

ПИСЬМА В РЕДАКЦИЮ

УДК 599.742.22

## ГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ АРКТИЧЕСКИХ ПОПУЛЯЦИЙ БЕЛОГО МЕДВЕДЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИСТОРИЧЕСКИХ ОБРАЗЦОВ

© 2024 г. А.А. Канапин\*, А.А. Самсонова\*, А.В. Абрамов\*\*, М.В. Саблин\*\*, В.В. Платонов\*\*, Х.Х. Мустафин\*\*\*, С.А. Чекрыгин\*\*\*\*, Д. Хирата\*,#

\*Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,  
Политехническая ул., 29, Санкт-Петербург, 195251, Россия

\*\*Зоологический институт РАН, Университетская наб., 1, Санкт-Петербург, 199034, Россия

\*\*\*Московский физико-технический институт,  
Институтский пер., 9, Долгопрудный, Московская обл., 141701, Россия

\*\*\*\*Санкт-Петербургский государственный университет,  
Ботаническая ул., 17, Петергоф, Санкт-Петербург, 198504, Россия

#E-mail: dhirata59@gmail.com

Поступила в редакцию 22.04.2024 г.

После доработки 22.04.2024 г.

Принята к публикации 08.05.2024 г.

Впервые проведен анализ генетических данных с использованием ДНК белого медведя, выделенной из музейных образцов, находящихся в коллекции Зоологического института РАН. Уникальные данные, полученные в ходе анализа, позволили впервые охарактеризовать структуру популяций в различных регионах и тем самым заложить основу для дальнейших исследований. Впервые были применены методы выделения ДНК из исторического материала, разработанные для использования в археологии. Данные методы позволили получить материал высокого качества, пригодный для высокопроизводительного секвенирования. Анализ генетических вариантов дал возможность впервые описать структуру популяций белого медведя в российских арктических регионах и ее изменения, связанные с активной хозяйственной деятельностью, развернувшейся в первой трети XX века.

*Ключевые слова:* арктическая фауна, генетика редких видов, древняя ДНК, историческая геномика, белый медведь, генетика популяций.

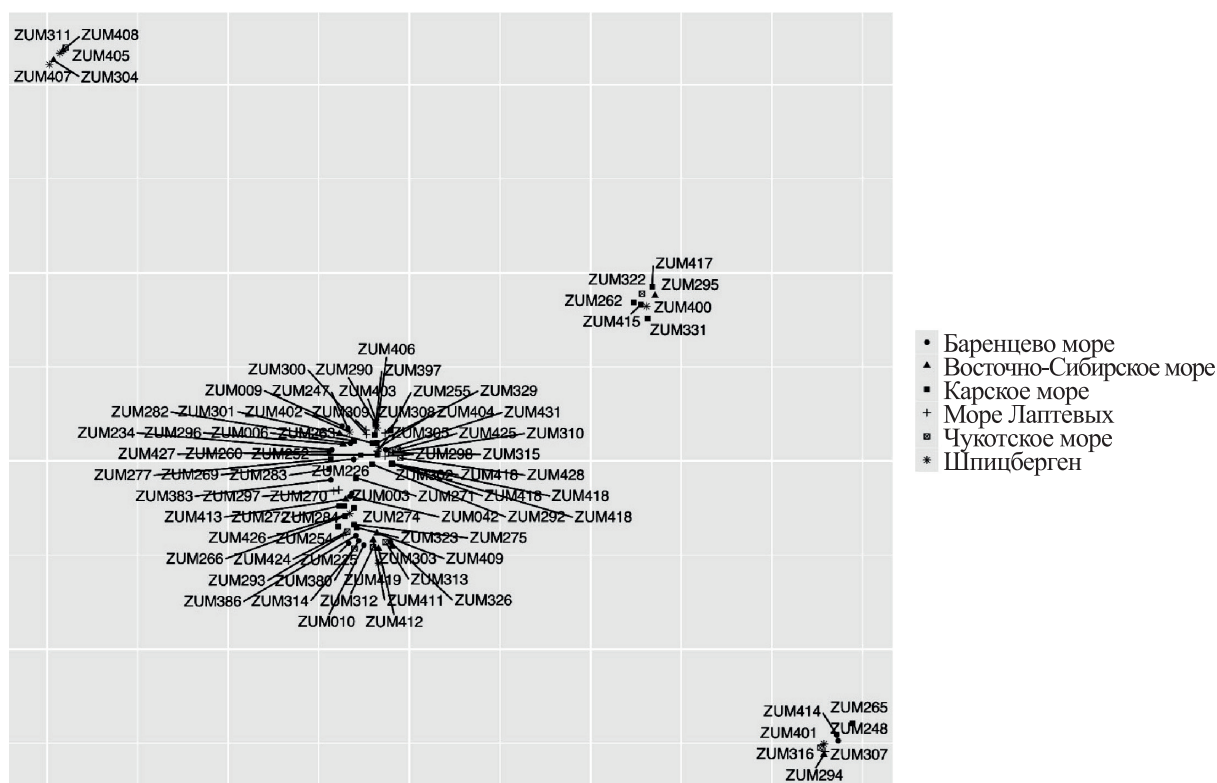
DOI: 10.31857/S0006302924060251, EDN: NIRPYU

