

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 575.2:598.25:574.3

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ГУСЯ СУХОНОСА
(*Anser cygnoides* L.) НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ: АНАЛИЗ
ПОЛИМОРФИЗМА КОНТРОЛЬНОГО РЕГИОНА
МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК

© 2009 г. Н. Д. Поярков¹, А. В. Кленова¹, М. В. Холодова²

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, кафедра зоологии позвоночных,
Москва 119991;

e-mail: *cygnopsis@yandex.ru*

²Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, Москва 11907;
e-mail: *tvkholid@mail.ru*

Поступила в редакцию 15.10.2008 г.

На основании анализа полиморфизма гипервариабельного фрагмента контрольного региона мтДНК (268 пн) впервые исследована генетическая изменчивость гуся сухоноса (*Anser cygnoides* L.), включенного в первую категорию угрожаемых видов Красной книги РФ. Проанализированы образцы из двух основных группировок сухоносов, гнездящихся на территории России – дальневосточной (Хабаровский край) ($n = 38$) и даурской (Читинская область) ($n = 10$). Всего описано 11 гаплотипов. Уровень генетического разнообразия сухоносов был низким, сопоставимым с таковым у других глобально угрожаемых видов гулеобразных Евразии. Нуклеотидное и гаплотипическое разнообразие гусей из Хабаровского края составило 0.0031 и 0.65, из Читинской области – 0.0041 и 0.80, объединенной выборки – 0.0074 и 0.77 соответственно. Идентичных гаплотипов у сухоносов из даурской и дальневосточной группировок не обнаружено, однако небольшой объем выборки не позволяет сделать окончательный вывод о степени генетической дифференциации между ними.

Гусь сухонос (*Anser cygnoides* L.) до недавнего времени был многочисленным видом, обитающим на обширном пространстве Восточной Азии – от Зайсанской котловины и Южного Алтая до Северного Сахалина и Камчатки, а также в Приморье, Монголии и северных провинциях Китая [1–9]. Со второй половины XX в. под воздействием все возрастающего антропогенного пресса (охоты, деградации пригодных для гнездования и обитания гусей территорий и т.п.) численность и ареал сухоноса начали стремительно сокращаться. Одновременно возрастала фрагментация ареала. В настоящее время сухонос включен в первую категорию угрожаемых видов Красной книги РФ и признан приоритетом № 1 в Рабочем плане по изучению и охране водоплавающих птиц международной Стратегии охраны перелетных водно-болотных птиц в Азиатско-Тихоокеанском регионе. Тенденция к снижению численности, наблюдающаяся на протяжении всего ареала этого вида, особенно ярко проявляется в отдельных регионах, в частности в России. Современная мировая популяция сухоноса насчитывает около 60 тыс. птиц [9, 10]. По данным учетов, в настоящее время в России постоянно гнездится не более 300–500 пар сухоноса. Небольшая (до 100 пар гусей) группировка гнездится на Торейских озерах

(Даурский заповедник) в Читинской области России [11, 12]. Она относится к наиболее массовой даурской региональной группе сухоносов, основная часть которой гнездится в Монголии и Китае. Кроме того, изолированная гнездовая популяция сухоносов сохранилась на Дальнем Востоке России – в Нижнем Приамурье, Северо-Западном Сахалине и на побережье Охотского моря. Еще некоторое количество птиц гнездится в пойме р. Аргунь [13].

Гуси из Даурии зимуют в Китае в долине среднего течения р. Янцзы, в 500–900 км от побережья [9, 10]. Результаты кольцевания и анализ косвенных данных с большой степенью вероятности позволяют предполагать, что дальневосточная популяция сухоносов имеет, а возможно имела всегда, изолированные места зимовок, расположенные в Южной Корее и на восточном побережье Китая [14, 15]. Особенности биологии гулеобразных (образование пар на зимовках и т.д.) позволяют предположить, что птицы, гнездящиеся в двух разных географических регионах и имеющие разные места зимовок, могут иметь сравнительно давнюю историю генетической изоляции.

