

Микросателлитный анализ популяций уссурийского пятнистого оленя, акклиматизированного в европейской части России

© 2022. А. П. Каледин¹, д. б. н., профессор, С. В. Бекетов², д. б. н., в. н. с.,
 Д. В. Жуков³, начальник отделения, В. И. Фертиков³, д. б. н., г. н. с.,
 В. М. Макеева⁴, д. б. н., в. н. с., А. В. Смуров⁴, д. б. н., директор музея,
 А. М. Остапчук¹, к. б. н., зав. сектором, Е. А. Коноров², к. б. н., с. н. с.,
 Ю. А. Столповский², д. б. н., заместитель директора,

¹Российский государственный аграрный университет –
 МСХА им. К. А. Тимирязева,

127550, Россия, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 49,

²Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН,

119991, Россия, ГСП-1, г. Москва, ул. Губкина, д. 3,

³ГК «Завидово» ФСО РФ,

171274, Россия, Тверская область, Конаковский район, пгт Козлово, д. 10,

⁴Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,

119991, Россия, г. Москва, ул. Ленинские горы, д. 1,

e-mail: svbeketov@gmail.com

Впервые проведён микросателлитный анализ двух популяций пятнистого оленя (*Cervus nippon hortulorum*), акклиматизированного в европейской части Российской Федерации – Тверской (Госкомплекс «Завидово») и Калужской (Госкомплекс «Таруса») областях. Рассчитанные по 12 локусам показатели *F*-статистики указывают на недостаток гетерозиготных генотипов и свидетельствуют о слабой дивергенции популяций. В межпопуляционном сравнении большим аллельным разнообразием и значительным количеством приват-аллелей отличалась тверская популяция. Генетическая изменчивость по наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности для завидовской популяции составила $H_o = 0,47 \pm 0,08$ и $H_E = 0,51 \pm 0,09$ и для тарусской – $H_o = 0,52 \pm 0,09$ и $H_E = 0,49 \pm 0,08$ соответственно. При этом обе изучаемые популяции пятнистых оленей характеризовались снижением аллельного разнообразия и гетерозиготности относительно «материнской» аборигенной дальневосточной популяции. Соответственно, на современном этапе управления охотничьими ресурсами обоснованное искусственное расширение ареала редких и особенно ценных в хозяйственном отношении видов животных за счёт их расселения и акклиматизации невозможно без проведения генетического анализа популяций с использованием высоко полиморфных молекулярных маркеров и применения стандартных оценочных показателей динамических процессов в популяциях. По результатам исследования можно сделать вывод о том, что генетическое разнообразие исследованных акклиматизированных популяций пятнистого оленя Тверской и Калужской областей достоверно не отличается. При этом различие в количестве приватных аллелей предполагает независимое развитие генофондов популяций, а резкое сокращение аллельного разнообразия (в три раза) исследованных популяций по сравнению с «материнской» Приморской популяцией показывает, что они нуждаются в проведении мероприятий по «оздоровлению» их генофонда с целью увеличения жизнеспособности.

Ключевые слова: пятнистый олень, популяция, интродукция, акклиматизация, микросателлиты, аллельная изменчивость, генетическая дивергенция.

Microsatellite analysis of populations of the ussuri sika deer acclimatized in the European part of Russia

© 2022. A. P. Kaledin¹ ORCID: 0000-0002-1769-5043, S. V. Beketov² ORCID: 0000-0001-7947-8688,
 D. V. Zhukov³ ORCID: 0000-0002-0729-5732, V. I. Fertikov³ ORCID: 0000-0002-0729-5732,
 V. M. Makeeva⁴ ORCID: 0000-0002-4360-5371, A. V. Smurov⁴ ORCID: 0000-0001-5143-1634,
 A. M. Ostapchuk¹ ORCID: 0000-0002-9202-8611, E. A. Konorov² ORCID: 0000-0001-8748-9117,
 Yu. A. Stolpovsky² ORCID: 0000-0003-2537-1900

¹Russian State Agrarian University-Moscow Timiryazev Agricultural Academy,
 49, Timiryazevskaya St., Moscow, Russia, 127550,

²Vavilov Institute of General Genetics Russian Academy of Sciences,
3, Gubkina St., GSP-1, Moscow, Russia, 119991,
³State complex "Zavidovo",
10, v. Kozlovo, Konakovskiy district, Tver region, Russia, 171274,
⁴Lomonosov Moscow State University,
1, Leninskiye Gory, Moscow, Russia, 119991,
e-mail: svbeketov@gmail.com