Развитие генетических технологий открывает новые возможности для исследований редких и исчезающих видов животных [1–3]. В частности, исследования популяционной генетики белого медведя (*Ursus maritimus*), основанные на данных полногеномного и таргетного секвенирования, позволяют в режиме реального времени отслеживать изменения в популяциях животных и принимать соответствующие природоохранные меры [4–10]. Тем не менее, несмотря на то, что российские ареалы обитания белого медведя занимают существенную часть в арктическом регионе, исследования в области популяционной генетики животного все еще недостаточны для полноценной характеристики его популяционно-генетического статуса [11–13]. Кроме того, накопленные в ходе исследований образцы биоматериала (преимущественно костные фрагменты или скелеты), хранящиеся в фондах музеев, представляют собой уникальный источник информации о динамике популяций и дают возможность оценить степень

воздействия хозяйственной деятельности человека на состояние данного вида [14]. Прогресс в развитии методик исследования древней ДНК позволил получать фрагменты генома живых организмов с качеством, пригодным для высокопроизводительного секвенирования [15], и, таким образом, анализировать генетику популяций в исторической перспективе [16–19].

Ранее нами была описана база данных, включающая 506 образцов животных, содержащая исчерпывающую информацию, включая данные фотофиксации, уникальные идентификаторы образцов, информацию с бумажных носителей (картотека хранения), геолокацию и другую информацию. База данных BEARBASE находится в открытом доступе на сайте [shirokuma.compbio.ru/db/](http://shirokuma.compbio.ru/db/).

В данном исследовании мы использовали музейные образцы костей белого медведя из фондов хранения Зоологического института РАН, из которых была выделена и отсекувенирована геном-



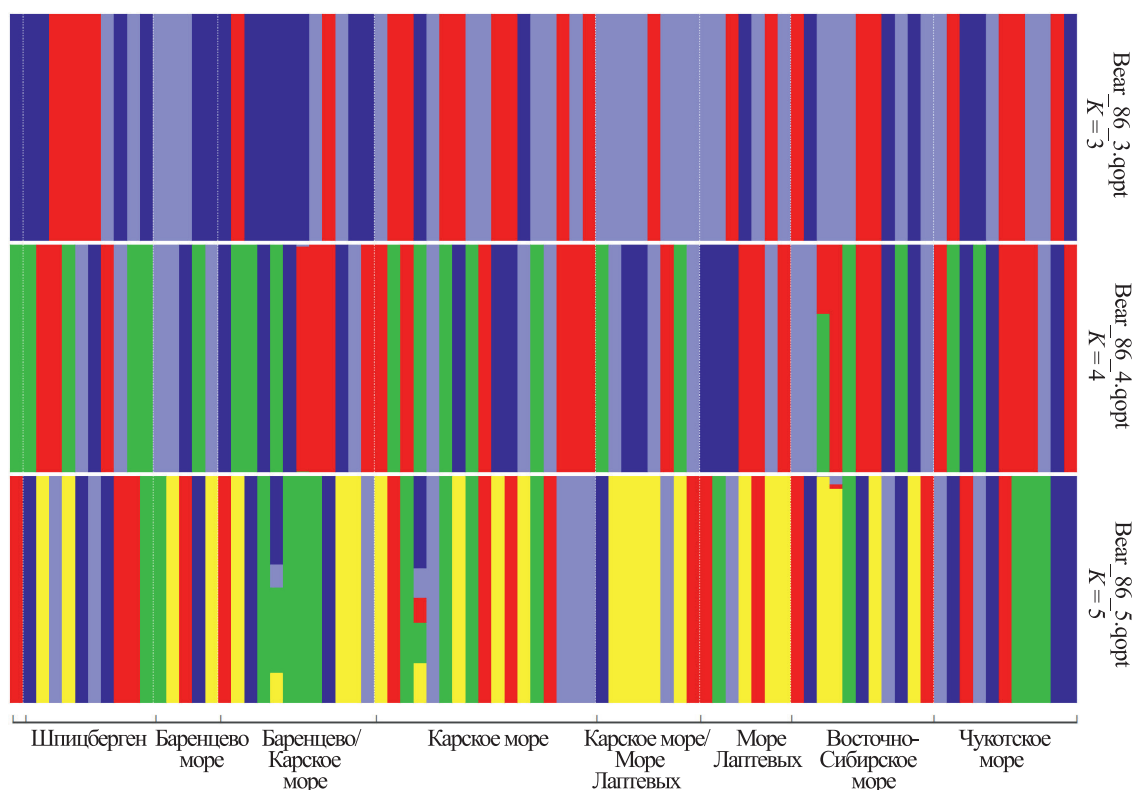
**Рис. 1.** Диаграмма коэффициентов преобразования umap для матрицы ковариаций генотипов 86 образцов белого медведя. Идентификаторы образцов соответствуют информации в базе данных BearBase, арктические регионы показаны различными значками.

