

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ
БЛАГОРОДНОГО ОЛЕНЯ (*Cervus elaphus*, Cervidae) ВОСТОЧНОЙ
ЕВРОПЫ**

**Кузнецова М.В.¹, Волох А.М.², Домнич В.И.³, Тышкевич В.Е.⁴,
Данилкин А.А.¹**

¹ *Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН, г. Москва, e-mail: molecol@sevin.ru.*

² *Таврическая государственная агротехническая академия, г. Мелитополь.*

³ *Запорожский государственный университет, г. Запорожье.*

⁴ *Институт зоологии НАН РБ, г. Минск.*

Молекулярно-генетическое исследование благородного оленя, *Cervus elaphus* (Cervidae) Восточной Европы. Кузнецова М.В., Волох А.М.², Домнич В.И.³, Тышкевич В.Е., Данилкин А.А. – Изучен генетический полиморфизм нуклеотидной последовательности фрагмента митохондриального гена цитохрома b. (410 н. п.) выборки образцов благородного оленя (36 экземпляров) с территории Украины, Республики Беларусь и России. В анализ также включены 30 последовательностей из международной базы данных GenBank. Выявлено 29 уникальных гаплотипов, 16 из которых входят в «европейскую кладу». Обнаружено, что часть образцов с Украины содержит мтДНК «алтайского» типа, полученную в результате гибридизации европейских и азиатских оленей. Проведенные молекулярно-генетические исследования позволяют также усомниться в правомерности выделения карпатского (*C. e. montanus*), крымского (*C. e. brauneri*) и кавказского (*C. e. maral*) подвидов благородного оленя.

Ключевые слова: *Cervus elaphus*, филогения, cytochrome b.

Введение

Благородный олень (*Cervus elaphus*) – наиболее многочисленный и широко распространенный представитель рода *Cervus*. На протяжении обширного ареала этого вида систематики выделяют более 60 рас, в Европе – до 11. В последнее время в Западной Европе чаще признают лишь наличие одного подвида – *C. e. elaphus*, а в Восточной Европе – карпатского (*C. e.*

montanus), крымского (*C. e. brauneri*) и кавказского (*C. e. maral*) оленей (Гептнер, Цалкин, 1947; Ellerman, Morrison-Scott, 1951; Lowe, Gardiner, 1974; Grubb, 1990; Grubb, Gardner, 1998; Данилкин, 1999; Groves, 2006). Карпатского оленя, однако, нередко относят к номинативному подвиду *C. e. elaphus*. Происхождение крымского оленя неясно (Гептнер, Цалкин, 1947; Бибикина, 1975), а его подвидовой статус сомнителен. Кавказский олень отличается от европейских сородичей крупными размерами тела и черепа, и по этим параметрам он близок к представителям азиатской (мараловой) группы, из которых на территории России известны два подвида: марал (*C. e. sibiricus*) и изюбрь (*C. e. xanthopygus*).

В XX ст. в охотничьи угодья Восточной Европы интродуцировали более 4 тыс. особей европейского оленя разных рас и около 800 маралов (Данилкин, 1999). На Украину в природу выпущен также гибридный асканийский олень, для формирования которого использованы 12 особей марала, 5 – европейского оленя, самец и самка крымского, два самца изюбра, а также самец и самка североамериканского вапити. Не исключено, что в образовании этого сложного гибрида мог участвовать и пятнистый олень (Аверин, 1923; Карцев, 1928; Салганский и др., 1963; Салганский, 1967; Треус, 1968).

Генофонд благородного оленя, обитающего на территории бывшего СССР, практически не изучен, неясны и генетические последствия интродукции и реинтродукции разных форм вида в Восточной Европе, что и стало целью нашей работы.

