

## МІНЛИВІСТЬ ВИВІРКИ ЗВИЧАЙНОЇ (*SCIURUS VULGARIS* L.) ЗАХОДУ УКРАЇНИ ЗА МІКРОСАТЕЛІТНИМИ ЛОКУСАМИ

С. Білоконь<sup>1</sup>, М. Белоконь<sup>2</sup>, Ю. Белоконь<sup>2</sup>, І. Дикий<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: bilokon1990@gmail.com

<sup>2</sup>Інститут загальної генетики імені М.І. Вавилова Російської академії наук  
вул. Губкіна, 3, Москва 119991, Росія

Мінливість вивірки звичайної з заходу України була оцінена за 13 ядерними мікросателітними локусами. Всі локуси виявились високополіморфними з числом алелів від 5 до 12. За алельним складом мікросателітних локусів групи вивірок із різним забарвленням хутра відрізнялися не значно. Унікальні алелі траплялися з невисокою частотою. Середня очікувана гетерозиготність ( $H_E$ ) була близькою у всіх досліджених груп: 0,682 у рудих, 0,684 у чорних і 0,658 у каштанових вивірок. Генетична диференціація різних кольорових форм залежить від географічної компоненти і відповідає рівню міжпопуляційної ( $F_{ST}=0,039$ ). Отримані дані вказують на відсутність репродуктивної ізоляції та на постійний обмін генами між рудою і чорною формами *S. vulgaris* у Прикарпатті й Карпатах.

*Ключові слова:* вивірка звичайна, *Sciurus vulgaris* L., кольорові форми, генотипова мінливість, мікросателіти.

Вивірка звичайна (*Sciurus vulgaris*) – широко розповсюджений вид від Західної Європи (Великобританія) до Японських островів на сході. В ареалі *S. vulgaris* різними дослідниками описано від 17 [13, 20] до більш як 40 підвидів [5], що відрізняються один від одного особливостями забарвлення хутра. На території України, за літературними даними, трапляються 4 підвиди: *S. vulgaris varius*, *S. vulgaris kessleri*, *S. vulgaris carpathicus*, *S. vulgaris fuscoater* [7].

Незважаючи на значне поширення вивірки і важливу роль в екосистемах, її спадкова мінливість вивчена ще недостатньо. У країнах Західної Європи за останню декаду проведено низку досліджень, спрямованих на вивчення популяційно-генетичної структури вивірки звичайної. Найдокладніше вивчена генотипова мінливість вивірки з Британських островів [8, 10, 11]. Окремі дослідження локальних популяцій проведені в Данії [14], Бельгії та Німеччині [21], Італійських Альпах [23]. В Україні та інших східноєвропейських країнах подібні дослідження раніше не проводились.

Особливий інтерес викликає питання генетичного розмежування підвидів і кольорових форм вивірки, адже на територіях Західних областей України трапляються, часто разом, три підвиди і три кольорові форми *S. vulgaris* [1–4, 6, 7]. Вивірки з чорним забарвленням спини трапляються в Карпатах вище 600 м над рівнем моря. Їх виділяють у окремий підвид *S. vulgaris carpathicus*. Представники *S. vulgaris kessleri* мають руде забарвлення і населяють рівнинні області (Волинську, Рівненську, частково Тернопільську, Чернівецьку та Львівську). *S. vulgaris fuscoater* населяє Закарпаття і вирізняється серед інших варіабельністю забарвлення хутра від рудого до чорного [7].

Метою нашого дослідження було вивчити мінливість вивірок території заходу України з різним забарвленням хутра за ядерними мікросателітними локусами. Вибір даного

класу генетичних маркерів зумовлений їх високим поліморфізмом, кодомінантним типом успадкування та можливістю використання для аналізу навіть значно пошкоджених зразків ДНК (наприклад, із музейних експонатів), завдячуючи малій довжині послідовностей, що ампліфікуються.

### Матеріали та методи

У дослідженні були використані 33 зразки вивірки з рудим забарвленням спини, 21 – з чорним забарвленням і п'ять зразків з темно-бурою спиною й рудою смугою між спиною та черевом (каштанові). З метою розширення вибірки до роботи було залучено один зразок з півдня Білорусі та два зразки з Румунських Карпат, котрі зберігалися в колекції Державного природознавчого музею НАН України. Більшість колекційних зразків не були визначені до підвиду. Географічне походження зразків і їх розподіл за забарвленням хутра подано в табл. 1.