Очевидно, что резкое и достаточно длительное снижение численности, фрагментация ареала и возможная изоляция отдельных группировок

этого вида могли привести к снижению уровня генетического разнообразия сухоноса, обитающего на территории России, что в свою очередь в дальнейшем может оказаться на жизнеспособности его популяций.

Цель данной работы – на основании анализа полиморфизма гипервариабельного участка контрольного региона мтДНК оценить уровень генетического разнообразия и степень генетической разобщенности даурской и дальневосточной группировок гуся сухоноса.

Образцы перьев сухоноса были собраны в двух разных частях ареала этого вида на территории России – в Читинской области (Торейские озера, Даурский заповедник) ($n = 10$) и в Хабаровском крае (окрестности озер Удыль и Кизи, рек Пильды, Бичи и Амура) ($n = 38$). Перья собирали от индивидуальных птиц во время кольцевания. В случае получения сборов в виде пакетов с несколькими перьями, собранными на разных маршрутах в разные периоды, из каждого пакета брали для анализа только одно перо.

Специальные исследования показали, что использование ДНК, выделенной из перьев, в отличие от ДНК, выделенной из крови, мышц и других тканей, значительно снижает вероятность амплификации ядерных копий митохондриальных генов, характерных для гусеобразных [16]. ДНК выделяли с помощью набора DiatomDNA Prep 100 ("Изоген", Россия) согласно инструкции производителя с небольшими изменениями. Для выделения ДНК использовали нижнюю часть пера (очин), богатую клеточным материалом. Перья промывали, после чего крупные маховые разрезали вдоль, выскребая внутреннее содержимое, у мелких (кроющих) перьев отрезанную нижнюю часть измельчали целиком. Этот материал помещали в пробирки с лизирующим буфером, которые инкубировали 1.5–2 ч при температуре 65°C при непрерывном помешивании. Далее следовали рекомендациям производителя набора.

Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили с праймерами для гипервариабельного фрагмента контрольного региона мтДНК L180 and H466, специально разработанными для гусеобразных [16].

Для амплификации использовали *Taq*-полимеразу SmarTaqDNA ("Диалат", Москва), условия проведения ПЦР описаны ранее [16, 17]. Очистку продукта амплификации проводили путем осаждения в спиртовом растворе ацетата натрия с последующей промывкой 70%-ным этиловым спиртом, охлажденным до -20°C. Последовательности нуклеотидов в исследованном фрагменте мтДНК определяли методом автоматического се-

квенирования на секвенаторе ABI PRISM 310 с использованием набора BigDye 3.0 (Applied Biosystems) с прямым и обратным праймерами.

Выравнивание последовательностей выполняли вручную с помощью программы Bioedit [18]. Для статистической обработки данных, построения дендрограмм и сетевых деревьев использовали программы MEGA 4 [19], Arlequin 2000 [20] и Network 4.5.0.0 [21].

Генетическое разнообразие сухоноса оценивали на основании анализа полиморфизма гипервариабельного фрагмента контрольного региона мтДНК длиной в 268 пн. Ранее было показано [16, 17], что на этот фрагмент мтДНК приходится около 50% вариабельности контрольного региона мтДНК у гусеобразных. Соотношение азотистых оснований в исследованном фрагменте было характерным для митохондриального генома (цитозин – 31.08, тимин – 22.72, аденин – 35.67, гуанин – 10.52%). Для 48 последовательностей было выявлено 11 вариабельных сайтов (7 транзиций и 4 трансверсии) и описано 11 гаплотипов, различия между которыми составляли от 1 до 7 нуклеотидов (табл. 1). Шесть гаплотипов описано для гусей, обитающих в Хабаровском крае, и пять – в Читинской области. Доля образцов, относящихся к двум наиболее обычным гаплотипам, среди гусей Хабаровского края составила 84.2%, Читинской области – 70%.