Материалы и методы

В 2000–2006 гг. нами собраны 36 образцов тканей благородного оленя на территории России ($n = 23$), Украины ($n = 11$) и Республики Беларусь ($n = 2$). Выделение ДНК проводили с помощью набора реактивов Diatom® DNA Prep («Изоген», Россия). Для

полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовали специфические для митохондриального гена цитохром b праймеры: GLU и CB2 (Kocher et al., 1989), что позволяло получить продукт реакции длиной около 600 н.п. Режим амплификации: 94°C – 3 мин; 94°C – 30 сек; 62°C – 30 сек; 72°C – 60 сек (35 циклов); достройка 72°C – 6 мин. Очистку продуктов ПЦР-реакции осуществляли смесью раствора уксуснокислого аммония и этилового спирта с последующей промывкой 70% раствором охлажденного этилового спирта. Определение первичных нуклеотидных последовательностей фрагментов ДНК проводили с помощью набора реактивов ABI PRISM® BigDye™ Terminator v. 3.1 (США) с последующим анализом продуктов реакции на автоматическом секвенаторе ДНК ABI PRISM 3100-Avant. Полученные последовательности были выровнены с помощью программы BioEdit (Hall, 1999), и далее – вручную. Общая длина полученного фрагмента митохондриального гена цитохром b составила 410 н.п. В выравнивание включены также последовательности, опубликованные другими авторами (Ludt et al., 2004). Общее число проанализированных последовательностей – 65. В качестве внешней группы выбрана последовательность европейской лани (*Dama dama*).

Статистическую обработку полученных результатов (оценку гаплотипического и нуклеотидного разнообразия) проводили с помощью программы MEGA2. Для построения филогенетического дерева использовали программу Metapiga (Lemmon, Milinkovitch, 2002), реконструирующую филогенетические отношения по методу максимального правдоподобия (maximum likelihood, ML). Медианная сеть расстояний между гаплотипами построена в программе Network 4.111 (Fluxus Technology Ltg., 2005).

Результаты и обсуждение

Нуклеотидная изменчивость исследованной выборки благородного оленя оказалась в целом весьма высокой (3,6%), по сравнению с другими видами оленьих: 0,2–1,1% у *Capreolus capreolus* (Wiehler, 1998); 1,4–2,5% у *Cervus nippon* (Randi et al., 1998) и 2,3 % у *Rangifer tarandus* (Cronin et al., 2006).

На полученном филогенетическом дереве (рис. 1) обособлены два больших кластера – «европейский» и «азиатский». В первый входят все

европейские олени, включая кавказских, а также некоторые асканийские гибридные олени с о-ва Бирючий и Обиточной косы (Азовское море). Базальное положение в этом кластере занимают образцы из Таджикистана (*C. e. bactrianus*) и с северо-запада Китая, что позволяет предположить генетическую близость бухарского оленя к европейской группе. Обособленное место занял и один экземпляр из Северной Осетии. Остальные образцы распределены по четырём кладам, причем три из них объединились вместе. Самая крупная клада включает особей из Испании, Франции, Германии, Польши, Республики Беларусь, Калининградской области России, Норвегии, Туниса (сюда благородные олени завезены из Южной Европы), а также 3 особи из Крыма. В другие клады вошли олени из Болгарии, Румынии, Австрии, Венгрии, Турции и горных районов Украины (Крым и Карпаты), из юга России (Белгородская область, Краснодарский край и Дагестан), а также асканийские гибридные особи и экземпляры с Северного Кавказа (Карачаево-Черкессия и Северная Осетия).

Особо отметим, что ни крымские, ни карпатские, ни кавказские олени не образовали на филогенетическом древе обособленные группы, что подтвердило бы их подвидовой статус.

