

На правах рукописи

Соколова Надежда Алексеевна

ФИЛОГЕОГРАФИЯ И ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ РЕЧНОЙ ВЫДРЫ
(*LUTRA LUTRA*) НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ И СТРАН ЗАКАВКАЗЬЯ

1.5.12 – Зоология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва, 2026

Работа выполнена в кабинете методов молекулярной диагностики Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук».

Научный руководитель: **Сорокин Павел Александрович**
кандидат биологических наук, старший научный сотрудник кабинета методов молекулярной диагностики ФГБУН «Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук»

Официальные оппоненты: **Политов Дмитрий Владиславович**
доктор биологических наук, главный научный сотрудник, заведующий лабораторией популяционной генетики им. акад. Ю.П. Алтухова ФГБУН «Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук»

Матросова Вера Анатольевна
кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории механизмов и контроля трансляции ФГБУН «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта Российской академии наук»

Ведущая организация: Институт биологии ФГБУН «Федеральный исследовательский центр «Карельский научный центр Российской академии наук» (г. Петрозаводск)

Защита состоится «__» _____ 2026 года в __ часов __ минут на заседании диссертационного совета 24.1.109.01 при Федеральном государственном учреждении науки «Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук» по адресу: 119071, г. Москва, Ленинский проспект, д. 33.
Тел/факс: +7(495)952-35-84, e-mail: admin@sevin.ru

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке Отделения биологических наук Российской академии наук по адресу: 119071, г. Москва, Ленинский проспект, д. 33, на сайте ФГБУН ИПЭЭ РАН по адресу: www.sev-in.ru и на сайте Высшей аттестационной комиссии по адресу: vak.minobrnauki.gov.ru

Автореферат разослан «__» _____ 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук

Е.А. Кацман

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность и степень изученности темы исследования

Формирование филогеографической структуры и генетического разнообразия для многих ныне существующих палеарктических видов во многом происходило под влиянием чередования ледниковых и межледниковых периодов в четвертичном периоде (Hewitt, 2000). Многие виды умеренных широт в связи со сменой пространственной структуры биотопов смещались южнее в т.н. рефугиальные зоны, где популяции оказывались изолированы друг от друга, и таким образом формировались изолированные генетические линии. Речная выдра (*Lutra lutra*), с одной стороны, обладает широким палеарктическим ареалом, уникальным для семейства Куны, с другой стороны, является единственным крупным околоводным хищником с таким широким ареалом. Центром подвидового разнообразия речной выдры являются Южная и Юго-Восточная Азия (Loy et al., 2022). На территории России, составляющей не менее 60% всего современного ареала речной выдры, на данный момент выделяется два подвида: номинативный подвид северная выдра *L. l. lutra* (Linnaeus, 1758) и кавказская *L. l. meridionalis* (Ognev, 1931) (Огнёв, 1931; Гептнер и др., 1967; Красная книга Российской Федерации, 2021). При этом исследования генетического разнообразия выдры в основном проведены для территории Европы и, на начальном этапе, для Южной Кореи. Основными маркерами были выбраны фрагмент контрольного региона мтДНК (Cassens et al., 2000; Mucci et al., 2010) и микросателлитные локусы яДНК (Dallas et al., 1999; Cohen et al., 2014; Geboes et al., 2015).

Результаты исследований фрагмента контрольного региона мтДНК для европейской территории показали, что один гаплотип является доминирующим и распространен по всей Европе от Иберийского полуострова до Скандинавии и России (Ferrando et al., 2004; Stanton et al., 2009; Mucci et al., 2010; Finnegan, O'Neill, 2010). Большинство остальных гаплотипов приурочены к одному или нескольким регионам, в большей части исследованных регионов наблюдался только один или несколько гаплотипов, а медианная сеть гаплотипов для европейской территории имеет форму звезды и не показывает явной филогенетической структуры.

Выдры из исследованных регионов Европы и Ближнего Востока показывали умеренные уровни аллельного разнообразия микросателлитных локусов, которое, однако, было низким в некоторых изолированных популяциях, таких как выдры из Дании и южной Италии (Mucci et al., 2010). Данные по разнообразию микросателлитных локусов не формировали четких филогеографических паттернов для европейских популяций. Например, генетическое разнообразие не снижалось к северу, как можно было бы предполагать из нескольких последовательных «бутылочных горлышек» по ходу волн расселения, или не возрастало в центральных европейских регионах, как можно предполагать из постледниковых перемешиваний расширяющихся популяций (Hewitt, 2000). Но исторические филогеографические паттерны в значительной степени нарушены вследствие недавнего изменения климата, снижения численности популяций и фрагментации ареала вследствие антропогенной нагрузки (Mucci et al., 2010). Сравнение данных из выборок исторических и современных образцов выдры показало, что выдры на юге Швеции прошли через серьезное «бутылочное горлышко», которое выразилось в снижении генетического разнообразия и изменении частот микросателлитных локусов (Tison et al., 2015).

Подвидовое разнообразие выдры наиболее высоко в Южной и Юго-Восточной Азии (Congro et al., 1998; Loy et al., 2022). Проведенные молекулярно-генетические исследования для номинативного подвида на территории Южной Кореи показывали значительные отличия от европейской популяции (Ki et al., 2010). Выявленные гаплотипы мтДНК из Южной Кореи образовали отдельную филогеографическую кладу, а нуклеотидное и гаплотипическое разнообразие выборок оказалось выше, чем для европейских. Это может указывать на различную структуру популяций для западноевропейских и восточноазиатских выдр (Hwang, Cho, 2018).

Одно из последних исследований, где в качестве маркёров как раз выбран полный митогеном и ген цитохрома b, показало наличие пяти генетических линий речной выдры (Du Plessis et al.,

2023b), разделившихся предположительно в позднем плейстоцене (80 тыс. л.н.). Представители митохондриальной линии 2 обитают на Корейском полуострове и о. Сахалин. Митохондриальная линия 3 наиболее широко распространена среди особей Западной Европы, Ирака, Центральной Сибири, они относятся к подвидам *L. l. lutra* и вероятно *L. l. meridionalis*.

Для территории России генетические исследования выдры ранее не были опубликованы, в том числе отсутствуют разработанные методики молекулярно-генетического анализа для данного вида. Однако были проведены морфологические исследования (Барышников, Пузаченко, 2012), в которых показано различие между «восточным» и «западным» морфотипом речной выдры, причём кавказская выдра крайне близка к «западному» морфотипу. Этот факт предполагает наличие филогеографической структуры и поднимает вопрос о подвиговой специфике кавказской выдры (*L. l. meridionalis*), второго подвида на территории России. Его основной ареал располагается в Передней Азии, а северную границу проводят по Предкавказью. Кавказская выдра была выделена в отдельный подвид по внешним морфологическим признакам (Огнёв, 1937), что повышает актуальность генетических исследований для определения степени сходства кавказского и номинативного подвидов.

В основе данного исследования лежит оценка генетического разнообразия и описание популяционно-генетической структуры речной выдры для территории России и стран Закавказья на основании полиморфизма нуклеотидной последовательности фрагмента митохондриальной ДНК и частот аллелей микросателлитных локусов ядерной ДНК. С использованием собственных и литературных данных выполнено сравнение генетического разнообразия речной выдры в России и в европейских и азиатских странах для выяснения путей расселения и формирования современного ареала речной выдры по территории северной Евразии. Помимо этого, определена генетическая специфика кавказской выдры по сравнению с номинативным подвидом, обитающим в России.

Цели и задачи работы

Целью данного исследования является описание филогеографической структуры и генетического разнообразия речной выдры на территории России и Закавказья. Для этого поставлены следующие задачи:

1. Разработать молекулярно-генетические методики для работы с неинвазивными образцами речной выдры для исследований на ООПТ и других территориях.
2. Оценить генетическое разнообразие и описать популяционно-генетическую структуру речной выдры на основании полиморфизма нуклеотидной последовательности фрагмента мтДНК и частот аллелей микросателлитных локусов яДНК.
3. Сравнить генетическую структуру и разнообразие речной выдры в России и других частях ареала.
4. Определить генетическую специфику кавказского подвида речной выдры в России и Закавказье по сравнению с номинативным подвидом, обитающим в России.

Научная новизна

Впервые для территории России и Армении проведено исследование речных выдр с применением комплекса молекулярных маркеров, различных как по типу наследования, так и по скорости эволюции (мтДНК, аутосомные микросателлитные локусы яДНК). Впервые описана филогеографическая структура и генетическое разнообразие, получены генетические профили по ядерным микросателлитным локусам речной выдры для данной территории. Оценено генетическое разнообразие как по сравнению с аналогичными видами палеарктических хищных млекопитающих, так и по сравнению с известными по литературным источникам данным о европейской выдре. Впервые проведена оценка генетического разнообразия краснокнижного кавказского подвида речной выдры (*L. l. meridionalis*) и обнаружено его близкое родство с выдрами, обитающими в Европейской части России. Показано, что население выдры юга Дальнего Востока России обладает более высоким генетическим разнообразием по сравнению с другими

выборками с исследуемой части ареала, и вероятно является отдельной эволюционной линией. Разработаны и уточнены методики, а также проведена оценка успешности генетического анализа для проб экскрементов выдры. Это позволило расширить охват исследований за счёт особей, обитающих на ООПТ, что в дальнейшем поможет эффективно проводить охранные мероприятия и контролировать ресурсы данного животного.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные в рамках исследования данные позволили получить единую картину по генетическому разнообразию вида в северной Евразии, охарактеризовать популяционную изменчивость, уточнить внутривидовую структуру и пути расселения выдры, провести исследование генетической специфики кавказской популяции выдры. Результаты работы расширяют знания в области микроэволюции палеарктических хищных млекопитающих. Полученные в ходе работы гаплотипы мтДНК загружены в международную базу данных Genbank (NCBI), что значительно расширяет объем имеющихся данных по речной выдре для Северной Евразии и Кавказа. Применение неинвазивных методик сбора и анализа материала, разработка методов индивидуальной идентификации позволило провести исследования на территориях ООПТ, в максимально ненарушенных местообитаниях. В дальнейшем они могут быть использованы при планировании природопользовательских и природоохранных мероприятий.

Методы исследования

В данном исследовании использованы пробы тканей и экскрементов выдры из различных частей ареала (Россия и Армения). Для выполнения работы использован материал различного происхождения: мышцы, костная ткань, шерсть, экскременты. Костный материал взят из черепов и зубов выдр из музейных коллекций. Использование экскрементов позволило оценить генетическое разнообразие ныне живущих популяций выдры, в т. ч. на территории Армении и России из ООПТ. Исследование выполнено на базе Кабинета методов молекулярной диагностики, входящего в ЦКП «Инструментальные методы в экологии» ИПЭЭ РАН. Была проведена лабораторная обработка образцов тканей речной выдры и выделение ДНК с помощью коммерческих наборов с модификациями. Для анализа мтДНК проводилась амплификация двух фрагментов мтДНК и секвенирование по Сэнгеру. Анализ отобранных 20 аутосомных микросателлитных локусов проводили с помощью электрофореза на капиллярном секвенаторе. Для статистической обработки использовались методы байесовской кластеризации построения медианных сетей гаплотипов. Исследование возможностей индивидуальной идентификации выдры с помощью анализа мтДНК и микросателлитных локусов проводилось в ГПЗ «Калужские засеки».

