrial genomes (subspecies *ussuricus*, *formosanus* and *mupinensis*), with emphasis on the complete mtDNA sequence of *Ursus thibetanus ussuricus* (Ursidae). – № 4. – P. 418-429.
120. Itoh T. Effective dispersal of brown bears (*Ursus arctos*) in Eastern Hokkaido, inferred from analyses of mitochondrial DNA and microsatellites / T. Itoh, Y. Sato, K. Kobayashi, T. Mano, R. Iwata // *Mammal Study*. – 2012. – Vol. 37. – № 1. – P. 29-41.
121. Jackson J. V. Genetic characterization of Kenai brown bears (*Ursus arctos*): microsatellite and mitochondrial DNA control region variation in brown bears of the Kenai Peninsula, south

- central Alaska / J. V. Jackson, S. L. Talbot, S. Farley // *Canadian Journal of Zoology*. – 2008. – Vol. 86. – № 7. – P. 756-764.
122. Jakobsson M. CLUMPP: a cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure / M. Jakobsson, N. A. Rosenberg // *Bioinformatics*. – 2007. – Vol. 23. – № 14. – P. 1801-1806.
123. Jong M. J. de. Range-wide whole-genome resequencing of the brown bear reveals drivers of intraspecies divergence / M. J. de Jong, A. Niamir, M. Wolf, A. C. Kitchener, N. Lecomte, I. V. Seryodkin, S. R. Fain, S. B. Hagen, U. Saarma, A. Janke // *Communications Biology*. – 2023. – Vol. 6. – № 1. – P. 153.
124. Kadariya R. High genetic diversity and distinct ancient lineage of Asiatic black bears revealed by non-invasive surveys in the Annapurna Conservation Area, Nepal / R. Kadariya, M. Shimozuru, J. E. Maldonado, M. A. M. Moustafa, M. Sashika, T. Tsubota // *PLOS ONE*. – 2018. – Vol. 13. – № 12. – P. e0207662.
125. Kalinowski S. T. Revising how the computer program cervus accommodates genotyping error increases success in paternity assignment / S. T. Kalinowski, M. L. Taper, T. C. Marshall // *Molecular Ecology*. – 2007. – Vol. 16. – № 5. – P. 1099-1106.
126. Karamanlidis A. A. Genetic diversity, structure, and size of an endangered brown bear population threatened by highway construction in the Pindos Mountains, Greece / A. A. Karamanlidis, M. Straka, E. Drosopoulou, M. de Gabriel Hernando, I. Kocijan, L. Paule, Z. Scouras // *European Journal of Wildlife Research*. – 2012. – Vol. 58. – № 3. – P. 511-522.
127. Kasworm W. F. Success of grizzly bear population augmentation in Northwest Montana / W. F. Kasworm, M. F. Proctor, C. Servheen, D. Paetkau // *Journal of Wildlife Management*. – 2007. – Vol. 71. – № 4. – P. 1261-1266.
128. Keis M. Complete mitochondrial genomes and a novel spatial genetic method reveal cryptic phylogeographical structure and migration patterns among brown bears in north-western Eurasia / M. Keis, J. Remm, S. Y. W. Ho, J. Davison, E. Tammeleht, I. L. Tumanov, A. P. Saveljev, P. Männil, I. Kojola, A. V. Abramov, T. Margus, U. Saarma // *Journal of Biogeography*. – 2013. – Vol. 40. – № 5. – P. 915-927.
129. Kendall K. C. Demography and genetic structure of a recovering grizzly bear population / K. C. Kendall, J. B. Stetz, J. Boulanger, A. C. Macleod, D. Paetkau, G. C. White // *Journal of Wildlife Management*. – 2009. – Vol. 73. – № 1. – P. 3-17.
130. Kindberg J. Estimating population size and trends of the Swedish brown bear *Ursus arctos* population / J. Kindberg, J. E. Swenson, G. Ericsson, E. Bellemain, C. Miquel, P. Taberlet // *Wildlife Biology*. – 2011. – Vol. 17. – № 2. – P. 114-123.
131. Kitchener A. C. Taxonomic issues in bears: impacts on conservation in zoos and the wild, and gaps in current knowledge / A. C. Kitchener // *International Zoo Yearbook*. – 2010. – Vol. 44. – Taxonomic issues in bears. – № 1. – P. 33-46.

132. Kleven O. Identification and evaluation of novel di- and tetranucleotide microsatellite markers from the brown bear (*Ursus arctos*) / O. Kleven, B. M. Hallström, F. Hailer, A. Janke, S. B. Hagen, A. Kopatz, H. G. Eiken // Conservation Genetics Resources. – 2012. – Vol. 4. – № 3. – P. 737-741.
133. Knowles J. C. Population genomics of North American grey wolves (*Canis lupus*) Master of Science in Systematics and Evolution / J. C. Knowles. – Edmonton, Alberta, US: University of Alberta, 2010. – 100 p.
134. Kocijan I. Genetic diversity of Dinaric brown bears (*Ursus arctos*) in Croatia with implications for bear conservation in Europe / I. Kocijan, A. Galov, H. Četković, J. Kusak, T. Gomerčić, Đ. Huber // Mammalian Biology. – 2011. – Vol. 76. – № 5. – P. 615-621.
135. Kohn M. Conservation genetics of the European brown bear - a study using excremental PCR of nuclear and mitochondrial sequences / M. Kohn, F. Knauer, A. Stoffella, W. Schröder, S. Pääbo // Molecular Ecology. – 1995. – Vol. 4. – № 1. – P. 95-104.
136. Kopatz A. Admixture and gene flow from Russia in the recovering Northern European brown bear (*Ursus arctos*) / A. Kopatz, H. G. Eiken, J. Aspi, I. Kojola, C. Tobiassen, K. F. Tirronen, P. I. Danilov, S. B. Hagen // PLoS ONE. – 2014. – Vol. 9. – № 5. – P. e97558.
137. Kopatz A. Connectivity and population subdivision at the fringe of a large brown bear (*Ursus arctos*) population in North Western Europe / A. Kopatz, H. G. Eiken, S. B. Hagen, M. Ruokonen, R. Esparza-Salas, J. Schregel, I. Kojola, M. E. Smith, I. Warttinen, P. E. Aspholm, S. Wikan, A. M. Rykov, O. Makarova, N. Polikarpova, K. F. Tirronen, P. I. Danilov, J. Aspi // Conservation Genetics. – 2012. – Vol. 13. – № 3. – P. 681-692.
138. Korsten M. Sudden expansion of a single brown bear maternal lineage across northern continental Eurasia after the last ice age: a general demographic model for mammals? / M. Korsten, S. Y. W. Ho, J. Davison, B. Pahn, E. Vulla, M. Roht, I. L. Tumanov, I. Kojola, Z. Andersone-Lilley, J. Ozolins, M. Pilot, Y. Mertzanis, A. Giannakopoulos, A. A. Vorobiev, N. I. Markov, A. P. Saveljev, E. A. Lyapunova, A. V. Abramov, P. Männil, H. Valdmann, S. V. Pazetnov, V. S. Pazetnov, A. M. Rõkov, U. Saarma // Molecular Ecology. – 2009. – Vol. 18. – № 9. – P. 1963-1979.
139. Kosintsev P. A. Palaeoecological and genetic analyses of Late Pleistocene bears in Asiatic Russia / P. A. Kosintsev, H. Bocherens, I. V. Kirillova, V. A. Levchenko, E. P. Zazovskaya, S. S. Trofimova, T. Lan, C. Lindqvist // Boreas. – 2022. – Vol. 51. – № 2. – P. 465-480.
140. Kruckenhauser L. Genetic monitoring of a founder population of brown bears (*Ursus arctos*) in central Austria / L. Kruckenhauser, G. Rauer, B. Däubel, E. Haring // Conservation Genetics. – 2009. – Vol. 10. – № 5. – P. 1223-1233.
141. Kumar S. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets / S. Kumar, G. Stecher, K. Tamura // Molecular Biology and Evolution. – 2016. – Vol. 33. – № 7. – P. 1870-1874.

142. Kumar V. The evolutionary history of bears is characterized by gene flow across species / V. Kumar, F. Lammers, T. Bidon, M. Pfenninger, L. Kolter, M. A. Nilsson, A. Janke // *Scientific Reports*. – 2017. – Vol. 7. – № 1. – P. 46487.
143. Kutschera V. E. High genetic variability of vagrant polar bears illustrates importance of population connectivity in fragmented sea ice habitats / V. E. Kutschera, C. Frosch, A. Janke, K. Skírnisson, T. Bidon, N. Lecomte, S. R. Fain, H. G. Eiken, S. B. Hagen, U. Arnason, K. L. Laidre, C. Nowak, F. Hailer // *Animal Conservation*. – 2016. – Vol. 19. – № 4. – P. 337-349.
144. Lan T. Evolutionary history of enigmatic bears in the Tibetan Plateau–Himalaya region and the identity of the yeti / T. Lan, S. Gill, E. Bellemain, R. Bischof, M. A. Nawaz, C. Lindqvist // *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. – 2017. – Vol. 284. – № 1868. – P. 20171804.
145. Latham E. Non-invasive genetic sampling of brown bears and Asiatic black bears in the Russian Far East: a pilot study / E. Latham, J. B. Stetz, I. V. Seryodkin, D. Miquelle, M. L. Gibeau // *Ursus*. – 2012. – Vol. 23. – № 2. – P. 145-158.
146. Leonard J. A. Population genetics of Ice Age brown bears / J. A. Leonard, R. K. Wayne, A. Cooper // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2000. – Vol. 97. – № 4. – P. 1651-1654.
147. Lewis T. M. Contemporary genetic structure of brown bears (*Ursus arctos*) in a recently deglaciated landscape / T. M. Lewis, S. Pyare, K. J. Hundertmark // *Journal of Biogeography*. – 2015. – Vol. 42. – № 9. – P. 1701-1713.
148. Lindqvist C. Complete mitochondrial genome of a Pleistocene jawbone unveils the origin of polar bear / C. Lindqvist, S. C. Schuster, Y. Sun, S. L. Talbot, J. Qi, A. Ratan, L. P. Tomsho, L. Kasson, E. Zeyl, J. Aars, W. Miller, Ó. Ingólfsson, L. Bachmann, Ø. Wiig // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2010. – Vol. 107. – № 11. – P. 5053-5057.
149. Liu S. Population genomics reveal recent speciation and rapid evolutionary adaptation in polar bears / S. Liu, E. D. Lorenzen, M. Fumagalli, B. Li, K. Harris, Z. Xiong, L. Zhou, T. S. Korneliussen, M. Somel, C. Babbitt, G. Wray, J. Li, W. He, Z. Wang, W. Fu, X. Xiang, C. C. Morgan, A. Doherty, M. J. O'Connell, J. O. McInerney, E. W. Born, L. Dalén, R. Dietz, L. Orlando, C. Sonne, G. Zhang, R. Nielsen, E. Willerslev, J. Wang // *Cell*. – 2014. – Vol. 157. – № 4. – P. 785-794.
150. Loreille O. Ancient DNA analysis reveals divergence of the cave bear, *Ursus spelaeus*, and brown bear, *Ursus arctos*, lineages / O. Loreille, L. Orlando, M. Patou-Mathis, M. Philippe, P. Taberlet, C. Hänni // *Current Biology*. – 2001. – Vol. 11. – № 3. – P. 200-203.
151. Lorenzini R. Non-invasive genotyping of the endangered Apennine brown bear: a case study not to let one's hair down / R. Lorenzini, M. Posillico, S. Lovari, A. Petrella // *Animal Conservation*. – 2004. – Vol. 7. – № 2. – P. 199-209.
152. Lortkipanidze B. Brown bear distribution and status in the South Caucasus / B. Lortkipanidze // *Ursus*. – 2010. – Vol. 21. – № 1. – P. 97-103.

153. Loy A. Cranial morphometrics of the Apennine brown bear (*Ursus arctos marsicanus*) and preliminary notes on the relationships with other southern European populations / A. Loy, P. Genov, M. Galfo, M. G. Jacobone, A. Vigna Taglianti // Italian Journal of Zoology. – 2008. – Vol. 75. – № 1. – P. 67-75.
154. Lucena-Perez M. Genomic patterns in the widespread Eurasian lynx shaped by Late Quaternary climatic fluctuations and anthropogenic impacts / M. Lucena-Perez, E. Marmesat, D. Kleinman-Ruiz, B. Martínez-Cruz, K. Węcek, A. P. Saveljev, I. V. Seryodkin, I. Okhlopkov, M. G. Dvornikov, J. Ozolins, N. Galsandorj, M. Paunovic, M. Ratkiewicz, K. Schmidt, J. A. Godoy // Molecular Ecology. – 2020. – Vol. 29. – № 4. – P. 812-828.
155. Malenfant R. M. Circumpolar genetic structure and recent gene flow of polar bears: a reanalysis / R. M. Malenfant, C. S. Davis, C. I. Cullingham, D. W. Coltman // PLOS ONE. – 2016. – Vol. 11. – № 3. – P. e0148967.
156. Manel S. Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics / S. Manel, M. K. Schwartz, G. Luikart, P. Taberlet // Trends in Ecology & Evolution. – 2003. – Vol. 18. – № 4. – P. 189-197.
157. Mangerud J. Ice-dammed lakes and rerouting of the drainage of northern Eurasia during the Last Glaciation / J. Mangerud // Quaternary Science Reviews. – 2004. – Vol. 23. – № 11-13. – P. 1313-1332.
158. Masuda R. Phylogenetic status of brown bears *Ursus arctos* of Asia: a preliminary result inferred from mitochondrial DNA control region sequences / R. Masuda, K. Murata, A. Aiurzaniin, M. C. Yoshida // Hereditas. – 1998. – Vol. 128. – № 3. – P. 277-280.
159. Matosiuk M. Genetic differentiation and asymmetric gene flow among Carpathian brown bear (*Ursus arctos*) populations—Implications for conservation of transboundary populations / M. Matosiuk, W. Śmietana, M. Czajkowska, L. Paule, J. Štofik, D. Krajmerová, A. Bashta, S. Jakimiuk, M. Ratkiewicz // Ecology and Evolution. – 2019. – Vol. 9. – № 3. – P. 1501-1511.
160. Matsuhashi T. Microevolution of the mitochondrial DNA control region in the Japanese brown bear (*Ursus arctos*) population / T. Matsuhashi, R. Masuda, T. Mano, M. C. Yoshida // Molecular Biology and Evolution. – 1999. – Vol. 16. – № 5. – P. 676-684.
161. Matsuhashi T. Phylogenetic relationships among worldwide populations of the brown bear *Ursus arctos* / T. Matsuhashi, R. Masuda, T. Mano, K. Murata, A. Aiurzaniin // Zoological Science. – 2001. – Vol. 18. – № 8. – P. 1137-1143.
162. McCarthy T. M. Ecology and conservation of snow leopards, Gobi brown bears, and wild bactrian camels in Mongolia Doctor of Philosophy / T. M. McCarthy. – Amherst, Massachusetts, US: University of Massachusetts, 2000. – 133 p.
163. McCarthy T. M. Status of the Gobi bear in Mongolia as determined by noninvasive genetic methods / T. M. McCarthy, L. P. Waits, B. Mijiddorj // Ursus. – 2009. – Vol. 20. – № 1. – P. 30-38.