In the Russian Federation, the indigenous population of sika deer (*Cervus nippon hortulorum*, Swinhoe, 1864) lives only in a small area of the Primorsky Krai. Since the beginning of the twentieth century, along with measures for the conservation of sika deer, they began to acclimatize it, with settling over a large territory and creating new habitats. Currently, up to 40% of the total population of sika deer in the Russian Federation is concentrated in the European part. Despite the long period of existence in the new ecological conditions, molecular genetic methods were not used in the study of sika deer. This work presents for the first time the results of microsatellite analysis of two populations of sika deer from Tver (Zavidovo population) and Kaluga (Tarusa population) regions. *F*-statistics calculated for 12 STR-loci (BMS1788, Rt1, C143, OheQ, FCB193, C217, Rt24, C32, BMS745, NVHRT16, T40, C276) indicate a lack of heterozygous genotypes and indicate a weak divergence of populations. In the interpopulation comparison, the Zavidovo population was distinguished by a greater allelic diversity and a significant number of private alleles. Genetic variability in observed and expected heterozygosity for the Zavidovo population was $H_o = 0.47 \pm 0.08$ and $H_e = 0.51 \pm 0.09$ and for the Tarusa population – $H_o = 0.52 \pm 0.09$ and $H_e = 0.49 \pm 0.08$, respectively. At the same time, both studied populations of sika deer were characterized by a decrease in allelic diversity and heterozygosity relative to the "maternal" aboriginal Far Eastern population. Accordingly, at the present stage of hunting resource management, a reasonable artificial expansion of the range of rare and economically especially valuable animal species due to their dispersal and acclimatization is impossible without a genetic analysis of populations using highly polymorphic molecular markers and the use of standard estimated indicators of dynamic processes in populations. According to the results of the study, it can be concluded that the genetic diversity of the studied acclimatized populations of sika deer in the Tver and Kaluga regions does not differ significantly, and the observed difference in private alleles suggests an independent development of the gene pools of the populations under consideration.

Keywords: sika deer, populations, introduction, microsatellites, allelic variability, genetic divergence.

Пятнистый олень *Cervus nippon* (нативные популяции разных подвидов) в большей или меньшей степени распространён в России, Восточном Китае, Вьетнаме, на полуострове Корея и в Японии, восстановлен на Тайване [1]. В нашей стране охраняемая аборигенная популяция уссурийского (маньчжурского) пятнистого оленя (*C. nippon hortulorum*, Swinhoe, 1864) занимает небольшой район Приморского края в полосе побережья Японского моря между реками Партизанская и Аввакумовка, включая остров Аскольд. В 2002 г. общая численность аборигенной популяции превысила 8500 особей [2].

Однако к концу первой четверти XX века этот подвид стал повсеместно редким и с 1926 г. в СССР, наряду с охранными мероприятиями по сохранению, начали проводить его акклиматизацию, в результате чего пятнистый олень был расселён на значительной территории (заповедники, заказники, охотничьи хозяйства) с образованием новых очагов обитания [3, 4], в том числе вторичных, образовавшихся в результате естественного расселения как, например, во Владимирской и Орловской областях, а также в Хабаровском крае.

За последние годы численность пятнистого оленя в нашей стране существенно

увеличилась и на 2016 г. без учёта животных аборигенной популяции и специализированных пантовых хозяйств составляла примерно 26,7 тыс. особей [5, 6]. При этом до 40% общего поголовья пятнистых оленей сосредоточено в европейской части России (Северо-Западный, Центральный, Поволжский, Северо-Кавказский, Южный, Уральский федеральные округа) [4], причём на Центральный федеральный округ приходится 25% поголовья [5, 6]. Крупные очаги обитания пятнистого оленя сформированы в Московской, Тверской, Калужской, Владимирской и Орловской областях, где благодаря искусственно созданным условиям для воспроизводства (охрана, обильная подкормка, ветеринарный контроль) олени образовали устойчивые группировки популяционного ранга и в настоящее время успешно используются в качестве объектов охоты [4].

За продолжительный период существования в новых природно-климатических и кормовых условиях пятнистые олени претерпели некоторые фенотипические изменения [7, 8]. Однако изменчивость уссурийского пятнистого оленя, акклиматизированного в европейской части России, на молекулярно-генетическом уровне до сих пор не изучена.

Следует отметить, что молекулярные маркеры являются эффективным инструментом, с помощью которого оценивают и характеризуют внутри- и межвидовое генетическое разнообразие [9]. В частности, ДНК-профилирование по STR-маркерам (STR-shot tandem repeat – короткие тандемные повторы) получило широкое распространение в исследовании популяционно-генетической структуры пятнистого оленя. Непосредственно с помощью микросателлитных маркеров была проведена оценка генетического разнообразия вьетнамского подвида пятнистого оленя (*C. nippon pseudaxis*) [10], сычуаньского пятнистого оленя (*C. nippon sichuanicus*) [11], популяций акклиматизированных пятнистых оленей на территории Чехии [12], Польши [13], Литвы [14], аборигенных популяций Японии [15–18], а также отдельных фермерских популяций оленей в Китае [19].