Таблиця 1

Кількість зразків вивірки звичайної за забарвленням хутра у досліджених регіонах

Регіон	Рудих	Чорних	Каштанових	Всього
Львівська обл. (за винятком Карпат)	27	0	0	27
Волинська обл. і Білорусь	4	0	0	4
Тернопільська обл.	2	0	0	2
Карпати (Львівська, Закарпатська, Івано-Франківська області та Румунія)	0	21	5	26
Сумарно	33	21	5	59

ДНК виділяли із фіксованих у 70% етиловому спирті м'язових тканин (16 зразків, зібраних у 2005–2013 роках), а також із зразків дермального епітелію разом з волоссяними цибулинами (43 зразки тушок і шкур із колекції ДПМ, зібраних у 1916–1960 роках), з використанням універсальних наборів реагентів “Diatom™ DNA Prep”, виробництва ООО «Лаборатория Изоген» (Росія). Невеликі фрагменти тканин (~4x4 мм для зразків епітелію і ~20–40 мг для зразків м'язів) заливали 400 мкл лізуючого буферу і подрібнювали у пробірках об'ємом 1,7 мл. Закриті пробірки зі зразками інкубували при +65°C протягом 12–14 год у твердотільному термостаті. Подальше виділення проводили згідно з інструкцією до набору. Придатну до подальшого аналізу ДНК вдалося отримати лише з 48 зразків. З 11 музейних зразків ДНК виділити не вдалося через пошкодження хімічними препаратами, використаними при обробці шкур.

Отримані зразки ДНК ампліфікували з використанням праймерів для 13 мікросателітних локусів: *RSμ1*, *RSμ3*, *RSμ4*, *RSμ5* та *RSμ6* [22], *Scv9*, *Scv10*, *Scv12*, *Scv13*, *Scv19*, *Scv23* та *Scv24* [10], а також *PvolE6* [16]. Крім того, з 10 зразків було ампліфіковано локуси *Pvol74*, *Pvol41*, *PvolE5* [16], проте зазначені локуси виявились мономорфними і були виключені з подальшого аналізу.

Для проведення ПЛР використовували готові суміші реагентів із наборів для ПЛР-ампліфікації GenePak® PCR Core виробництва ООО «Лаборатория Изоген» (Росія). У пробірку з ліофілізованою сумішшю дезокси-нуклеозидтрифосфатів і термостабільної ДНК-полімерази додавали по 5 мкл дослідженої ДНК, 5 мкл суміші прямого та зворотного праймерів (у розрахунку на кінцеву концентрацію 0,2 мкМ) та 10 мкл буферу.

Електрофоретичне розділення отриманих фрагментів ДНК проводили в 6% поліакриламідному гелі, з використанням тріс-ЕДТА-боратного електродного буферу (ТБЕ) в камерах для вертикального електрофорезу VE-20 (виробництва ООО «Хеликон», Росія). Електрофорез проводили при обмеженні напруги не більше 300 В і силі струму не більше

110 мА на камеру (дві гелеві пластини) протягом 2,5–3 год. Після електрофоретичного розділення гелі витримували в розчині бромистого етидію, а потім фотографували в ультрафіолетовому світлі (довжина хвилі 325 нм).

Отримані зображення гелів обробляли у програмі «PhotoCapt» (Vilber Lourmat). Для визначення довжин фрагментів у кожному гелеву пластинку поряд із дослідженими зразками вносили еталонний зразок ДНК–плазмиду *E. coli* pBR322 оброблену ендонуклеазою рестрикції *Hpa*II. Результатом даного етапу було визначення індивідуальних генотипів за тринадцятьма мікросателітними локусами.

На основі багатолокусних індивідуальних генотипів вивірок за допомогою програми GenAlEx 6.5 [17, 18] були розраховані частоти алелів і параметри популяційно-генетичної мінливості: середнє число алелів на локус ( $N_A$ ), відсоток поліморфних локусів ( $P$ ), значення спостереженої ( $H_O$ ) та очікуваної ( $H_E$ ) гетерозиготностей, значення індексу фіксації ( $F$ ), що дає змогу оцінити відхилення спостереженої гетерозиготності від очікуваної за рівновагою Харді-Вайнберга, частка міжгрупової мінливості ( $F_{ST}$ ) та генетичні дистанції М. Нея ( $D_N$ ). За допомогою модуля Population Assignment цієї програми проведено визначення приналежності особин із різним забарвленням хутра до певних груп.

#### Результати і їхнє обговорення

Для вивірок із різним забарвленням хутра ми встановили індивідуальні генотипи, за якими підраховували частоти алелів мікросателітних локусів у групах (табл. 2).

За алельним складом тринадцяти мікросателітних локусів групи вивірок із різним забарвленням хутра відрізнялися не значно. У генотипах рудих вивірок виявлено 15 унікальних алелів, у генотипах чорних – дев'ять, а у каштанових – лише три унікальних алелі. Всі вони траплялися з невисокою частотою. Чорні та руді вивірки мало відрізнялися за алельним складом і частотами. У вибірці вивірок з каштановим забарвленням хутра спостерігалися зміщення частот алелів порівняно з вибірками рудих і чорних. Це пояснюється як відмінностями в генетичній структурі групи, так і її малою чисельністю ( $N=5$ ). Вивірки з темно-бурою спиною і рудою смугою між спиною та черевом (каштанові) трапляються у природі надзвичайно рідко [1, 2, 4] і тому мало представлені в музейних колекціях, що не дало нам змоги проаналізувати більшу кількість зразків.