164. McLellan B. N. *Ursus arctos* (amended version of 2017 assessment) / B. N. McLellan, M. F. Proctor, D. Huber, S. Michel // The IUCN Red List of Threatened Species. – 2017. – Vol. 2017. – P. e.T41688A121229971.
165. Meadows J. R. S. Globally dispersed Y chromosomal haplotypes in wild and domestic sheep / J. R. S. Meadows, O. Hanotte, C. Drögemüller, J. Calvo, R. Godfrey, D. Coltman, J. F. Maddox, N. Marzanov, J. Kantanen, J. W. Kijas // *Animal Genetics*. – 2006. – Vol. 37. – № 5. – P. 444-453.
166. Merriam C. H. Review of the Grizzly and big brown bears of North America (genus *Ursus*): with description of a new genus, *Vetularctos* / C. H. Merriam // *North American Fauna*. – 1918. – Vol. 41. – P. 1-137.
167. Miller C. R. Phylogeography and mitochondrial diversity of extirpated brown bear (*Ursus arctos*) populations in the contiguous United States and Mexico / C. R. Miller, L. P. Waits, P. Joyce // *Molecular Ecology*. – 2006. – Vol. 15. – № 14. – P. 4477-4485.
168. Miller C. R. The history of effective population size and genetic diversity in the Yellowstone grizzly (*Ursus arctos*): Implications for conservation / C. R. Miller, L. P. Waits // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2003. – Vol. 100. – № 7. – P. 4334-4339.
169. Miller W. Polar and brown bear genomes reveal ancient admixture and demographic footprints of past climate change / W. Miller, S. C. Schuster, A. J. Welch, A. Ratan, O. C. Bedoya-Reina, F. Zhao, H. L. Kim, R. C. Burhans, D. I. Drautz, N. E. Wittekindt, L. P. Tomsho, E. Ibarra-Laclette, L. Herrera-Estrella, E. Peacock, S. Farley, G. K. Sage, K. Rode, M. Obbard, R. Montiel, L. Bachmann, Ó. Ingólfsson, J. Aars, T. Mailund, Ø. Wiig, S. L. Talbot, C. Lindqvist // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2012. – Vol. 109. – № 36.
170. Milne I. TOPALi v2: a rich graphical interface for evolutionary analyses of multiple alignments on HPC clusters and multi-core desktops / I. Milne, D. Lindner, M. Bayer, D. Husmeier, G. McGuire, D. F. Marshall, F. Wright // *Bioinformatics*. – 2009. – Vol. 25. – № 1. – P. 126-127.
171. Mizumachi K. Mitochondrial haplogrouping of the ancient brown bears (*Ursus arctos*) in Bulgaria, revealed by the APLP method / K. Mizumachi, N. Spassov, D. Kostov, E. G. Raichev, S. Peeva, D. Hirata, Y. Nishita, Y. Kaneko, R. Masuda // *Mammal Research*. – 2020. – Vol. 65. – № 2. – P. 413-421.
172. Mizumachi K. Phylogenetic relationships of ancient brown bears (*Ursus arctos*) on Sakhalin Island, revealed by APLP and PCR-direct sequencing analyses of mitochondrial DNA / K. Mizumachi, S. V. Gorbunov, A. A. Vasilevski, T. Amano, H. Ono, P. A. Kosintsev, D. Hirata, Y. Nishita, R. Masuda // *Mammal Research*. – 2021. – Vol. 66. – № 1. – P. 95-102.
173. Molodtseva A. S. Phylogeography of ancient and modern brown bears from eastern Eurasia / A. S. Molodtseva, A. I. Makunin, V. V. Salomashkina, I. G. Kichigin, N. V. Vorobieva, S. K. Vasiliev, M. V. Shunkov, A. A. Tishkin, S. P. Grushin, P. Anijalg, E. Tammeleht, M. Keis, G. G. Boeskorov, N. Mamaev, I. M. Okhlopkov, A. P. Kryukov, E. A. Lyapunova, M. V. Kholodova, I. V. Seryodkin, U. Saarma, V. A. Trifonov, A. S. Graphodatsky // *Biological Journal of the Linnean Society*. – 2022. – Vol. 135. – № 4. – P. 722-733.

174. Moskvitina N. S. The history and modern condition of the brown bear (*Ursus arctos* L., 1758) of the West Siberian plain / N. S. Moskvitina, O. Yu. Tyutenkov, A. V. Shpansky, A. V. Pugachyova, D. V. Kurbatsky // International Journal of Environmental Studies. – 2017. – Vol. 74. – № 5. – P. 891-902.
175. Mowat G. Estimating population size of grizzly bears using hair capture, DNA profiling, and mark-recapture analysis / G. Mowat, C. Strobeck // The Journal of Wildlife Management. – 2000. – Vol. 64. – № 1. – P. 183.
176. Mowat G. Grizzly *Ursus arctos* and black bear *U. americanus* densities in the interior mountains of North America / G. Mowat, D. C. Heard, D. R. Seip, K. G. Poole, G. Stenhouse, D. W. Paetkau // Wildlife Biology. – 2005. – Vol. 11. – № 1. – P. 31-48.
177. Murtskhvaladze M. Geographic and genetic boundaries of brown bear (*Ursus arctos*) population in the Caucasus / M. Murtskhvaladze, A. Gavashelishvili, D. Tarkhnishvili // Molecular Ecology. – 2010. – Vol. 19. – № 9. – P. 1829-1841.
178. Musiani M. Differentiation of tundra/taiga and boreal coniferous forest wolves: genetics, coat colour and association with migratory caribou / M. Musiani, J. A. Leonard, H. D. Cluff, C. C. Gates, S. Mariani, P. C. Paquet, C. Vilà, R. K. Wayne // Molecular Ecology. – 2007. – Vol. 16. – № 19. – P. 4149-4170.
179. Niedziałkowska M. A meta-analysis of ungulate predation and prey selection by the brown bear *Ursus arctos* in Eurasia / M. Niedziałkowska, M. W. Hayward, T. Borowik, W. Jędrzejewski, B. Jędrzejewska // Mammal Research. – 2019. – Vol. 64. – № 1. – P. 1-9.
180. Noguerales V. Hierarchical genetic structure shaped by topography in a narrow-endemic montane grasshopper / V. Noguerales, P. J. Cordero, J. Ortego // BMC Evolutionary Biology. – 2016. – Vol. 16. – № 1. – P. 96.
181. Norman A. J. Single nucleotide polymorphism-based dispersal estimates using noninvasive sampling / A. J. Norman, G. Spong // Ecology and Evolution. – 2015. – Vol. 5. – № 15. – P. 3056-3065.
182. Nowak C. Molecular evidence for historic long-distance translocations of brown bears in the Balkan region / C. Nowak, C. Domokos, A. Dutsov, C. Frosch // Conservation Genetics. – 2014. – Vol. 15. – № 3. – P. 743-747.
183. Ohnishi N. The influence of climatic oscillations during the Quaternary Era on the genetic structure of Asian black bears in Japan / N. Ohnishi, R. Uno, Y. Ishibashi, H. B. Tamate, T. Oi // Heredity. – 2009. – Vol. 102. – № 6. – P. 579-589.
184. Ordiz A. Brown bear circadian behavior reveals human environmental encroachment / A. Ordiz, J. Kindberg, S. Sæbø, J. E. Swenson, O.-G. Støen // Biological Conservation. – 2014. – Vol. 173. – P. 1-9.
185. Ostrander E. A. Identification and characterization of dinucleotide repeat (CA)_n markers for genetic mapping in dog / E. A. Ostrander, G. F. Sprague, J. Rine // Genomics. – 1993. – Vol. 16. – № 1. – P. 207-213.

186. Paetkau D. Gene flow between insular, coastal and interior populations of brown bears in Alaska / D. Paetkau, G. F. Shields, C. Strobeck // *Molecular Ecology*. – 1998. – Vol. 7. – № 10. – P. 1283-1292.
187. Paetkau D. Microsatellite analysis of genetic variation in black bear populations / D. Paetkau, C. Strobeck // *Molecular Ecology*. – 1994. – Vol. 3. – № 5. – P. 489-495.
188. Paetkau D. Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears / D. Paetkau, W. Calvert, I. Stirling, C. Strobeck // *Molecular Ecology*. – 1995. – Vol. 4. – № 3. – P. 347-354.
189. Paetkau D. Variation in genetic diversity across the range of North American brown bears / D. Paetkau, L. P. Waits, P. L. Clarkson, L. Craighead, E. Vyse, R. Ward, C. Strobeck // *Conservation Biology*. – 1998. – Vol. 12. – № 2. – P. 418-429.
190. Peakall R. genalex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research / R. Peakall, P. E. Smouse // *Molecular Ecology Notes*. – 2006. – Vol. 6. – № 1. – P. 288-295.
191. Pepich P. Using noninvasive DNA sampling to estimate abundance and some genetic properties of the Brown bear (*Ursus arctos*) in the Western Carpathians / P. Pepich, D. Krajmerová, M. Saniga // *Folia oecologica*. – 2014. – Vol. 41. – № 2. – P. 184-194.
192. Pérez T. Estimating the population size of the endangered Cantabrian brown bear through genetic sampling / T. Pérez, J. Naves, J. F. Vázquez, A. Fernández-Gil, J. Seijas, J. Albornoz, E. Revilla, M. Delibes, A. Domínguez // *Wildlife Biology*. – 2014. – Vol. 20. – № 5. – P. 300-309.
193. Pérez T. Evidence for improved connectivity between Cantabrian brown bear subpopulations / T. Pérez, J. Naves, J. F. Vázquez, J. Seijas, A. Corao, J. Albornoz, A. Domínguez // *Ursus*. – 2010. – Vol. 21. – № 1. – P. 104-108.
194. Pérez T. Non-invasive genetic study of the endangered Cantabrian brown bear (*Ursus arctos*) / T. Pérez, F. Vázquez, J. Naves, A. Fernández, A. Corao, J. Albornoz, A. Domínguez // *Conservation Genetics*. – 2009. – Vol. 10. – № 2. – P. 291-301.
195. Pilot M. Ecological factors influence population genetic structure of European grey wolves / M. Pilot, W. Jedrzejewski, W. Branicki, V. E. Sidorovich, B. Jedrzejewska, K. Stachura, S. M. Funk // *Molecular Ecology*. – 2006. – Vol. 15. – № 14. – P. 4533-4553.
196. Polzin T. On Steiner trees and minimum spanning trees in hypergraphs / T. Polzin, S. V. Daneshmand // *Operations Research Letters*. – 2003. – Vol. 31. – № 1. – P. 12-20.
197. Poole K. G. DNA-based population estimate for grizzly bears *Ursus arctos* in northeastern British Columbia, Canada / K. G. Poole, G. Mowat, D. A. Fear // *Wildlife Biology*. – 2001. – Vol. 7. – № 2. – P. 105-115.
198. Pritchard J. K. Inference of population structure using multilocus genotype data / J. K. Pritchard, M. Stephens, P. Donnelly // *Genetics*. – 2000. – Vol. 155. – № 2. – P. 945-959.
199. Proctor M. F. Gender-specific dispersal distances of grizzly bears estimated by genetic analysis / M. F. Proctor, B. N. McLellan, C. Strobeck, R. M. R. Barclay // *Canadian Journal of Zoology*. – 2004. – Vol. 82. – № 7. – P. 1108-1118.