Применение STR-маркеров также позволило выявить антропогенные гибридные формы между пятнистыми и благородными оленями в Литве и Ирландии [20, 21].

Целью нашей работы было проведение сравнительного анализа с помощью микросателлитных маркеров двух популяций пятнистых оленей, локализованных в Тверской (Госкомплекс «Завидово») и Калужской (Госкомплекс «Таруса») областях.

Объекты и методы исследования

Материалом для исследований стали образцы биоматериала (мышечная ткань) двух популяций акклиматизированных пятнистых оленей из федеральных природных заказников Госкомплекс «Завидово» (Тверская область) ($n = 60$ голов) – завидовская популяция (Zavidovo) и Госкомплекс «Таруса» (Калужская обл.) ($n = 10$ голов) – тарусская популяция (Tarusa).

Выделение ДНК из образцов мышечной ткани проводили с использованием набора «QIAmp® DNA Mini Kit» (QIAGEN, Германия) согласно протоколу фирмы-изготовителя. Количественную и качественную оценку полученных препаратов ДНК определяли на микроспектрофотометре NanoPhotometer™ NP80 (Implen, Германия).

Исследование пятнистых оленей осуществляли по 12 STR-маркерам локусов микросателлитов (BMS1788, Rt1, C143, OheQ, FCB193, C217, Rt24, C32, BMS745, NVHRT16, T40, C276).

После начальной денатурации (94 °C, 90 с) проводили 35 циклов амплификации

в следующем температурно-временном режиме: 95 °C, 10 с; 57 °C, 30 с; 68 °C, 60 с, конечная элонгация – 68 °C, 6 мин 30 с.

Капиллярный электрофорез проводили на генетическом анализаторе 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems | Hitachi) с последующим определением длин аллелей микросателлитов в программном обеспечении GeneMapper® ID-X 1.4. (Applied Biosystems, США).

Для оценки структуры популяций пятнистых оленей использовали показатели: наблюдаемая (H_o) и ожидаемая гетерозиготность (H_e), среднее число аллелей на локус (N_A), число эффективных аллелей на локус (N_E), количество информативных аллелей с частотой более 5% ($N_A \geq 5\%$), аллельное разнообразие (A_R) [22], коэффициент инбридинга (F_{IS}). Расчёт показателей генетического и аллельного разнообразия производили с помощью программного обеспечения GenAlEx 6.5 [23] и пакета для языка R «diveRsity», определение приват-аллелей и F -статистик по исследованным локусам с использованием PopGenReport Version 3.0.4. [24].

Внутрипопуляционные генетические различия оценивали по евклидовым дистанциям, степень генетической дифференциации исследуемых популяций пятнистых оленей определяли на основании попарных генетических различий (индекс фиксации F_{ST}) [25]. Филогенетические отношения устанавливали путём построения Neighbor-net дендрограмм. Метод Neighbor-net основан на агломерации кластеров, где в качестве исходных данных применяют матрицу расстояний [26].

Анализ главных компонент (Principal Component Analysis, PCA) проводили с помощью R пакета adegenet [27] с визуализацией в ggplot2 [28].

Результаты и обсуждение

В результате проведённых исследований с использованием STR-маркеров были определены генотипы 70 пятнистых оленей. Как показано в таблице 1, число аллелей в расчёте на локус микросателлитов варьировало от $4,1 \pm 0,7$ у оленей тарусской популяции до $6,0 \pm 1,2$ в завидовской популяции, выявляемое аллельное разнообразие в обеих популяциях было примерно одинаковым и составило $3,4 \pm 0,5$ и $3,5 \pm 0,6$ соответственно. Однако число эффективных аллелей было больше в завидовской популяции – $2,9 \pm 0,5$. Кроме того, значения наблюдаемой (H_o) и ожи-

Таблица 1 / Table 1

Параметры аллельного разнообразия в изучаемых популяциях пятнистых оленей
Parameters of allelic diversity in the studied populations of sika deer

Популяция / Population	<i>n</i>	N_A	N_E	$N_A \geq 5\%$	A_R
Тарусская / Tarusa	10	4,1±0,7	2,49±0,33	4,1±0,7	3,4±0,5
Завидовская / Zavidovo	60	6,0±1,2	2,9±0,5	3,5±0,6	3,5±0,6

Примечание: N_A – среднее число аллелей на локус; N_E – число эффективных аллелей на локус; $N_A \geq 5\%$ – число информативных аллелей с частотой более 5%; A_R – аллельное разнообразие.