Більшість із виявлених нами алельних варіантів були також ідентифіковані в західноєвропейських популяціях. Мінливість вивірок за мікросателітними локусами групи *RSμ* описана у праці Р. Тодд [21] на матеріалі 163 тварин з 11 популяцій з Бельгії та Німеччини. Алельний склад локусів групи *Scv* розглядається у статті М. Хейл і співавторів [10] на матеріалі 33 екземплярів вивірки звичайної з Великобританії. Локус *PvolE6* раніше в дослідженнях популяційно-генетичної мінливості вивірки звичайної не використовували. У роботі Дж. Пейнтер і співавторів [16] локус вказаний як поліморфний у *S. vulgaris* з п'ятьма алелями, виявленими в генотипах лише п'яти особин. У нашому дослідженні було виявлено дев'ять алелів. Слід зазначити, що не всі алелі, виявлені в європейських популяціях, траплялись у вивірок із заходу України, і навпаки. Відмічені також випадки повної відсутності частого для західноєвропейських вивірок алелю в генотипах українських тварин. Наприклад, алель *RSμ3\_165*, найбільш частий у популяціях Бельгії та Німеччини, повністю відсутній у популяціях заходу України. Отже, на основі аналізу алельного складу мікросателітних локусів, описаного для *S. vulgaris* з Британських островів, Бельгії та Німеччини [10, 21], ми можемо констатувати наявність генетичних відмінностей у досліджених представників популяцій із території заходу України. Мікросателітні маркери підтверджують диференціацію вивірки на окремі підвиди за морфологічними ознаками в межах Європи.

Таблиця 2

Частоти алелів мікросателітних локусів у вибірках *S. vulgaris* за забарвленням хутра

Локус	Алель	Руді	Чорні	Каштанові	Локус	Алель	Руді	Чорні	Каштанові	
<i>RSμ1</i>		29*	14	5	<i>Scv12</i>		29	14	5	
	174	0,017	0,036	0,200		196	0,000	0,036	0,000	0,000
	178	0,034	0,036	0,000		198	0,069	0,250	0,100	0,100
	182	0,069	0,143	0,000		200	0,655	0,321	0,700	0,700
	186	0,362	0,464	0,400		202	0,276	0,321	0,200	0,200
	190	0,328	0,214	0,400		204	0,000	0,071	0,000	0,000
<i>RSμ2</i>		29	14	5	<i>Scv13</i>		29	14	5	
	194	0,138	0,107	0,000		173	0,259	0,107	0,300	0,300
	198	0,034	0,000	0,000		175	0,121	0,357	0,100	0,100
	202	0,017	0,000	0,000		181	0,017	0,000	0,000	0,000
	161	0,017	0,000	0,000		183	0,483	0,393	0,500	0,500
	169	0,241	0,107	0,100		185	0,000	0,107	0,100	0,100
<i>RSμ3</i>		29	14	5	<i>Scv19</i>		29	14	5	
	171	0,603	0,536	0,300		187	0,017	0,000	0,000	0,000
	173	0,052	0,143	0,500		189	0,103	0,036	0,000	0,000
	175	0,034	0,107	0,000		204	0,000	0,036	0,000	0,000
	177	0,052	0,107	0,100		206	0,207	0,250	0,100	0,100
	260	0,125	0,000	0,250		208	0,379	0,357	0,400	0,400
<i>RSμ4</i>		24	2	2	<i>Scv23</i>		29	14	5	
	264	0,146	0,000	0,250		155	0,017	0,000	0,000	0,000
	268	0,167	0,000	0,000		159	0,448	0,286	0,300	0,300
	272	0,146	0,250	0,000		161	0,276	0,429	0,400	0,400
	276	0,146	0,250	0,250		165	0,224	0,107	0,300	0,300
	280	0,146	0,000	0,000		167	0,034	0,179	0,000	0,000
<i>RSμ5</i>		29	14	5	<i>Scv24</i>		28	13	5	
	284	0,125	0,500	0,250		143	0,018	0,000	0,000	0,000
	137	0,103	0,071	0,100		145	0,071	0,000	0,000	0,000
	139	0,586	0,643	0,200		149	0,071	0,000	0,000	0,000
	141	0,121	0,143	0,500		151	0,321	0,385	0,400	0,400
	143	0,121	0,107	0,200		153	0,161	0,077	0,100	0,100
<i>RSμ6</i>		29	14	5	<i>Scv9</i>		27	12	5	
	110	0,000	0,036	0,000		155	0,071	0,077	0,100	0,100
	122	0,431	0,536	0,500		157	0,054	0,077	0,000	0,000
	125	0,086	0,036	0,100		159	0,000	0,077	0,000	0,000
	128	0,448	0,357	0,300		161	0,000	0,077	0,100	0,100
	131	0,034	0,036	0,100		163	0,000	0,115	0,100	0,100
<i>Scv9</i>		27	12	5	<i>PvolE6</i>		29	14	4	
	196	0,130	0,042	0,100		202	0,017	0,000	0,000	0,000
	198	0,296	0,333	0,300		204	0,000	0,000	0,125	0,125
	200	0,241	0,250	0,300		206	0,172	0,179	0,000	0,000
	202	0,222	0,375	0,200		208	0,121	0,179	0,125	0,125
	204	0,093	0,000	0,100		210	0,155	0,214	0,125	0,125
<i>Scv10</i>		29	14	5	212	0,207	0,071	0,250	0,250	
	214	0,019	0,000	0,000	214	0,293	0,286	0,375	0,375	
	74	0,621	0,536	0,700	216	0,034	0,036	0,000	0,000	
	76	0,121	0,250	0,100	222	0,000	0,036	0,000	0,000	
	78	0,086	0,036	0,100						
	80	0,069	0,071	0,100						
84	0,103	0,071	0,000							
90	0,000	0,036	0,000							

Примітка. \*Поряд із назвою локусу подана чисельність кожної з досліджених груп.