200. Proctor M. F. Population fragmentation and inter-ecosystem movements of grizzly bears in western Canada and the northern United States / M. F. Proctor, D. Paetkau, B. N. McLellan, G. B. Stenhouse, K. C. Kendall, R. D. Mace, W. F. Kasworm, C. Servheen, C. L. Lausen, M. L. Gibeau, W. L. Wakkinen, M. A. Haroldson, G. Mowat, C. D. Apps, L. M. Ciarniello, R. M. R. Barclay, M. S. Boyce, C. C. Schwartz, C. Strobeck // *Wildlife Monographs*. – 2012. – Vol. 180. – № 1. – P. 1-46.
201. Proctor M. F. Population fragmentation of grizzly bears in southeastern British Columbia, Canada / M. F. Proctor, B. N. McLellan, C. Strobeck // *Ursus*. – 2002. – Vol. 13. – P. 153-160.
202. Puckett E. E. Comparison of SNP and microsatellite genotyping panels for spatial assignment of individuals to natal range: A case study using the American black bear (*Ursus americanus*) / E. E. Puckett, L. S. Eggert // *Biological Conservation*. – 2016. – Vol. 193. – P. 86-93.
203. Puckett E. E. Phylogeographic analyses of American black bears (*Ursus americanus*) suggest four glacial refugia and complex patterns of postglacial admixture / E. E. Puckett, P. D. Etter, E. A. Johnson, L. S. Eggert // *Molecular Biology and Evolution*. – 2015. – Vol. 32. – № 9. – P. 2338-2350.
204. Pylidis C. Multisource noninvasive genetics of brown bears (*Ursus arctos*) in Greece reveals a highly structured population and a new matrilineal contact zone in southern Europe / C. Pylidis, P. Anijalg, U. Saarma, D. A. Dawson, N. Karaïskou, R. Butlin, Y. Mertzanis, A. Giannakopoulos, Y. Iliopoulos, A. Krupa, T. A. Burke // *Ecology and Evolution*. – 2021. – Vol. 11. – № 11. – P. 6427-6443.
205. Rambaut A. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7 / A. Rambaut, A. J. Drummond, D. Xie, G. Baele, M. A. Suchard // *Systematic Biology*. – 2018. – Vol. 67. – № 5. – P. 901-904.
206. Ramírez-Soriano A. Statistical power analysis of neutrality tests under demographic expansions, contractions and bottlenecks with recombination / A. Ramírez-Soriano, S. E. Ramos-Onsins, J. Rozas, F. Calafell, A. Navarro // *Genetics*. – 2008. – Vol. 179. – № 1. – P. 555-567.
207. Rausch R. L. Geographical variation in size in North American brown bears, *Ursus arctos* L., as indicated by condylobasal length / R. L. Rausch // *Canadian Journal of Zoology*. – 1963. – Vol. 41. – № 1. – P. 33-45.
208. Reding D. M. Pleistocene and ecological effects on continental-scale genetic differentiation in the bobcat (*Lynx rufus*) / D. M. Reding, A. M. Bronikowski, W. E. Johnson, W. R. Clark // *Molecular Ecology*. – 2012. – Vol. 21. – № 12. – P. 3078-3093.
209. Reimer P. J. The IntCal20 Northern Hemisphere radiocarbon age calibration curve (0–55 cal kBP) / P. J. Reimer, W. E. N. Austin, E. Bard, A. Bayliss, P. G. Blackwell, C. Bronk Ramsey, M. Butzin, H. Cheng, R. L. Edwards, M. Friedrich, P. M. Grootes, T. P. Guilderson, I. Hajdas, T. J. Heaton, A. G. Hogg, K. A. Hughen, B. Kromer, S. W. Manning, R. Muscheler, J. G. Palmer, C. Pearson, J. van der Plicht, R. W. Reimer, D. A. Richards, E. M. Scott, J. R. Southon, C. S. M. Turney, L. Wacker, F. Adolphi, U. Büntgen, M. Capano, S. M. Fahrni, A. Fogtmann-Schulz, R. Friedrich, P. Köhler, S. Kudsk, F. Miyake, J. Olsen, F. Reinig, M. Sakamoto, A. Sookdeo, S. Talamo // *Radiocarbon*. – 2020. – Vol. 62. – № 4. – P. 725-757.

210. Rey-Iglesia A. Evolutionary history and palaeoecology of brown bear in North-East Siberia re-examined using ancient DNA and stable isotopes from skeletal remains / A. Rey-Iglesia, A. García-Vázquez, E. C. Treadaway, J. van der Plicht, G. F. Baryshnikov, P. Szpak, H. Bocherens, G. G. Boeskorov, E. D. Lorenzen // *Scientific Reports*. – 2019. – Vol. 9. – № 1. – P. 4462.
211. Røed K. H. Genetic analyses reveal independent domestication origins of Eurasian reindeer / K. H. Røed, Ø. Flagstad, M. Nieminen, Ø. Holand, M. J. Dwyer, N. Røv, C. Vilà // *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. – 2008. – Vol. 275. – № 1645. – P. 1849-1855.
212. Rosenberg N. A. Distruct: a program for the graphical display of population structure / N. A. Rosenberg // *Molecular Ecology Notes*. – 2003. – Vol. 4. – № 1. – P. 137-138.
213. Rowold D. J. Investigating the genetic diversity and affinities of historical populations of Tibet / D. J. Rowold, T. Gayden, J. R. Luis, M. A. Alfonso-Sanchez, R. Garcia-Bertrand, R. J. Herrera // *Gene*. – 2019. – Vol. 682. – P. 81-91.
214. Rueness E. K. Large-scale genetic structuring of a widely distributed carnivore - the Eurasian lynx (*Lynx lynx*) / E. K. Rueness, S. Naidenko, P. Trosvik, N. Chr. Stenseth // *PLoS ONE*. – 2014. – Vol. 9. – № 4. – P. e93675.
215. Ruiz-García M. Molecular evolution (mitochondrial and nuclear microsatellites markers) in the Andean bear (*Tremarctos ornatus*; Ursidae, Carnivora): how many ESUs are there? / M. Ruiz-García, J. Y. A. Vásquez, A. Castellanos, L. Kolter, J. M. Shostell // *Conservation Genetics in Mammals* / J. Ortega, J. E. Maldonado eds. . – Cham: Springer International Publishing, 2020. – Molecular Evolution (Mitochondrial and Nuclear Microsatellites Markers) in the Andean Bear (*Tremarctos ornatus*; Ursidae, Carnivora). – P. 165-194.
216. Ruiz-Gonzalez A. Isolation by distance, resistance and/or clusters? Lessons learned from a forest-dwelling carnivore inhabiting a heterogeneous landscape / A. Ruiz-Gonzalez, S. A. Cushman, M. J. Madeira, E. Randi, B. J. Gómez-Moliner // *Molecular Ecology*. – 2015. – Vol. 24. – № 20. – P. 5110-5129.
217. Saarma U. Mitogenetic structure of brown bears (*Ursus arctos* L.) in northeastern Europe and a new time frame for the formation of European brown bear lineages / U. Saarma, S. Y. W. Ho, O. G. Pybus, M. Kaljuste, I. L. Tumanov, Ilpo. Kojola, A. A. Vorobiev, N. I. Markov, A. P. Saveljev, H. Valdmann, E. A. Lyapunova, A. V. Abramov, Peep. Männil, M. Korsten, Egle. Vulla, S. V. Pazetnov, V. S. Pazetnov, S. V. Putschkovskiy, A. M. Rõkov // *Molecular Ecology*. – 2007. – Vol. 16. – № 2. – P. 401-413.
218. Sacks B. N. Y chromosome analysis of dingoes and Southeast Asian village dogs suggests a Neolithic continental expansion from Southeast Asia followed by multiple Austronesian dispersals / B. N. Sacks, S. K. Brown, D. Stephens, N. C. Pedersen, J.-T. Wu, O. Berry // *Molecular Biology and Evolution*. – 2013. – Vol. 30. – № 5. – P. 1103-1118.
219. Saito M. Individual identification of Asiatic black bears using extracted DNA from damaged crops / M. Saito, K. Yamauchi, T. Aoi // *Ursus*. – 2008. – Vol. 19. – № 2. – P. 162-167.
220. Salis A. T. Lions and brown bears colonized North America in multiple synchronous waves of dispersal across the Bering Land Bridge / A. T. Salis, S. C. E. Bray, M. S. Y. Lee, H. Heiniger, R.

Barnett, J. A. Burns, V. Doronichev, D. Fedje, L. Golovanova, C. R. Harington, B. Hockett, P. Kosintsev, X. Lai, Q. Mackie, S. Vasiliev, J. Weinstock, N. Yamaguchi, J. A. Meachen, A. Cooper, K. J. Mitchell // *Molecular Ecology*. – 2021. – P. mec.16267.

221. Sathyakumar S. Status and management of Asiatic black bear and Himalayan brown bear in India / S. Sathyakumar // *Ursus*. – 2001. – Vol. 1. – P. 21-29.

222. Schregel J. Limited gene flow among brown bear populations in far Northern Europe? Genetic analysis of the east-west border population in the Pasvik Valley / J. Schregel, A. Kopatz, S. B. Hagen, H. Brøseth, M. E. Smith, S. Wikan, I. Warttinen, P. E. Aspholm, J. Aspi, J. E. Swenson, O. Makarova, N. Polikarpova, M. Schneider, P. M. Knappskog, M. Ruokonen, I. Kojola, K. F. Tirronen, P. I. Danilov, H. G. Eiken // *Molecular Ecology*. – 2012. – Vol. 21. – № 14. – P. 3474-3488.

223. Schregel J. Sex-specific genetic analysis indicates low correlation between demographic and genetic connectivity in the Scandinavian brown bear (*Ursus arctos*) / J. Schregel, A. Kopatz, H. G. Eiken, J. E. Swenson, S. B. Hagen // *PLOS ONE*. – 2017. – Vol. 12. – № 7. – P. e0180701.

224. Schregel J. Y chromosome haplotype distribution of brown bears (*Ursus arctos*) in Northern Europe provides insight into population history and recovery / J. Schregel, H. G. Eiken, F. A. Grøndahl, F. Hailer, J. Aspi, I. Kojola, K. Tirronen, P. Danilov, A. Rykov, E. Poroshin, A. Janke, J. E. Swenson, S. B. Hagen // *Molecular Ecology*. – 2015. – Vol. 24. – № 24. – P. 6041-6060.

225. Schwartz C. Grizzly bear (*Ursus arctos*) / C. Schwartz, S. Miller, M. Haroldson // *Wild Mammals of North America: Biology, Management, and Conservation*. – 2003. – C. 556-586.

226. Schweizer R. M. Genetic subdivision and candidate genes under selection in North American grey wolves / R. M. Schweizer, B. M. vonHoldt, R. Harrigan, J. C. Knowles, M. Musiani, D. Coltman, J. Novembre, R. K. Wayne // *Molecular Ecology*. – 2016. – Vol. 25. – № 1. – P. 380-402.

227. Segawa T. Ancient DNA reveals multiple origins and migration waves of extinct Japanese brown bear lineages / T. Segawa, T. Yonezawa, H. Mori, A. Akiyoshi, M. E. Allentoft, A. Kohno, F. Tokanai, E. Willerslev, N. Kohno, H. Nishihara // *Royal Society Open Science*. – 2021. – Vol. 8. – № 8. – P. 210518.

228. Sherwood H. W. Morphological variation of grizzly bear skulls from Yellowstone National Park Graduate Student Theses, Dissertations, & Professional Papers / H. W. Sherwood. – Missoula, Montana, US: The University of Montana, 1981. – 99 p.

229. Shields G. F. Phylogenetic relationships of North American Ursids based on analysis of mitochondrial DNA / G. F. Shields, T. D. Kocher // *Evolution*. – 1991. – Vol. 45. – № 1. – P. 218-221.

230. Shields G. F. Phylogeography of mitochondrial DNA variation in brown bears and polar bears / G. F. Shields, D. Adams, G. Garner, M. Labelle, J. Pietsch, M. Ramsay, C. Schwartz, K. Titus, S. Williamson // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. – 2000. – Vol. 15. – № 2. – P. 319-326.

231. Sitnikova E. F. Genetic status and structure of brown bears in the Bryansk region / E. F. Sitnikova, V. V. Salomashkina // 26th International conference on Bear Research and Management. – Ljubljana, Slovenia, 2018. – P. 184.

232. Skrbinšek T. Monitoring the effective population size of a brown bear (*Ursus arctos*) population using new single-sample approaches / T. Skrbinšek, M. Jelenčič, L. P. Waits, I. Kos, K. Jerina, P. Trontelj // *Molecular Ecology*. – 2012. – Vol. 21. – № 4. – P. 862-875.
233. Śmietana W. An estimate of distribution and numbers of brown bear *Ursus arctos* (L.) in the eastern part of Polish Carpathian Mountains / Ocena rozmieszczenia i liczebności niedźwiedzia brunatnego *Ursus arctos* (L.) we wschodniej części polskich Karpat / W. Śmietana, M. Matosiuk, M. Czajkowska, M. Ratkiewicz, R. Rutkowski, M. Buś-Kicman, S. Jakimiuk // *Roczniki Bieszczadzkie*. – 2014. – T. 22. – C. 289-301.
234. Støen O.-G. Inversely density-dependent natal dispersal in brown bears *Ursus arctos* / O.-G. Støen, A. Zedrosser, S. Sæbø, J. E. Swenson // *Oecologia*. – 2006. – Vol. 148. – № 2. – P. 356-364.
235. Støen O.-G. Kin-related spatial structure in brown bears *Ursus arctos* / O.-G. Støen, E. Bellemain, S. Sæbø, J. E. Swenson // *Behavioral Ecology and Sociobiology*. – 2005. – Vol. 59. – № 2. – P. 191-197.
236. Storfer A. Putting the 'landscape' in landscape genetics / A. Storfer, M. A. Murphy, J. S. Evans, C. S. Goldberg, S. Robinson, S. F. Spear, R. Dezzani, E. Delmelle, L. Vierling, L. P. Waits // *Heredity*. – 2007. – Vol. 98. – № 3. – P. 128-142.
237. Straka M. Genetic differentiation of Carpathian brown bear (*Ursus arctos*) populations reflects the human caused isolation / M. Straka, L. Paule, J. Štofik, O. Ionescu, M. Adamec // *Beiträge zur Jagd- und Wildforschung*. – 2011. – № 36. – P. 77-86.
238. Straka M. Microsatellite diversity and structure of Carpathian brown bears (*Ursus arctos*): consequences of human caused fragmentation / M. Straka, L. Paule, O. Ionescu, J. Štofik, M. Adamec // *Conservation Genetics*. – 2012. – Vol. 13. – № 1. – P. 153-164.
239. Swenson J. E. Brown Bear (*Ursus arctos*; Eurasia) / J. E. Swenson, H. Ambarlı, J. M. Arnemo, L. Baskin, P. Ciucci, P. I. Danilov, M. Delibes, M. Elfström, A. L. Evans, C. Groff, A. G. Hertel, D. Huber, K. Jerina, A. A. Karamanlidis, J. Kindberg, I. Kojola, M. Krofel, J. Kusak, T. Mano, M. Melletti, Y. Mertzanis, A. Ordiz, S. Palazón, J. Parchizadeh, V. Penteriani, P.-Y. Quenette, A. Sergiel, N. Selva, I. Seryodkin, M. Skuban, S. M. J. G. Steyaert, O.-G. Støen, K. F. Tirronen, A. Zedrosser // *Bears of the World* / V. Penteriani, M. Melletti eds. . – Cambridge University Press, 2020. – P. 139-161.
240. Taberlet P. Bear conservation genetics / P. Taberlet, J. Bouvet // *Nature*. – 1992. – Vol. 358. – № 6383. – P. 197-197.
241. Taberlet P. Localization of a contact zone between two highly divergent mitochondrial DNA lineages of the brown bear *Ursus arctos* in Scandinavia / P. Taberlet, J. E. Swenson, F. Sandegren, A. Bjärvall // *Conservation Biology*. – 1995. – Vol. 9. – № 5. – P. 1255-1261.
242. Taberlet P. Mitochondrial DNA polymorphism, phylogeography, and conservation genetics of the brown bear *Ursus arctos* in Europe / P. Taberlet, J. Bouvet // *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*. – 1994. – Vol. 255. – № 1344. – P. 195-200.