Уровень генетической изменчивости сухоноса был довольно низким (табл. 2). Нуклеотидное (π) и гаплотипическое (H) разнообразия в исследованных популяциях сухоноса были сравнимы с величинами этих показателей, определенных по тому же фрагменту мтДНК у двух глобально угрожаемых видов гусеобразных – короткоклювого гуменника (*Anser brachyrhynchus*) ($\pi = 0.003$, $H = 0.51$) и пискульки (*Anser erythropus*) (π – от 0.0067 до 0.0169; H – от 0.342 до 0.853) [23, 24].

Необходимо, отметить, что для значительно меньшей выборки из Читинской области количество гаплотипов мало отличалось от количества, описанного для Хабаровского края. Можно предположить, что это связано с тем, что небольшая группировка птиц, гнездящихся в Читинской области, генетически и территориально является частью наиболее крупной популяции гусей сухоносов, обитающей на прилежащих территориях Монголии.

Генетическая дистанция между двумя группировками сухоноса (Net distance), рассчитанная для данной выборки, составила $1.27 \pm 0.66\%$, что существенно превышает уровень внутрипопуляционных генетических дистанций. Обработка данных с помощью пакета AMOVA (программа Arle-

Таблица 1. Вариабельные сайты в последовательностях фрагмента контрольного региона мтДНК гуся сухоноса (1-я позиция соответствует первой позиции в гомологичном фрагменте мтДНК сиквенса № AY072581 из ГенБанка [22])

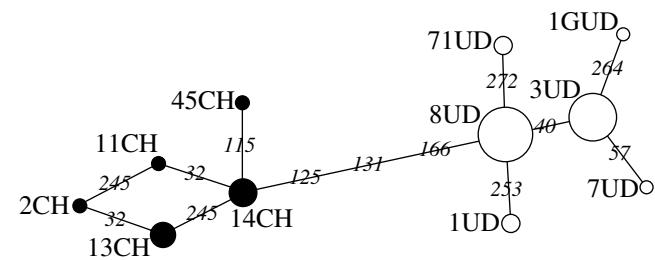
Гаплотип/GenBank (n образцов с данным гаплотипом)	# вариабельной позиции										
	32	40	57	115	125	131	166	245	253	264	272
AY072581	G	T	C	T	C	A	A	A	T	T	G
7UD(1)/FJ711446	.	C	T	.	.	G	C
8UD(18)/FJ711447	G	C
1GUD(2)/FJ711444	G	C	.	G	.	.
3UD(14)/FJ711445	.	C	.	.	.	G	C
1UD(1)/FJ711443	.	C	.	.	.	G	C	.	.	G	.
71UD(2)/FJ711448	G	C	.	.	.	A
11Ch(1)/FJ711449	C	.	.	.	T
12Ch(1)/FJ711450	C	.	.	.	T	.	.	G	.	.	.
13Ch(3)/FJ711451					T			G			
14Ch(4)/FJ711452	T
45Ch(1)/FJ711453	.	.	.	C	T

Таблица 2. Генетическое разнообразие гуся сухоноса в двух популяциях, обитающих в России

Показатель	Хабаровский край (n = 38)	Читинская область (n = 10)	Объединенные популяции
Нуклеотидное разнообразие, π	0.0031 ± 0.0020	0.0041 ± 0.0025	0.0074 ± 0.0047
Среднее значение парных различий между гаплотипами	0.81 ± 0.50	1.09 ± 0.65	1.99 ± 1.14
Гаплотипическое разнообразие, H	0.65 ± 0.051	0.80 ± 0.100	0.77 ± 0.042

quin) показала, что доля межпопуляционного компонента в общей внутривидовой вариабельности превышает долю внутрипопуляционного компонента, составляя соответственно 79.4 и 20.6%. Эти данные, так же как и высокий индекс фиксации (F-статистика), составивший 0.794, могут свидетельствовать о генетической дифференциации между двумя исследованными популяциями сухоноса. Разделение гаплотипов гусей из Хабаровского края и Читинской области достаточно четко проявляется и на медианной сети гаплотипов (рисунок). Можно предположить, что выявленные генетические различия между двумя группировками сухоноса могут быть связаны не только с территориальным разделением их гнездовых территорий, но и с разными путями миграций и местами зимовок [14, 15]. Однако вывод о генетической дифференциации между двумя региональными группировками сухоноса делать преждевременно, учитывая небольшой объем выборки образцов из даурской группировки.