Для кожної морфологічної групи на основі індивідуальних генотипів були підраховані показники генетичної мінливості (табл. 3). У рудих вивірок усі досліджені локуси ви-

явилися поліморфними з числом алелів від трьох до дев'яти (в середньому 5,85). Показники середньої спостереженої ( $H_o$ ) та середньої очікуваної за рівновагою Харді – Вайнберга ( $H_e$ ) гетерозиготностей становили 0,619 та 0,682 відповідно. Індекс фіксації ( $F$ ) показує відсутність значних відхилень частот генотипів від очікуваного за рівновагою Харді – Вайнберга у восьми локусах. У локусах *Scv9*, *Scv10*, *Scv19* та *PvolE6* спостерігався дефіцит гетерозигот. Середній дефіцит гетерозиготних генотипів у популяції не перевищував 9%.

Показники генетичної різноманітності у чорних вивірок перебували на такому ж рівні і статистично не відрізнялися від рудих. Число алелів коливалося від трьох до десяти на локус (середнє становило 5,39). Середня спостережена ( $H_o$ ) та середня очікувана за рівновагою Харді – Вайнберга ( $H_e$ ) гетерозиготності становили 0,687 та 0,684 відповідно. У локусах *Scv9*, *Scv13* та *Scv19* спостерігався дефіцит гетерозигот. Середні значення індексу фіксації ( $F$ ) близькі до 0 і вказують на відсутність інбридингу серед чорних вивірок.

У вивірок з каштановим забарвленням хутра число алелів на локус становило від 3 до 6 (в середньому 4,15). Цей показник нижчий, ніж у двох попередніх вибірках, що можна пояснити невеликою чисельністю зразків у досліджуваній групі (N=5). Показники середньої спостереженої ( $H_o$ ) та середньої очікуваної ( $H_e$ ) гетерозиготностей становили 0,669 та 0,658 відповідно, що не відрізнялося від показників у двох попередніх вибірках. Дефіцит гетерозигот спостерігався в локусах *RSμ1*, *RSμ3*, *Scv10*, *Scv19*, *Scv24* та *PvolE6*. Хоча в цілому по вибірці індекс фіксації ( $F$ ) вказує на відсутність інбридингу.

Дефіцит гетерозигот у локусах *Scv9*, *Scv10*, *Scv19* та *PvolE6* може бути спричинений присутністю так званих «нуль»-алелів, поява яких зумовлена мутаціями в ділянці спарювання з праймерами (неповна компліментарність праймерів). У гетерозиготному генотипі відбувається ампліфікація тільки з однієї хромосоми, і така проба може бути врахована як гомозигота. Порушення рівноваги Харді – Вайнберга за окремими локусами у вибірці каштанових вивірок може бути також випадковим через малу чисельність групи.

В одинадцяти популяціях вивірки з Бельгії та Німеччини загальною чисельністю 163 особини [21, 22] середнє число алелів на локус становило 6,6. У наших вибірках число алелів на локус у групі локусів *RSμ* було дещо нижчим: 6 у рудих і 4,8 у чорних вивірок. Показники гетерозиготності за локусами *RSμ1*, *RSμ3* були такими ж високими, як і в популяціях із заходу Європи, і перевищували їх за локусами *RSμ4*, *RSμ5* та *RSμ6*.

Для семи локусів групи *Scv* у вибірці розміром 33 особини з Великобританії середнє число алелів на локус було 4,4 [10]. Для рудих вивірок, досліджених нами, середнє число алелів на локус у групі *Scv* становило 4,3, а для чорних – 5,6. Гетерозиготності за локусами *Scv9* і *Scv24* у нашій вибірці рудих вивірок були вищими, ніж у британській. Значення гетерозиготності за локусами *Scv12*, *Scv19* і *Scv23* виявились на такому ж рівні, а за локусом *Scv10* були нижчими. Для розглянутої вибірки вивірок із чорним забарвленням хутра показники гетерозиготності за локусом *Scv10* виявились такими ж як і у британській, а за всіма іншими локусами групи *Scv* – вищими. У популяції з Великобританії відмічений дефіцит гетерозигот за локусами *Scv9*, *Scv10*, *Scv12* і *Scv23* [10]. Для шести популяцій вивірок з Італії, котрі зазнали значного скорочення чисельності з подальшим її відновленням, середнє число алелів на локус становило 5,8, середня спостережена гетерозиготність – 0,523, а середня очікувана гетерозиготність – 0,650 [23].

