

Болтунов А.Н.^{1,3}, Никифоров В.В.², Семенова В.С.³, Овсяников Н.Г.⁴, Илларионова Н.А.¹

Использование генетической идентификации для изучения белых медведей (*Ursus maritimus*) на северо-востоке России

1. Всероссийский научно-исследовательский институт охраны природы, Москва, Россия

2. WWF России, Москва, Россия

3. Совет по морским млекопитающим, Москва, Россия

4. Государственный природный заповедник «Остров Врангеля», Россия

Boltunov A.N.^{1,3}, Nikiforov V.V.², Semenova V.S.², Ovsianikov N.G.⁴, Illarionova N.A.¹

Genetic capture-recapture for polar bears (*Ursus maritimus*) study in the Russian northeast

1. All-Russian Research Institute for Nature Protection, Moscow, Russia

2. WWF Russia, Moscow, Russia

3. Marine Mammal Council, Moscow, Russia

4. Wrangel Island State Nature Reserve, Russia

Группа специалистов по белому медведю Международного Союза Охраны Природы выделяет на сегодняшний день 19 субпопуляций этого вида насчитывающего по экспертным оценкам 20000-25000 особей (Obbard et al. 2010). Степень изученности разных субпопуляций очень разная.

Объектом наших исследований является чукотско-аляскинская субпопуляция – одной из наименее изученных. Её ареал расположен в пределах двух стран – США и России. Между нашими странами заключено межправительственное Соглашение о сохранении и управлении этой общей субпопуляцией. Один из ключевых вопросов – пространственная структура субпопуляции. Фактический ареал чукотско-аляскинской субпопуляции очень динамичный, что обусловлено широким размахом сезонных изменений ледовых условий: в период максимума (весной) южная граница ледяного покрова расположена в Беринговом проливе, а в период минимума (начало осени) – уходит к приполюсным районам.

Чукотское море – очень кормное для белых медведей: многотысячные скопления моржей (*Odobenus rosmarus*) на береговых лежбищах, высокая численность кольчатой нерпы (*Phoca hispida*) и морского зайца (*Erignathus barbatus*), выбросы на берег различных китообразных – все это притягивает сюда медведей, когда позволяет ледовая обстановка. Но резкое сезонное отступление льда на север приводит фактически к временному разрыву субпопуляции, как минимум на 3 части на полгода:

1. Медведи, остающиеся на материковом берегу до следующего льдообразования;
2. Медведи, уходящие на север вместе с отступающим морским льдом;
3. Медведи, высаживающиеся на о. Врангеля.

IUCN Polar bear specialist group distinguishes 19 subpopulations of polar bears in the world numbering 20000-25000 (Obbard et al. 2010). Quality of knowledge about different subpopulations varies considerably.

We study the Chukchi-Alaska polar bear subpopulation – one of the less studied. Its range is under jurisdiction of two countries – U.S.A. and Russia. There is the Agreement between the Government of the United States of America and the Government of the Russian Federation on the conservation and management of this subpopulation. One of the key questions is spatial structure of the subpopulation. In fact the range is very dynamic because of wide limits of seasonal changes of ice conditions in the region: in ice maximum season (spring) southern edge of sea ice cover is in the Bering strait, while in ice minimum season (autumn) it retreats to the near North Pole area.

The Chukchi Sea is very rich feeding habitat for polar bears: pacific walrus (*Odobenus rosmarus*) crowds of many thousands on coastal haulouts, high density of ringed (*Phoca hispida*) and bearded seals (*Erignathus barbatus*), stranded cetaceans – all of these constitute strong attraction for polar bears when ice cover is favorable. However rapid seasonal retreat of ice to the north leads to actual disintegration of the subpopulation to at least three parts for a half year:

1. Polar bears that stay on the mainland coast until the next ice formation;
2. Polar bears retreating northward with ice edge;
3. Polar bears landing on Wrangel Island.

В связи с этим возникают практические вопросы: существует ли какое-то разделение на береговых и пелагических медведей; не «подсасывает ли» кормное Чукотское море медведей их соседних популяций? Гон у медведей происходит весной – то есть в период максимального развития ледяного покрова. Если в это время в Чукотском море пересекаются медведи из разных субпопуляций из соседних районов, то меры по управлению так называемой Чукотско-Аляскинской субпопуляцией должны учитывать этот факт.

Чтобы ответить хотя бы на часть этих вопросов в 2010 г. был начат совместный проект Службы Рыбы и Дичи США и Совета по морским млекопитающим (F10AC00742). Цель проекта – использовать широко собираемые неинвазивным методом образцы от белых медведей для изучения популяционной структуры чукотско-аляскинской субпопуляции вида с использованием генетической идентификации животных. В основу проекта лег положительный результат пилотных исследований, проведенных совместно Советом по морским млекопитающим и Биофорск институтом сельскохозяйственных и экологических исследований (Норвегия) (Болтунов и др. 2010): было показано, что из экскрементов белых медведей может быть выделена ДНК для последующего анализа.