ная ДНК, что позволило впервые охарактеризовать генетический ландшафт популяций белого медведя в российской Арктике.

ДНК из образцов была выделена в лаборатории исторической генетики Московского физико-технического института в соответствии с методиками, используемыми для работы с древней ДНК. Такой подход позволил получить препараты высокого качества, пригодные для высокопроизводительного секвенирования. Нами были отобраны 86 образцов для первого раунда экспериментов по выделению ДНК и последующему секвенированию. Исследуемые образцы были собраны в интервале от 1883 до 2000 гг., информация о времени сбора, локации и характеристиках проб (концентрация ДНК, количество фрагментов секвенирования, эффективность картирования на референсный геном) доступна в ранее описанной базе данных BEARBASE. Для выбранных образцов ДНК выделяли из ткани зубов в соответствии с ранее описанной методикой [20]. Оценка качества выделенной ДНК перед приготовлением библиотек секвенирования проводилась при помощи капиллярного электрофореза на инструменте QIAxcel Advanced (QIAGEN, США). Синтез библиотек секвенирования осу-

ществляли в соответствии с протоколом Hupre-Cap KAPA Workflow v3.3, предложенным производителем набора реагентов (Roche, США). Секвенирование библиотек проводилось компанией Genetico (Москва) на инструменте NovaSeq (Illumina, США).

Фрагменты секвенирования выравнивали на референсный геном белого медведя версии GCF\_017311325.1\_ASM1731132v1 [8] посредством программы bwa mem [21], поиск однонуклеотидных замен проводили с использованием программы angsd [22]. Для анализа структуры популяций были отобраны биаллельные однонуклеотидные замены общим числом 13 866 959. На рис. 1 представлена диаграмма коэффициентов преобразования UMAP для матрицы ковариаций генотипов исследованных образцов. Следует отметить, что кластеризация образцов по генетическому сходству не всегда совпадает с географической локацией, что может объясняться миграцией животных. Диаграмма популяционного состава ADMIXTURE для образцов приведена на рис. 2 для 3, 4 и 5 популяций, в целом согласуется с анализом umap и служит дополнительным указанием на незначительную роль географической



**Рис. 2.** Диаграмма ADMIXTURE для различных значений числа популяций (сверху вниз, от 3 до 5). Различные цвета соответствуют популяциям, высота столбца данного цвета соответствует пропорции соответствующей популяции. Образцы отсортированы по регионам сбора, обозначенным на оси Region.

изоляции различных регионов и высокой мобильности животных.

Таким образом, впервые проведен популяционный анализ генетических данных белого медведя в российской Арктике. Дальнейшие исследования, включающие все доступные образцы, позволят детально охарактеризовать динамику популяционных процессов и, в перспективе, прогнозировать последствия воздействия антропогенных факторов на арктические экосистемы.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 22-74-00038.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, связанных с изложенными в статье данными.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания собственных исследований с участием людей или животных в качестве объектов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Supple M. A. and Shapiro B. Conservation of biodiversity in the genomics era. *Genome Biol.*, **19**, 131 (2018). DOI: 10.1186/s13059-018-1520-3
2. Theissinger K., Fernandes C., Formenti G., Bista I., Berg P. R., Bleidorn C., Bombarely A., Crottini A., Gallo G. R., Godoy J. A., Jentoft S., Malukiewicz J., Mouton A., Oomen R. A., Paez S., Palsbøll P. J., Pampoulie Ch., Ruiz-López M. J., Secomandi S., Svardal H., Theofanopoulou C., de Vries J., Waldvogel A.-M., Zhang G., Jarvis E. D., Bálint M., Ciofi C., Waterhouse R. M., C Mazzoni J., and Höglund J. How genomics can help biodiversity conservation. *Trends Genet.*, **39**, 545–559 (2023). DOI: 10.1016/j.tig.2023.01.005
3. Schmidt T. L., Thia J. A., and Hoffmann A. A. How can genomics help or hinder wildlife conservation? *Annu. Rev. Anim. Biosci.*, **12**, 45–68 (2024). DOI: 10.1146/annurev-animal-021022-051810