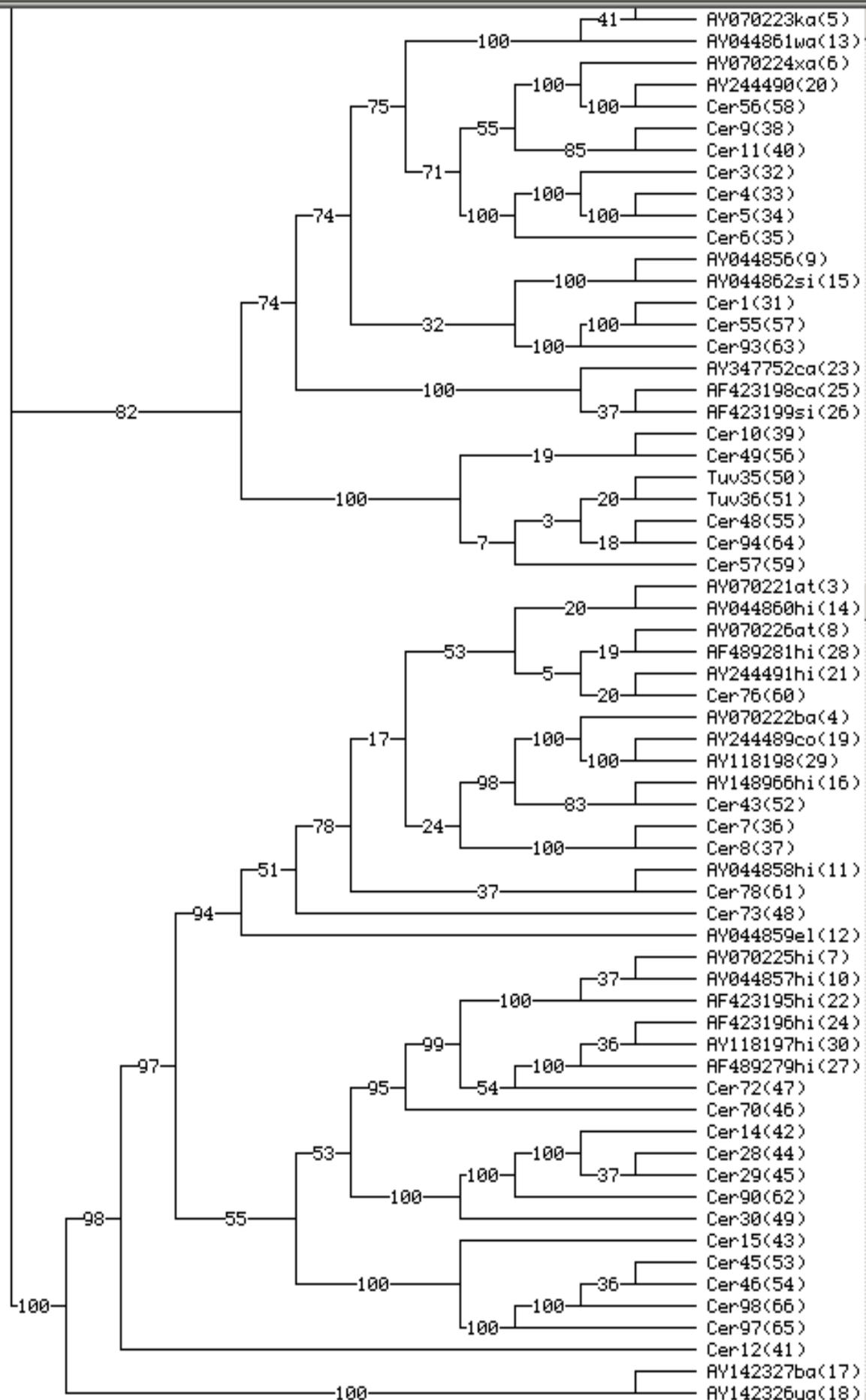
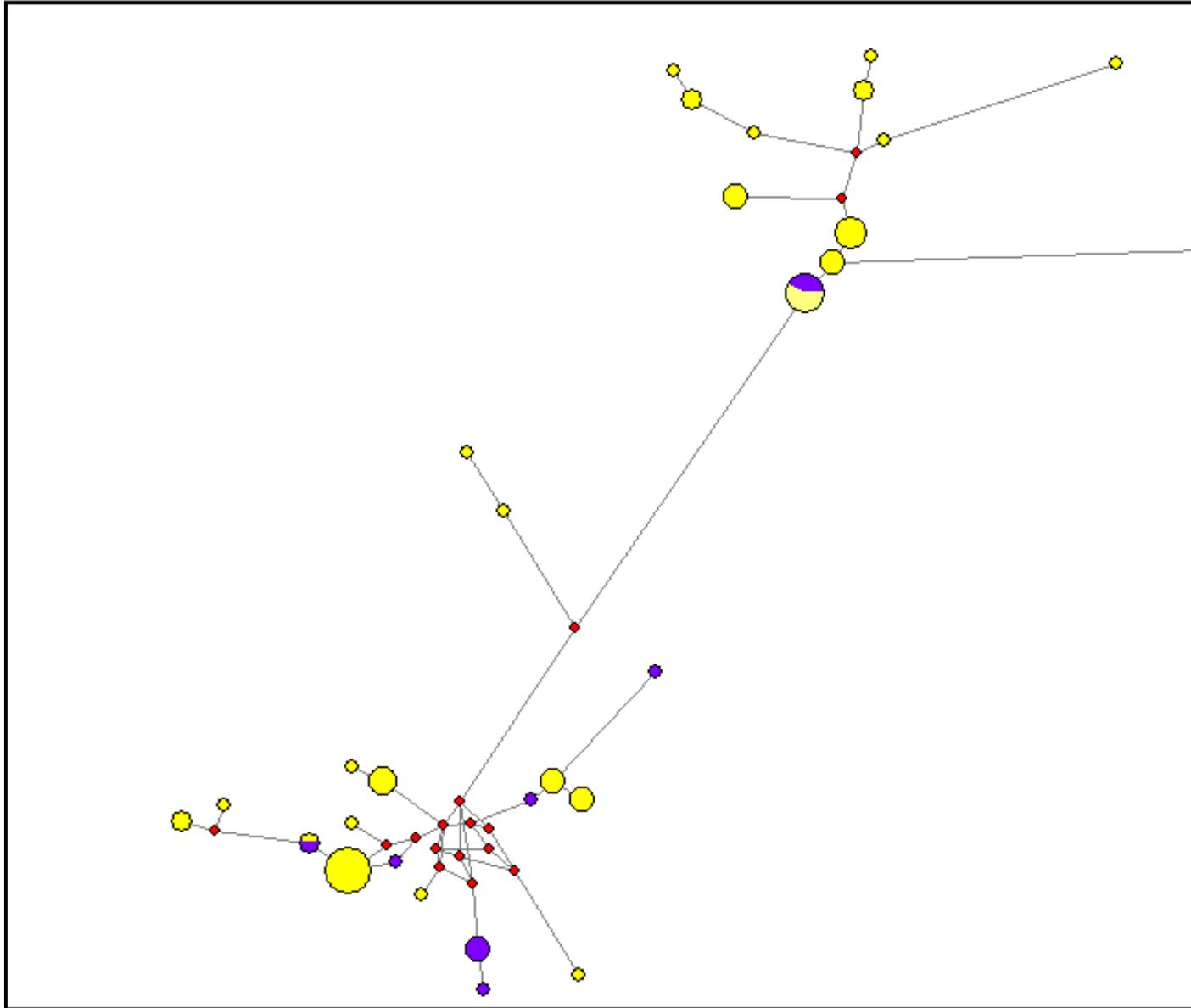