Основные положения, выносимые на защиту

1. Выдры Европейской России обладают большим генетическим разнообразием, чем выдры Западной и Центральной Европы.
2. Выдра юга Дальнего Востока России обладает самым высоким уровнем генетического разнообразия и наибольшей генетической дистанцией мтДНК между исследованными группами.
3. Кавказская выдра (*L. l. meridionalis*) генетически слабо отличима от особей номинативного подвида (*L. l. lutra*), обитающих на территории Европейской России.

Апробация результатов

Материалы работы были представлены на 3 отечественных научных конференциях с международным участием: «Млекопитающие в меняющемся мире: актуальные проблемы териологии (XI Съезд Териологического общества при РАН)» (Москва, Россия, 2022), «Генетические процессы в популяциях» (Москва, Россия, 2022), «Фундаментальные и прикладные

аспекты адаптации живых организмов к изменяющимся условиям окружающей среды Севера: исследования, инновации, перспективы» (Петрозаводск, Карелия, Россия, 2024).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 3 работы в рецензируемых журналах, входящих в перечень научных журналов ВАК и базы цитирования WoS и Scopus, 3 публикации в сборниках материалов конференций.

Личный вклад соискателя

Автором работы была собрана часть выборки образцов, состоящая из экскрементов (на территории различных ООПТ), костной ткани (музеи), полностью проведены все лабораторные процедуры и статистическая обработка данных. Вклад автора в подготовку публикаций составил 75–80% и диссертации 90%.

Структура и объём работы

Диссертация состоит из введения, 4 глав (обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение) и выводов. Работа изложена на 124 страницах машинописного текста, включая 107 страниц основного текста и 17 страниц Приложений. Работа содержит 33 рисунка и 13 таблиц в основном тексте, 5 таблиц в Приложении. Список литературы включает 169 наименований, в том числе 146 на иностранных языках.

Благодарности

Выражаю искреннюю благодарность научному руководителю — Павлу Александровичу Сорокину, за помощь в работе и руководство диссертацией, а также бесконечное терпение, поддержку, позволившую эту работу выполнить. Также хочется поблагодарить Елену Михайловну Литвинову и Хосе Антонио Эрнандеса-Бланко, чьё руководство ещё на стадии студенческих работ привило любовь к объекту, отрасли и полевым исследованиям в целом. Также выражаю благодарность коллегам из Кабинета методов молекулярной диагностики ИПЭЭ РАН за помощь и поддержку как по части работы в лаборатории, так и за ценные советы. Выражаю благодарность соавторам, участвовавшим в подготовке публикаций, сложивших основу данной работы: Олейникову А.Ю., Кораблёву Н.П., Кораблёву П.Н., Калояну Г., Гёнджану А., Малхасяну А., Королёву А.Н. Особая благодарность коллегам, помогавшим в сборе образцов в природе и из научных коллекций.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского Научного Фонда (проект № 23-24-00411).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **ВВЕДЕНИИ** указаны актуальность и степень изученности темы исследования, определены цели и задачи исследования, приведены научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы и основные положения, выносимые на защиту.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В обзор литературы входят следующие разделы: «Биологическая характеристика вида», «Распространение и численность», «Подвидовая структура и географическая изменчивость», «Современное состояние исследований филогеографии и генетической изменчивости речной выдры».

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Сбор и хранение образцов для генетического анализа

В исследовании было использовано 166 образцов из различных типов тканей (мышцы, кости, шерсть) и экскрементов речной выдры. Географическое распределение образцов указано на Рисунке 1. Образцы тканей и шерсти были представлены охотниками и исследователями из различных регионов. Образцы костной ткани были предоставлены: Зоологическим музеем МГУ им. М.В. Ломоносова (г. Москва), Зоологическим музеем Института Экологии Растений и Животных УрО РАН (г. Екатеринбург), Зоологическим музеем Сыктывкарского Государственного Университета и музеем Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН (г. Сыктывкар), Зоологическим музеем НАН Армении (г. Ереван), Биоресурсным центром коллективного пользования териологическими коллекциями ООПТ (Центрально-Лесной заповедник). Экскременты речной выдры были собраны на территории следующих ООПТ: ГПЗ «Калужские засеки», ГПЗ «Брянский лес», Центрально-Лесной ГПБЗ, Кавказский ГПБЗ, НП «Кондинские озёра». Образцы мышц и шерсти были помещены в 96% этиловый спирт. Образцы костной ткани были отобраны в максимально возможных стерильных условиях. На нижней челюсти черепа выдры примерно под I-ым моляром (хищническим зубом) высверливалось 8–10 отверстий сверлом диаметром 1 мм, а костная мука собиралась в пробирку и хранилась при температуре -25°C до начала выделения. Образцы экскрементов были собраны автором в полевых условиях по протоколу (Рожнов и др., 2018), модифицированному для речной выдры: чистым инструментом кусочек экскремента размером 1.5 см^3 был помещён в 96% этиловый спирт.



Рисунок 1. Карта происхождения образцов речной выдры, использованных в исследовании. Красным цветом обозначены образцы группы Кавказа, зелёным — группы Европейской России (далее — ЕР), оранжевым — группы Сибири, синим — группы Дальнего Востока России (далее — ДВР), жёлтым — образец из Узбекистана.

2.2. Выделение ДНК

Выделение ДНК проводилось с помощью разных наборов реагентов согласно типу ткани. Для выделения ДНК из мышц использовался набор QIAamp Blood & Tissue kit (Qiagen, США) по протоколу, указанному производителем. ДНК из 100–150 мкл костной ткани была выделена наборами QIAamp Investigator kit (Qiagen, США) и COrDIS Экстракт Декальцин (Гордиз, Россия). В протоколы производителей были внесены модификации: увеличение времени лизирования до суток, после 20 часов лизирования добавлялись дополнительные 20 мкл протеиназы К. ДНК из шерсти была выделена также набором QIAamp Investigator kit (Qiagen, США) с аналогичными

модификациями. ДНК из экскрементов, объемом примерно 1 см³, была выделена набором QIAamp DNA Stool Mini kit (Qiagen, США) по протоколу, указанному производителем. Выделенная ДНК в дальнейшем хранилась при -25°C.

2.3. Амплификация и секвенирование мтДНК

Были амплифицированы два фрагмента мтДНК. Первый фрагмент — это 5'-конец контрольного региона мтДНК длиной в 255 пар нуклеотидов (далее — п.н.). Второй исследуемый фрагмент мтДНК длиной в 820 п.н. включал в себя 3'-конец гена цитохрома b, тРНК-Три, тРНК-Про, 5'-конец контрольного региона длиной 572 п.н. Амплификация проводилась с использованием двух пар праймеров. Первая пара праймеров L1ucybL996/H16498 и программа ПЦР были взяты из статьи Муччи с соавторами (Mucci et al., 2010). Вторая пара праймеров была подобрана на основании референтной последовательности мтДНК из базы нуклеотидных последовательностей GenBank с использованием программы Primer3Plus 3.3.0 (Untergasser et al., 2012). Программа ПЦР была видоизменена: 94°C 2 минуты, (94°C 40 сек, 57°C 40 сек, 72°C 40 сек) 28–40 циклов, 72°C 10 минут. В ПЦР-смесь для реакции общим объёмом 20 мкл входило 4 мкл ПЦР-микса 5X MasDDTaqMIX-2025 (Диалат, Россия), 1.5 мкл каждого праймера (прямого и обратного) в концентрации 5 пМоль, 1 единицу Hot Start Taq ДНК полимеразы (СибЭнзим, Россия), 4 мкл ДНК и вода. Количество циклов в реакции меняли в зависимости от типа образца. Для мышечных тканей использовали 25 циклов ПЦР, для шерсти, костей, экскрементов 35–40 циклов в зависимости от концентрации конечного ПЦР-продукта.

Амплификацию проводили с помощью амплификатора MiniAmp Thermal Cycler (Applied Biosystems, США). Качество полученного ПЦР-продукта определяли с помощью электрофореза в 1.5% агарозном геле. Очистка ПЦР-продукта проводилась методом осаждения раствором 3 М ацетата натрия в 96% этаноле и далее 70% этанолом. Очистку образцов с малым количеством ПЦР-продукта проводили вырезанием ДНК фрагмента из 1.5% агарозного геля с использованием набора Cleanup Mini (Евроген, Россия).

Сиквенс-ПЦР проводили с использованием набора BigDye Terminator kit 3.1 и 1.1 (Applied Biosystems, США). Секвенирование проводили в Кабинете методов молекулярной диагностики ИПЭЭ РАН на генетических анализаторах ABI 3130 и ABI 3500 (Applied Biosystems, США).

2.4. Амплификация микросателлитных локусов и фрагментный анализ

Двадцать аутомсомных микросателлитных локусов было амплифицировано в 6 мультиплексах. В ПЦР-смесь для реакции общим объёмом 15 мкл входило 3 мкл ПЦР-микса 5X MasDDTaqMIX-2025 (Диалат, Россия), от 0.5 до 3 мкл каждого праймера в концентрации 5 пМоль, 1 единица Hot Start Taq ДНК полимеразы (СибЭнзим, Россия), 1 или 2 мкл ДНК и вода. Программа ПЦР для всех мультиплексов была универсальной: 94°C 3 минуты, (95°C 10 сек, 57°C 30 сек, 68°C 1 мин) 28–42 циклов, 68°C 25 минут. Для образцов ДНК из экскрементов все локусы были амплифицированы отдельно с аналогичной программой, но с большим количеством циклов. Для ДНК из костных образцов и образцов шерсти амплификация была повторена дважды для гетерозигот, и три раза для гомозигот. Для образцов ДНК из экскрементов для уменьшения ошибок проводились многократные повторности.

Капиллярный электрофорез полученного ПЦР-продукта проводился на генетическом анализаторе ABI 3130 (Applied Biosystems, США). В качестве размерного стандарта использован SD-450 (Синтол, Россия), по 1 мкл которого добавляли в 2–4 мкл ПЦР-продукта в 20 мкл формамида. Сбор данных проведен вручную с использованием программы Genemapper v.4.0 (Applied Biosystems, США).

2.5. Индивидуальная идентификация речной выдры

Поскольку довольно большой вклад в общую выборку внесли образцы экскрементов выдры с ООПТ, то дополнительно проводили видовую и индивидуальную идентификацию образцов, чтобы

избежать ошибок при определении видовой принадлежности экскрементов в полевых условиях и исключить повторяющиеся образцы. Разработка методик велась для выборки образцов, собранных на территории ГПЗ «Калужские засеки» и ближайших окрестностях. В период с 2018 по 2021 гг. на данной модельной ООПТ было собрано 73 образца экскрементов по описанному выше в Разделе 2.1 протоколу.

Для подтверждения видовой принадлежности собранных экскрементов был амплифицирован фрагмент мтДНК длиной 503 п.н. (3'-конец гена цитохрома *b*, тРНК-Три, тРНК-Про, 5'-конец контрольного региона мтДНК) по методике, указанной в Разделе 2.3. Затем для образцов хорошей сохранности проводился фрагментный анализ и определение пола. Для фрагментного анализа использовали 10 наиболее успешно получившихся локусов (Dallas, Piertney, 1998; Dallas et al., 1999; Huang et al., 2005). Для определения пола были использованы праймеры LutSRY-F (Dallas et al., 2000) и GWSRY-R (Jayasankar et al., 2008) по протоколу, указанному в Разделе 2.4. Затем были отобраны образцы, достоверно принадлежащие разным особям, и включены в филогеографический анализ общей выборки.