Отримані нами показники генетичного різноманіття вивірки звичайної перебувають на рівні, характерному для інших представників родини вивіркових. Наприклад, для бабака альпійського, *Marmota marmota*,  $H_e = 0,30-0,65$  [12] та  $H_e = 0,57-0,76$  [9]; політухи сибірської, *Pteromys volans*,  $H_e = 0,48-0,86$  [16]; бурундука соснового, *Tamias amoenus*,  $H_e = 0,28-0,79$  [19].

Таблиця 3

Середнє число алелів на локус ( $N_A$ ), середні спостережена ( $H_O$ ) та очікувана ( $H_E$ ) гетерозиготності, індекс фіксації ( $F$ ) для тринадцяти мікросателітних локусів у трьох вибірках *S. vulgaris* із різним забарвленням хутра

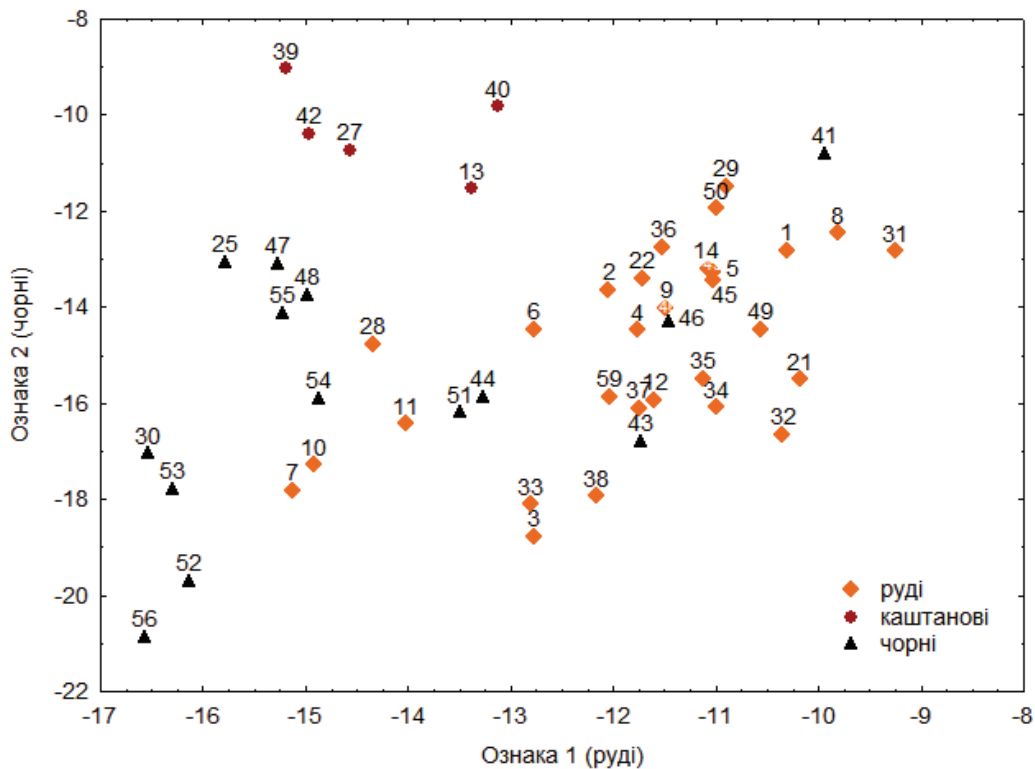
Локус	$N$	$N_A$	$H_O$	$H_E$	$F$
Руді					
<i>RSμ1</i>	29	8	0,759	0,735	-0,032
<i>RSμ3</i>	29	6	0,552	0,571	0,033
<i>RSμ4</i>	24	7	0,917	0,856	-0,071
<i>RSμ5</i>	29	5	0,586	0,612	0,042
<i>RSμ6</i>	29	4	0,655	0,605	-0,084
<i>Scv9</i>	27	6	0,556	0,779	0,287
<i>Scv10</i>	29	5	0,414	0,577	0,283
<i>Scv12</i>	29	3	0,483	0,490	0,015
<i>Scv13</i>	29	6	0,724	0,674	-0,074
<i>Scv19</i>	29	5	0,483	0,669	0,278
<i>Scv23</i>	29	5	0,690	0,671	-0,027
<i>Scv24</i>	28	9	0,714	0,825	0,134
<i>PvolE6</i>	29	7	0,517	0,801	0,355
Середнє	28,38 ±0,40	5,85 ±0,45	0,619 ±0,039	0,682 ±0,031	0,088 ±0,044
Чорні					
<i>RSμ1</i>	14	6	0,786	0,704	-0,116
<i>RSμ3</i>	14	5	0,714	0,658	-0,085
<i>RSμ4</i>	2	3	1,000	0,625	-0,600
<i>RSμ5</i>	14	5	0,571	0,548	-0,042
<i>RSμ6</i>	14	5	0,714	0,582	-0,228
<i>Scv9</i>	12	4	0,583	0,684	0,147
<i>Scv10</i>	14	6	0,643	0,638	-0,008
<i>Scv12</i>	14	5	0,857	0,724	-0,183
<i>Scv13</i>	14	5	0,429	0,694	0,382
<i>Scv19</i>	14	5	0,357	0,742	0,519
<i>Scv23</i>	14	4	0,643	0,691	0,070
<i>Scv24</i>	13	10	0,846	0,805	-0,051
<i>PvolE6</i>	14	7	0,786	0,801	0,019
Середнє	12,85 ±0,92	5,39 ±0,47	0,687 ±0,049	0,684 ±0,021	-0,014 ±0,076
Каштанові					
<i>RSμ1</i>	5	3	0,400	0,640	0,375
<i>RSμ3</i>	5	4	0,400	0,640	0,375
<i>RSμ4</i>	2	4	1,000	0,750	-0,333
<i>RSμ5</i>	5	4	1,000	0,660	-0,515
<i>RSμ6</i>	5	4	0,800	0,640	-0,250
<i>Scv9</i>	5	5	0,800	0,760	-0,053
<i>Scv10</i>	5	4	0,400	0,480	0,167
<i>Scv12</i>	5	3	0,600	0,460	-0,304
<i>Scv13</i>	5	4	0,800	0,640	-0,250
<i>Scv19</i>	5	5	0,600	0,720	0,167
<i>Scv23</i>	5	3	0,800	0,660	-0,212
<i>Scv24</i>	5	6	0,600	0,760	0,211
<i>PvolE6</i>	4	5	0,500	0,750	0,333
Середнє	4,69 ±0,24	4,15 ±0,25	0,669 ±0,059	0,658 ±0,027	-0,022 ±0,085