Рис. 1 . Филогенетическое древо построенное программой MetaPiga по алгоритму максимального правдоподобия (maximum likelihood). Возле каждого узла даны показатели его поддержки – коэффициенты апостериорной вероятности.

Draw Network

File Exit



Zoom

+

-

Navigation

Up

Left Down Right

Screen shift interval (pixels)

30

Пуск | | 2 Проводник | Ukraina3.doc - Мис... | {D:\masha\CERVI...

Второй кластер образован преимущественно азиатскими оленями. Внутри него обособлены группы «изюбрей» (образцы из Иркутской области, Красноярского и Хабаровского краев, Амурской области и Китая) и «маралов» (образцы из Алтая, Тувы и 3 асканийских гибридных оленя). Олени Северной Америки и Монголии занимают промежуточное положение.

У *Cervus elaphus* нами выявлено 29 уникальных гаплотипов (вариантов последовательностей). Наиболее часто встречающимися (15%) среди исследованной выборки (65 образцов) оказались гаплотипы, входящие в «восточноевропейскую» кладу (16), 11 гаплотипов объединились в «азиатскую кладу», и два (Таджикистан и северо-западный Китай) заняли промежуточное положение более близкое к «европейской» группе. Образцы, собранные на территории Украины (на схеме выделены как темные сектора), на схеме занимают диаметрально противоположные позиции, что подтверждает наличие мтДНК «алтайского типа» в некоторых местных популяциях *Cervus elaphus*. И это не случайно, поскольку расселение благородного оленя здесь проводилось бессистемно (Павлов и др., 1974).

Проведенные нами молекулярно-генетические исследования позволяют усомниться в правомерности выделения карпатского (*C. e. montanus*), крымского (*C. e. brauneri*) и кавказского (*C. e. maral*) подвидов благородного оленя. С большой долей уверенности можно полагать также, что, по мере расселения асканийских гибридных особей и завезенных в Восточную Европу алтайских маралов, митохондриальная ДНК «алтайского» типа будет распространяться в популяциях европейского благородного оленя.