2.6. Анализ митохондриальной ДНК

Для анализа мтДНК 123 образцов речной выдры было использовано два фрагмента. Первый фрагмент (255 п.н.) использовался для сравнения с уже имеющимися гаплотипами контрольного региона мтДНК речной выдры в базе NCBI GenBank. Объединенную выборку из 600 образцов по фрагменту контрольного региона мтДНК в 255 п.н. составили на основе гаплотипов, представленных в NCBI. Объем выборки для каждого гаплотипа и их распределение по странам составили на основе работ европейских исследователей (Stanton et al., 2009; Finnegan, O'Neill, 2010; Honnen et al., 2015). Таким образом, получили 6 выборок: Ирландия (n = 49) (Finnegan, O'Neill, 2010), Великобритания (n = 83) (Stanton et al., 2009), Испания (n = 92), Центральная Европа (Нидерланды, Германия, Австрия) (n = 140) (Stanton et al., 2009), Северная Европа (n = 183) (Финляндия, Швеция) (Honnen et al., 2015), Европейская Россия (n = 53).

Второй фрагмент мтДНК длиной 820 п.н. включил в себя 3'-конец гена цитохрома *b*, тРНК-Три, тРНК-Про, 5'-конец контрольного региона мтДНК). Полученные последовательности мтДНК (820 п.н.) для 123 образцов речной выдры были выровнены с гаплотипами контрольного региона мтДНК из базы нуклеотидных последовательностей GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) с помощью программы BioEdit 7.05 (Hall, 1999). Гаплотипическое разнообразие (H), нуклеотидное разнообразие (π), число гаплотипов (N_H), число нуклеотидных замен (N_S), индекс Таджимы (D), индекс Фу (Fs), индекс генетической дифференциации F_{st} , индекс распределения попарных различий (mismatch distribution, Tau) и индекс неровности Харпердинга (Harperding's R) (Harperding, 1994) были посчитаны с использованием программы Arlequin 3.5 (Excoffier, Lischer, 2010). Эволюционная модель Кимура-2-параметр (Kimura, 1980) с равными значениями гамма для всех позиций была выбрана с помощью пакета MrModeltest 2.3 (Nylander, 2004). Медианная сеть полученных гаплотипов была построена с помощью программы PopART 1.7 (Leigh, Bryant, 2015) с эpsilon-параметром по умолчанию равным нулю. Единственный образец из Узбекистана был использован как референсный для медианных сетей, и в дальнейшей статистической обработке не участвовал.

2.7. Аутосомные микросателлитные локусы яДНК и определение пола

Для фрагментного анализа 117 образцов речной выдры из предыдущих публикаций было отобрано 20 аутосомных микросателлитных локусов (Dallas, Piertney, 1998; Dallas et al., 1999; Huang et al., 2005) и ген SRY для определения пола особей, затем они были скомбинированы в 4 мультиплекса. Используемые микросателлитные локусы были разработаны как для речной выдры, так и для лесной куницы (*Martes martes*). Подобранные автором заново мультиплексы группировались экспериментальным путем исходя их возможности проведения ПЦР в одной

реакции при определенной температуре отжига, а также проведения капиллярного электрофореза за один прогон.

В программе Arlequin 3.5 (Excoffier, Lischer, 2010) были посчитаны следующие параметры: абсолютное число аллелей (N_a), эффективное число аллелей (N_e), ожидаемая гетерозиготность (H_e), наблюдаемая гетерозиготность (H_o), индекс фиксации (F_{is}), индекс генетической дифференциации R_{st} . Расчёт генетических дистанций и анализ главных координат (PCoA), отклонения от равновесия Харди-Вайнберга (HWE) были посчитаны в программе GenAlEx 6.5 (Peakall, Smouse, 2012). Наличие и частоты нуль-аллелей протестировали в программе Microchecker v 2.2.3 (Van Oosterhout et al., 2006). Аллельное разнообразие (AR) вычислено в программе Fstat 2.9.4 (Goudet, 1995). Байесовская кластеризация для определения наиболее оптимального количества кластеров была проведена в программе STRUCTURE 2.3 (Pritchard et al., 2000) с использованием модели возможного смешивания популяций (Admixture model). Использовали как модели с приоритетом указанной принадлежности к группе (LOCPRIOR), так и без неё. По методу Монте-Карло для Марковских цепей были проведены 500 000 итераций после 50 000 испытаний на отказ (burn-in period). Число искомым кластеров K задали от 1 до 8. Было проведено 5 повторов данного анализа. Оптимальное число кластеров ΔK было определено по методу Эванно с соавторами (2005) в программе Structure Harvester (Earl, Vonholdt, 2012). Визуализация полученных данных проведена с помощью программы CLUMPAK 1.1 (Kopelman et al., 2015).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

3.1. Индивидуальная идентификация редких и скрытно живущих видов хищных млекопитающих на примере речной выдры

Поскольку для проведения филогеографического анализа необходима выборка из образцов принадлежащим разным особям, то первоначально было проведено определение видовой и индивидуальной принадлежности каждого образца из выборки экскрементов, собранных на территории ГПЗ «Калужские засеки».

Из 73 проб ПЦР мтДНК оказалась положительной для 41 образца (56.1%). Из них 32 образца (78.1%) принадлежали речной выдре и 9 проб (21.9%) — американской норке (*Neovison vison*). Итого, из общего числа образцов 43.8% достоверно принадлежали выдре. Наименьший процент положительных проб наблюдался для летнего периода сбора (конец июля – август), наибольший — для зимы (конец января – начало февраля). Небольшое количество собранных зимних проб связано с сезонным распределением выдры: для ГПЗ «Калужские засеки» показано, что в снежный период встречаемость выдры на территории заповедника в среднем в 3.1 раза меньше, чем в бесснежный (Sokolova et al., 2022).

Для 28 последовательностей (255 п.н.) получили 3 гаплотипа контрольного региона мтДНК: Lut1, Lut4, RU2. После выравнивания получившихся 22 более длинных последовательностей (820 п.н.), было выявлено 5 гаплотипов мтДНК. В результате определения пола 9 проб из 41 принадлежали самцам, 14 — самкам, у 18 проб пол остался неизвестен, вероятно, в связи с плохим качеством яДНК. Успешность определения пола животных, которые были идентифицированы как выдра, составила 56.1%.

По результатам микросателлитного анализа у всех проанализированных 38 проб удалось получить хотя бы 1 locus (Таблица 3.3). Для 27 проб (71%) доля полученных микросателлитных loci превысила 50%. Все loci были полиморфны, число аллелей для каждого locus варьировало от 3 до 9 (среднее 6.1). Наблюдаемая гетерозиготность H_o варьировала от 0.07 до 0.56. Вероятность идентичности для неродственных образцов составила $P_{ID} HW = 3.17 \times 10^{-11}$.

Для 9 образцов удалось получить полные генетические профили по исследуемым locus, все принадлежали разным особям и были включены в филогеографический анализ.

3.2. Изменчивость митохондриальной ДНК

3.2.1. Подвидовая специфика речной выдры

Медианные сети гаплотипов были построены для двух исследуемых фрагментов мтДНК в соответствии с подвидовой принадлежностью образцов. На медианной сети на Рисунке 2 для фрагмента контрольного региона мтДНК (255 п.н.) имеются как гаплотипы из базы NCBI GenBank, так и впервые описанные в данном исследовании. Можно отметить звездообразное строение медианной сети с доминирующим центральным гаплотипом Lut1 и веером минорных по частоте встречаемости гаплотипов, различающихся друг от друга на 1–2 замены. На данной сети большинство образцов выдры кавказского подвида (*L. l. meridionalis*) принадлежат к описанному ранее гаплотипу Lut1. Также имеется два не описанных ранее гаплотипа (ARM1 и ARM2), которые отличаются от центрального Lut1 на две и одну замены соответственно. Сходным образом единственный образец среднеазиатской выдры (*L. l. seistanica*) из Узбекистана отличается от центрального гаплотипа Lut1 на 2 замены и от Lut3 на одну замену.

Более разветвлённое, но в целом аналогичное звездообразное строение медианной сети наблюдается и для более длинного фрагмента мтДНК (820 п.н.) (Рисунок 3). На ней представлены только образцы из данного исследования. Было обнаружено 36 гаплотипов с 1–3 заменами между ними. Образцы кавказской выдры также преимущественно принадлежат к центральному доминирующему гаплотипу 820-4. Гаплотип 820-16 отличается от центрального на две замены, и ещё два гаплотипа, 820-17 и 820-18, отличаются от него на одну и две замены соответственно. Имеется также и два минорных гаплотипа 820-12 и 820-13, которые отличаются от центрального на три и одну замены соответственно. Образец среднеазиатской выдры гаплотипа 820-15 отличается от центрального 820-4 на 4 замены.

3.2.2. Параметры генетического разнообразия мтДНК речной выдры

Для анализа мтДНК все исследуемые образцы тканей речной выдры (123 шт.) были разделены на 4 группы в соответствии с их географическим расположением: Европейская Россия, Кавказ, Сибирь и Дальний Восток России. Единственный образец из Узбекистана был также описан и включён в медианные сети гаплотипов, но в дальнейшем анализе не участвовал.

Для первого проанализированного фрагмента контрольного региона мтДНК (255 п.н.) было обнаружено 13 гаплотипов, в том числе 10 новых, не представленных ранее в базе нуклеотидных последовательностей GenBank. Было выявлено 13 переменных позиций, среди них 7 транзиций, 4 трансверсий и 2 инделя. При построении медианной сети гаплотипов для данного фрагмента выборку разделили на 8 групп согласно их географическому происхождению: Европа (NCBI-EU), Европейская Россия (EUR), Кавказ (CAU), Сибирь (SIB), Дальний Восток России (RFE), Восточная Азия (NCBI-Asia) (Рисунок 2). Можно заметить, что центральный гаплотип Lut1 присутствует у особей практически из каждой группы, за исключением восточноазиатской (NCBI-Asia), что указывает на его общее континуальное распространение вдоль всей Северной Евразии. Вторым крупным гаплотипом, Lut16F, был прежде описан исследователями для выдр из Южной Кореи, но он также является распространённым для выдр юга Дальнего Востока России (Приморский край, Хабаровский край, Сахалинская область).