Note: N_A – average number of alleles per locus; N_E – number of effective alleles per locus; $N_A \geq 5\%$ – number of informative alleles with the frequency more than 5%; A_R – allelic diversity.

Таблица 2 / Table 2

Параметры генетического разнообразия в изучаемых популяциях пятнистых оленей
Parameters of genetic diversity in the studied populations of sika deer

Популяция / Population	<i>n</i>	H_O	H_E	F_{IS} (F_{IS} 95% CI)
Тарусская / Tarusa	10	0,52±0,09	0,49±0,08	-0,06 (-0,23; -0,005)
Завидовская / Zavidovo	60	0,47±0,08	0,51±0,09	0,05 (-0,01; 0,092)

Примечание: H_O – наблюдаемая гетерозиготность; H_E – ожидаемая гетерозиготность; F_{IS} – коэффициент инбридинга; CI – доверительный интервал.

Note: H_O – observed heterozygosity; H_E – expected heterozygosity; F_{IS} – inbreeding coefficient; CI – confidence interval.

даемой гетерозиготности (H_E) в рассматриваемых популяциях оказались очень близки между собой. Особенно это характерно для оленей тарусской популяции ($H_O = 0,52 \pm 0,09$ и $H_E = 0,49 \pm 0,08$), которой были свойственны случайные спаривания и некоторый избыток гетерозигот – $F_{IS} = -0,060$, напротив, завидовская популяция ($H_O = 0,47 \pm 0,08$ и $H_E = 0,51 \pm 0,09$) характеризуется дефицитом гетерозигот и незначительным инбридингом – $F_{IS} = 0,051$ (табл. 2).

Всего в рассматриваемых популяциях пятнистых оленей было обнаружено 27 приват-аллелей, из которых 26 встречались в завидовской популяции (локус BMS1788 – 4 аллели, Rt1 – 2 аллели, C143 – 1 аллель, OheQ –

2 аллели, FCB193 – 10 аллелей, C32 – 1 аллель, BMS745 – 3 аллели, NVHRT16 – 1 аллель, T40 – 1 аллель, C276 – 1 аллель) и лишь 1 приват-аллель – в тарусской (локус Rt1) с вероятностью 0,02. При этом непосредственно в завидовской популяции только 5 аллелей встречались с частотой более 5% (от 6 до 20%) – это аллель 253 локуса Rt1, аллели 140, 158 и 166 локуса FCB193, аллель 307 локуса C32 и аллель 137 локуса BMS745.

При рассмотрении F -статистик по исследованным локусам завидовской и тарусской популяций пятнистых оленей (табл. 3) среднее значение F_{IS} составило 0,0445, что указывает на незначительный недостаток гетерозиготных генотипов; $F_{ST} = 0,0090$ свидетельствует

Таблица 3 / Table 3

F -статистика по исследованным локусам рассматриваемых популяций пятнистых оленей
 F -statistic for the studied loci of the considered populations of sika deer

Локус / Locus	F_{IT}	F_{ST}	F_{IS}
C143	-0,0569	-0,0261	-0,0300
Rt24	-0,0493	-0,0251	-0,0236
C32	-0,0222	-0,0197	-0,0025
C217	0,0273	-0,0106	0,0375
T40	-0,0290	-0,0088	-0,0200
BMS1788	0,2731	-0,0023	0,2748
Rt1	0,0753	0,0044	0,0713
BMS745	0,0001	0,0090	-0,0090
C276	0,0411	0,0110	0,0304
NVHRT16	0,1036	0,0289	0,0769
FCB193	0,0486	0,0354	0,0136
OheQ	0,0214	0,1119	0,1145
Средняя / Average	0,0361	0,0090	0,0445