243. Taberlet P. Noninvasive genetic tracking of the endangered Pyrenean brown bear population / P. Taberlet, J. J. Camarra, S. Griffin, E. Uhrès, O. Hanotte, L. P. Waits, C. Dubois-Paganon, T. A. Burke, J. Bouvet // *Molecular Ecology*. – 1997. – Vol. 6. – № 9. – P. 869-876.
244. Talbot S. L. Genetic characterization of brown bears of the Kodiak Archipelago / S. L. Talbot, J. R. Gust, G. K. Sage, et al. – Bethel, AK, 2006.
245. Talbot S. L. Phylogeography of brown bears (*Ursus arctos*) of Alaska and paraphyly within the Ursidae / S. L. Talbot, G. F. Shields // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. – 1996. – Vol. 5. – № 3. – P. 477-494.
246. Tallmon D. A. Genetic monitoring of Scandinavian brown bear effective population size and immigration / D. A. Tallmon, E. Bellemain, J. E. Swenson, P. Taberlet // *Journal of Wildlife Management*. – 2004. – Vol. 68. – № 4. – P. 960-965.
247. Tammelaht E. Genetic structure in large, continuous mammal populations: the example of brown bears in northwestern Eurasia / E. Tammelaht, J. Remm, M. Korsten, J. Davison, I. L. Tumanov, A. P. Saveljev, P. Männil, I. Kojola, U. Saarma // *Molecular Ecology*. – 2010. – Vol. 19. – № 24. – P. 5359-5370.
248. Tsaparis D. Non-invasive genetic study and population monitoring of the brown bear (*Ursus arctos*) (Mammalia: Ursidae) in Kastoria region – Greece / D. Tsaparis, N. Karaiskou, Y. Mertzanis, A. Triantafyllidis // *Journal of Natural History*. – 2015. – Vol. 49. – № 5-8. – P. 393-410.
249. Tumendemberel O. Gobi bear abundance and inter-oases movements, Gobi Desert, Mongolia / O. Tumendemberel, M. Proctor, H. Reynolds, J. Boulanger, A. Luvsamjamba, T. Tserenbataa, M. Batmunkh, D. Craighead, N. Yanjin, D. Paetkau // *Ursus*. – 2015. – Vol. 26. – № 2. – P. 129.
250. Tumendemberel O. Phylogeography, genetic diversity, and connectivity of brown bear populations in Central Asia / O. Tumendemberel, A. Zedrosser, M. F. Proctor, H. V. Reynolds, J. R. Adams, J. M. Sullivan, S. J. Jacobs, T. Khorloojav, T. Tserenbataa, M. Batmunkh, J. E. Swenson, L. P. Waits // *PLOS ONE*. – 2019. – Vol. 14. – № 8. – P. e0220746.
251. Valdiosera C. E. Staying out in the cold: glacial refugia and mitochondrial DNA phylogeography in ancient European brown bears / C. E. Valdiosera, N. García, C. Anderung, L. Dalén, E. Crégut-Bonnoure, R.-D. Kahlke, M. Stiller, M. Brandström, M. G. Thomas, J. L. Arsuaga, A. Götherström, I. Barnes // *Molecular Ecology*. – 2007. – Vol. 16. – № 24. – P. 5140-5148.
252. Valdiosera C. E. Surprising migration and population size dynamics in ancient Iberian brown bears (*Ursus arctos*) / C. E. Valdiosera, J. L. García-Garitagoitia, N. Garcia, I. Doadrio, M. G. Thomas, C. Hänni, J.-L. Arsuaga, I. Barnes, M. Hofreiter, L. Orlando, A. Götherström // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2008. – Vol. 105. – № 13. – P. 5123-5128.
253. Waits L. P. A comparison of genetic diversity in North American brown bears / L. P. Waits, D. Paetkau, C. Strobeck, R. H. Ward // *Ursus*. – 1998a. – Vol. 10. – P. 307-314.
254. Waits L. P. Mitochondrial DNA Phylogeography of the North American brown bear and implications for conservation / L. P. Waits, S. L. Talbot, R. H. Ward, G. F. Shields // *Conservation Biology*. – 1998b. – Vol. 12. – № 2. – P. 408-417.

255. Waits L. P. Nuclear DNA microsatellite analysis of genetic diversity and gene flow in the Scandinavian brown bear (*Ursus arctos*) / L. P. Waits, P. Taberlet, J. E. Swenson, F. Sandegren, R. Franzen // *Molecular Ecology*. – 2000. – Vol. 9. – № 4. – P. 421-431.
256. Wan Q.-H. A new subspecies of giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*) from Shaanxi, China / Q.-H. Wan, H. Wu, S.-G. Fang // *Journal of Mammalogy*. – 2005. – Vol. 86. – № 2. – P. 397-402.
257. Wheat R. E. Environmental DNA from residual saliva for efficient noninvasive genetic monitoring of brown bears (*Ursus arctos*) / R. E. Wheat, J. M. Allen, S. D. L. Miller, C. C. Wilmers, T. Levi // *PLOS ONE*. – 2016. – Vol. 11. – № 11. – P. e0165259.
258. Xenikoudakis G. Consequences of a demographic bottleneck on genetic structure and variation in the Scandinavian brown bear / G. Xenikoudakis, E. Ersmark, J.-L. Tison, L. P. Waits, J. Kindberg, J. E. Swenson, L. Dalén // *Molecular Ecology*. – 2015. – Vol. 24. – № 13. – P. 3441-3454.
259. Yamamoto K. Sex identification of Japanese black bear, *Ursus thibetanus japonicus*, by PCR based on amelogenin gene. / K. Yamamoto, T. Tsubota, T. Komatsu, A. Katayama, T. Murase, I. Kita, T. Kudo // *Journal of Veterinary Medical Science*. – 2002. – Vol. 64. – № 6. – P. 505-508.
260. Yang D. Y. Improved DNA extraction from ancient bones using silica-based spin columns / D. Y. Yang, B. Eng, J. S. Wayne, J. C. Dudar, S. R. Saunders // *American Journal of Physical Anthropology*. – 1998. – Vol. 105. – № 4. – P. 539-543.
261. Zachos F. E. Evidence of a phylogeographic break in the Romanian brown bear (*Ursus arctos*) population from the Carpathians / F. E. Zachos, M. Otto, R. Unici, R. Lorenzini, G. B. Hartl // *Mammalian Biology*. – 2008. – Vol. 73. – № 2. – P. 93-101.
262. Zachos F. E. Genetic structure and effective population sizes in European red deer (*Cervus elaphus*) at a continental scale: insights from microsatellite DNA / F. E. Zachos, A. C. Frantz, R. Kuehn, S. Bertouille, M. Colyn, M. Niedziałkowska, J. Pérez-González, A. Skog, N. Sprém, M.-C. Flamand // *Journal of Heredity*. – 2016. – Vol. 107. – № 4. – P. 318-326.
263. Zager P. The role of American black bears and brown bears as predators on ungulates in North America / P. Zager, J. Beecham // *Ursus*. – 2006. – Vol. 17. – № 2. – P. 95-108.
264. Zhong H. Extended Y chromosome Investigation suggests postglacial migrations of modern humans into East Asia via the Northern Route / H. Zhong, H. Shi, X.-B. Qi, Z.-Y. Duan, P.-P. Tan, L. Jin, B. Su, R. Z. Ma // *Molecular Biology and Evolution*. – 2011. – Vol. 28. – № 1. – P. 717-727.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Таблица 1 Приложения. Список образцов, включенных в исследование.

N	Маркировка	Материал	Регион	Страна	Область/край	Локалитет	Пол	Аутосомные микро. локусы	мтДНК	Y-микро. локусы, Y579.1B	Образец получен
1	AZ-2	шкура	Юго-Восточный Кавказ	Азербайджан	Гахский р-н	Илису, з-к Илису	♂	да	1860 п.н.	да	А. Мурадов
2	AZ-25	шкура		Азербайджан	Гахский р-н	Гах	♂	да	1860 п.н.	да	А. Мурадов
3	AZ-1	шкура		Азербайджан	Гахский р-н	Илису, з-к Илису	♂	да	570 п.н.		А. Мурадов
4	AZ-5	шкура		Азербайджан	Гахский р-н	Илису, з-к Илису	♀	да	1860 п.н.		А. Мурадов
5	AZ-7	зуб		Азербайджан	Гахский р-н	Илису, з-к Илису	♂	да	570 п.н.		А. Мурадов
6	AZ-8	зуб		Азербайджан	Гахский р-н	Илису, з-к Илису	♂	да	570 п.н.		А. Мурадов
7	AZ-12	шкура		Азербайджан	Балакенский р-н	Закатала, з-к Илису			570 п.н.		А. Мурадов
8	AZ-3	шкура		Азербайджан	Гахский р-н	Илису, з-к Илису			570 п.н.		А. Мурадов
9	AZ-6	зуб		Азербайджан	Гахский р-н	Илису, з-к Илису	♂		570 п.н.		А. Мурадов
10	X-19	экскременты		Азербайджан	Балакенский р-н	Закатала	♂		570 п.н.		А. Мурадов
11	X-5	экскременты		Азербайджан	Гахский р-н	Илису			570 п.н.		А. Мурадов
12	X-8	экскременты		Азербайджан	Гахский р-н	Илису	♂		570 п.н.		А. Мурадов
13	XA-5	экскременты	Малый Кавказ	Армения	Арарат	Хосров, Хосровский заповедник			570 п.н.		А. Малхасян
14	Ar-1	зуб		Армения	Сюник	Мегри, Мегринский хребет, окр.села Нрнадзор	♂		570 п.н.		А. Малхасян
15	Z9	зуб		Армения			♀	да			ЗМ НАН Армении
16	Z1	зуб		Армения			♂	да	570 п.н.		ЗМ НАН Армении
17	Z2	зуб		Армения			♂	да			ЗМ НАН Армении
18	150061	кость		Россия	Краснодарский край	долина реки Шахе, уроч. Грабовое	♀	да	570 п.н.		ЗМ МГУ

N	Маркировка	Материал	Регион	Страна	Область/край	Локалитет	Пол	Аутосомные микро- локусы	мт/ДНК	Y-микро- локусы, Y579.1B	Образец получен	
19	148490	кость	Юго-Западный Кавказ	Россия	Краснодарский край	Головинский зк-к пос. Бзоча уроч. Грабовая	♀	да	570 п.н.		ЗМ МГУ	
20	148491	кость		Россия	Краснодарский край	Головинский зк-к пос. Бзоча уроч. Грабовая	♀	да	570 п.н.		ЗМ МГУ	
21	145669	кость		Россия	Краснодарский край	Головинский зап-к, хребет Ажу	♂	да	570 п.н.		ЗМ МГУ	
22	145670	кость		Россия	Краснодарский край	Головинский зап-к, хребет Ажу	♂	да	570 п.н.		ЗМ МГУ	
23	C11	мышцы		Россия	Краснодарский край	Сочинский нац.парк	♂	да	1860 п.н.	да		У. Семенов
24	SauB2	шкура		Россия	Краснодарский край	Сочинский нац.парк	♂	да	1860 п.н.	да		У. Семенов
25	SauB5	шкура		Россия	Краснодарский край	Сочинский нац.парк	♂	да	1860 п.н.	да		У. Семенов
26	SauB6	шкура		Россия	Краснодарский край	Сочинский нац.парк	♂	да	1860 п.н.	да		У. Семенов
27	SauB7	шкура		Россия	Краснодарский край	Сочинский нац.парк	♂	да	1860 п.н.	да		У. Семенов
28	SauB8	шкура		Россия	Краснодарский край	Сочинский нац.парк	♂	да	1860 п.н.	да		У. Семенов
29	SauM4	шкура		Россия	Краснодарский край	Сочинский нац.парк, Кепша	♂	да	1860 п.н.	да		У. Семенов
30	SauM5	шкура		Россия	Краснодарский край	Сочинский нац.парк, Кепша	♂	да	1860 п.н.	да		У. Семенов
31	SauM6	шкура		Россия	Краснодарский край	Сочинский нац.парк, Кепша	♂	да	1860 п.н.	да		У. Семенов
32	C10	мышцы		Россия	Краснодарский край	Сочинский нац.парк	♀	да	1860 п.н.			У. Семенов
33	C9	мышцы		Россия	Краснодарский край	Сочинский нац.парк	♀	да	1860 п.н.			У. Семенов
34	SauB1	шкура		Россия	Краснодарский край	Сочинский нац.парк	♀	да	1860 п.н.			У. Семенов
35	SauB3	шкура		Россия	Краснодарский край	Сочинский нац.парк	♀	да	1860 п.н.			У. Семенов
36	SauB4	шкура		Россия	Краснодарский край	Сочинский нац.парк	♀	да	1860 п.н.			У. Семенов
37	SauM1	шкура		Россия	Краснодарский край	Сочинский нац.парк, Кепша	♀	да	1860 п.н.			У. Семенов
38	SauM2	шкура		Россия	Краснодарский край	Сочинский нац.парк, Кепша	♀	да	1860 п.н.			У. Семенов
39	SauM3	шкура		Россия	Краснодарский край	Сочинский нац.парк, Кепша	♀	да	1860 п.н.			У. Семенов
40	2409	мышцы		Россия	Кировская обл	Подосиновский р-н	♂	да	1860 п.н.	да		Д.П. Сохан
41	B24	шерсть		Россия	Брянская обл	Суземский р-н, ГПБЗ Брянский Лес	♂	да				Е. Ситникова