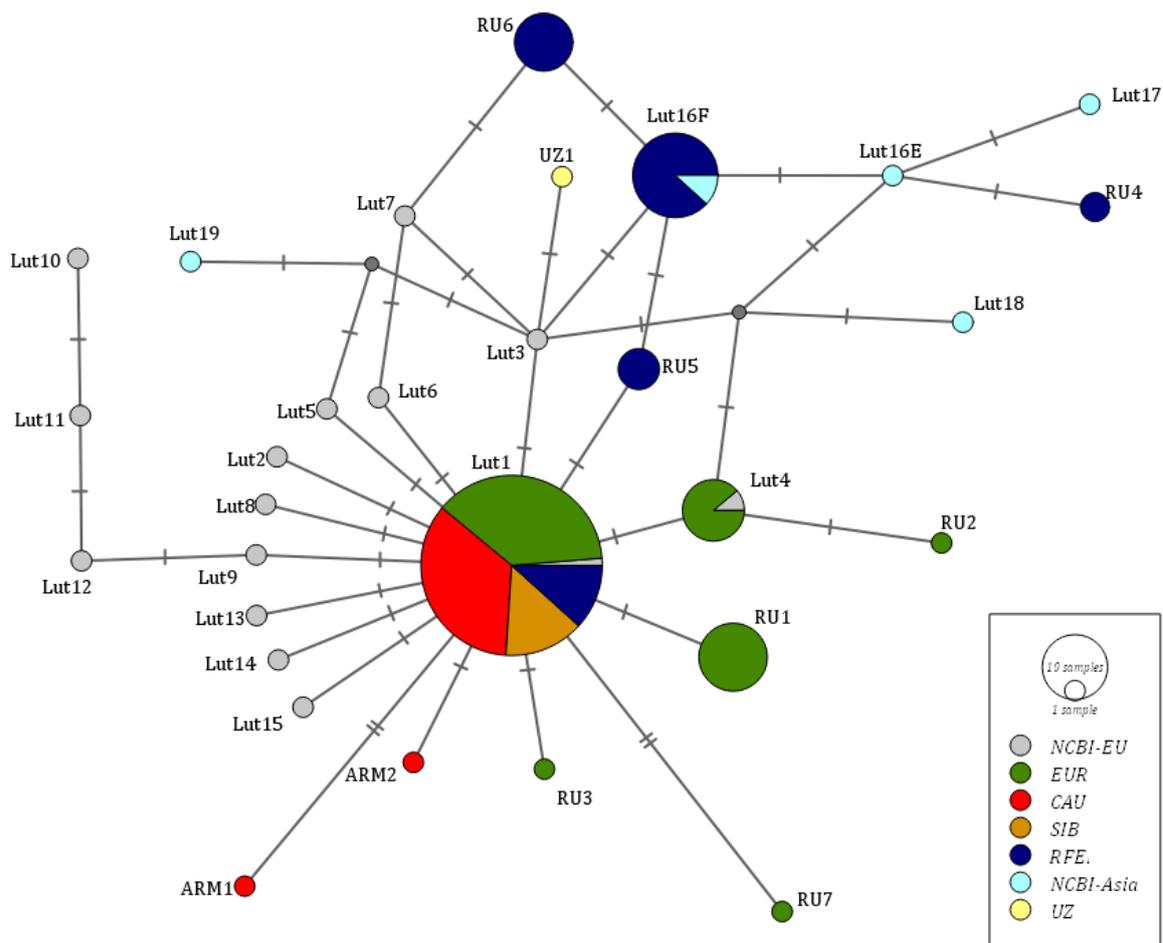


Рисунок 2. Медианная сеть гаплотипов речной выдры для фрагмента контрольного региона мтДНК (255 п.н.). Гаплотипы обозначены кругами, их размер пропорционален объёму выборки. Вертикальные штрихи отражают количество мутаций, отличающих гаплотипы. *NCBI-EU* Европейские гаплотипы из базы NCBI, *EUR* Европейская Россия, *CAU* Кавказ (*L. l. meridionalis*), *SIB* Сибирь, *RFE* Дальний Восток России, *NCBI-Asia* гаплотипы выдры из Южной Кореи, Китая, Японии из базы NCBI, *UZ* Узбекистан (*L. l. seistanica*).

Для длинного проанализированного фрагмента мтДНК (820 п.н.) было обнаружено 33 новых гаплотипа, не представленных ранее в базе нуклеотидных последовательностей GenBank (Рисунок 3). Было выявлено 27 переменных позиций, среди них 16 транзиций, 8 трансверсий и 4 инделя. Гаплотипическое разнообразие (H) для всей исследуемой выборки составило 0.866 ± 0.024 , наименьшее значение было обнаружено для кавказской группы (0.516 ± 0.095), наибольшее для дальневосточной группы (0.882 ± 0.033). Нуклеотидное разнообразие (π) в среднем по выборке составило 0.003 ± 0.002 . Наименьшее значение (0.001 ± 0.001) наблюдалось у кавказской и европейской групп, наибольшее значение (0.003 ± 0.002) у дальневосточной группы. Индекс Таджимы (D) отрицательный для общей выборки, а также для кавказской, европейской и сибирской групп указывает на большое количество низкочастотных аллелей, и положительный для дальневосточной группы указывает на низкое число высокочастотных и низкочастотных полиморфизмов. Индекс Фу (F_s) отрицательный для всех групп, а также для общей выборки показывает дефицит аллелей и вероятное недавнее прохождение популяции через «бутылочное горлышко». Индекс распределения попарных различий (mismatch distribution) имеет унимодальное распределение в европейской и дальневосточной группах и бимодальное распределение в кавказской и сибирской группах. Индекс неравности Харпердинга положительный как в целом по выборке, так и для каждой группы, что указывает на равновесие в популяции (Таблица 1).

Медианная сеть гаплотипов для длинного фрагмента мтДНК (820 п.н.) (Рисунок 3) показывает, что общий центральный гаплотип (Lut1) разделяется на два гаплотипа, разделенных одной заменой (820-4, 820-5). Гаплотип 820-4 объединяет в себе образцы выдры из группировок Европейской России (18 обр.), Кавказа (21 обр.) и Сибири (6 обр.), а образцы из Европейской России принадлежат гаплотипу 820-5 (5 обр.), Сибири (1 обр.) и Дальнего Востока России (3 обр.). Также гаплотип 820-31 несут образцы как из группировки Сибири (2 обр.), так и с Дальнего Востока России (1 обр., Камчатский край). Остальные гаплотипы уникальны для каждой группировки и различаются друг от друга на 1–4 замены.

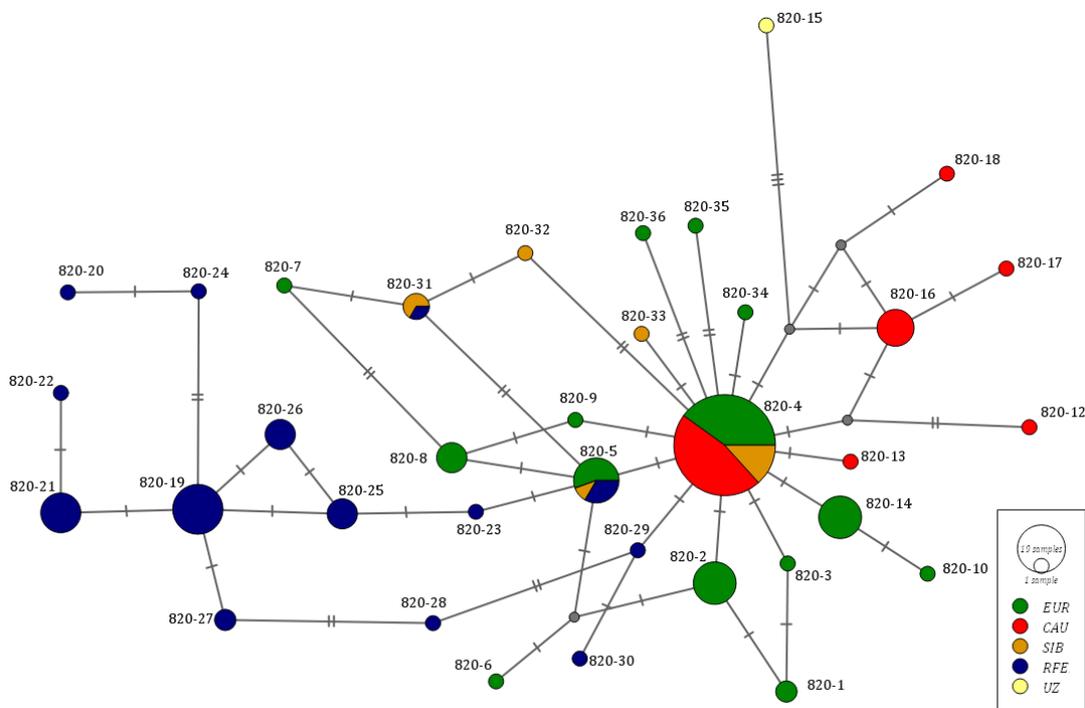


Рисунок 3. Медианная сеть гаплотипов речной выдры для фрагмента мтДНК (820 п.н.). Гаплотипы обозначены кругами, их размер пропорционален объёму выборки. Вертикальные штрихи отражают количество мутаций, отличающих гаплотипы. EUR Европейская Россия, CAU Кавказ (*L. l. meridionalis*), SIB Сибирь, RFE Дальний Восток России, UZ Узбекистан (*L. l. seistanica*).

Таблица 1. Показатели генетического разнообразия речной выдры для фрагмента мтДНК (820 п.н.). N_S число образцов, N_H число гаплотипов, H гаплотипическое разнообразие, π нуклеотидное разнообразие. EUR Европейская Россия, CAU Кавказ, SIB Сибирь, RFE Дальний Восток России. Значимые значения р-критерия (<0.05) отмечены жирным.

Показатели разнообразия	CAU	EUR	SIB	RFE	Вся выборка
N_S	18	54	11	40	123
N_H	6	14	4	15	36
H	0.516±0.09	0.836±0.04	0.644±0.152	0.882±0.033	0.866±0.0244
π	0.001±0.00	0.001±0.001	0.002±0.001	0.003±0.002	0.003±0.002
Индекс попарного различия	0.323±0.34	1.220±0.79	1.381±0.93	2.808±1.51	2.601±1.40
Индекс Таджимы D	-2.01	-1.58	-0.09	0.555	-1.18
Индекс Фу Fs	-2.64	-7.31	-0.21	-5.11	-22.56
Индекс неравности Харпердинга	0.098	0.06068	0.13926	0.09953	0.12672

Для длинного фрагмента мтДНК (820 п.н.) минимальное значение F_{st} наблюдается между группами Европейской России и Сибири (0.053), а максимальное достоверное значение F_{st} между группами Кавказа и Дальнего Востока России (0.613) (Таблица 2). Кавказская выдра значимо

отличается от выдр Европейской России (0.086) и Сибири (0.192). Выдры Дальнего Востока России сравнительно сильно отличаются от других группировок: достоверные различия наблюдаются между выдрами Европейской России и Дальнего Востока России (0.565), а также между сибирской и дальневосточной группами (0.467). Тест Мантеля показал наличие корреляции между генетическими и географическими дистанциями среди исследуемых выборок $r = 0.752$ ($p = 0.044$).

Таблица 2. Индекс генетической дифференциации F_{st} между группировками речной выдры на основании фрагмента мтДНК (820 п.н.). *EUR* Европейская Россия, *CAU* Кавказ, *SIB* Сибирь, *RFE* Дальний Восток России. Все значения достоверны ($p < 0.05$).

F_{st}	CAU	EUR	SIB	RFE
CAU	0			
EUR	0.086	0		
SIB	0.192	0.053	0	
RFE	0.613	0.565	0.467	0

Для фрагмента мтДНК длиной 255 п.н. из 54 образцов речной выдры Европейской России выявлено 6 гаплотипов мтДНК. Тридцать один образец (58.4%) принадлежит общеевропейскому гаплотипу Lut1, 8 образцов (15.1%) принадлежат гаплотипу Lut4, остальные 4 гаплотипа ранее не были описаны (RU1-3, RU7). Гаплотип RU1 представлен в 11 образцах (20.7%), гаплотип RU2 обнаружены в единичном экземпляре (1.9%). Обнаружено 7 полиморфных сайтов: 3 транзиции, 3 трансверсии, 1 индель. Гаплотип Lut1 встречается в 8 из 11 представленных регионах, гаплотип RU1 в трёх регионах, гаплотип LUT4 — тоже в трёх. Для Калужской области отмечено 3 гаплотипа из 6. В Тверской области гаплотип RU1 встречается наравне с LUT1, в половине исследованных образцов (по 7 из 14 образцов). В Псковской области RU1 также присутствует (3 из 8).