Дальнейшие исследования с привлечением большего количества образцов из Читинской области и прилегающих регионов позволят выявить дей-



Медианная сеть гаплотипов по гипервариабельному фрагменту контрольного региона мтДНК для гусей сухоносов из популяций Хабаровского края (белые круги) и Читинской области (черные). Диаметр кругов соответствует количеству образцов с данным гаплотипом, расстояние между гаплотипами – количеству мутационных шагов между ними. Позиции мутаций обозначены на ветвях, соединяющих гаплотипы.

ствительную степень изоляции между сухоносами из двух частей их ареала в России.

Выражаем искреннюю благодарность за помощь и поддержку в работе сотрудникам заповедника “Даурский”, Московского зоопарка и Муравьевского парка устойчивого природопользования, особенно О.А. Горошко, С.М. Смиренскому, В.В. Спицыну и Н.И. Скуратову, а также А.Г. Козлову.

Данная работа проводилась при частичной финансовой поддержке Программы Президиума РАН “Биоразнообразие и динамика генофондов” (подпрограммы “Динамика генофондов”), Центра водоплавающих им. Рипли (США) (Livingston Ripley Waterfowl Sanctuary, LRWS) и Муравьевского парка устойчивого природопользования (Амурская область), которым авторы приносят благодарность.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Schrenck L. Reisen und Forschungen im Amur-Lande in den Jahren 1854–1856. Vögel der Amurlandes. Bd. 1, lfg 2. St-Petersburg, 1860. P. 217–567.
2. Супруненко П.И. Фауна позвоночных острова Сахалин. Каталог международной тюремной выставки. СПб, 1890. С. 1–62.
3. Воробьев К.А. К орнитофауне Дальнего Востока // Труды Сихотэ-Алинского государственного заповедника. Вып. 2. М.: 1938. С. 27–56.
4. Воробьев К.А. Птицы Уссурийского края. М.: Издво АН СССР, 1954. 369 с.
5. Гизенко А.И., Мишин И.П. Новые данные о географическом распространении и биологии сухоноса (*Cygnopsis cygnoides*) на Сахалине // Зоол. журн. 1952. Т. 31. № 2. С. 312–314.
6. Птушенко Е.С. Подсемейство гусиные. Птицы Советского Союза. Т. 4. М.: Советская Наука, 1952. С. 255–344.
7. Баранчев Л.М. Охотничье-промышленные птицы Амурской области. Благовещенск, 1954. 212 с.
8. Остапенко В.А., Гаврилов В.М., Болд А., Цевен-миядаг Н. Материалы по биологии некоторых водоплавающих птиц Монголии // География и динамика растительного и животного мира МНР. М.: Наука, С. 165–173.
9. Barter M., Chen L., Cao L., Lei G. Waterbird Survey of the Middle and Lower Yangtze River Floodplain in Late January and Early February 2004. Beijing, China Forestry Publ. House, 2004. 120 p.
10. Barter M., Lei G., Cao L. Waterbird Survey of the Middle and Lower Yangtze River Floodplain in February 2005. Beijing, China Forestry Publ. House, 2005. 64 p.
11. Горошко О.А. Данные по сухоносу на Торейских озерах (Забайкалье) в 2002 г. // Казарка. 2003. № 9. С. 96–99.
12. Горошко О.А. Численность и состояние популяции сухоноса в Даурии в 2003 г. // Казарка. 2004. № 10. 194–211.
13. Горошко О.А. Эколого-экономическое обоснование организации государственного природного заповедника регионального значения “Аргунский” на территории Приаргунского, Краснокаменского и Забайкальского районов Читинской области: Отчет. Чита, 2006. 135 с.
14. Поярков Н.Д. Предварительные итоги проекта по сохранению сухоноса в России // Казарка. 2003. № 9. С. 87–95.
15. Poyarkov N.D. Natural history and problems of conservation of the Swan Goose // Casarca, English Supplement. 2005. V. 1. C. 139–159.
16. Ruokonen M., Kvist L., Lumme J. Close relatedness between mitochondrial DNA from seven *Anser* goose species // J. Evol. Biol. 2000. V. 13. P. 532–540.
17. Ruokonen M., Kvist L., Tegelström H., Lumme J. Hybrids, captive breeding and restocking of the Fennoscandian lesser white-fronted goose (*Anser erythropus*) // Conservation Genetics. 2000. V. 1. P. 277–283.
18. Hall T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT // Nucl. Acids. Symp. Ser. 1999. V. 41. P. 95–98.
19. Kumar S., Tamura K., Nei M. MEGA 4: Integrated software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and sequence alignment // Briefings in Bioinformatics. 2004. V. 5. P. 150–163.
20. Schneider S., Kueffer J.-M., Roessli D., Excoffier L. “Arlequin ver 2.000: A software for population genetic analysis.” Univ. Geneva, Switzerland: Genetics and Biometry Laboratory, 2000.
21. Bandelt H.J., Forster P., Röhl A. Median-Joining Networks for inferring Intraspecific Phylogenies // Mol. Biol. Evol. 1999. V. 16. № 1. P. 37–48.
22. Paxinos E.E., James H.F., Olson S.L. et al. mtDNA from fossils reveals a radiation of Hawaiian geese recently derived from the Canada goose (*Branta canadensis*) // Proc. Natl Acad. Sci. USA 2002. V. 99. № 3. P. 1399–1404.
23. Ruokonen M., Kvist L., Aarvak T. et al. Population genetic structure and conservation of the lesser white-fronted goose *Anser erythropus* // Conservation Genetics. 2004. V. 5. P. 501–502.
24. Ruokonen M., Aarvak T., Madsen J. Colonization history of the high-arctic pink-footed goose *Anser brachyrhynchus* // Mol. Ecol. 2005. V. 14. P. 171–178.