N	Маркировка	Материал	Регион	Страна	Область/край	Локалитет	Пол	Аутосомные микро- локусы	мт/ДНК	Y-микро- локусы, Y579.1B	Образец получен
42	K10	мышцы	Европейская часть России	Россия	Костромская обл	Кологривский р-н, окр.з-ка "Кологривский бор"	♀	да	1860 п.н.		В.В. Зайцев
43	T49	мышцы		Россия	Псковская обл	Себежский р-н	♂	да	1860 п.н.	да	Н.П. Кораблев
44	T50	мышцы		Россия	Псковская обл	Себежский р-н	♂	да	1860 п.н.	да	Н.П. Кораблев
45	АО-4	мышцы		Россия	Архангельская обл			да			В.Н. Мамонтов
46	АО-5	Шкура		Россия	Архангельская обл			да			В.Н. Мамонтов
47	АО-6	Шкура		Россия	Архангельская обл			да			В.Н. Мамонтов
48	PS	шкура		Россия	Псковская обл	Себежский р-н	♂	да	1860 п.н.	да	Н.П. Кораблев
49	GI	мышцы		Россия	Карелия		♂	да	1860 п.н.	да	от Г.И. Гончаровой
50	V-5	мышцы		Россия	Вологодская обл	Вожегодский р-н, к юго-востоку от оз. Вожа	♂	да	1860 п.н.	да	от Г.И.Рубана
51	V-1	мышцы		Россия	Вологодская обл	Вожегонский р-н, оз. Воже, ю-в берег	♂	да	1860 п.н.	да	от Г.И.Рубана
52	V-7	мышцы		Россия	Вологодская обл	Вожегодский р-н, юго-восточный берег оз. Вожа	♂	да	1860 п.н.	да	от Г.И.Рубана
53	V-4	мышцы		Россия	Вологодская обл		♂	да	1860 п.н.	да	от Г.И.Рубана
54	V-2	мышцы		Россия	Вологодская обл	Вожегонский р-н, оз. Воже, ю-в берег	♀	да	1860 п.н.		от Г.И.Рубана
55	V-8	мышцы		Россия	Вологодская обл	Вожегодский р-н, юго-восточный берег оз. Вожа	♀	да	1860 п.н.		от Г.И.Рубана
56	2411	кость		Россия	Карелия	Муезерский р-н, Костомукшский з-к	♀	да	570 п.н.		Лаборатория ИЭ ИПЭЭ РАН
57	2412	кость		Россия	Карелия	Муезерский р-н, Костомукшский з-к	♀		570 п.н.		Лаборатория ИЭ ИПЭЭ РАН
58	V-6	кровь		Россия	Вологодская обл		♂	да	1860 п.н.	да	от М.В. Холодовой
59	K8	мышцы		Россия	Костромская обл	юг Костромской области	♂	да	1860 п.н.	да	КММД ИПЭЭ РАН
60	K11	мышцы		Россия	Кировская обл	Белохолуницкий р-н	♂	да	1860 п.н.	да	КММД ИПЭЭ РАН
61	E5	мышцы		Россия	Тверская обл		♂	да	1860 п.н.	да	КММД ИПЭЭ РАН
62	E6	мышцы		Россия	Тверская обл		♂	да	1860 п.н.	да	КММД ИПЭЭ РАН
63	K9	мышцы	Россия	Костромская обл		♀	да	1860 п.н.		КММД ИПЭЭ РАН	

N	Маркировка	Материал	Регион	Страна	Область/край	Локалитет	Пол	Аутосомные микро- локусы	мт/ДНК	Y-микро- локусы, Y579.1B	Образец получен
64	Y8	мышцы	Урал	Россия	Ярославская обл		♀	да	1860 п.н.		КММД ИПЭЭ РАН
65	P2	шерсть		Россия	Брянская обл	Суземский р-н, ГПБЗ Брянский Лес	♂	да			Е. Ф. Ситникова
66	E49	мышцы		Россия	Свердловская обл	Ревдинский ГО, г. Ревда	♂	да	1860 п.н.	да	ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
67	E47	мышцы		Россия	Свердловская обл	Шалинский р-н, Колпаковка	♂	да	1860 п.н.	да	ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
68	E48	мышцы		Россия	Свердловская обл	Алапаевский р-н	♂	да	1860 п.н.	да	ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
69	E81	мышцы		Россия	Свердловская обл	Ачитский р-н	♂	да	1860 п.н.	да	ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
70	E82	мышцы		Россия	Свердловская обл	Красноуфимский р-н	♂	да	1860 п.н.	да	ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
71	E94	мышцы		Россия	Ханты-Мансийский АО		♂	да	1860 п.н.	да	ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
72	E97	мышцы		Россия	Свердловская обл	Тавдинский р-н	♂	да	1860 п.н.	да	ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
73	E83	мышцы		Россия	Свердловская обл	Шалинский р-н	♂	да	1860 п.н.	да	ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
74	E80	мышцы		Россия	Свердловская обл	Ачитский р-н	♀	да	1860 п.н.		ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
75	E2	мышцы		Россия	Свердловская обл	Красноуфимский р-н	♀	да	1860 п.н.		ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
76	E79	мышцы		Россия	Свердловская обл		♀	да	1860 п.н.		ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
77	Sh3	кость		Россия	Свердловская обл	Шалинский р-н	♀	да	570 п.н.		ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
78	B1	кость		Россия	Ханты-Мансийский АО	Березовский р-н		да	570 п.н.		ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
79	S2	кость		Россия	Свердловская обл			да	570 п.н.		ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
80	Sh10	кость		Россия	Свердловская обл	Шалинский р-н	♂	да	570 п.н.		ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
81	Sh2	кость		Россия	Свердловская обл	Шалинский р-н	♂	да	570 п.н.		ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
82	Sh4	кость		Россия	Свердловская обл	Шалинский р-н		да	570 п.н.		ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
83	Sh5	кость		Россия	Свердловская обл	Шалинский р-н		да	570 п.н.		ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
84	Sh7	кость		Россия	Свердловская обл	Шалинский р-н	♂	да	570 п.н.		ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
85	Sh8	кость		Россия	Свердловская обл	Шалинский р-н	♂	да	570 п.н.		ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
86	Sh9	кость		Россия	Свердловская обл	Шалинский р-н		да	570 п.н.		ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
87	E96	мышцы		Россия	Тюменская обл		♀		1860 п.н.		ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
88	E95	мышцы		Россия	Тюменская обл	Нижнетавдинский р-н	♀		1860 п.н.		ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН

N	Маркировка	Материал	Регион	Страна	Область/край	Локалитет	Пол	Аутосомные микро- локусы	мт/ДНК	Y-микро- локусы, Y579.1B	Образец получен
89	N4	кость	Сибирь	Россия	Ханты-Манский АО	Кондинский р-н, оз. Леушинский туман			570 п.н.		ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
90	S3	кость		Россия	Челябинская обл	Саткинский р-н, р. Ай, пещера	♂		570 п.н.		ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
91	B2	кость		Россия	Ханты-Манский АО	Березовский р-н			570 п.н.		ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
92	P2	зуб		Россия	Ямало-Ненецкий АО	Приуральский р-н	♂		570 п.н.		ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
93	Sh6	кость		Россия	Свердловская обл	Шалинский р-н			570 п.н.		ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
94	177769	кость		Россия	Ямало-Ненецкий АО	Приуральский р-н	♂		1860 п.н.		ЗМ МГУ, Морозов Н.М.
95	T17	шкура		Россия	Ямало-Ненецкий АО	Надымский р-н, г. Надым, р. Левая Хетта пос. Ягельный	♂			да	В.А. Сафронов
96	E1	зуб		Россия	Красноярский край	Туруханский р-н, биостанция Мирное	♂		570 п.н.		Е. Ю. Демидова
97	T29	шкура		Россия	Красноярский край	Ермаковский р-н, у р. Казачий ключ	♂	да	1860 п.н.	да	А. Жигалин
98	E8	мышцы		Россия	Ханты-Манский АО	Нижневартовский р-н	♂	да	1860 п.н.	да	ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
99	N3	кость		Россия	Ханты-Манский АО	Нижневартовский р-н	♂	да	570 п.н.		ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
100	N6	кость		Россия	Ханты-Манский АО	Нижневартовский р-н		да	570 п.н.		ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
101	N7	кость		Россия	Ханты-Манский АО	Нижневартовский р-н		да	570 п.н.		ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
102	N9	кость		Россия	Ханты-Манский АО	Нижневартовский р-н		да			ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
103	P3	кость		Россия	Ямало-Ненецкий АО	Красноселькупский р-н	♂		570 п.н.		ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
104	N1	кость		Россия	Ханты-Манский АО	Нижневартовский р-н			570 п.н.		ЗМ ИЭРиЖ УрО РАН
105	Kk337	мышцы		Россия	Красноярский край	Краснотуранский р-н, Алгаштык	♂		1860 п.н.	да	от Д. Бондарь
106	Kk335	мышцы		Россия	Красноярский край	Тюхетский р-н, берег Чуль	♂		1860 п.н.	да	от Д. Бондарь
107	Kk336	мышцы		Россия	Красноярский край	Тюхетский р-н, берег Чуль	♂		1860 п.н.	да	от Д. Бондарь
108	Kk338	мышцы		Россия	Красноярский край	Ермаковский р-н	♂		1860 п.н.	да	от Д. Бондарь
109	Кем	шкура	Россия	Кемеровская обл	Междуреченский р-н, р. Уса, 100 км вверх от Междуреченска	♂	да	1860 п.н.		А.А. Ваставиченко	
110	RT	шкура	Россия	Томская обл		♀	да	1860 п.н.		от Рожнова В.В.	

N	Маркировка	Материал	Регион	Страна	Область/край	Локалитет	Пол	Аутосомные микр. локусы	мт/ДНК	Y-микр. локусы, Y579.1B	Образец получен
111	T28	мышцы		Россия	Томская обл	Чаинский р-н	♂	да		да	О.Ю. Тютеньков
112	T24	мышцы		Россия	Томская обл	Каргасокский р-н	♀	да	1860 п.н.		О.Ю. Тютеньков
113	T26	мышцы		Россия	Томская обл		♀	да	1860 п.н.		О.Ю. Тютеньков
114	T25	мышцы		Россия	Томская обл	Тегульдетский р-н	♀	да	1860 п.н.		О.Ю. Тютеньков
115	T23	мышцы		Россия	Томская обл	Каргасокский р-н	♀	да	570 п.н.		О.Ю. Тютеньков
116	T27	мышцы		Россия	Кемеровская обл		♂	да	570 п.н.		О.Ю. Тютеньков
117	Kk147	мышцы		Россия	Красноярский край		♂		1860 п.н.	да	Шемякин, Ермаков
118	Kk148	мышцы		Россия	Красноярский край		♂			да	Шемякин, Ермаков
119	T5	мышцы		Россия	Томская обл	Первомайский р-н, дер. Калмаки	♂	да	1860 п.н.	да	КММД ИПЭЭ РАН
120	T4	мышцы		Россия	Томская обл	Зырянский р-н, дер.Тукай	♂	да	1860 п.н.	да	КММД ИПЭЭ РАН
121	T16	мышцы		Россия	Томская обл	Кожевниковский р-н, окр. Дер. Киреевск	♂	да	1860 п.н.	да	КММД ИПЭЭ РАН
122	T2	мышцы		Россия	Томская обл	Первомайский р-н, окр.дер. Сахалинка	♂	да	1860 п.н.	да	КММД ИПЭЭ РАН
123	T3	мышцы		Россия	Томская обл	Первомайский р-н, окр.озера М.Чертаны	♂	да	1860 п.н.	да	КММД ИПЭЭ РАН
124	T10	мышцы		Россия	Томская обл	Тегульдетский р-н, пос. Красный Яр	♂	да	1860 п.н.	да	КММД ИПЭЭ РАН
125	T1	мышцы		Россия	Томская обл	Томский р-н, пос. Лесная дача у села Тимирязево	♂	да	1860 п.н.	да	КММД ИПЭЭ РАН
126	T14	мышцы		Россия	Томская обл	Бакчарский р-н, с. Кёнга	♂	да	1860 п.н.	да	КММД ИПЭЭ РАН
127	T15	мышцы		Россия	Томская обл	Бакчарский р-н, с. Кёнга	♂	да	1860 п.н.	да	КММД ИПЭЭ РАН
128	T6	мышцы		Россия	Томская обл	Чаинский р-н, с.Бундюор	♂	да	1860 п.н.	да	КММД ИПЭЭ РАН
129	T11	мышцы		Россия	Томская обл	Зырянский р-н	♂	да	1860 п.н.	да	КММД ИПЭЭ РАН
130	T8	мышцы		Россия	Томская обл		♂	да	1860 п.н.	да	КММД ИПЭЭ РАН
131	T9	мышцы		Россия	Томская обл	Чаинский р-н	♂	да	1860 п.н.	да	КММД ИПЭЭ РАН
132	T12	мышцы		Россия	Томская обл		♀	да	1860 п.н.		КММД ИПЭЭ РАН
133	T7	мышцы		Россия	Томская обл	Первомайский р-н	♂		570 п.н.		КММД ИПЭЭ РАН