Несмотря на доминирование гаплотипа Lut1, в представленных группировках частоты остальных встречаемых гаплотипов различаются. В группировке Европейской России гаплотипы Lut4 и RU1 встречаются в 19.6% и 16.6% образцов. При этом, гаплотип Lut4 помимо России отмечен также в Великобритании и Финляндии (Honnen et al., 2015). Значение генетической дистанции F_{st} варьируется в диапазоне 0.03 – 0.39 ($p < 0.05$). Наибольшие различия наблюдаются между выборкой Европейской России и Великобритании (0.30, $p < 0.05$), наименьшие — между выборкой Европейской России и Испании (0.09, $p < 0.05$). Молекулярный дисперсионный анализ (AMOVA) показал, что различия между популяциями составили 21.67%, различия внутри популяций – 78.33% ($p < 0.05$).

Для фрагмента мтДНК длиной 820 п.н. из 53 образцов речной выдры выявлено 14 гаплотипов. Обнаружено 14 полиморфных сайтов, среди них 7 транзиций, 5 трансверсий, 2 инделя. Гаплотипическое разнообразие для выборки по Европейской России составило $H = 0.84 \pm 0.04$, нуклеотидное разнообразие $\pi = 0.0015 \pm 0.0001$. Так же, как и описано выше, выделяется доминирующий центральный гаплотип (820-4, 33.9% образцов), распространенный в 7 регионах ЕЧР. Второстепенные гаплотипы объединяют меньшее количество регионов (820-2 и 820-143 по 3 региона, 820-5 — 4 региона). Десять гаплотипов уникальны и встречаются только в одном регионе. При этом географическое распределение данных гаплотипов не показывает зависимости ни от региона, ни от системы рек.

Для фрагмента мтДНК длиной 255 п.н. из 18 образцов кавказской речной выдры выявлено 3 гаплотипа мтДНК. Шестнадцать образцов (88.8%) принадлежат общеевропейскому гаплотипу Lut1, 2 образца (по 5.5% соответственно) принадлежат ранее не описанным гаплотипам (ARM1, ARM2). Обнаружено 3 полиморфных сайта: 1 транзиция, 2 трансверсии. Для фрагмента мтДНК длиной 820 п.н. из 18 образцов кавказской речной выдры выявлено 6 гаплотипов. Обнаружено 6 полиморфных сайтов, среди них 3 транзиции, 2 трансверсии, 1 индель. Гаплотипическое разнообразие для выборки по Кавказу составило $H = 0.52 \pm 0.09$, нуклеотидное разнообразие $\pi = 0.0003 \pm 0.0004$. Так же, как и

описано выше, выделяется доминирующий центральный гаплотип (820-4, 67.7% образцов), распространенный во всех представленных системах рек. Второстепенный гаплотип 820-16 (6 обр.) встречен в бассейнах озера Севан и р. Аракс. Три гаплотипа уникальны и встречаются в единично экземпляре в бассейнах озера Севан и р. Аракс.

Для фрагмента мтДНК длиной 255 п.н. все 11 образцов речной выдры Сибири принадлежат единственному гаплотипу Lut1. Для фрагмента мтДНК длиной 820 п.н. из 11 образцов речной выдры Сибири выявлено 5 гаплотипов. Обнаружено 4 полиморфных сайта, среди них 3 транзиции, 1 трансверсия. Гаплотипическое разнообразие для выборки по Сибири составило $H = 0.64 \pm 0.15$, нуклеотидное разнообразие $\pi = 0.002 \pm 0.001$. Аналогично предыдущим группам, выделяется доминирующий центральный гаплотип (820-4, 54.5% образцов), обнаруженный только в образцах из Ханты-Мансийского АО. Гаплотип 820-5 встречен в образце из Якутии, а также в Европейской России (Псковская, Тверская, Калужская области, республика Коми) и на Дальнем Востоке (Камчатский край). Гаплотип 820-31 встречен в двух регионах Сибири (Томская область и Алтайский край), а также в дальневосточной выборке (Чукотский край). Остальные гаплотипы (820-32, 820-33) встречены однократно в Ямало-Ненецком АО и Ханты-Мансийском АО соответственно.

Для фрагмента мтДНК длиной 255 п.н. из 40 образцов речной выдры Дальнего Востока России выявлено 5 гаплотипов мтДНК. Шестнадцать образцов (41.0%) принадлежат гаплотипу Lut16F (NCBI №FJ236015), 9 образцов (23.1%) принадлежат гаплотипу Lut1, остальные 3 гаплотипа ранее не были описаны (RU4-6). Гаплотип RU4 представлен в 2 образцах (5.1%), гаплотип RU5 обнаружен в 4 образцах (10.3%), гаплотип RU6 — в 8 образцах (20.5%). Обнаружено 5 полиморфных сайтов: 3 транзиции, 2 инделя. Гаплотип Lut1 встречается в 4 исследуемых материковых регионах Дальнего Востока и не встречается на о. Сахалин. Все исследуемые образцы из о. Сахалин (4 обр., 25%) принадлежат к гаплотипу Lut16F. Он является самым часто встречающимся для дальневосточной выборки, и обнаруживается также в образцах из Хабаровского (5 обр.) и Приморского края (7 обр.). Гаплотип RU5 встречается в образцах также из Хабаровского и Приморского края и на медианной сети располагается в промежутке между Lut1 и Lut16F. Гаплотипы RU4 и RU6 встречены только в образцах из Приморского края.

Для фрагмента мтДНК длиной 820 п.н. из 40 образцов речной выдры выявлено 14 гаплотипов. Обнаружено 12 полиморфных сайтов, среди них 9 транзиций, 2 трансверсии, 2 инделя. Гаплотипическое разнообразие для выборки по Европейской России составило $H = 0.88 \pm 0.03$, нуклеотидное разнообразие $\pi = 0.0034 \pm 0.002$. Наиболее часто встречающийся гаплотип 820-19 представлен в 11 образцах выдры (28.2%) из Хабаровского края, Приморского края и Сахалинской области. Вероятно, он образует центр звездообразной структуры для выдр юга Дальнего Востока России. Гаплотип 820-21 встречен у 7 образцов выдры из Хабаровского края (17.9%). По 4 образца (10.3%) принадлежат гаплотипам 820-25 (Хабаровский край и Приморский край) и 820-26 (Приморский край и Сахалинская обл.). Восемь гаплотипов уникальны и встречаются только в одном регионе. Гаплотип 820-27 представлен по одному образцу из Хабаровского края и Чукотского края (2.6%). Гаплотип 820-5 встречен в трёх образцах из Камчатского края (7.7%).

Географическое распределение гаплотипов не показывает яркой зависимости ни от региона, ни от системы рек. Однако, можно заметить, что гаплотип 820-19, образует центр звездообразной структуры для выдр юга Дальнего Востока России. Гаплотип 820-5 на одну замену отличается от 820-4 — самого центрального гаплотипа основной «звезды», %, к нему же также относятся гаплотипы из группы Сибири (респ. Саха-Якутия). К гаплотипу 820-31 принадлежит как один образец из Чукотского края, так и 2 образца из группы Сибири (Томская обл. и Алтайский край). Близость последних двух гаплотипов к центральному 820-4, а также присутствие их в выделенной нами группе Сибири говорит о вероятной принадлежности их к одной эволюционной «североевразийской» ветви (митохондриальная линия 3 по Du Plessis et al., 2023b). В то же время, наличие в гаплотипе 820-27 из «дальневосточной» ветви (митохондриальная линия 2 по du Plessis et

al., 2023) образца из Чукотского края свидетельствует о вероятной зоне смешения на крайнем северо-востоке Евразии.

3.3. Изменчивость микросателлитных локусов яДНК

Оценка генетического разнообразия имеющейся выборки речной выдры первоначально проводилась по 20 микросателлитным локусам, однако в связи с высоким уровнем нуль-аллелей 2 локуса были исключены из дальнейшего анализа. Таким образом, в анализ по 18 микросателлитным локусам вошли 117 образцов выдры, разделённые на 4 выборки (Таблица 3).

Таблица 3. Генетическое разнообразие речной выдры по 18 микросателлитным локусам. *EUR* Европейская Россия, *CAU* Кавказ, *SIB* Сибирь, *RFE* Дальний Восток России. *N* число образцов, *Na* среднее число аллелей на локус, *Ne* эффективное число аллелей на локус, *Ho* наблюдаемая гетерозиготность, *He* ожидаемая гетерозиготность, *Fis* коэффициент инбридинга.

	N	Na	Ne	Ho	He	Fis
EUR	44	9.5	4.9	0.68	0.78	0.14
CAU	8	4.7	3.3	0.46	0.65	0.30
SIB	5	5.2	4.0	0.64	0.71	0.08
RFE	60	12.0	5.8	0.62	0.81	0.23
Общее	117	7.8	4.5	0.59	0.74	0.19

Все локусы в исследуемых выборках были полиморфны. Число аллелей на локус (*Na*) варьировало от $Na = 4.7$ (кавказская выдра) до $Na = 12.0$ (выдры из Дальнего Востока России). Среднее эффективное число аллелей $Ne = 4.5$ и варьировало от $Ne = 3.3$ у кавказских выдр до $Ne = 5.8$ у выдр Дальнего Востока России. Средняя наблюдаемая гетерозиготность ($Ho = 0.59$) от $Ho = 0.46$ у кавказских выдр до $Ho = 0.68$ у выдр Европейской России. Ожидаемая гетерозиготность, напротив, относительно высока ($He = 0.74$) и выше, чем Ho у любой из исследуемых групп. Наименьшая He наблюдается у кавказской выдры ($He = 0.65$), наибольшая в выборке из Дальнего Востока России ($He = 0.81$). Показатель аллельного разнообразия (allelic richness, *AR*) проанализированных локусов варьировал от 3.306 до 4.981. Индекс фиксации *Fis* больше нуля в каждой группе (от 0.08 до 0.30). Кластеризация выборки с помощью программы STRUCTURE, проведенная без информации о принадлежности образцов к группе показала, что оптимальное число кластеров $K = 2$ (Рисунок 4). Кавказские выдры и выдры Европейской России образовали мономорфный кластер, отличающийся от выдр Дальнего Востока России. В то же время, выдры Сибири принадлежат как оранжевому, так и синему кластеру. Дальнейшая кластеризация (например, при $K = 5$) показала, что кавказские выдры не отделяются от выдр Европейской России.