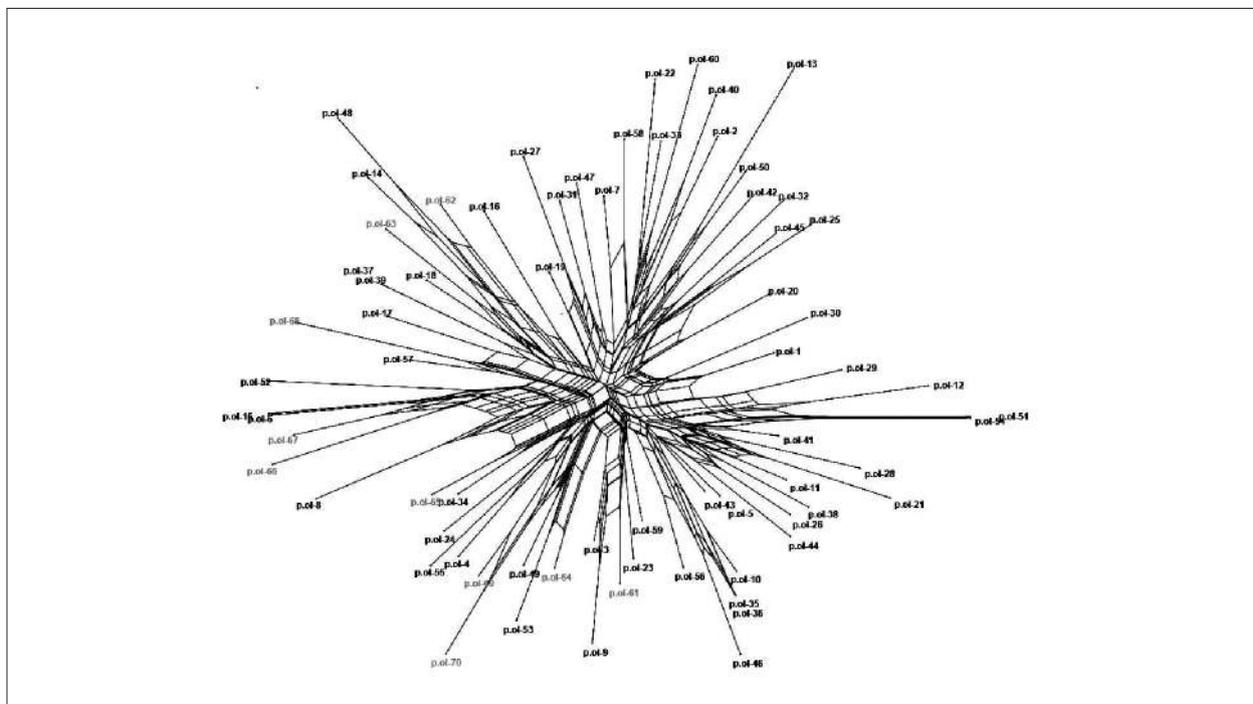


Рис. 1. Neighbor-net дендрограмма взаимоотношений исследуемых популяций пятнистых оленей, построенная на основе матрицы евклидовых дистанций. Здесь и на следующем рисунке чёрным цветом показаны пятнистые олени завидовской, серым цветом – тарусской популяции
Fig. 1. Neighbor-net dendrogram of relationships between the studied populations of sika deer, built on the basis of the Euclidean distance matrix. Here and in the following figure, sika deer of the Zavidovo population are shown in black, and the Tarusa population – in gray