N	Маркировка	Материал	Регион	Страна	Область/край	Локалитет	Пол	Аутосомные микр. локусы	мт/ДНК	Y-микр. локусы, Y579.1B	Образец получен
134	T13	мышцы		Россия	Томская обл				570 п.н.		КММД ИПЭЭ РАН
135	Mong-14	мышцы	Монголия	Монголия	Центральный аймак	Эрдэнэ	♂	да	1860 п.н.	да	Отбаяр
136	Mong-1	мышцы		Монголия	Центральный аймак	Эрдэнэ	♂	да	1860 п.н.	да	Отбаяр
137	Mong-15	мышцы		Монголия	Центральный аймак	Эрдэнэ	♂	да	1860 п.н.	да	Отбаяр
138	Mong-2	мышцы		Монголия	Центральный аймак	Эрдэнэ	♀	да	1860 п.н.		Отбаяр
139	Mong-16	мышцы		Монголия	Центральный аймак	Эрдэнэ		да	570 п.н.		Отбаяр
140	O-1	мышцы	юг поб. Охотского моря	Россия	Хабаровский край	Николаевский р-н, Охотское море, о-в Чкалова	♀	да	1860 п.н.		Д. Глазов, М. Соловьева
141	122534	кость		Россия	Хабаровский край	Николаевский р-н, окр. Пос. Кульги		да			ЗМ МГУ
142	122532	кость		Россия	Хабаровский край	Тугуро-Чумиканский р-н, ТМС "Бурукан"	♂	да			ЗМ МГУ
143	124070	кость		Россия	Приморский край	Тернейский р-н		да			ЗМ МГУ
144	0002	зуб		Россия	Хабаровский край	Тугуро-Чумиканский р-н, Залив Академии, залив Николая			570 п.н.		О. Шпак
145	1UR	мышцы		Россия	Хабаровский край	Тугуро-Чумиканский р-н, Залив Академии, залив Ульбанский	♂	да	1860 п.н.	да	О.Шпак
146	3UR	мышцы		Россия	Хабаровский край	Тугуро-Чумиканский р-н, Залив Академии, залив Ульбанский, оз. Иткан	♂	да	1860 п.н.	да	О.Шпак
147	4UR	мышцы		Россия	Хабаровский край	Тугуро-Чумиканский р-н, Залив Академии, залив Ульбанский, база Рыбзавода	♂	да	1860 п.н.	да	О.Шпак
148	2265	кость		Россия	Сахалинская обл	Ногликский р-н, р.Баури	♂		570 п.н.		Лаборатория ИЭ ИПЭЭ РАН
149	2136	кость		Россия	Приморский край				570 п.н.		Лаборатория ИЭ ИПЭЭ РАН
150	T19	шкура		Россия	Сахалинская обл	Курилы	♂		1860 п.н.	да	Н.С. Москвитина
151	T18	шкура		Россия	Сахалинская обл	Курилы	♂			да	Н.С. Москвитина
152	464	мышцы		Россия	Хабаровский край	Тугуро-Чумиканский р-н, река Иткан	♂	да	1860 п.н.	да	КММД ИПЭЭ РАН
153	d10-TEh	мышцы	Россия	Хабаровский край	Тугуро-Чумиканский р-н, Чумикан коса	♂	да	1860 п.н.	да	КММД ИПЭЭ РАН	

N	Маркировка	Материал	Регион	Страна	Область/край	Локалитет	Пол	Аутосомные микро- локусы	мт/ДНК	Y-микро- локусы, Y579.1B	Образец получен
154	d10-1	мышцы		Россия	Хабаровский край	Тугуро-Чумиканский р-н, Чумикан коса	♀	да	1860 п.н.		КММД ИПЭЭ РАН
155	d10-3	мышцы		Россия	Хабаровский край	Тугуро-Чумиканский р-н, Чумикан коса	♀	да	1860 п.н.		КММД ИПЭЭ РАН
156	d10-6	мышцы		Россия	Хабаровский край	Тугуро-Чумиканский р-н, Чумикан коса	♀	да	1860 п.н.		КММД ИПЭЭ РАН
157	US2	кровь		Россия	Приморский край	Шкотовский р-н, Уссурийский заповедник	♂	да			КММД ИПЭЭ РАН
158	Kun	шкура		Россия	Сахалинская обл	Южно-Курильский округ, Кунашир	♂		1860 п.н.	да	КММД ИПЭЭ РАН
159	US1	кровь		Россия	Приморский край	Шкотовский р-н, Уссурийский заповедник	♀		570 п.н.		КММД ИПЭЭ РАН
160	184195	кость	Чукотка	Россия	Чукотский АО	Анадырский р-н, Южная Чукотка, устье р. Туманская	♂	да	570 п.н.		ЗМ МГУ
161	159008	кость		Россия	Чукотский АО	Анадырский р-н, верх течения Анадыря, Новый Еропол	♂	да	570 п.н.		ЗМ МГУ
162	159010	кость		Россия	Чукотский АО	Анадырский р-н, верх течения Анадыря, р. Ворожея	♀	да	570 п.н.		ЗМ МГУ
163	159009	кость		Россия	Чукотский АО	Анадырский р-н, верх течения Анадыря, устье р. Боночанчих	♂		570 п.н.		ЗМ МГУ
164	1601	кость		Россия	Чукотский АО	Анадырский р-н, окр. Мейныпильгино	♂	да	570 п.н.		Лаборатория ИЭ ИПЭЭ РАН
165	887	кость		Россия	Чукотский АО	Чукотский р-н, Пинакуль	♂	да	570 п.н.		Лаборатория ИЭ ИПЭЭ РАН
166	1345	кость		Россия	Чукотский АО	Анадырский р-н, окр. Мейныпильгино		да			Лаборатория ИЭ ИПЭЭ РАН
167	Ch20	мышцы		Россия	Чукотский АО	Анадырский р-н, окр. п. Мейныпильгино	♂	да	1860 п.н.		Ф.В. Казанский
168	0004	зуб	Камчатка	Россия	Камчатка	Елизовский р-н, Кроноцкий зап-к, мыс Козлова, река Козлова, стоянка Козлова		да	570 п.н.		К. Гороховский
169	0003	коготь		Россия	Камчатка			да	570 п.н.		от И.Р. Беме
170	K140	мышцы		Россия	Камчатка	Тигильский р-н, р. Калгауч	♂	да	1860 п.н.	да	С.А. Тишкевич
171	K142	мышцы		Россия	Камчатка	Тигильский р-н, р. Калгауч	♂	да	1860 п.н.	да	С.А. Тишкевич
172	K143	мышцы		Россия	Камчатка	Тигильский р-н, р. Калгауч	♂	да	1860 п.н.	да	С.А. Тишкевич

N	Маркировка	Материал	Регион	Страна	Область/край	Локалитет	Пол	Аутосомные микро- локусы	мт/ДНК	Y-микро- локусы, Y579.1B	Образец получен
173	K3	шкура		Россия	Камчатка	Тигильский р-н, р. Рассошина	♂	да	1860 п.н.	да	С.А. Тишкевич
174	K5	шкура		Россия	Камчатка	Тигильский р-н, р. Рассошина	♂	да	1860 п.н.	да	С.А. Тишкевич
175	K1	шкура		Россия	Камчатка		♂	да	1860 п.н.	да	С.А. Тишкевич
176	K141	мышцы		Россия	Камчатка	Тигильский р-н, р. Калгауч	♀	да	1860 п.н.		С.А. Тишкевич
177	K2	шкура		Россия	Камчатка		♀	да	1860 п.н.		С.А. Тишкевич
178	K4	шкура		Россия	Камчатка	Тигильский р-н, р. Рассошина	♂	да	570 п.н.		С.А. Тишкевич

Таблица 2 Приложения. Последовательности праймеров, использовавшихся для амплификации фрагментов мтДНК (от 5'- к 3'-концу). То – температура отжига при ПЦР; F – прямой праймер, R – обратный праймер.

Название	Последовательность	Локус	Длина	То	Источник
BED1 (F)	AGCAACAGCTCCACTACCAG	Фрагмент контрольного региона мтДНК	709 п.н.	59°C	[Matsuhashi et al., 1999]
BED3 (R)	CGATTTAGTGGCGTTTATGTAC				
H1 (F)	AGAGTCTTTGTAGTATATTAATT ACTTTGG		521 п.н.	54°C	[Рожнов и др., 2010]
H674 (R)	TGTCCTGTAACCATTGACTGA		298 п.н.	54°C	[Loreille et al., 2001]
H3 (F)	CAGCTCCACTATCAGCACCCAAA GC				
H2 (R)	TGGTGATCAAGCTCCCGGACTAA GTG				
UB1F	CATAAATGGGAGAAGGCTTAGA	Ген цитохрома b и прилегающие участки	814 п.н.	55°C	[Korsten et al., 2009]
UB1R	GGGATTTTGTCTGAGTC				
UB2F	TCCACTTTATTCTCCCGTTC		683 п.н.		
UB2R	GTTGCTTCTCCTTGAGTC				

Таблица 3 Приложения. Последовательности праймеров, использовавшихся для амплификации аутомсомных микросателлитных локусов (от 5'- к 3'-концу). *Курсивом* приведены названия использовавшихся флуоресцентных меток; F – прямой праймер, R – обратный праймер.

Название	Последовательность	Длина	Источник
Mu10-F	<i>FAM</i> -ATTTCAGATTTTCATCAGTTTGACA	121-141 п.н.	[Bellemain, Taberlet, 2004]
Mu10-R	GTTTCTCAGCATAGTTACACAAATCTCC		
Mu23-F	<i>Tamra</i> -GCCTGTGTGCTATTTTATCC	125-172 п.н.	
Mu23-R	TAGACCACCAAGGCATCAG		
Mu50-F	<i>FAM</i> -GTCTCTGTCAATTCATCCCATC	80-116 п.н.	
Mu50-R	AACCTGGAACAAAAATTAACAC		
Mu51-F	<i>R6G</i> -AGCCAGAATCCTAAGAGACCT	104-132 п.н.	
Mu51R	AAAGAGAAGGGACAGGAGGTA		
Mu59-F	<i>Tamra</i> -GCTCCTTTGGGACATTGTAA	104-132 п.н.	
Mu59-R	TGACTGTCACCAGCAGGAG		
G10L-F	<i>R6G</i> -CAGGACAGGATATTGACATTGA	164-206 п.н.	
G10L-R	GATACAGAAACCTACCCATGCG		
G10X-F	<i>FAM</i> -CCCTGGTAACCACAAATCTCT	128-166 п.н.	[Paetkau et al., 1995]
G10X-R	TCAGTTATCTGTGAAATCAAAA		
Cxx20-F	<i>Tamra</i> -AGCAACCCCTCCCATTTACT	122-152 п.н.	[Ostrander, Sprague, Rine, 1993]
Cxx20-R	TTGTCTGAATAGTCCTCTGCG		
UarT647-F	<i>R6G</i> -TTGATGGCACCTATTTGCAG	158-226 п.н.	[Kleven et al., 2012]
UarT647-R	TCAGTGAAGGAGGGTCAAAAG		
UarT259-F	<i>ROX</i> -CTCTGGACTTCTGGCTCAGG	143-211 п.н.	
UarT259-R	TGAAGCCATCAACATTGCTC		

Таблица 4 Приложения. Последовательности праймеров, использовавшихся для амплификации Y-хромосомных маркеров (от 5'- к 3'-концу, по [Bidon et al., 2014]). Курсивом приведены названия использовавшихся флуоресцентных красок. То – температура отжига при ПЦР, * - понижение температуры на 1 градус каждый цикл в течение первых 10 циклов.

Название	Последовательность	Локус	Длина	То
Y318.1-R	ACTTGTAGATGCACATCTGTGGT	Y- хромосомные микросателлит ные локусы	≈290 п.н.	69°C → 59°C*
Y318.1-F	<i>FAM</i> -GGGATCAAGCCCCACATCAA			
Y318.2-R	AAGAGGGAGTCATCTGGGGT			
Y318.2-F	<i>FAM</i> -CAGGCTGACACTGGGGATTT			
Y318.4-R	CACTGTTGGTTTTGGCTCCG			
Y318.4-F	<i>Tamra</i> -TACCTGGCTGGCTTTCTTGG			
Y318.6-R	AAATTCCTTTGGAAACGTCCT			
Y318.6-F	<i>R6G</i> -GCTGGCTGTCTCTCTCTCTGA			
Y318.9-R	TGGCCAGGATACAGAAACAAC			
Y318.9-F	<i>Tamra</i> -CACTCAGGCACCCCTCTATC			
Y369.1-R	GGGGTATTGCGTTGCATTGG			
Y369.1-F	<i>Rox</i> -TCCCTGAATGAGCAGTAGCC			
Y369.4-R	TGTGGATGTATCTGCCCAAC			
Y369.4-F	<i>R6G</i> -AGGCATCCATTCTATCACCAC			
Y15020.1-R	GCGATGAAGGTCAGAGCAGT	Фрагмент Y- хромосомы	≈190 п.н.	60°C
Y15020.1-F	<i>Rox</i> -TGCAATTTCTCTCAAACAACCTCCT			
579.1B-F	CTGCAGGCCTGTCAATGTTA			
579.1B-R	TGTGTATCGACCCCATACTTTG		620 п.н.	

Таблица 5 Приложения. Нуклеотидные последовательности, полученные другими исследователями, и размещенные в базе GenBank, которые были использованы в данной работе.

Вид	Номер в GenBank	N (NCBI)	N (особей)	Исходный фрагмент мтДНК	Источник	Примечания
<i>U. arctos</i>	KY419593-680; KY419683-702	108	108	Полный митогеном	[Anijalg et al., 2018]	
<i>U. arctos</i>	X82308	1	1	Ген <i>cyt b</i> (1140 п.н.)	[Árnason et al., 1995]	
<i>U. arctos</i>	KP668973-87	15	15	Фрагмент КР и tRNA-Pro (615 п.н.)	[Ashrafzadeh, Kaboli, Naghavi, 2016]	СТ-политракт унифицирован
<i>U. arctos</i>	MF593957,8; MF593961,6,7,9; MF593979	7	17	Полный митогеном	[Benazzo et al., 2017]	Отсутствует область СТ-политракта
<i>U. arctos</i>	HG426320; HG426327-9; HG426332,5,6; HG426341,9; HG426375,7; HG426383-5	14	14	Фрагмент КР и tRNA-Pro (628 п.н.)	[Bidon et al., 2014]	
<i>U. arctos</i>	JQ823242	1	1	Фрагмент КР и tRNA-Pro (522 п.н.)	[Bray et al., 2013]	
<i>U. arctos</i>	AM411397-403	7	7	Фрагмент КР и tRNA-Pro (271 п.н.)	[Calvignac et al., 2008]	
<i>U. arctos</i>	FN292971, FN292974-82	10	10	Фрагмент КР и tRNA-Pro (271 п.н.)	[Calvignac, Hughes, Hänni, 2009]	
<i>U. arctos</i>	KT438621- 55	35	35	Фрагмент КР и tRNA-Pro (268 п.н.)	[Çilingir et al., 2016]	
<i>U. arctos</i>	AF303110	1	1	Полный митогеном	[Delisle, Strobeck, 2002]	
<i>U. arctos</i>	KX641317,9; KX641320-27; KX641336	11	11	Полный митогеном	[Fortes et al., 2016]	Отсутствует область СТ-политракта
<i>U. arctos</i>	HE657199-216	18	18	Фрагмент КР и tRNA-Pro (683 п.н.)	[Hailer et al., 2012]	
<i>U. arctos</i>	AP012559-93	35	35	Полный митогеном	[Hirata et al., 2013]	
<i>U. arctos</i>	AJ809333.1	1	1	Фрагмент КР и tRNA-Pro (270 п.н.)	[Hofreiter et al., 2004]	
<i>U. arctos</i>	HQ685901,2; HQ685904-6; HQ685912-5; HQ685955-64	19	23	Полный митогеном	[Keis et al., 2013]	