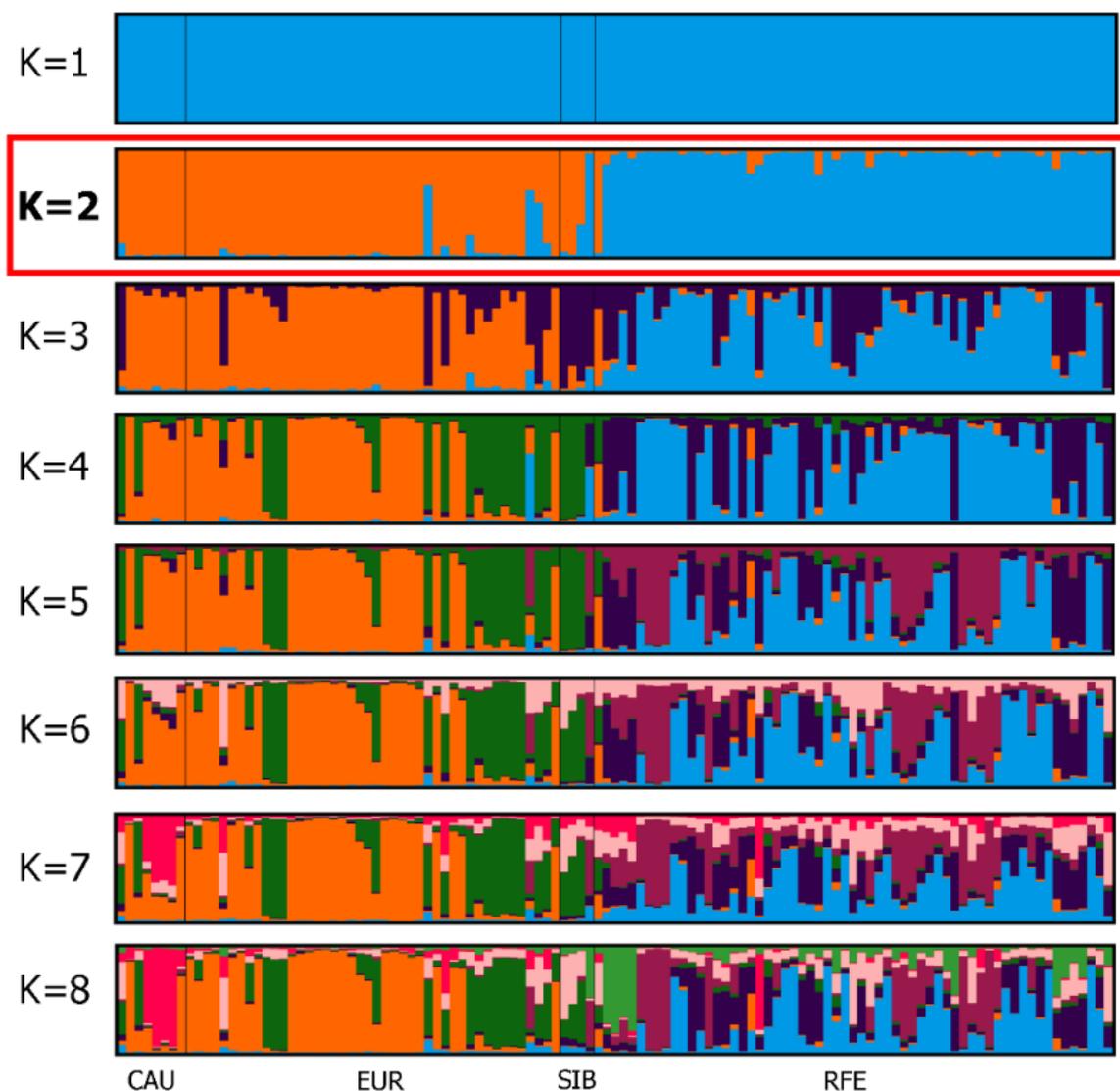


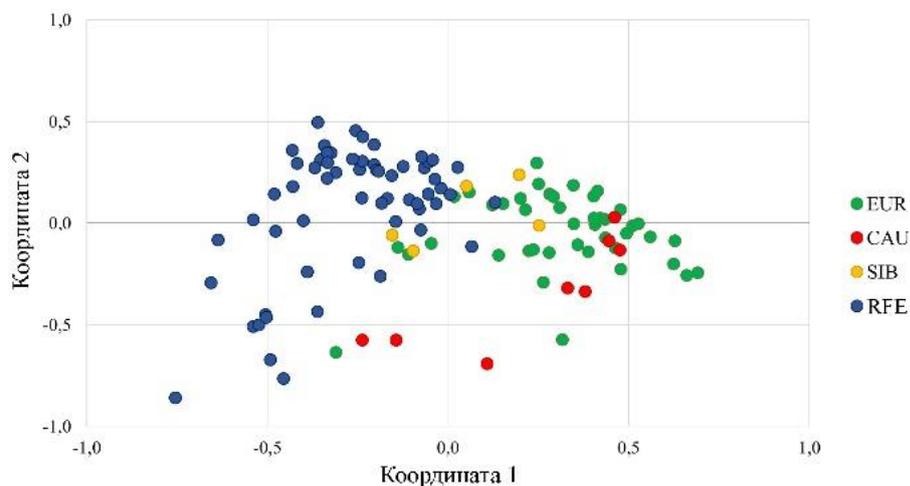
Рисунок 4. Кластеризация выборки 117 образцов речной выдры (*L. lutra*). Оптимальное $K = 2$. По оси абсцисс — генотипы, по оси ординат — вероятность принадлежности к одному из кластеров. Применена модель генетического (admixture) без учета географического происхождения образцов (без LOCPRIOR) с коррелированными частотами аллелей в популяциях. *EUR* Европейская Россия, *CAU* Кавказ, *SIB* Сибирь, *RFE* Дальний Восток России.

Расчёт генетических дистанций и анализ главных координат (PCoA) показал слабую генетическую дифференциацию между исследуемыми выборками (Рисунок 5а, б, в). Несмотря на то, что хорошо выраженных кластеров не наблюдается, образцы стремятся агрегироваться согласно выделенным выборкам. Выдры из группы Дальнего Востока России заметно отделяются от остальных групп по координате 1, описывающей 6.80% популяционного разнообразия (Рисунок 5а, б). Вдоль координаты 2 (4.50% популяционного разнообразия) (Рисунок 5а) значимых кластеров не обнаружено, также как и вдоль координаты 3 (3.68% популяционного разнообразия) (Рисунок 5б). На представленных графиках можно различить несколько трендов: выдры из группы Дальнего Востока России (синий) сконцентрированы в большинстве в левой части графика, а остальные образцы из трёх групп равномерно перемешаны. Кавказские выдры (красные), выдры Европейской России (зеленые) и Сибири (желтые) в большинстве расположены в правой и центральной частях графика. Также можно отметить, что в центральной части, в зоне «перемешивания» этих двух групп располагаются образцы из республик Коми, Якутии, Свердловской, Тюменской областей, Ханты-Мансийского АО.

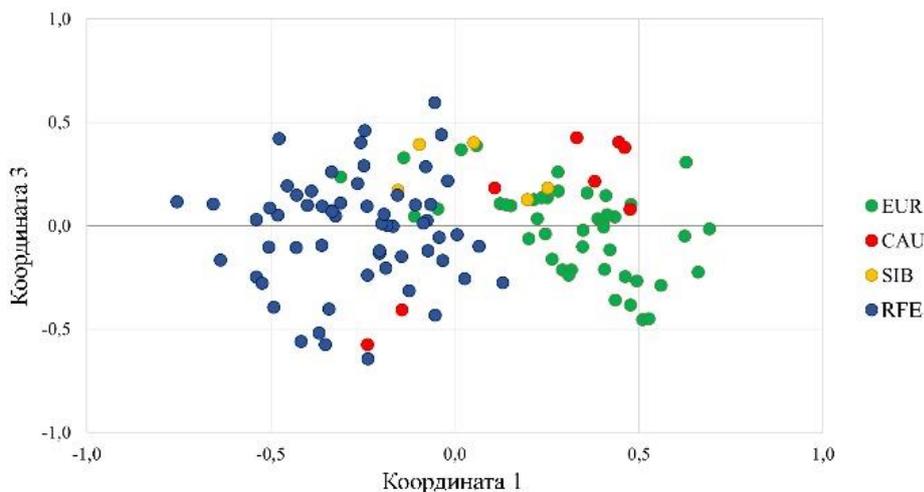
Значение R_{st} оказалось наибольшим между выдрами Европейской России и Дальнего Востока России ($R_{st} = 0.306$) (Таблица 4). Наименьшее значение R_{st} наблюдалось между выдрами Европейской России и кавказской выдрой ($R_{st} = 0.11$). Тест Мантеля также показал наличие корреляции между генетическими и географическими дистанциями среди исследуемых выборок $r = 0.829$ ($p = 0.04$).

Таблица 4. Генетическая дифференциация R_{st} среди исследуемых выборок речной выдры (*L. lutra*). Все значения p -критерия < 0.05 . *EUR* Европейская Россия, *CAU* Кавказ, *SIB* Сибирь, *RFE* Дальний Восток России.

	CAU	EUR	SIB	RFE
CAU	0			
EUR	0.099	0		
SIB	0.186	0.242	0	
RFE	0.253	0.306	0.256	0



а)



б)

Рисунок 5. Анализ главных координат (PCoA) а, б) на базе индивидуальных генетических дистанций. *EUR* Европейская Россия, *CAU* Кавказ, *SIB* Сибирь, *RFE* Дальний Восток России.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ

4.1. Опыт индивидуальной идентификации речной выдры

Речная выдра — вид, который ведет достаточно скрытный образ жизни и к тому же практически не добывается охотниками (по крайней мере, в промысловых масштабах). Поэтому имеется в доступности достаточно ограниченное количество как музейных образцов, так и дериватов этого вида. В связи с этим дополнительным источником ДНК для генетического анализа выдры могут служить экскременты, что также позволяет получать образцы с ООПТ без инвазивных методик. Однако существует ряд ограничений и проблем, связанных с данными образцами. Во-первых, успешность генотипирования образцов свежих фекалий (<24 ч) варьирует от 19% (Bonesi et al., 2013) до 96,4% (Hájková et al., 2007) в зимний период. Немаловажно и размещение выдры на территории модельного полигона. На территории ГПЗ «Калужские засеки» оптимальным временем сбора образцов стало конец осени – начало зимы, когда животные еще присутствуют на территории, но температура окружающей среды заметно снижена. Успешность генотипирования в этот период составила 50%. Во-вторых, частой проблемой может являться ошибочное определение видовой принадлежности экскремента в полевых условиях. Экскременты выдры могут быть перепутаны, например, с американской норкой (*Neovison vison*). В проведенном нами исследовании успешность видовой идентификации выдры составила 78.1%.

Все эти ограничения приводят к необходимости разработки методов, регулирующих как сбор образцов в природе, так и более строгого протокола отбора проб, так как в противном случае может наблюдаться завышение или занижение оценки численности популяции (Ferrando et al., 2008; Lamra et al., 2013). Например, в бесснежный период необходимо предварительное планирование рабочих маршрутов таким образом, чтобы иметь возможность посещать исследуемые участки водотоков с промежутком не более 2-х дней. Так можно отследить как маркировочную активность выдры, так и достоверно знать давность экскремента.

В данной части исследования выбранные 10 микросателлитных локусов яДНК позволили отобрать образцы достоверно отдельных особей с высоким качеством ДНК, что позволило включить их в дальнейший анализ. Таким образом, данная методика может быть повторена и на других ООПТ.