В работах в рамках договора между СММ и USFWS также приняли участие Всероссийский научно-исследовательский институт охраны природы (ВНИИ-природы) и заповедник «Остров Врангеля». Первостепенной задачей проекта является неинвазивный сбор биологических образцов от белых медведей (экскременты, сброшенный остовый волос), а также образцов от погибших животных. Полученные образцы предполагается использовать для определения половой структуры популяции и для применения генетического аналога метода «capture-recapture».

Нами был организован сбор образцов на местах с привлечением местных жителей прибрежных сел Чукотки, сотрудников полярных станций, инспекторов охраны природы и сотрудников заповедника «Остров Врангеля». Так же материал собирали в ходе собственных полевых работ Совета по морским млекопитающим и ВНИИприроды.

Район исследования включает в себя побережье Чукотки, о. Врангеля и восточную часть Якутского арктического побережья (Рис.). В нем выделяются 5 участков сбора образцов:

1. Колымский залив (восточная часть арктического побережья Якутии и Медвежьих островов);
2. Западная Чукотка;
3. Центральная Чукотка;
4. Восточная Чукотка;

Because of this absolutely practical questions are raised: is there separation between “coastal” and “pelagic” bears; does the plentiful Chukchi Sea drain polar bears from adjacent subpopulations? Polar bear mating occurs in spring – the maximum ice extent season. If in this season the Chukchi Sea hosts polar bears from different subpopulations the management of so-called Chukchi-Alaska polar bear subpopulation has to consider this.

To answer the above questions cooperative project of the Marine Mammal Council and the U.S. Fish and Wildlife Service (F10AC00742) has been initiated in 2010. The primary goal of the project is to use broadly collected noninvasive samples from polar bears to understand spatial distribution patterns. The idea of the project is based on positive results of the pilot studies performed by Marine Mammal Council and Bioforsk Norwegian Institute for Agricultural and Environmental Research (Svanhovd, Norway) (Boltunov et al. 2010): it was proved that DNA can be isolated from polar bear feces, and the matrix can be used to identify animals.

All-Russian Research Institute for Nature Protection (Moscow, Russia) and Strict Nature Reserve “Wrangel Island” also joined the cooperative studies under agreement between the MMC and U.S. FWS. Initial task of the project is to collect biological samples from polar bears by noninvasive methods (feces, dropped hair), and from found died bears. Obtained samples can presumably provide materials for genetic «capture-recapture» approach and for understanding sex composition of the subpopulation.

We have arranged collection of the samples involving people from coastal settlements, staff of polar weather stations, inspections of nature protection service and the “Wrangel Island” State Nature Reserve. The samples were also collected by members of field expeditions organized by Marine Mammal Council and All-Russian Research Institute for Nature Protection.

The study area includes Arctic coast of Chukotka, Wrangel Island and eastern part of the Yakutia Arctic coast (fig.). Five primary sampling areas can be distinguished:

1. Kolyma Bay (eastern part of the Yakutia Arctic coast and the Bear Islands);
2. Western Chukotka;
3. Central Chukotka;
4. Eastern Chukotka;

5. О. Врангеля.

| 5. Wrangel Island.

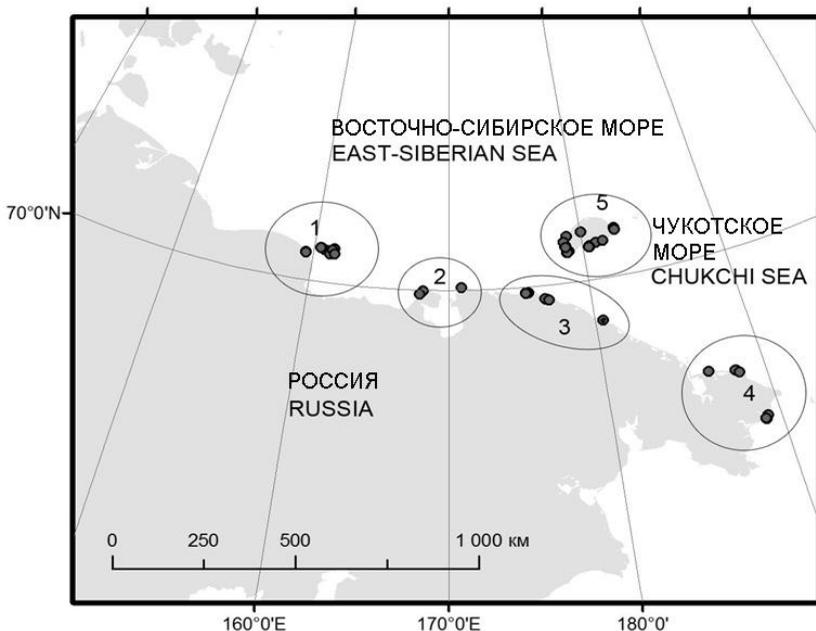


Рис. Район исследования. Обозначения приведены в тексте.