Вид	Номер в GenBank	N (NCBI)	N (особей)	Исходный фрагмент мтДНК	Источник	Примечания
<i>U. arctos</i>	EU567097-8; EU567101-3,5,6,8; EU567110-2	10	116	Гены <i>cyt b</i> , tRNA-Glu, tRNA-Thr и ND6 (1289 п.н.)		
<i>U. arctos</i>	EU526765,6,8; EU526770-2; EU526774,6,7; EU526781; EU526783-8; EU526793,5,7,8; EU526801-4; EU526806-10; EU526814	30	116	Фрагмент КР и tRNA-Pro (663 п.н.)	[Korsten et al., 2009]	
<i>U. arctos</i>	EU567090-5	6	6	Ген <i>cyt b</i> (1140 п.н.)	Korsten, Saarma, неопубликованное	
<i>U. arctos</i>	OK001262; OK001264-69, 74; OK001277-9	12	12	Полный митогеном	[Kosintsev et al., 2022]	
<i>U. arctos</i>	MG066702,3,5	3	3	Полный митогеном	[Lan et al., 2017]	
<i>U. arctos</i>	GU573486,7,9, GU573491	4	4	Полный митогеном	[Lindqvist et al., 2010]	
<i>U. arctos</i>	AB010725-AB010728	4	4	Фрагмент КР и tRNA-Pro (271 п.н.)	[Masuda et al., 1998]	
<i>U. arctos</i>	AB013044,5,9; AB013050,5,6,9; AB013060-4; AB013066	13	13	Фрагмент КР и tRNA-Pro (700 п.н.)	[Matsushashi et al., 1999]	
<i>U. arctos</i>	AB020905-8	4	4	Ген <i>cyt b</i> (1140 п.н.)		
<i>U. arctos</i>	JX196367-9	3	3	Полный митогеном	[Miller et al., 2012]	Отсутствует область СТ-политракта
<i>U. arctos</i>	MW991383-390; MW991397-401	14	14	Полный митогеном	[Molodtseva et al., 2022]	
<i>U. arctos</i>	GU057343–GU057377	35	35	Фрагмент КР и tRNA-Pro (351 п.н.)	[Murtskhvaladze, Gavashelishvili, Tarkhnishvili, 2010]	СТ-политракт унифицирован
<i>U. arctos</i>	MH255807	1	1	Полный митогеном	[Rey-Iglesia et al., 2019]	
<i>U. arctos</i>	OK512879-96; OK512898-913, 15; OK512917-29, 31; OK512933-44; OK512946-49, 51, 53, 54; OK512956-81	94	94	Полный митогеном	[Salis et al., 2021]	
<i>U. arctos</i>	U18870-97	28	173	Ген <i>cyt b</i> (1140 п.н.)	[Talbot, Shields, 1996]	

Вид	Номер в GenBank	N (NCBI)	N (особей)	Исходный фрагмент мтДНК	Источник	Примечания
<i>U. arctos</i>	KM886441,2; KM886421	3	3	Фрагмент КР и tRNA-Pro (265 п.н.)	[Xenikoudakis et al., 2015]	
<i>U. arctos</i>	HG008039–HG008044	6	6	Ген cyt b (1140 п.н.)	[Гуськов и др., 2013]	
<i>U. maritimus</i>	OK001271, 2, 5, 6; OK001280	5	5	Полный митогеном	[Kosintsev et al., 2022]	
<i>U. maritimus</i>	GU573488	1	1	Полный митогеном	[Lindqvist et al., 2010]	
<i>U. thibetanus</i>	NC_011117	1	1	Полный митогеном	Choi et al, неопубликованное	
<i>U. thibetanus</i>	EF076773	1	1	Полный митогеном	Hsieh et al, неопубликованное	
<i>U. thibetanus</i>	EF667005	1	1	Полный митогеном	[Hwang et al., 2008]	
<i>U. thibetanus</i>	AB013073	1	1	Фрагмент КР и tRNA-Pro (700 п.н.)	[Matsushashi et al., 1999]	
<i>U. thibetanus</i>	AB441786, AB441811, AB441793	3	3	Фрагмент КР и tRNA-Pro (706 п.н.)	[Ohnishi et al., 2009]	
<i>U. americanus</i>	HG426317	1	1	Фрагмент КР и tRNA-Pro (628 п.н.)	[Bidon et al., 2014]	
<i>U. americanus</i>	AF303109	1	1	Полный митогеном	[Delisle, Strobeck, 2002]	
<i>U. americanus</i>	AF012323	1	1	Фрагмент КР и tRNA-Pro (329 п.н.)	Wooding,S.P. and Ward,R.H., неопубликованное	

Таблица 6 Приложения. Ископаемые образцы, нуклеотидные последовательности которых были использованы в данной работе для калибровки филогенетических деревьев.

Номер в GenBank	Ссылка	Фрагмент	Тип датировки	РУ годы	калибр. РУ годы, 99,7%	Датировки другими методами
KX641325	[Fortes et al., 2016]	Полный митогеном	РУ	6750 ± 40	7502 - 7694	
KX641326		Полный митогеном	РУ	7340 ± 40	8016 - 8326	
KX641321		Полный митогеном	РУ	7100 ± 40	7790 - 8023	
KX641327		Полный митогеном	РУ	9240 ± 40	10245 - 10575	
KX641319		Полный митогеном	РУ	8720 ± 40	9539 - 10110	
KX641320		Полный митогеном	РУ	8990 ± 50	9805 - 10260	
KX641322		Полный митогеном	РУ	4115 ± 95	4235 - 4975	
KX641317		Полный митогеном	РУ	6548 ± 45	7321 - 7574	
KX641323		Полный митогеном	РУ	4160 ± 30	4529 - 4836	
KX641336		Полный митогеном	РУ	36680 ± 500	40479 - 42401	
MH255807		[Rey-Iglesia et al., 2019]	Полный митогеном	палеонтологический		
AJ809333.1	[Hofreiter et al., 2004]	Фрагмент КР и tRNA-Pro (270 п.н.)	РУ	47500	48021 - 54000	
AM411399	[Calvignac et al., 2008]	Фрагмент КР и tRNA-Pro (271 п.н.)	РУ	1285 ± 30	1073 - 1297	
AM411400		Фрагмент КР и tRNA-Pro (271 п.н.)	РУ	9620 ± 200	10225 - 11939	
AM411401		Фрагмент КР и tRNA-Pro (271 п.н.)	РУ	9620 ± 200	10225 - 11939	
AM411402		Фрагмент КР и tRNA-Pro (271 п.н.)	РУ	7666 ± 38	8372 - 8590	
AM411403		Фрагмент КР и tRNA-Pro (271 п.н.)	РУ	7270 ± 38	7966 - 8188	
JQ823242	[Bray et al., 2013]	Фрагмент КР и tRNA-Pro (522 п.н.)	РУ	6210 ± 100	6745 - 7425	
GU573488	[Lindqvist et al., 2010]	Полный митогеном	палеонтологический			110-130 т.л.н
OK512879	[Salis et al., 2021]	Полный митогеном	РУ	529 ± 24	630 - 504	
OK512880		Полный митогеном	РУ	8900 ± 45	10222 - 9719	
OK512881		Полный митогеном	РУ	798 ± 25	775 - 669	
OK512882		Полный митогеном	РУ	809 ± 25	781 - 671	
OK512912		Полный митогеном	РУ	9983 ± 37	11738 - 11250	

Номер в GenBank	Ссылка	Фрагмент	Тип датировки	РУ годы	калибр. РУ годы, 99,7%	Датировки другими методами
OK512913		Полный митогеном	РУ	36500 ± 1150	44454 - 38310	
OK512915		Полный митогеном	РУ	41787 ± 212	45212 - 44057	
OK512917		Полный митогеном	РУ	35970 ± 660	42324 - 39390	
OK512918		Полный митогеном	РУ	13760 ± 50	16989 - 16375	
OK512919		Полный митогеном	реконструкция			1,8-10,6 т.л.н
OK512920		Полный митогеном	РУ	413 ± 22	522 - 327	
OK512922		Полный митогеном	реконструкция			14,5-100 т.л.н
OK512923		Полный митогеном	реконструкция			4,8-5,8 т.л.н
OK512924		Полный митогеном	РУ	41000 ± 1050	47595 - 42348	
OK512927		Полный митогеном	реконструкция			4,3-54,3 т.л.н
OK512928		Полный митогеном	РУ + реконструкция	47100 ± 3100	... - 44619	2,3-51,1 т.л.н
OK512929		Полный митогеном	реконструкция			15,6-95,2 т.л.н
OK512931		Полный митогеном	реконструкция			2,2-45 т.л.н
OK512933		Полный митогеном	реконструкция			7,4-48,4 т.л.н
OK512934		Полный митогеном	реконструкция			2,8-49,7 т.л.н
OK512935		Полный митогеном	реконструкция			4,5-55 т.л.н
OK512936		Полный митогеном	РУ + реконструкция	50800 ± 1900	... - 48857	49-53,6 т.л.н
OK512937		Полный митогеном	РУ	19360 ± 140	23804 - 22936	
OK512939		Полный митогеном	реконструкция			2,7-16,9 т.л.н
OK512940		Полный митогеном	РУ	36137 ± 783	42567 - 39279	
OK512941		Полный митогеном	РУ	10015 ± 62	11874 - 11238	
OK512942		Полный митогеном	реконструкция			4-43,4 т.л.н
OK512944		Полный митогеном	реконструкция			2,9-49,5 т.л.н
OK512946		Полный митогеном	РУ	14150 ± 90	17750 - 16853	
OK512948		Полный митогеном	РУ	14980 ± 60	18650 - 18123	
OK512949		Полный митогеном	РУ	19027 ± 132	23720 - 22432	

Номер в GenBank	Ссылка	Фрагмент	Тип датировки	РУ годы	калибр. РУ годы, 99,7%	Датировки другими методами	
OK512951		Полный митогеном	реконструкция			9,9-82,6 т.л.н	
OK512953		Полный митогеном	реконструкция			10,2-78,3 т.л.н	
OK512955		Полный митогеном	РУ	30660 ± 180	35615 - 34445		
OK512964		Полный митогеном	РУ	9960 ± 50	11750 - 11223		
OK512965		Полный митогеном	РУ	14120 ± 60	17416 - 16973		
OK512967		Полный митогеном	РУ + реконструкция	43600 ± 1500	... - 43080	45,8-48,5 т.л.н	
OK512968		Полный митогеном	РУ	16450 ± 60	20148 - 19559		
OK512969		Полный митогеном	РУ	16440 ± 60	20135 - 19555		
OK512970		Полный митогеном	РУ	16380 ± 60	20060 - 19525		
OK512971		Полный митогеном	РУ	13925 ± 40	17104 - 16620		
OK512972		Полный митогеном	РУ	15370 ± 100	18921 - 18265		
OK512973		Полный митогеном	РУ	13830 ± 40	17030 - 16526		
OK512974		Полный митогеном	РУ + реконструкция	42900 ± 1600	... - 42697	45-48 т.л.н	
OK512980		Полный митогеном	реконструкция			18,8-102,8 т.л.н	
OK512981		Полный митогеном	РУ + реконструкция	46100 ± 2600	... - 44383	47-49,54 т.л.н	
MW991397		[Molodtseva et al., 2022]	Полный митогеном	РУ	40359 ± 944	46214 - 42197	
MW991398			Полный митогеном	палеонтологический			25-35 т.л.н
MW991399	Полный митогеном		палеонтологический			3,6-4,2 т.л.н	
MW991400	Полный митогеном		палеонтологический			5-6 т.л.н.	
OK001278	[Kosintsev et al., 2022]	Полный митогеном	РУ	41090 ± 570	43030 – 44800		
OK001279		Полный митогеном	РУ	25880 ± 80	29990 – 30280		
OK001272		Полный митогеном	РУ	845 ± 20	205 – 475		

Таблица 7 Приложения. Показатели гетерозиготности для различных популяций бурого медведя. Красным отмечены показатели первого квартиля (25% наиболее низких показателей) для литературных данных, зеленым – показатели четвертого квартиля (25% наиболее высоких показателей) для литературных данных. N – число особей, включенных в исследование, NL – число локусов, H_o – наблюдаемая гетерозиготность, H_e – ожидаемая гетерозиготность.