4.2. Филогеографическая структура кавказской выдры *L. l. meridionalis*

В отличие от предшествующих работ, посвященных филогеографии речной выдры, нами были проанализированы образцы от двух других подвидов речных выдр, кроме номинативного. Исходя из полученных результатов, кавказская выдра (*L. l. meridionalis*) на медианной сети гаплотипов слабо отличается от номинативного подвида, как на коротком фрагменте контрольного региона (Рисунок 2), так и на более длинном участке мтДНК (Рисунок 3). Так на коротком фрагменте подавляющее большинство образцов кавказской выдры принадлежало именно центральному гаплотипу Lut1, причём встречался он как на Северном Кавказе, так и у выдр из речных систем Закавказья. Два образца от выдр из бассейна р. Аракс принадлежали собственным уникальным гаплотипам, соседним к обнаруженным ранее гаплотипам номинативного подвида, и, таким образом, они включаются в общую «звездообразную» структуру. На более длинном фрагменте подобный паттерн сохраняется, а 4 второстепенных гаплотипа сформированы также образцами из оз. Севан и бассейна р. Аракс. Таким образом несмотря на то, что некоторые различия от номинативного подвида присутствуют, они не значительны и полученные гаплотипы в отдельный кластер не выделяются.

Изолирование популяции выдры оз. Севан произошло относительно недавно под влиянием антропогенных факторов, а повышенное разнообразие выдр бассейна р. Аракс вероятно указывает и на потенциальные контакты с популяцией выдр стран Передней Азии. Так, например, для территории Ирана описано присутствие двух подвидов речной выдры — кавказская выдра населяет северо-западные регионы Ирана (в т.ч. так же реки бассейна Аракса), а среднеазиатская (*L. l. seistanica*) — остальные регионы страны (Karami et al., 2006). При этом, сам кавказский подвид был впервые описан Огнёвым (1937) по экземпляру из Тегерана (восток Ирана). Таким образом, в

будущем явно встаёт вопрос, как о подвидовом статусе кавказской выдры, так и о границах кавказского подвида.

4.3. Филогеографическая структура номинативного подвида речной выдры *L. l. lutra*

Для филогеографической структуры номинативного подвида *L. l. lutra* характерно доминирование одного общего центрального гаплотипа контрольного региона мтДНК на всём протяжении севера Евразии, а генетические линии либо клады практически не выделяются. Речная выдра, обладая палеарктическим ареалом, является видом-специалистом, довольно строго приуроченным к водным местообитаниям (MacDonald et al., 1994; Данилов, Туманов, 1976), вследствие чего может возникать более низкая генетическая изменчивость и более медленный поток генов (Pasinelli, 2022).

Анализ короткого фрагмента контрольного региона мтДНК (255 п.н.) позволил сравнить образцы из России и Армении с гаплотипами, полученными для Западной и Центральной Европы (Рисунок 2). Несмотря на доминирование единого общего гаплотипа в звездообразной структуре медианной сети, следует отметить и наличие уникальных региональных гаплотипов. Так, гаплотип RU1 был встречен только для территории России. При этом ряд гаплотипов, характерных для Центральной Европы, Великобритании на территории России и Армении встречены не были.

При увеличении длины фрагмента, количество замен и разветвленность сети закономерно увеличивается (Рисунок 3). Имеется как центральный гаплотип (820-4), распространенный по всей ЕЧР, так и второстепенные, объединяющие меньшее количество регионов (820-2, 820-4, 820-14). При этом не наблюдается территориальной зависимости в распространении гаплотипов от речных систем, как можно было бы предположить исходя из наличия у выдры линейных индивидуальных участков (Данилов, Туманов, 1976; Сидорович, 1995). К тому же отсутствие резкого снижения численности особей в восточной части Европы, как это было в середине XX века в Западной Европе, позволило сохранить более высокое генетическое разнообразие особей.

Проанализированные образцы речной выдры из Сибири не позволяют сформировать детальное представление о структуре популяции в связи с крайне малым количеством образцов в выборке, однако общий план остаётся прежним. Большинство образцов включаются в центральный гаплотип звездообразной сети, при этом имеются и минорные гаплотипы (Рисунок 3). Особый интерес представляют собой гаплотипы из Якутии (820-5), а также Томской области и Алтайского края (820-31), т.е. они были встречены также в образцах группы Дальнего Востока России, что может свидетельствовать о зоне контакта с ветвью юга Дальнего Востока. Однако для более чётких представлений необходима более обширная выборка из Восточной Сибири.

Единственный проанализированный нами образец среднеазиатской выдры из Узбекистана по короткому фрагменту (255 п.н.) также отличался от центрального гаплотипа (Рисунок 2), но на большее количество замен, ближе всего ко второму по распространенности в Европе гаплотипу Lut3. При этом на более длинном фрагменте (820 п.н.) занимает обособленное положение на медианной сети (Рисунок 3). Однако для полноценной генетической характеристики и потенциального подтверждения подвидового статуса среднеазиатской выдры необходимы дальнейшие исследования.

Речные выдры юга Дальнего Востока России (Хабаровский край, Приморский край) имеют более высокий уровень генетического разнообразия. На медианной сети гаплотипов образцы из этого региона образуют отдельную звездообразную структуру со своим центральным гаплотипом (Lut16, 820-19) и уникальными гаплотипами, не встречающимися более других выборках (Рисунок 2, 3). Только два гаплотипа были встречены также в группе Сибири. Значения генетической дистанции F_{st} также показали, что выдры Дальнего Востока России генетически далеки от других исследуемых групп. Таким образом, одной из причин можно предположить наличие отдельного пост-плейстоценового рефугиума, другой ветви расселения.

Недавние исследования полного митогенома и гена цитохрома *b* речной выдры практически на всей протяженности ареала, от Великобритании до Южной Кореи (Du Plessis et al., 2023a; Du

Plessis et al., 2023b), показали, что выдры генетически более разнообразны, чем представлялось ранее, при этом две описанные авторами митохондриальные линии присутствуют в России. Митохондриальная линия 3 характерна для выдр Восточной Европы, Сибири и вероятно Передней Азии, а с включением наших данных показано, что она распространена по всей Европе, включая Европейскую Россию, Западную Сибирь и Кавказ. Митохондриальная линия 2, близкая к линии 1 из Южного Китая, наблюдается у особей из Южной Кореи и о. Сахалин, а также, по данным текущего исследования, заселяет юг Дальнего Востока России и, вероятно, весь Северо-Восток России. Результаты нашего исследования также подтверждают данную структуру, причём разделение на данные линии можно наблюдать даже на коротком фрагменте контрольного региона мтДНК. Наблюдаемое звездообразное строение медианной сети не позволяет обозначить какие-либо четкие филогеографические паттерны внутри выделяемых линий, но указывает на прохождение вида на данной территории через «бутылочное горлышко» в позднеплейстоценовых рефугиумах (Mucci et al., 2010) и, видимо, быстрое дальнейшее увеличение численности в раннем голоцене.

4.4. Генетическое разнообразие речной выдры

Предыдущие исследования речной выдры из популяций Европы показали низкое микросателлитное разнообразие. Были предложены несколько объяснений: фрагментация популяций (Dallas et al., 2002; Cohen et al., 2013), расселение из рефугиумов (Mucci et al., 2010), а также недавнее резкое снижение численности (MacDonald et al., 1994). Также наблюдалось и разделение локальных популяций, что может являться следствием послеледниковых изменений или относительно недавней изоляции (Mucci et al., 2010; Tison et al., 2015). Напротив, для популяции выдры о. Цзиньмэньдао (Китай) (Jang-Liaw et al., 2023) показано умеренное микросателлитное (в среднем $H_o = 0.60$; $H_e = 0.61$) и аллельное разнообразие ($N_a = 4.25$), а также отсутствие свидетельств прохождения популяции через «бутылочное горлышко». Наши результаты для каждой исследуемой выборки показали, что и аллельное разнообразие, и эффективное число аллелей выше, чем наблюдаемые ранее значения из западной Европы и Азии (N_e от 4.7 для кавказской выдры до 12.2 для выдр Дальнего Востока), но наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготности (0.59 и 0.74 соответственно) умеренные. Анализ главных координат и показатель генетического разнообразия R_{st} показали отделение дальневосточных выдр от остальных исследуемых групп, а также близкое родство кавказской выдры к выдрам Европейской России. Байесовская кластеризация STRUCTURE показала, что дальневосточные выдры образуют отдельный кластер, в отличие от кавказских выдр, которые входят в кластер с европейскими.

Значения генетической дистанции F_{st} для мтДНК и анализ генетических дистанций методом главных координат для микросателлитных локусов яДНК подтвердили, что кавказская выдра генетически близка к выдре Европейской России. Показатели генетического разнообразия мтДНК для кавказской выдры самые низкие ($H = 0.516$, $\pi = 0.01$) как для всей исследованной выборки, так и для популяций, известных по литературным данным. Микросателлитный анализ также показал, что у кавказских выдр самые низкие в данном исследовании показатели ожидаемой и наблюдаемой гетерозиготностей (0.65 и 0.46 соответственно), низкое эффективное число аллелей (3.3) и аллельное разнообразие. Связано это вероятно, как с недостатком пригодных местообитаний (наличие высоких горных массивов и обедненная речная система), так и с увеличенным антропогенным прессом. В странах Закавказья распространены рыбозаводные хозяйства, которые любят посещать выдры, и даже не смотря на охранный статус, нередки случаи браконьерства, и вследствие этого численность выдры в этих регионах высоко не поднимается (Buzzard et al., 2020).

Схожие результаты получены и по морфологическим исследованиям (Барышников, Пузаченко, 2012). Авторами отмечается низкое морфологическое разнообразие вида и слабые морфологические различия по краниометрическим и одонтологическим показателям между выдрами Европы и Кавказа (Северная Осетия, Грузия, Армения). Также авторами предполагается, что выдры с этих территорий относятся к номинативному подвиду *L. l. lutra*, и полученные нами

результаты как по изменчивости фрагмента контрольного региона мтДНК, так и по аутосомным микросателлитным локусам на данном этапе исследования такому предположению не противоречат.

4.5. Сравнение с другими видами и реконструкция расселения речной выдры в голоцене

Генетическая изменчивость речной выдры необычайно низка даже среди хищных млекопитающих (особенно для территории западной Евразии) (Cohen et al., 2013; Hwang, Cho, 2018; Ki et al., 2010; Mucci et al., 1999, 2010; Tison et al., 2015; Jo et al., 2012). В отличие от других видов хищных со сходным широким ареалом, например, бурого медведя (Salomashkina et al., 2014), волка (Ersmark et al., 2016), лисицы (Kutschera et al., 2013), уровни генетического разнообразия для речной выдры значимо ниже.

Ископаемые остатки речных выдр редко встречаются в археологических памятниках (Барышников, 2024). Одна из самых ранних по датировкам археологических находок этого вида была обнаружена в пещере Романелли в Италии и датирована средним плейстоценом (Mecozzi et al., 2022). Предполагается, что современная европейская популяция выдры сформировалась в результате расселения зверей из апеннинской, иберийской и балканской рефугиальных зон (Mucci et al., 2010). Однако, на территории Сибири и северо-востока Евразии единого ледникового массива не сформировалось (Ehlers, Gibbard, 2011), что способствовало выживанию выдр. В течение голоцена речная выдра была одним из типичных охотничьих видов в северной Евразии, но ее останки встречаются в археологических памятниках достаточно редко, вероятно в связи с околотовной специализацией зверя и сложностью его добычи в промысловых масштабах (Гимранов, Косинцев, 2011; Бачура, Косинцев, 2020). Морфологические исследования речной выдры, как краниометрические (Барышников, Пузаченко, 2012), так и одонтологические (Гимранов, Косинцев, 2012; Ranyuk, Ansoerge, 2015), показали, что речная выдра значимо различается в западной и восточной частях ареала с вероятной границей в Восточной Сибири. Более того, предполагается, что в позднем плейстоцене ареал выдры был разделен на западную и восточную часть, а в голоцене сомкнулся вновь (Гимранов, Косинцев, 2012).