Благодарности

Авторы благодарят всех коллег: зоологов, охотоведов, егерей и охотников, принимавших участие в сборе образцов тканей благородного

оленья и обработке материала.

ЛИТЕРАТУРА

Аверин В. Г. Аскания-Нова // Охота и рыболовство. – 1923. – № 5-6. – С. 31-53.

Бибикова В.И. О смене некоторых компонентов фауны копытных на Украине в голоцене // Бюлл. МОИП. Отд. биол. – 1975. – Т. 80. – Вып. 6. – С. 67-72.

Гептнер В.Г., Цалкин В.И. Олени СССР (систематика и зоогеография). - М.: Изд-во Моск. о-ва испыт. природы. 1947. - 176 с.

Данилкин А.А. Млекопитающие России и сопредельных регионов. Олени. М.: ГЕОС. 1999. – 552 с.

Карцев Г.П. Очерки по разведению и содержанию крупной дичи // Украинський мисливець та рибалка, 1928. – №11-12. – С. 21-24.

Павлов М.П., Корсакова И.Б., Лавров Н.П. Акклиматизация охотничье-промысловых зверей и птиц в СССР. – Киров: Волго-Вятское книж. изд-во, 1974. – Ч. 2. – 460 с.

Салганский А.А. Одомашнивание копытных в СССР: Автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук. Киев. 1967. - 48 с.

Треус В.Д. Акклиматизация и гибридизация животных в Аскания-Нова. – К.: Урожай, 1968. – 316 с.

Cronin M.A, Macneil M.D, Patton J.C. Mitochondrial DNA and microsatellite DNA variation in domestic reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) and relationships with wild caribou (*Rangifer tarandus granti*, *Rangifer tarandus groenlandicus*, and *Rangifer tarandus caribou*). J Hered. 2006 Sep-Oct;97(5):525-30. Epub 2006 Jul 12

Ellerman J.R., Morrison-Scot T.C.S. 1951. Checklist of Palaearctic and Indian mammals 1758 to British Museum (Nat. Hist.). - L. 1946. - 810 p.

Groves C. The genus *Cervus* in eastern Eurasia // Eur. J. Wildl. Res. - 2006. - V. 52. - P. 14–22.

Grubb P. List of deer species and subspecies // Species survival commission. Deer specialist group newsletter. № 8. Appendix. - 1990.

Grubb P., Gardner A.L. List of species and subspecies of the families Tragulidae, Moschidae, and Cervidae // Deer Status Survey and Conservation Action Plan. IUCN/SSC Deer specialist group. Oxford: Inform. Press. - 1998. - p. 6–16.

Kocher TD, Thomas WK, Meyer A, Edwards SV, Paabo S, Villablanca FX, Wilson AC. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. // Proc Natl Acad Sci U S A. - 1989 V.86(16). – p. 6196-200.

Lemon A. R., Milinkovitch M. C. The metapopulation genetic algorithm: an efficient solution for the problem of large phylogeny estimation // PNAS. - 2002 - V. 99. – p. 10516-10521

Ludt C.J, Schroeder W., Rottmann O., Kuehn R. Mitochondrial DNA phylogeography of red deer (*Cervus elaphus*). // Mol Phylogenet Evol. - 2004. - V.31. - p.1064-83.

Mahmut H, Masuda R, Onuma M, Takahashi M, Nagata J, Suzuki M, Ohtaishi N. Molecular phylogeography of the red deer (*Cervus elaphus*) populations in Xinjiang of China: comparison with other Asian, European, and

North American populations. // Zoolog Sci. - 2002. - V.19. - p.485-95.

Mahmut H, Masuda R, Onuma M, Takahashi M, Nagata J, Suzuki M, Ohtaishi N. Molecular phylogeography of the red deer (*Cervus elaphus*) populations in Xinjiang of China: comparison with other Asian, European, and North American populations. // Zoolog Sci. 2002 V. 19. - №4. – p. 485-95.

Randi E, Pierpaoli M, Danilkin A. Mitochondrial DNA polymorphism in populations of Siberian and European roe deer (*Capreolus pygargus* and *C. capreolus*) // Heredity. 1998 V. 80. - №4. – p. 429-37.

Wiehler J., Tiedemann R. Phylogeography of the European roe deer *Capreolus capreolus* as revealed by sequence analysis of the mitochondrial control region *Acta theriol Suppl.* - 1998. - V.5 - p.187-197.