4. Miller W., Schuster S. C., Welch A. J., Ratan A., Bedoya-Reina O. C., Zhao F., Kim H. L., Burhans R. C., Drautz D. I., Wittekindt N. E., Tomsho L. P., Ibarra-Laclette E., Herrera-Estrella L., Peacock E., Farley S., Sage G. K., Rode K., Obbard M., Montiel R., Bachmann L., Ingólfsson Ó., Aars J., Mailund Th., Wiig Ø., Talbot S. L., and Lindqvist Ch. Polar and brown bear genomes reveal ancient admixture and demographic footprints of past climate change. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109** (36), E2382–E2390 (2012). DOI: 10.1073/pnas.1210506109
5. Cahill J. A., Green R. E., Fulton T. L., Stiller M., Jay F., Ovsyanikov N., Salamzade R., St John J., Stirling I., Slatkin M., and Shapiro B. Genomic evidence for island population conversion resolves conflicting theories of polar bear evolution. *PLoS Genet.*, **9**, e1003345 (2013). DOI: 10.1371/journal.pgen.1003345
6. Liu S., Lorenzen E. D., Fumagalli M., Li B., Harris K., Xiong Z., Zhou L., Korneliussen T. S., Somel M., Babbitt C., Wray G., Li J., He W., Wang Zh., Fu W., Xiang X., Morgan C. C., Doherty A., O'Connell M. J., McInerney J. O., Born E. W., Dalén L., Dietz R., Orlando L., Sonne Ch., Zhang G., Nielsen R., Willerslev E., and Wang J. Population Genomics reveal recent speciation and rapid evolutionary adaptation in polar bears. *Cell*, **157**, 785–794 (2014). DOI: 10.1016/j.cell.2014.03.054
7. Jensen E. L., Tschirter C., de Groot P. V. C., Hayward K. M., Branigan M., Dyck M., Clemente-Carvalho R. B. G., and Loughheed S. C. Canadian polar bear population structure using genome-wide markers. *Ecol. Evol.*, **10**, 3706–3714 (2020). DOI: 10.1002/ece3.6159
8. Laidre K. L., Supple M. A., Born E. W., Regehr E. V., Wiig Ø., Ugarte F., Aars J., Dietz R., Sonne C., Hegelund P., Isaksen C., Akse G. B., Cohen B. H., Stern L., Moon T., Vollmers Ch., Corbett-Detig R., Paetkau D., and Shapiro B. Glacial ice supports a distinct and undocumented polar bear subpopulation persisting in late 21st-century sea-ice conditions. *Science*, **376**, 1333–1338 (2022). DOI: 10.1126/science.abk2793
9. Lan T., Leppälä K., Tomlin C., Talbot S. L., Sage G. K., Farley S. D., Shideler R. T., Bachmann L., Wiig Ø., Albert V. A., Salojärvi J., Mailund Th., Drautz-Moses D. I., Schuster S. C., Herrera-Estrella L., and Lindqvist Ch. Insights into bear evolution from a Pleistocene polar bear genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **119**, e2200016119 (2022). DOI: 10.1073/pnas.2200016119
10. Wang M.-S., Murray G. G. R., Mann D., Groves P., Vershinina A. O., Supple M. A., Kapp J. D., Corbett-Detig R., Crump S. E., Stirling I., Laidre K. L., Kunz M., Dalén L., Green R. E., and Shapiro B. A polar bear paleogenome reveals extensive ancient gene flow from polar bears into brown bears. *Nature Ecol. Evol.*, **6**, 936–944 (2022). DOI: 10.1038/s41559-022-01753-8
11. Peacock E., Sonsthagen S. A., Obbard M. E., Boltunov A., Regehr E. V., Ovsyanikov N., Aars J., Atkinson S. N., Sage G. K., Hope A. G., E. Zeyl, L. Bachmann, D. Ehrlich, K. T. Scribner, S. C. Amstrup, S. Belikov, E. W. Born, A. E. Derocher, I. Stirling, M. K. Taylor, Ø. Wiig, D. Paetkau, and Talbot S. L. Implications of the circumpolar genetic structure of polar bears for their conservation in a rapidly warming Arctic. *PLoS One*, **10**, e112021 (2015). DOI: 10.1371/journal.pone.0112021
12. Malenfant R. M., Davis C. S., Cullingham C. I., and Coltman D. W. Circumpolar genetic structure and recent gene flow of polar bears: a reanalysis. *PLoS One*, **11**, e0148967 (2016). DOI: 10.1371/journal.pone.0148967
13. Sorokin P. A., Zvychnayaya E. Y., Ivanov E. A., Mizin I. A., Mordvintsev I. N., Platonov N. G., Isachenko A. I., Lazareva R. E., and Rozhnov V. V. Population genetic structure in polar bears (*Ursus maritimus*) from the Russian Arctic Seas. *Russ. J. Genet.*, **59**, 1320–1332 (2023). DOI: 10.1134/S1022795423120128
14. Johnson K. R. and Owens I. F. P. A global approach for natural history museum collections. *Science*, **379**, 1192–1194 (2023). DOI: 10.1126/science.adf6434
15. Orlando L., Allaby R., Skoglund P., Der Sarkissian C., Stockhammer P. W., Ávila-Arcos M. C., Fu Q., Krause J., Willerslev E., Stone A. C., and Warinner Ch. Ancient DNA analysis. *Nature Rev. Methods Primers*, **1**, 14 (2021). DOI: 10.1038/s43586-020-00011-0
16. Díez-Del-Molino D., Sánchez-Barreiro F., Barnes I., Gilbert M. T. P., and Dalén L. Quantifying temporal genomic erosion in endangered species. *Trends Ecol. Evol.*, **33**, 176–185 (2018). DOI: 10.1016/j.tree.2017.12.002
17. Card D. C., Shapiro B., Giribet G., Moritz C., and Edwards S. V. Museum genomics. *Annu. Rev. Genet.*, **55**, 633–659 (2021). DOI: 10.1146/annurev-genet-071719-020506
18. Raxworthy C. J. and Smith B. T. Mining museums for historical DNA: advances and challenges in museomics. *Trends Ecol. Evol.*, **36**, 1049–1060 (2021). DOI: 10.1016/j.tree.2021.07.009
19. Benham P. M. and Bowie R. C. K. Natural history collections as a resource for conservation genomics: Understanding the past to preserve the future. *J. Hered.*, **114**, 367–384 (2023). DOI: 10.1093/jhered/esac066
20. Dabney J., Knapp M., Glocke I., Gansauge M.-T., Weihmann A., Nickel B., Valdiosera C., García N., Pääbo S., Arsuaga J.-L., and Meyer M. Complete mitochondrial genome sequence of a Middle Pleistocene cave bear reconstructed from ultrashort DNA fragments. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 15758–15763 (2013). DOI: 10.1073/pnas.1314445110
21. Li H. Aligning sequence reads, clone sequences and assembly contigs with BWA-MEM. arXiv, **1303.3997** [q-bio.GN] (2013). Available from: <http://arxiv.org/abs/1303.3997>.
22. Korneliussen T. S., Albrechtsen A., and Nielsen R. ANGSD: Analysis of next generation sequencing data. *BMC Bioinformatics*, **15**, 356 (2014). DOI: 10.1186/s12859-014-0356-4