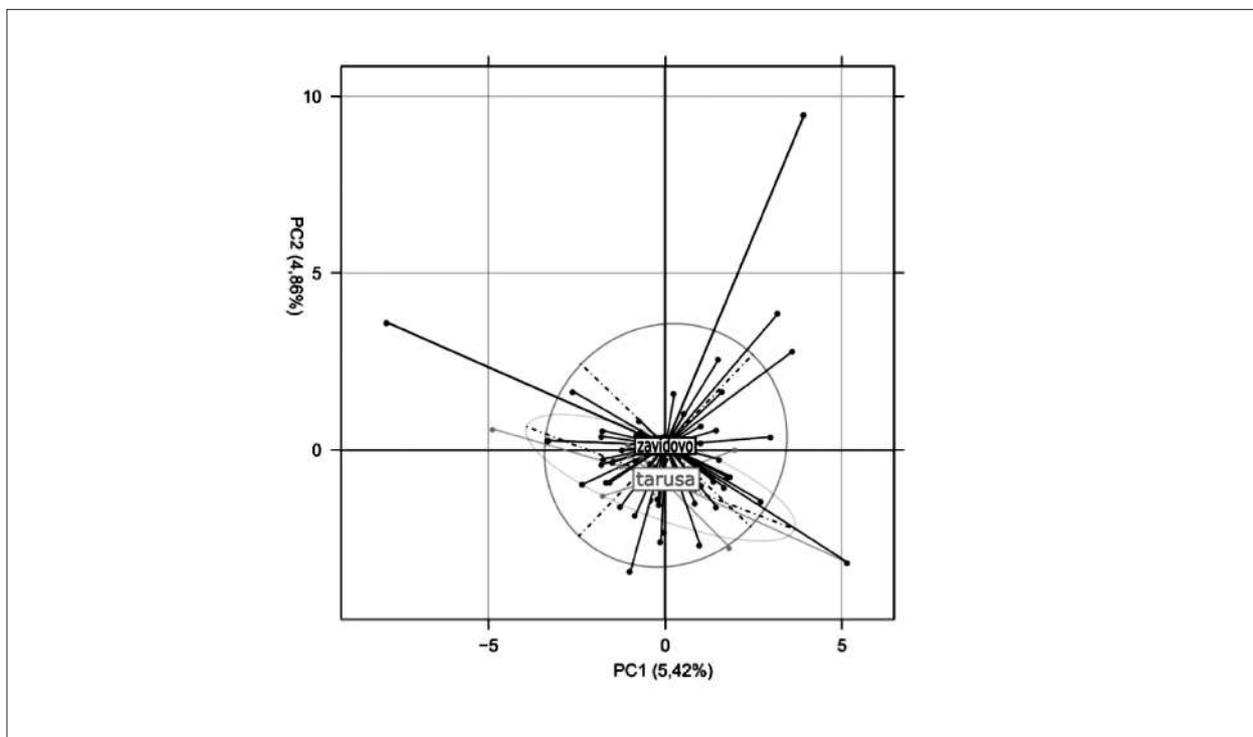


Рис. 2. Проекция особей исследуемых популяций пятнистых оленей на плоскости двух координат по данным PCA-анализа
Fig. 2. Projection of individuals of the studied populations of sika deer on the plane of two coordinates according to PCA analysis data

о слабой дивергенции популяций, при этом наибольший вклад в подразделённость вносит локус *OheQ*; согласно значению F_{IT} вероятность встречи аллелей общего предка невисока и составляет 0,036.

В свою очередь, рассчитанное попарное значение межпопуляционных генетических дистанций F_{ST} , соответствующее коэффициенту генетической дифференциации Нея (G_{ST}), [29], оказалось очень близко к нулю $0,011 \pm 0,002$, что также указывает на отсутствие различий рассматриваемых популяций. Особенно отчётливо это просматривается на сетевой дендрограмме (рис. 1). Сходная картина наблюдается также и по результатам исследования РСА. Фактически две популяции перекрываются с существенным отклонением по отдельным животным (рис. 2).

Соответственно, по результатам нашего исследования незначительное снижение гетерозиготности наблюдается в завидовской популяции, при этом по сравнению с оленями тарусской популяции в ней был более высокий уровень аллельного разнообразия и большее количество приват-аллелей, что отчасти можно объяснить несопоставимым объёмом анализируемых выборок. В то же время слабая межпопуляционная дифференциация свидетельствует в пользу близкого генетического родства завидовской и тарусской популяций. Однако необходимо отметить, что наличие значительных различий между акклиматизированными популяциями по количеству приватных аллелей позволяет предположить независимое изолированное существование этих популяций.

Представляет интерес сравнение наших данных с результатами чешских исследователей, ранее изучавших микросателлитный полиморфизм в аборигенной приморской популяции пятнистых оленей (*C. nippon hortulorum*) из Лазовского и Сихотэ-Алинского заповедников и интродуцированной чешской популяции [12], изначально образованной животными разных подвидов пятнистых оленей (*C. nippon yesoensis*, *C. nippon nippon* и *C. nippon hortulorum*). Примечательно, что, в отличие от завидовской и особенно тарусской популяций, приморские и чешские пятнистые олени характеризовались большим дефицитом гетерозигот и более высоким уровнем инбридинга, $F_{IS} = 0,132$ и $F_{IS} = 0,183$ соответственно.

Однако сравнение популяций по ожидаемой гетерозиготности (H_E), как менее чувствительному к размеру выборки параметру генетической изменчивости, показало, что зна-

чение H_E в чешской – 0,735 и приморской популяциях – 0,710 по сравнению с завидовской – 0,510 и тарусской – 0,490 оказалось выше. То же самое можно и сказать про аллельное разнообразие, которое в приморской популяции составило $A_R = 10,19$ при среднем числе аллелей на локус – $N_A = 10,23$, а в чешской – $A_R = 9,98$ и $N_A = 10$, что в три раза превышает соответствующие параметры завидовской и тарусской популяций.

Очевидно, что акклиматизация пятнистого оленя в Тверской и Калужской областях привела к утере генетического и аллельного разнообразия, что снижает адаптивный потенциал рассматриваемых популяций и могло произойти как за счёт ограниченного числа интродуцированных особей (эффект основателя), так и из-за случайных процессов, например, дрейфа генов и сопутствующего ему инбридинга [30].