Підрахунок частки міжгрупової мінливості ( $F_{ST}$ ) виявив, що виділені нами за забарвленням хутра групи відрізняються лише на 4%, тоді як 96% генетичної мінливості

належить до внутрішньогрупової. За даними Р. Тодд [17], середня доля міжпопуляційної мінливості вивірок із Бельгії та Німеччини становила 5,5%. Міжпопуляційна мінливість вивірки з Великобританії становила 2,2% [11]. Дослідження популяцій вивірки з Італійських Альп виявило, що рівень міжпопуляційної мінливості зростає зі зростанням відстані між популяціями від 1,8% (1,1 км) до 6,2% (217 км) [29].

Генетичні дистанції Нея ( $D_N$ ) становили: між чорними та рудими особинами – 0,020, між рудими і каштановими – 0,030; між чорними та каштановими – 0,041. Ці показники перебувають на рівні, характерному для дуже близьких популяцій у межах одного підвиду. Найбільш генетично віддаленою є група вивірок із каштановим забарвленням хутра.

Ми провели порівняння генотипів усіх 48 досліджених вивірок і встановили для них приналежність до генетичних груп на основі подібності за допомогою модуля Population Assignment у програмі GenAlEx (див. рисунок).



Групування індивідуальних генотипів вивірки з різним забарвленням хутра.

Не було виявлено чіткого розмежування зразків на фенотипічні групи за забарвленням хутра. Руді тварини утворюють групу із досить високим рівнем генотипічної різноманітності. Причому зразки, зібрані у 2007–2012 роках, групуються разом зі зразками, зібраними у 1951–1955 роках. Це може вказувати на сталість генетичного складу популяції рудих вивірок протягом більш як 60 років. Зразки 28, 36 і 37 походженням із Волинської обл. та 29 і 31 з Тернопільської обл. не утворюють відокремлених груп у межах особин із рудим хутром, хоча й чітко диференціюються за двома регіонами походження. Можливо, це пов'язано з наявністю локальної генетичної диференціації в межах рудих вивірок. Для з'ясування цього питання необхідне більш детальне вивчення популяцій рудої вивірки.

Руді особини з території Львова та Львівської обл. утворюють високодисперсну генотипову групу, що вказує на значну мінливість у межах області.

Генотипи особин із чорним забарвленням хутра не утворюють компактної групи, хоча їм притаманні певні генетичні особливості, на основі яких більшість зразків зміщена в ліву частину діаграми (див. рисунок). Чорні вивірки з Івано-Франківської обл. (за винятком зразків 41 і 43) групуються разом із тваринами з Закарпаття. Також поблизу перебуває особина № 55 з Турківського р-ну Львівщини. Зразки 41 і 43 виявилися генотипово більш подібні до рудих вивірок. Два зразки з Румунських Карпат (30 та 46) значно відрізняються між собою за генотипами. Перший екземпляр демонструє генотип, що є характерним для зразків з Українських Карпат, а другий – генотипово близький до рудих вивірок.