## Genetic Analysis of Arctic Polar Bear Populations using Historical Samples

A.A. Kanapin\*, A.A. Samsonova\*, A.V. Abramov\*\*, M.V. Sablin\*\*, V.V. Platonov\*\*,  
H.H. Mustafin\*\*\*, S.A. Chekrygin\*\*\*\*, and D. Hirata\*

*Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Polytekhnicheskaya ul. 29, St. Petersburg, 195251 Russia*

*\*\*Institute of Zoology, Russian Academy of Sciences, Universitetskaya nab. 1, St. Petersburg, 199034 Russia*

*\*\*\*Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny, Institutskij per. 9, Moscow Region, 141701 Russia*

*\*\*\*\*St. Petersburg State University, Botanicheskaya ul. 17, Peterhof, St. Petersburg, 198504 Russia*

This study analyzed genetic data using DNA isolated from museum specimens of polar bears in the collection of the Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences. The unique data obtained in this study made it possible to characterize population structure of polar bears in the past and to lay the foundation for further research. Methods of DNA isolation used in archaeogenetics and paleogenetics were applied for historical materials. These methods provided sufficient quantity and quality of DNA suitable for high-throughput sequencing. The analysis of genetic variants made it possible to reveal population structure of spatial and temporal polar bear populations in the Russian Arctic regions and its changes associated with the active economic activities that unfolded in the first third of the twentieth century.

*Keywords: Arctic fauna, conservation genetics, historical DNA, museum genomics, polar bear, population genetics*