Кавказские выдры, в отличие от других видов хищных млекопитающих, не образуют отдельной филогеографической клады, а также на Кавказе не сформировалась рефугиальная зона во время последнего четвертичного оледенения. В качестве обоснования данного феномена можно обратиться к геологической истории Понто-Каспийского региона, который неоднократно затоплялся, образуя сложную преодолимую водную преграду для сухопутных видов животных. Однако речные выдры ведут околотовный образ жизни, и конечно, затопление низменностей не могло являться преградой для расселения особей, и, как следствие, генетического дрейфа. Косвенным подтверждением данной гипотезы являются и полученные в данном исследовании результаты, согласно которым кавказская выдра генетически крайне близка к особям из Европейской России.

В соответствии с недавними исследованиями митогенома для выдр (Du Plessis et al., 2023b) возможен следующий филогеографический сценарий. Центром происхождения евразийской выдры, вероятно, является Юго-Восточная Азия. С одной стороны, вероятно, что номинативный подвид *L. lutra* быстро распространился на северо-запад вдоль Гималаев и Западной Азии, а затем по всей Северной Евразии (митохондриальная линия 3). В результате основной центральный гаплотип до сих пор присутствует на обширных территориях. Однако довольно низкий уровень генетической изменчивости может быть результатом сокращения численности населения и уничтожения среды обитания в Западной Европе в XX веке. С другой стороны, вторая ветка миграции выдры ушла на северо-восток России (митохондриальная линия 2) вдоль побережья Тихого океана, а затем появилась в центральной Сибири после последнего ледникового максимума, о чём свидетельствуют звездообразная структура дальневосточной популяции выдры и дальнейшее выделение отдельного микросателлитного кластера.

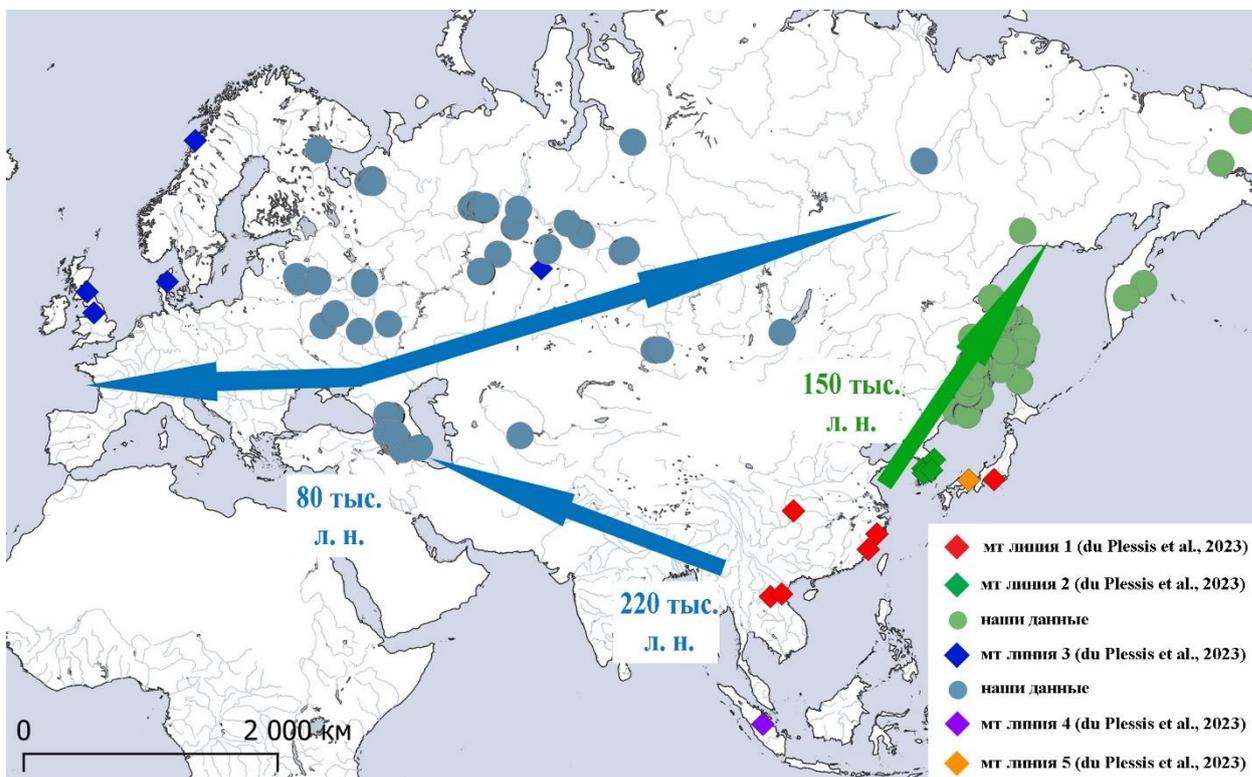


Рисунок 6. Карта образцов речной выдры согласно их принадлежности к митохондриальным линиям, а также вероятные пути и ключевые даты расселения выдры. *EUR* Европейская Россия, *CAU* Кавказ (*L. l. meridionalis*), *SIB* Сибирь, *RFE* Дальний Восток России.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современная филогеографическая структура речной выдры выражена довольно слабо. В результате исследования показано, что генетическое разнообразие речной выдры низкое даже по сравнению с другими хищными млекопитающими со сходным палеарктическим ареалом (бурый медведь, лиса, волк). Филогеографическая структура выдры имеет ряд сходных черт с этими видами: наблюдается один общий гаплотип контрольного региона мтДНК, встречающийся по всей России и в том числе доминирующий в Закавказье.

Последние исследования полного митогенома и гена цитохрома *b* речной выдры также показали, что для большей части территории России характерна генетическая линия 3 (Западная Европа, Передняя Азия, Сибирь), и линия 2 (Южная Корея и о. Сахалин). Согласно нашим исследованиям, кавказская выдра входит в линию 3 и генетически близка к выдрам Европейской России и Сибири, а также к популяциям Центральной и Западной Европы. Выдры юга Дальнего Востока России принадлежат генетической линии 2, генетически дальше от других популяций и возможно расселились из отдельного рефугиума. Также, можно предположить наличие зоны контакта этих двух линий в Сибири, т.к. зафиксированы гаплотипы, общие для юга Дальнего Востока России, Якутии, Томской области и Алтайского края.

Один из вероятных сценариев становления современной филогеографической структуры выдры на территории России и Закавказья состоит в следующем. Центром происхождения и современного разнообразия речной выдры является Юго-Восточная Азия. Территорию России речная выдра могла заселять двумя путями. С одной стороны выдры могли расселяться вдоль Гималаев к Передней Азии, а затем быстро заселить всю Европу, Кавказ и север Евразии, сформировав таким образом звездообразную филогеографическую структуру с преобладающей частотой присутствия центрального гаплотипа. Вторая ветвь расселения выдры по всей видимости прошла вдоль тихоокеанского побережья по территории Китая, Корейского полуострова и заселила юг Дальнего Востока России, соединившись с западной ветвью в центральной Сибири по окончании последнего ледникового периода.

Данное исследование содержит предпосылки для возможного проведения таксономической ревизии подвидов речной выдры в ближайшем будущем.

ВЫВОДЫ

1. Разработанные молекулярно-генетические методики для работы с неинвазивными образцами речной выдры показали эффективность для использования на территории ООПТ при решении природоохранных задач.
2. Филогеографическая структура популяции речной выдры России и стран Закавказья сформирована слабо и представляет собой звездообразную структуру с преобладанием центрального предкового гаплотипа практически на всех частях исследуемого ареала.
3. Выдры Европейской России обладают большим генетическим разнообразием, чем выдры Западной и Центральной Европы, некоторых районов Восточной Азии, при этом включаются в общую звездообразную структуру.
4. Выдры юга Дальнего Востока России являются отдельной эволюционной единицей для территории Северной Евразии. Она, вероятно, происходит от отдельной ветви расселения выдры, обладает большим генетическим разнообразием по сравнению с особями из других частей исследуемого ареала и заслуживает отдельного подвидового статуса.
5. Кавказская выдра (*L. l. meridionalis*) генетически крайне близка к выдрам Европейской России номинативного подвида (*L. l. lutra*) и обладает самым низким генетическим разнообразием на исследуемом участке ареала.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ АВТОРА ПО ТЕМЕ ДИСЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых журналах из перечня ВАК:

1. **Sokolova, N.A.** How Eurasian otters (*Lutra lutra*) use suboptimal habitats? Space use dynamics in forest streams of Central Russian Upland / N.A. Sokolova, E.M. Litvinova, P.A. Sorokin, J.A. Hernandez-Blanco // Nature Conservation Research. – 2022. – V. 7 – № 2 – doi:10.24189/NCR.2022.020
2. **Соколова, Н.А.** Генетическое разнообразие речной выдры (*Lutra lutra*) Европейской части России и стран Закавказья (по данным полиморфизма фрагмента мтДНК) / Н.А. Соколова, Н.П. Кораблев, П.Н. Кораблев, Х.А. Эрнандес-Бланко, Г.А. Калоян, А.А. Гёнджян, А.Г. Малхасян, П.А. Сорокин // Генетика. – 2023. – V. 59 – P. 804–812 – doi:10.31857/S0016675823070111
3. **Sokolova, N.A.** Genetic structure and diversity of Eurasian otter (*Lutra lutra*) in Northern Eurasia and Caucasus: are there any differences between the two subspecies? / N.A. Sokolova, A.Yu. Oleynikov, N.P. Korablev, P.N. Korablev, G.A. Kaloyan, A.A. Gyonjyan, A.N. Korolev, J.A. Hernandez-Blanco, P.A. Sorokin // Diversity. – 2024. – V. 16 – № 12 – P. 764 – doi:10.3390/D16120764

Публикации в сборниках конференций:

1. **Соколова Н.А.,** Сорокин П.А. Генетическое разнообразие речной выдры (*Lutra lutra*) Европейской части России (по данным полиморфизма фрагмента мтДНК) / Тез. В сб.: Млекопитающие в меняющемся мире: актуальные проблемы териологии (XI Съезд Териологического общества при РАН). Материалы конференции с международным участием, 14-18 марта 2022 г., г. Москва, ИПЭЭ РАН. М.: Товарищество научных изданий КМК. – 2022. - С. 332.
2. **Соколова Н.А.,** Сорокин П.А. Популяционно-генетическая структура речной выдры (*Lutra lutra*) на основании частот аллелей микросателлитных локусов яДНК на территории России и стран Закавказья» / Тез. в сб.: Генетические процессы в популяциях. Материалы конференции с международным участием, 11–14 октября 2022 г., г. Москва, Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН). М.: Ваш Формат. – 2022. С. 57.
3. **Соколова Н.А.,** Сорокин П.А. Генетическое разнообразие речной выдры (*Lutra lutra*) Европейской части России (по данным мтДНК и микросателлитным локусам) / "Фундаментальные и прикладные аспекты адаптации живых организмов к изменяющимся условиям окружающей среды Севера: исследования, инновации, перспективы: Тезисы докладов, Петрозаводск, 09–13 сентября 2024 года. – Петрозаводск: ФИЦ КарНЦ РАН. - 2024. С. 49.