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ГУСЯ СУХОНОСА
(*Anser cygnoides* L.) **НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ: АНАЛИЗ**
ПОЛИМОРФИЗМА КОНТРОЛЬНОГО РЕГИОНА
МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК

© 2009 г. Н. Д. Поярков¹, А. В. Кленова¹, М. В. Холодова²

¹Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, кафедра зоологии позвоночных,
Москва 119991

e-mail: [сугнopsis@yandex.ru](mailto:sugnopsis@yandex.ru)

²Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, Москва 11907;
e-mail: mvkholod@mail.ru

Поступила в редакцию 15.10.2008 г.

На основании анализа полиморфизма гипервариабельного фрагмента контрольного региона мтДНК (268 пн) впервые исследована генетическая изменчивость гуся сухоноса (*Anser cygnoides* L.), включенного в первую категорию угрожаемых видов Красной книги РФ. Проанализированы образцы из двух основных группировок сухоноса, гнездящихся на территории России – дальневосточной (Хабаровский край) ($n = 38$) и даурской (Читинская область) ($n = 10$). Всего описано 11 гаплотипов. Уровень генетического разнообразия сухоноса был низким, сопоставимым с таковым у других глобально угрожаемых видов гулеобразных Евразии. Нуклеотидное и гаплотипическое разнообразие гусей из Хабаровского края составило 0.0031 и 0.65, из Читинской области – 0.0041 и 0.80, общей единенной выборки – 0.0074 и 0.77 соответственно. Идентичных гаплотипов у сухоносов из даурской и дальневосточной группировок не обнаружено, однако небольшой объем выборки не позволяет сделать окончательный вывод о степени генетической дифференциации между ними.