Пятнистый олень считается инвазивным видом в Европе и для местной фауны главная угроза интродуцированных пятнистых оленей заключается в их спонтанной гибридизации с благородным оленем. Особенно остро этот вопрос стоит в Ирландии и Великобритании, при этом отдельные гибридные формы фенотипически могут не проявляться.

В европейской части России проблема межвидовой гибридизации пятнистого и благородного оленей пока не столь актуальна. Тем не менее, несмотря на близкое генетическое родство исследованных нами популяций пятнистого оленя, по наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности завидовская популяция характеризуется некоторым дефицитом гетерозигот, а тарусская находится в состоянии панмиксии, что теоретически не исключает у последней возможности межвидовых скрещиваний.

Заключение

По результатам исследования можно сделать следующие выводы. 1. Генетическое разнообразие исследованных акклиматизированных популяций пятнистого оленя Тверской и Калужской областей достоверно не отличается. При этом различие в количестве приватных аллелей предполагает независимое развитие генофондов популяций. 2. Резкое сокращение аллельного разнообразия (в три раза) генофонда исследованных популяций по сравнению с «материнской» Приморской популяцией показывает, что они нуждаются в проведении мероприятий по «оздоровлению»

их генофонда с целью увеличения жизнеспособности.

В целом, подводя общий итог, можно отметить, что на современном этапе управления охотничьими ресурсами обоснованное искусственное расширение ареала редких и особенно ценных в хозяйственном отношении видов животных за счёт расселения их в охотничьи угодья невозможно без проведения генетического анализа популяций с использованием высоко полиморфных молекулярных маркеров. При этом следует применять стандартные оценочные показатели динамических процессов в популяциях, в том числе параметры аллельного и генетического разнообразия, индексы фиксации и другие.