Fig. Study area. Legend is explained in the text.

За период с 2009 по 2012 гг. в рассматриваемом районе собран более 150 образцов.

During 2009-2012 total over 150 samples were collected.

Преимуществом использования экскрементов является возможность получения материала с обширных территорий практически круглогодично. Однако при всей своей привлекательности (доступность, отсутствие необходимости получения разрешения на сбор и транспортировку) у этого материала есть и определенные минусы. Прежде всего, достаточно непростые условия для хранения и последующей пересылки в Москву для лабораторных исследований. Логистика на Российском севере такова, что уберечь такой материал от потери качества довольно не просто.

Main advantages of using feces are that they can be collected on vast territories year-round; no special permits are required for sampling and transportation. However some disadvantages are also present. First of all this samples requires certain conditions for storage and transportation them to Moscow for further laboratory processing. Under present day logistic conditions on the Russian North it is quite problematic to preserve the samples quality.

Сброшенные остевые волосы (имеющие волосяную луковицу, содержащую необходимый генетический материал) значительно проще хранить и транспортировать. Главное их содержать в сухих условиях. По сравнению с экскрементами, у сбора шерсти существуют два слабых момента: значительно меньшая доступность по побережью и необходимость получения разрешения CITES для вывоза за границу в случае необходимости обмена образцами с коллегами. Мы применяем два способа сбора таких образцов:

Dropped top hairs (with a hair bulb containing DNA) are much easier for storage and transportation: they have to be stored in dry conditions. Comparing to feces, the hair samples have two main disadvantages: considerably lower availability and necessity to receive CITES permits for abroad transportation in case of joint studies with colleagues from other countries. We practice two primary approaches for collecting such samples:

1. Поиск шерсти, сброшенной естественным образом. Например, на лежаках на берегу, на столбах, стенах прибрежных построек, бочках и т.п.

1. Searching for hairs dropped by bears naturally. For instance on bear beds on the coast, on posts, walls of constructions on the coast, barrels, etc.

2. На специальных волосяных ловушках (hair traps). Они представляют собой ограждение из колючей проволоки вокруг останков крупных морских млекопитающих (кит или морж). Медведь может без труда перешагнуть через

2. Installing special hair traps. These are barbed wire fence around remains of large marine mammals (whales or walruses). A polar bear can easily overstep the fence but it leaves he samples

ограждение, но при этом на проволоке остаются остевые волосы.

Лабораторная обработка образца заключается в подготовке его для выделения ДНК и анализа. Выделение ДНК из помета проводится с помощью Stool DNA Isolation Spin-Kit. Из шерсти ДНК выделяли методом фенол-хлороформной экстракции. Нами оптимизированы условия проведения анализа (в частности подобрана оптимальная температура отжига).

На сегодняшний день проанализированы 35 образцов экскрементов, 45 образцов шерсти, 1 другой образец. В 47 случаях определен пол животного: 22 самца и 25 самок. Таким образом получается практически равное соотношение полов в выборке. Просиквенирован участок д-петли для 36 образцов. Один самец идентифицирован дважды. Факт повторной идентификации подтверждает возможность использования неинвазивного биологического материала для генетического capture-recapture белых медведей.

on the barbed wire.

Laboratory processing is preparation of the samples for DNA isolation and further analysis. We use Stool DNA Isolation Spin-Kit to get DNA from the feces. Phenol-chloroform extraction was used to isolate DNA from hair samples. We have optimized analysis conditions (in particular annealing temperature regime was picked-up; hybridization temperature was reduced).

By present time we analyzed 35 feces samples, 45 hair samples and 1 "other" sample. For 47 samples sex is determined: 22 males and 25 females. Thus there is almost equal sex ratio. D-loop area is sequenced in 36 samples. It is found that two samples collected in different places belong to one polar bear male. This fact supports feasibility of using noninvasive samples for genetic capture-recapture of polar bears.

Список использованных источников / References

- Болтунов А.Н., Илларионова Н.А., Аарнес С.Г., Вартиайнен И., Никифоров В.В. 2010. Перспективы использования генетического материала, собранного неинвазивными методами, в оценке структуры популяций белого медведя (*Ursus maritimus*). Стр. 78-81 в Морские млекопитающие Голарктики. Сборник научных трудов. Калининград [Boltunov A.N., Illarionova N.A., Aarnes S.G., Warttainen I., Nikiforov V.V. 2010. Prospects of using genetic samples, collected by noninvasive methods, for investigation of polar bear population structure. Pp. 78-81 in Marine mammals of the Holarctic. Collection of scientific papers. Kaliningrad]
- Obbard M., Thiemann G.W., Peacock E., DeBruyn T. (eds.) 2010. Polar bears: Proceedings of the 15th Working Meeting of the IUCN/SSC Polar Bear Specialist Group, 29 June-3 July 2009, Copenhagen, Denmark. Gland, Switzerland and Cambridge, UK: IUCN. vii + 235 pp.