Цікаво, що всі п'ять зразків вивірок з каштановим забарвленням хутра, незважаючи на різницю в географічному походженні (№ 13 – Івано-Франківська обл., м. Галич, № 27, 39 – Закарпаття, с. Воловець, № 40 – Івано-Франківська обл., Рогатинський р-н та № 42 – Івано-Франківська обл., Надвірнянський р-н), зайняли проміжне положення між рудими та чорними тваринами, відособившись від обох форм. Таке групування наводить нас на думку про можливість існування третьої генетичної групи як відособленої форми, не виключено, на рівні підвиду. Каштанові вивірки можуть бути мігрантами зі сусідніх популяцій або ж представляють рідкісний рецесивний фенотип, який виникає в результаті схрещування чорних особин з рудими. На користь цих гіпотез свідчить невелика чисельність каштанових вивірок у досліджених зразках із музейних колекцій (лише 5 із 59), а також літературні дані. За даними Ю. Зізди, вивірки з темним (каштановим) забарвленням хутра на території Закарпаття трапляються тільки в населених пунктах і поряд з рудими особинами при наявності як у диких, так і в синантропних популяціях у переважаючій кількості вивірок з чорним забарвленням [2]. Для підтвердження однієї з гіпотез потрібно провести експерименти з контрольованим схрещуванням у неволі вивірок із різним забарвленням хутра.

Отримані результати свідчать про відсутність генетичної ізоляції між рудими та чорними вивірками. Генетична диференціація різних кольорових форм залежить від географічної компоненти і відповідає рівню міжпопуляційної. Генетичні дані вказують на відсутність репродуктивної ізоляції та постійний обмін генами між рудою і чорною формами *S. vulgaris* у Прикарпатті й Карпатах. Аналіз мінливості за ядерними мікросателітними локусами не дає підстав для розділення рудих і чорних вивірок з заходу України на окремі підвиди.

*Робота виконана за часткової підтримки підпрограми «Динаміка та збереження генофондів» програми фундаментальних досліджень Президії РАН «Жива природа: сучасний стан і проблеми розвитку». Автори вважають своїм приємним обов'язком висловити щиру вдячність директорів Державного природознавчого музею НАН України Ю.М. Чернобаю, с.н.с. А.А. Бокотю, м.н.с. Є.В. Червоному за допомогу при роботі з колекціями.*

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Зізда Ю. Поширення кольорових форм вивірки (*Sciurus vulgaris*) у Закарпатті та суміжних областях України // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Сер. біол. 2005. Т. 17. С. 147–154.
2. Зізда Ю. Оцінки різноманіття кольорових форм вивірки (*Sciurus vulgaris*) у синантропних і природних місцезнаходженнях Закарпаття // Фауна в антропогенному середовищі. Луганськ, 2006 (Праці Теріологічної школи. Вип. 8). 2006. С. 101–107.
3. Зізда Ю. До питання статусу кольорових форм вивірки звичайної (*Sciurus vulgaris*) в Українських Карпатах // Наукові основи збереження біотичної різноманітності: матеріали восьмої наук. конф. молодих учених. Львів, 2007. С. 92–95.



4. Зізда Ю. Мінливість забарвлення хутра та аналіз поширення різних підвидів *Sciurus vulgaris* // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. Сер. біол. 2008. Т. 22. С. 212–218.
5. Огнев С. И. Звери СССР и прилежащих стран (звери Восточной Европы и Северной Азии). Т. IV. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1940. 615 с.
6. Сребродольська Є. Б., Левицька К. М. Карпатська білка (*Sciurus vulgaris carpathicus* Pietr., 1853) у колекціях музеїв м. Львова // Біорізноманіття Українських Карпат: матеріали наук. конф., присв. 50-річчю Карпатського високогірного біологічного стаціонару Львів. нац. ун-ту імені Івана Франка (30 липня – 3 серпня 2005 р.). Львів: 2005. С. 78–82.
7. Татарінов К. А. Звірі західних областей України. К.: Вид-во АН УРСР, 1956. 188 с.
8. Barratt E. M., Gurnell J., Malarky G. et al. Genetic structure of fragmented populations of red squirrel (*Sciurus vulgaris*) in the UK // Mol. Ecol. 1999. Vol. 8. P. 555–563.
9. Goossens B., Chikhi L., Taberlet P. et al. Microsatellite analysis of genetic variation among and within Alpine marmot populations in the French Alps // Mol. Ecol. 2001. Vol. 10. P. 41–52.
10. Hale M. L., Bewan R., Wolff K. New polymorphic microsatellite markers for the red squirrel (*Sciurus vulgaris*) and their applicability to the grey squirrel (*S. carolinensis*) // Mol. Ecol. Notes. 2001. Vol. 1. P. 47–49.
11. Hale M. L., Lurz P. W. W., Shirley M. D. F. et al. Impact of landscape management on the genetic structure of red squirrel populations // Sci. 2001. Vol. 293. P. 2246–2248.
12. Kruckenhauser L., Pinsker W. Microsatellite variation in autochthonous and introduced populations of the Alpine marmot (*Marmota marmota*) along a European west-east transect // J. Zool. Syst. Evol. Res. 2004. Vol. 42. P. 19–26.
13. Lurz P. W. W., J. Gurnell L. Magris. *Sciurus vulgaris* L. // Mammalian Species. 2005. Vol. 769. P. 1–10.
14. Madsen C. L. Population genetics of red and black squirrels in Denmark: Prospects for conservation. Master's thesis. Copenhagen: Faculty of Science University of Copenhagen, 2011. 81 p.
15. Ogden R., Shuttleworth C., McEwing R., Cesarini S. Genetic management of the red squirrel, *Sciurus vulgaris*: a practical approach to regional conservation // Conservation Genetics. 2005. Vol. 6. P. 511–525.
16. Painter J. N., Selonen V., Hanski I. K. Microsatellite loci for the Siberian flying squirrel, *Pteromys volans* // Mol. Ecol. Notes. 2004. Vol. 4. P. 119–121.
17. Peakall R., Smouse P. E. GenAlEx V6: Genetic Analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // Mol. Ecol. Notes. 2006. Vol. 6. N 1. P. 288–295.
18. Peakall R., Smouse P. E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update // Bioinformatics. 2012. Vol. 28. P. 2537–2539.
19. Schulte-Hostedde A. I., Gibbs H. L., Millar J. S. Microgeographic genetic structure in the yellow-pine chipmunk (*Tamias amoenus*) // Mol. Ecol. 2001. Vol. 10. P. 1625–1631.
20. Sidorowicz J. Problems of subspecific taxonomy of squirrel (*Sciurus vulgaris* L.) in Palaearctic // Zoologischer Anzeiger. 1971. Vol. 187. P. 123–142.
21. Todd R. The population genetics of red squirrels in a fragmented habitat. PhD Thesis. University of Nottingham, 1999. 269 p.
22. Todd R. Microsatellite loci in the Eurasian red squirrel, *Sciurus vulgaris* L. // Mol. Ecol. 2000. Vol. 9. P. 2165–2166.
23. Trizio I., Crestanello B., Galbusera P. et al. Geographical distance and physical barriers shape the genetic structure of Eurasian red squirrels (*Sciurus vulgaris*) in the Italian Alps // Mol. Ecol. 2005. Vol. 14. N 2. P. 469–481.