References

1. McCullough E.D.R. Sika deer in Taiwan // Sika deer: Biology and management of native and introduced populations / Eds. D.R. McCullough, S. Takatsuki, K. Kaji. Tokyo: Springer, 2009. P. 549–560. doi: 10.1007/978-4-431-09429-6_37
2. Red Book of Primorsky Krai: Animals. Rare and endangered animal species. Vladivostok: AVK “Apelsin”, 2005. 408 p. (in Russian).
3. Sokolov I.I. Fauna of the USSR. Mammals. Ungulate animals (groups Perissodactyla and Artiodactyla). Moskva-Leningrad: Izdatelstvo AN SSSR, 1959. V. 1. No. 3. 640 p. (in Russian).
4. Sika deer (*Servus nippon* Temmink. 1838) [Internet resource] <https://www.ohotcontrol.ru> (Accessed: 18.09.2021) (in Russian).
5. Alazneli I.D., Romanov A.P., Kaledin A.P. Sika deer resources and their use in the Russian Federation, Moscow and Tver regions // Mezhdunarodnyy nauchnyy teoretiko-prakticheskiy almanakh. Smolensk: IP Borisova S.I., 2017. V. 2. P. 87–92 (in Russian).
6. Kaledin A.P., Filatov A.I., Ostapchuk A.M. Fundamentals of hunting resource science. Moskva: Era, 2018. 344 p. (in Russian).
7. Petrashov V.V. Sika deer in the Khopersky Reserve // Okhota i okhotnichekhozyaystvo. 1974. V. 2. P. 8–9 (in Russian).
8. Petrashov V.V. Morphological characteristics of the sika deer of the Khopersky Reserve // Izvestiya TSKhA. 1977. V. 5. P. 162–163 (in Russian).
9. Chesnokov Yu.V., Artemeva A.M. Evaluation of the measure of informational polymorphism of genetic diversity // Selskokhozyaystvennaya biologiya. 2015. V. 50. No. 5. P. 571–578. doi: 10.15389/agrobiologia.2015.5.571rus
10. Thevenon S., Thuy L.T., Ly L.V., Maudet F., Bonnet A., Jarne P., Maillard J.-C. Microsatellite analysis of genetic diversity of the Vietnamese sika deer (*Cervus nippon pseudaxis*) // J. Hered. 2004. V. 95. No. 1. P. 11–18. doi: 10.1093/jhered/esh001
11. He Y., Wang Z.H., Wang X.M. Genetic diversity and population structure of a Sichuan sika deer (*Cervus sichuanicus*) population in Tiebu Nature Reserve based on microsatellite variation // Dongwuxue Yanjiu. 2014. V. 35. No. 6. P. 528–536. doi: 10.13918/j.issn.2095-8137.2014.6.528
12. Krojerová-Prokešová I.K., Barančeková M., Voloshina I., Myslenkov A. Dybowski's sika deer (*Cervus nippon hortulorum*): Genetic divergence between natural Primorian and introduced Czech populations // The Journal of Heredity. 2013. V. 104. No. 3. P. 1–15. doi: 10.1093/jhered/est006
13. Radko A., Zalewski D., Rubi D., Szumiec A. Genetic differentiation among 6 populations of red deer (*Cervus elaphus* L.) in Poland based on microsatellite DNA polymorphism // Acta Biologica Hungarica. 2014. V. 65. P. 414–427. doi: 10.1556/ABiol.65.2014.4.6
14. Pūraitė I., Paulauskas A. Genetic diversity of the sika deer *Cervus nippon* in Lithuania // Balkan Journal of Wildlife Research. 2016. V. 3. No. 1. P. 19–25. doi: 10.15679/bjwr.v3i1.40
15. Nagata J., Masuda R., Koichi K., Ochiai K., Asada M., Yoshida M.C. Microsatellite DNA variation of the sika deer, *Cervus nippon*, in Hokkaido and Chiba // Mammal Study. 1998. V. 23. P. 95–101.
16. Tamate H.B., Okada A., Minami M., Ohnishi N. Genetic variations revealed by microsatellite markers in a small population of the sika deer (*Cervus nippon*) on Kinkazan Island, Northern Japan // Zoological Science. 2000. V. 17. No. 1. P. 47–53. doi: 10.2108/zsj.17.47
17. Okada A., Tamate H.B. Pedigree analysis of the sika deer (*Cervus nippon*) using microsatellite markers // Zoolog. Sci. 2000. V. 17. No. 3. P. 335–340. doi: 10.2108/zsj.17.335
18. Konishi S., Hata S., Matsuda S., Arai K., Mizoguchi Y. Evaluation of the genetic structure of sika deer (*Cervus nippon*) in Japan's Kanto and Tanzawa mountain areas, based on microsatellite markers // Anim. Sci. J. 2017. V. 88. No. 11. P. 1673–1677. doi: 10.1111/asj.12844
19. Shenjin L., Yang Y., Wang X. Genetic diversity analysis by microsatellite markers in four captive populations of the sika deer (*Cervus nippon*) // Biochemical Systematics and Ecology. 2014. V. 57. P. 95–101. doi: 10.1016/j.bse.2014.07.015
20. Pūraitė I., Gibiežaitė J.M., Paulauskas A. Genetic analysis of red deer *Cervus elaphus* and sika deer *Cervus nippon* to evaluate possible hybridisation in Lithuania // Baltic Forestry. 2017. V. 23. No. 3. P. 683–690.
21. McDevitt A.D., Edwards C.J., O'Toole P., O'Sullivan P., O'Reilly Ca., Carden R.F. Genetic structure of, and hybridisation between, red (*Cervus elaphus*) and sika (*Cervus nippon*) deer in Ireland // Mamm. Biol. 2009. V. 74. P. 263–273. doi: 10.1016/j.mam-bio.2009.03.015
22. Kalinowski S.T. Counting alleles with rarefaction: Private alleles and hierarchical sampling designs // Conser-

- vation Genetics. 2004. No. 5. P. 539–543. doi: 10.1023/B:COGE.0000041021.91777.1a
23. Peakall R., Smouse P.E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update // Bioinformatics. 2012. V. 28. No. 19. P. 2537–2539. doi: 10.1093/bioinformatics/bts460
24. Adamack A.T., Gruber B. PopGenReport: simplifying basic population genetic analyses in R // Methods in Ecology and Evolution. 2014. No. 5. P. 384–387. doi: 10.1111/2041-210X.12158
25. Weir B.S., Cockerham C.C. Estimating F -Statistics for the analysis of population structure // Evolution. 1984. V. 38. P. 1358–1370.
26. Huson D.H., Bryant D. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies // Mol. Biol. Evol. 2006. V. 23. No. 2. P. 254–267. doi: 10.1093/molbev/msj030
27. Jombart T. ADEGENET: a R package for the multivariate analysis of genetic markers // Bioinformatics. 2008. V. 24. No. 11. P. 1403–1405. doi: 10.1093/bioinformatics/btn129
28. Wickham H. Ggplot2: Elegant graphics for data analysis. Springer-Verlag, 2009. 268 p. doi: 10.1007/978-3-319-24277-4
29. Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1973. V. 70. No. 12. P. 3321–3323.
30. Makeyeva V.M., Belokon M.M., Smurov A.V. Geno-urbanology as a basis for the conservation of biodiversity and ecosystems in the context of global urbanization // Uspekhi sovremennoy biologii. 2013. V. 133. No. 1. P. 19–34 (in Russian). doi: 10.1134/S207908641304004