Популяция	N	NL	H_o	H_e	Источник
Кантабрийская популяция (восточная часть)	8	18	0,28	0,25	[Pérez et al., 2010]
Кантабрийская популяция (восточная часть)	26	17	0,27	0,26	[Gonzalez et al., 2016;]
Апеннинские горы (Италия)	30	12	0,4	0,44	[Lorenzini et al., 2004]
Апеннинские горы (Италия)	13	10	0,46	0,44	[Gervasi et al., 2010]
Кантабрийская популяция (западная часть)	39	18	0,44	0,45	[Pérez et al., 2009]
Альпы (Италия)	17	9	0,44	0,46	[Zachos et al., 2008]
Апеннинские горы (Италия)	55	13	0,48	0,49	[Ciucci et al., 2015]
Кантабрийская популяция (западная часть)	12	17	0,51	0,5	[Gonzalez et al., 2016;]
Австрия	22	8	0,78	0,62	[Kruckenhauser et al., 2009]
Северо-запад гор Пинд (Греция)	82	10	0,58	0,55	[Tsaparis et al., 2015]
Стражовске-Врхи (Словакия)	45	7	0,59	0,57	[Grabán et al., 2013]
Стражовске-Врхи (Словакия)	13	10	0,63	0,62	[Pepich, Krajmerová, Saniga, 2014],
Восточная Словакия	30	13	0,66	0,65	[Straka et al., 2011]
горы Пинд (Греция)	49	10	0,65	0,69	[Karamanlidis et al., 2012]
Центральная Словакия	96	13	0,69	0,7	[Straka et al., 2012]
Северная Словакия	71	13	0,69	0,71	[Straka et al., 2012]
Македония	14	18	0,75	0,72	[Karamanlidis et al., 2012]
Болгария	125	13	0,66	0,73	[Nowak et al., 2014]
Северные Динарские горы (Хорватия)	510	20	0,74	0,73	[Skrbinšek et al., 2012]
Карпаты (Болгария)	136	13	0,64	0,74	[Frosch et al., 2014]
Румыния	74	13	0,71	0,75	[Nowak et al., 2014]
Динарские горы (Хорватия)	156	12	0,74	0,75	[Kocijan et al., 2011]
Румыния	109	13	0,76	0,79	[Straka et al., 2011]
Карпаты (Румыния)	16	9	0,72	0,81	[Zachos et al., 2008]
Швеция (северное ядро 2)	88	19	0,65	0,66	[Waits et al., 2000]
Швеция (северное ядро 3)	29	19	0,66	0,66	[Waits et al., 2000]
Швеция (северное ядро 1)	108	19	0,66	0,66	[Waits et al., 2000]
Швеция (южное ядро)	155	19	0,76	0,66	[Waits et al., 2000]
Швеция	288	18	0,71	0,67	[Støen et al., 2005]
Эстония	62	17	0,66	0,68	[Tammeleht et al., 2010]
Южная Швеция	145	16	0,7	0,68	[Xenikoudakis et al., 2015]
губерния Тромс (Норвегия)	34	12	0,74	0,68	[Schregel et al., 2012]

Популяция	N	NL	Но	Не	Источник
Северная Швеция	132	16	0,69	0,69	[Xenikoudakis et al., 2015]
Северо-западная Норвегия	26	10	0,73	0,69	[Eiken et al., 2009]
Центральная Швеция	84	16	0,7	0,7	[Xenikoudakis et al., 2015]
провинция Вестерботтен (Швеция)	84	12	0,69	0,72	[Schregel et al., 2012]
Южная Норвегия	62	10	0,73	0,72	[Eiken et al., 2009]
Центральная Норвегия	43	10	0,77	0,74	[Eiken et al., 2009]
Южная Финляндия	315	12	0,75	0,75	[Hagen et al., 2015]
Южная Финляндия	44	17	0,75	0,77	[Tammeleht et al., 2010]
Пасвик (Норвегия)	31	16	0,77	0,77	[Kleven et al., 2012]
Пасвик (Норвегия)	41	13	0,78	0,77	[Kopatz et al., 2012]
Северо-восточная Норвегия	75	10	0,78	0,78	[Eiken et al., 2009]
Южная Финляндия	122	12	0,79	0,78	[Kopatz et al., 2014]
Пасвик (Норвегия)	93	12	0,8	0,78	[Schregel et al., 2012]
Северная Финляндия	26	17	0,78	0,82	[Tammeleht et al., 2010]
Северная Финляндия	504	12	0,82	0,83	[Hagen et al., 2015]
Северная Финляндия	164	12	0,83	0,83	[Kopatz et al., 2014]
Архангельская область	16	17	0,78	0,79	[Tammeleht et al., 2010]
Западная часть Европейской части России	32	17	0,79	0,8	[Tammeleht et al., 2010]
Пинега (Архангельская область)	27	13	0,81	0,8	[Kopatz et al., 2012]
Южная Карелия	78	13	0,76	0,81	[Kopatz et al., 2012]
Карелия	79	12	0,78	0,82	[Schregel et al., 2012]
Европейская часть России	25	10	0,82	0,82	Данная работа
Кировская область	13	17	0,83	0,83	[Tammeleht et al., 2010]
Урал	19	10	0,76	0,82	Данная работа
Хинган (Дорнод аймаг)	6	13	0,51	0,72	[Tumendemberel et al., 2019]
Алтай (Баян-Улгий аймаг)	12	13	0,74	0,78	[Tumendemberel et al., 2019]
Хентий (Хентий, хребет Бютээлийн Нуруу и Богд хан)	48	13	0,75	0,81	[Tumendemberel et al., 2019]
Северная Монголия	5	9	0,79	0,82	Данная работа
Западная Сибирь	28	10	0,79	0,84	Данная работа
Саяны (Хувсгел аймаг)	7	13	0,85	0,85	[Tumendemberel et al., 2019]
Камчатка	11	14	0,72	0,69	[Talbot et al., 2006]
Приморский край (Россия)	13	10	0,75	0,72	[Latham et al., 2012]
Дальний Восток	31	10	0,79	0,82	Данная работа
Лазистанский хр-т (Турция)	42	5	0,74	0,78	[Ambarlı et al., 2018]
Кавказ	31	10	0,75	0,78	Данная работа
Восточный Хоккайдо	132	17	0,63	0,66	[Itoh et al., 2012]
Гоби (Монголия)	22	25	0,3	0,29	[Tumendemberel et al., 2015]
Гоби (Монголия)	16	6	0,24	0,32	[McCarthy, 2000]

Популяция	N	NL	Но	Не	Источник
Гоби (Монголия)	68	13	0,51	0,48	[Tumendemberel et al., 2019]
нац.парк Деосай (Пакистан)	28	15	0,56	0,55	[Bellemain et al., 2007]
Гималаи (Пакистан)	5	13	0,57	0,55	[Tumendemberel et al., 2019]
о-в Афогнак (Аляска)	29	14	0,26	0,27	[Talbot et al., 2006]
о-в Кадьяк (Аляска)	34	8	0,3	0,27	[Paetkau et al., 1998]
о-в Кадьяк (Аляска)	218	14	0,26	0,28	[Talbot et al., 2006]
о-ва Баранова и Чичагова (Британская Колумбия)	35	8	0,49	0,5	[Paetkau, Shields, Strobeck, 1998]
нац.парк Изембек (Аляска)	14	8	0,54	0,53	[Paetkau, Shields, Strobeck, 1998]
Йеллоустоун (Северная Америка)	57	8	0,55	0,55	[Paetkau et al., 1998]
Йеллоустоун (Северная Америка)	424	16	0,6	0,6	[Haroldson et al., 2010]
Коппермайн (Канада)	36	8	0,61	0,61	[Paetkau et al., 1998]
нац.парк Кенай (Аляска)	38	15	0,63	0,63	[Jackson, Talbot, Farley, 2008]
о-в Адмиралти (Британская Колумбия)	30	8	0,65	0,63	[Paetkau, Shields, Strobeck, 1998]
горы Британской Колумбии	711	15	0,65	0,64	[Proctor et al., 2004]
Полатук (Канада)	58	8	0,66	0,65	[Paetkau et al., 1998]
юг Скалистых гор (Северная Америка)	98	15	0,66	0,66	[Proctor, McLellan, Strobeck, 2002]
север Скалистых гор (Северная Америка)	121	15	0,66	0,66	[Proctor, McLellan, Strobeck, 2002]
Восточный склон Скалистых гор (Северная Америка)	41	8	0,64	0,67	[Paetkau et al., 1998]
Северный Американский континентальный водораздел (Северная Америка)	602	16	0,68	0,67	[Haroldson et al., 2010]
нац.парк Катмай (Аляска)	24	15	0,67	0,68	[Jackson, Talbot, Farley, 2008]
Западный склон Скалистых гор (Северная Америка)	28	8	0,67	0,68	[Paetkau et al., 1998]
хребет Кускоквим (Аляска)	55	8	0,7	0,68	[Paetkau et al., 1998]
река Флатхед (Северная Америка)	40	8	0,69	0,69	[Paetkau et al., 1998]
нац.парк Катмай (Аляска)	29	14	0,68	0,71	[Talbot et al., 2006]
запад залива Глейшер (Британская Колумбия)	35	21	0,71	0,71	[Lewis, Pyare, Hundertmark, 2015]
залив Прудо-Бэй (Аляска)	78	14	0,68	0,72	[Cronin et al., 2005]
Северный Американский континентальный водораздел (Северная Америка)	563	7	0,73	0,74	[Kendall et al., 2009]
восток залива Глейшер (Британская Колумбия)	41	21	0,76	0,74	[Lewis, Pyare, Hundertmark, 2015]
хребет Брукс (Аляска)	148	8	0,77	0,75	[Paetkau et al., 1998]

Популяция	N	NL	Ho	He	Источник
Побережье Британской Колумбии (Северная Америка)	15	8	0,62	0,76	[Paetkau, Shields, Strobeck, 1998]
хребет Ричардсон (Канада)	119	8	0,77	0,76	[Paetkau et al., 1998]
Клуэйн (Канада)	50	8	0,79	0,76	[Paetkau et al., 1998]
Аляскинский хребет (Аляска)	28	8	0,76	0,78	[Paetkau, Shields, Strobeck, 1998]

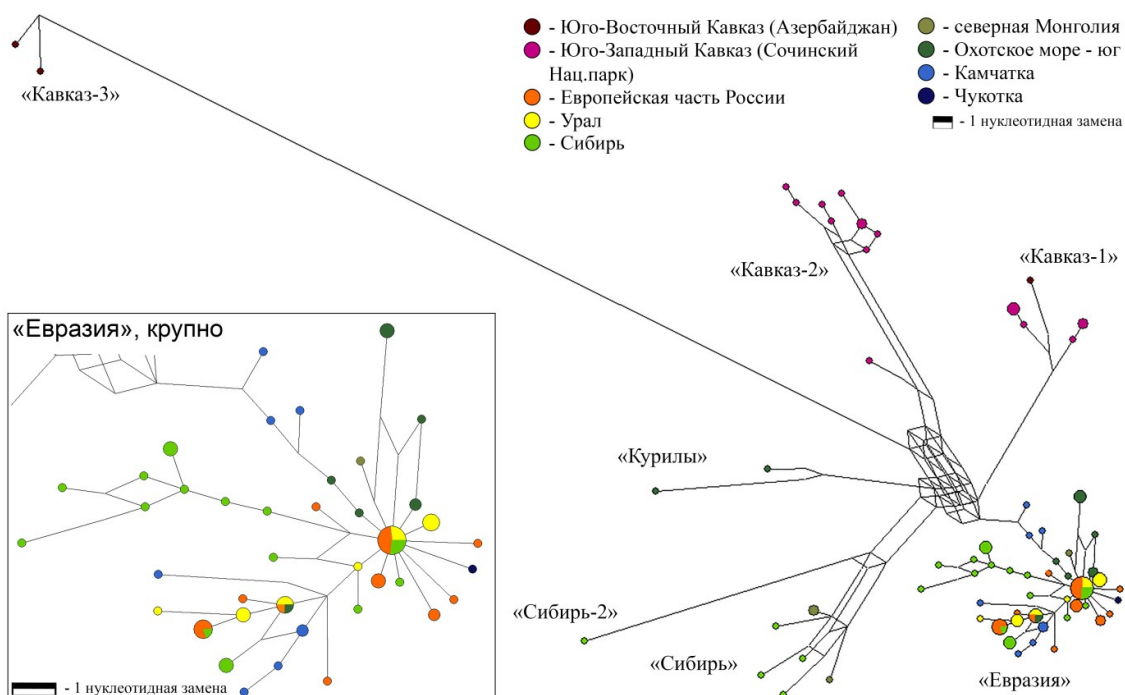


Рисунок 1 Приложения. Медианная сеть гаплотипов, построенная на основании фрагмента мтДНК длиной 1843 п.н. (с исключенной областью СТ-политракта). Диаметр кружков пропорционален числу особей, входящих в гаплотип, длина ветвей пропорциональна числу замен, разделяющих гаплотипы. Названия гаплогрупп, используемые в тексте, даны в кавычках.

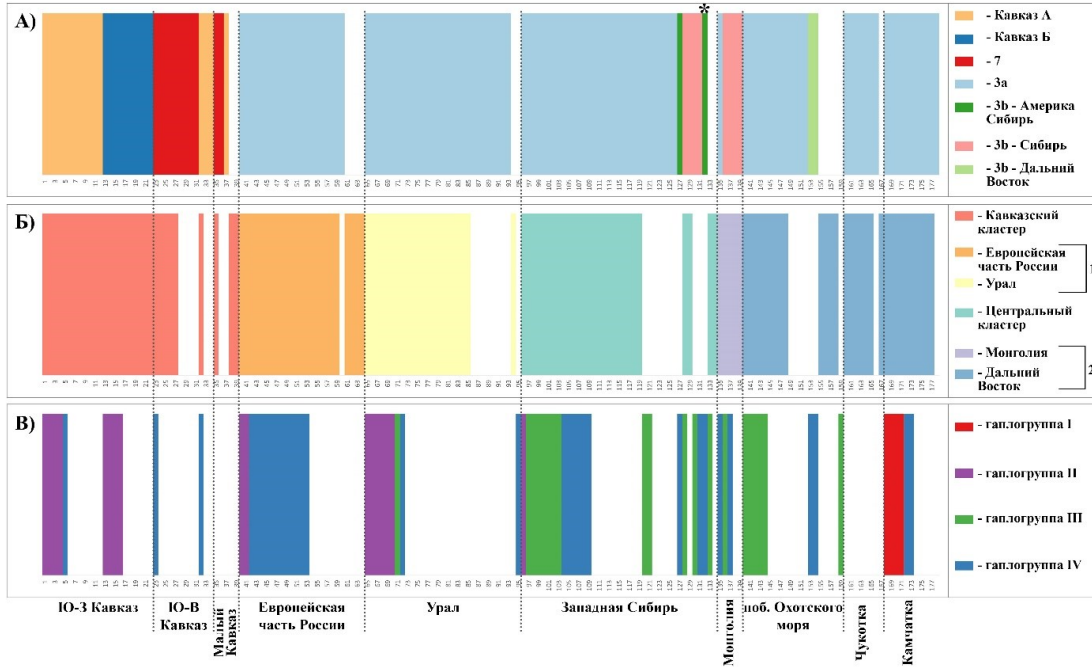


Рисунок 2 Приложения. Кластеризация исследованных особей бурого медведя по использованным генетическим маркерам. Справа приведены схемы иерархических отношений между выявленными генетическими группами. А) мтДНК, * - образец, описанный в работе [Molodtseva et al., 2022]; Б) аутосомные микросателлитные локусы; В) Y-хромосомные микросателлитные локусы.