## GENETIC DIVERSITY OF RED SQUIRREL (*SCIURUS VULGARIS* L.) FROM WESTERN UKRAINE BY SSR LOCI

S. Bilokon<sup>1</sup>, M. Belokon<sup>2</sup>, Yu. Belokon<sup>2</sup>, I. Dykyu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ivan Franko National Unisversity of Lviv  
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: bilokon1990@gmail.com

<sup>2</sup>Vavilov Institute of General Genetics, RAS  
3, Gubkin St., Moscow 119991, Russia

The genetic diversity of the red squirrel from Western Ukraine was estimated using 13 SSR loci. All of the loci found to be high polymorphic with allele number from five to 12. All coat colored groups of squirrel were insignificantly different by the allelic content of SSR loci. The private alleles were revealed with low frequency. The mean value of the expected heterozygosity was close at all of the investigating groups: 0,682 for red, 0,684 for black and 0,658 for dark-brown colored squirrels. The interpopulation genetic differentiation ( $F_{ST}$ ) of squirrels with different coat color depends on the geographical component and equals 0,039. The obtained data assumes the absence of reproduction isolation and constant gene flow among red, black and dark-brown colored forms of *S. vulgaris* at Western part of Ukraine.

*Keywords:* red squirrel, *Sciurus vulgaris* L., coat color, genetic diversity, SSR.

## ИЗМЕНЧИВОСТЬ БЕЛКИ ОБЫКНОВЕННОЙ (*SCIURUS VULGARIS* L.) ЗАПАДА УКРАИНЫ ПО МИКРОСАТЕЛЛИТНЫМ ЛОКУСАМ

С. Білоконь<sup>1</sup>, М. Белоконь<sup>2</sup>, Ю. Белоконь<sup>2</sup>, І. Дикий<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Львовский национальный университет имени Ивана Франка  
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина  
e-mail: bilokon1990@gmail.com

<sup>2</sup>Институт общей генетики имени Н.И. Вавилова Российской академии наук  
ул. Губкина, 3, Москва 119991, Россия

Изменчивость белки обыкновенной с запада Украины была оценена по 13 микросателлитным локусам. Все локусы оказались высокополиморфными с числом аллелей от 5 до 12. По аллельному составу микросателлитных локусов группы белок с различной окраской меха отличались незначительно. Уникальные аллели встречались с невысокой частотой. Значение средней ожидаемой гетерозиготности ( $H_E$ ) было близким у всех исследованных групп: 0,682 у рыжих, 0,684 у черных и 0,658 у каштановых белок. Генетическая дифференциация белок с различными формами окраски зависит от географической компоненты и соответствует уровню межпопуляционной ( $F_{ST}=0,039$ ). Полученные данные указывают на отсутствие репродуктивной изоляции и постоянный обмен генами между рыжей и черной формами *S. vulgaris* на территории Прикарпатья и Карпат.

*Ключевые слова:* белка обыкновенная, *Sciurus vulgaris* L., формы окраски, генетическая изменчивость, микросателлиты.