

УДК 551.464.4:551.464.7

О СИБИРСКОЙ КОСУЛЕ *Capreolus pygargus* Pallas, 1771 НА УКРАИНЕ: АНАЛИЗ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ И ЯДЕРНОЙ ДНК

© 2017 г. А. А. Данилкин^{*@}, Д. А. Плахина^{*}, Е. Ю. Звычайная^{*}, А. В. Домнич^{**},
М. В. Холодова^{*}, П. А. Сорокин^{*}, А. М. Волох^{***}

^{*}Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, 119071 Москва, Ленинский просп., 33

^{**}Запорожский государственный университет, 69000 Украина, Запорожье, ул. Жуковского, 66

^{***}Таврический государственный агротехнологический университет,

72312 Украина, Мелитополь, просп. Б. Хмельницкого, 18

[@]E-mail: ldan@mail.ru

Поступила в редакцию 16.05.2016 г.

Проведен молекулярно-генетический анализ нуклеотидных последовательностей гена цитохрома *b* (1140 пар нуклеотидов) митохондриальной (мт) ДНК и 17 микросателлитных локусов восьми образцов мышечной ткани косуль из Самарского леса Днепропетровской обл. Украины. Для сравнения в исследование включены 212 соответствующих последовательностей мтДНК сибирской и европейской косуль и данные по изменчивости микросателлитных маркеров у 49 представителей этих видов. Отмечено, что все проанализированные митохондриальные последовательности особей из Самарского леса характерны для сибирской косулы *Capreolus pygargus* Pallas, 1771. Описаны четыре гаплотипа, причем все они относятся к гаплогруппе, типичной для западной части ареала *C. pygargus*. Фрагментный анализ микросателлитных локусов ядерной ДНК подтвердил принадлежность исследованной группировки к сибирскому виду.

DOI: 10.7868/S0002332917060030

Есть ли сибирская косула *Capreolus pygargus* на Украине? Этот вопрос давно интересует зоологов и охотоведов и особенно обострился в последние годы в связи с дискуссией о таксономии рода *Capreolus*, видообразовании и границах исторических ареалов европейской *C. capreolus* L. и сибирской косуль.

Ископаемые остатки косуль на Украине и юго-западе России известны из раннечетвертичных отложений, но особенно обильны они в голоценовых слоях (Громов, 1948; Підопличко, 1956; Бибилова, 1963, 1975; Татаринцев, 1970; Тимченко, 1972 и др.). Начиная с плейстоцена отчетливо прослеживается существование *C. capreolus* и *C. pygargus*. Остатки мелкой европейской косулы обычны во многих археологических памятниках Западной и Центральной Европы, крупной сибирской – в Азии и на Востоке Европы (Короткевич, Данилкин, 1992; Данилкин, 1992а, 1999, 2014). Остатки сибирской косулы, датированные в основном последними веками до н.э. – началом II тысячелетия н.э., обнаружены во многих городищах на верхней Волге, в бассейне Оки, в Московской, Орловской, Курской и Воронежской областях,

в низовьях Дона в городище Саркел, в среднем Поднепровье, в археологических памятниках Полтавской и Харьковской областей и в слоях торфа вблизи ст. Заворичи Киевской обл. (Горбачев, 1915; Громова, 1948; Корнеев, 1952; Цалкин, 1956, 1961, 1963; Верещагин, 1959; Тимченко, 1972).

На Украине в голоцене ареалы европейской и сибирской косуль, очевидно, соприкасались и накладывались один на другой. В этот период отдельные особи или группы сибирской косулы, скорее всего, достигали Центральной Европы. Здесь, как и на Украине, могла происходить гибридизация, вследствие которой в популяциях европейской косулы иногда появлялись крупные особи с рогами «сибирского типа» (Cotta, 1969; Lehmann, 1976).

В XIX–начале XX в. косулы были почти уничтожены человеком на территории Восточной Европы (Гептнер и др., 1961; Кириков, 1966; Данилкин, 1992а, 1999, 2014). На огромном пространстве от Днепра до Урала уцелело лишь несколько небольших очагов, включая Черный лес в Кировоградской обл. и Самарский лес в Днепропетровской обл., где, возможно, сохранилась сибирская косула (Браунер, 1915, 1923, 1928; Мигулін, 1927, 1929;

Шарлемань, 1937). Известный зоолог Браунер (1915, с. 111) сообщал следующее: «Рассматривая ряд черепов и рогов козули из губерний Подольской, Бессарабской, Херсонской, Екатеринославской и гор Крыма, можно заметить, что козули Новомосковского, Александровского и Павлоградского уездов Екатеринославской губ. принадлежат к виду сибирской козы (*Capreolus pygargus* Pall.), в остальных местностях юга России и в Крыму — к европейскому виду (*Capreolus capreolus* L.)». Приводимые им размеры черепов и рогов не оставляют сомнений в правильности этого вывода.

Некоторые специалисты считали сибирскую козулю в этих очагах ледниковым реликтом или же сибирским или кавказским интродуцентом (Мигулин, 1927, 1929; Шарлемань, 1937; Корнеев, 1952). Гептнер (1961, с. 201) писал, однако, что этот «вопрос требует специального исследования, также и систематического, однако, в высшей степени сомнительно, чтобы в указанных местах жила настоящая сибирская козуля». Крыжановский (1965) и Карпенко (1977) полагали, что леса Правобережной Украины и Самарский лес населяет европейский вид, поскольку морфометрические показатели исследованных особей не выходят за видовые пределы.

Специальные морфометрические, кариологические и биохимические исследования (Соколов, Данилкин, 1981; Соколов и др., 1986; Данилкин, 1992б) показали, что четыре козули, добытые на правобережье Днепра в Кировоградской обл., — европейские. На левом берегу Днепра в популяции козуль Самарского леса из девяти изученных особей две не имели добавочных хромосом (микрохромосом), что позволяет считать их европейскими, три содержали по одной, а четыре особи — по две В-хромосомы, т.е. несли признаки сибирской козули. Однако последние по биохимическим показателям, окраске, размерам и массе тела, размерам черепа, а самцы и по размерам и строению рогов не отличались заметно от европейских козуль, добытых на Украине. Было выдвинуто предположение, что группировка Самарского леса смешанная.

Волох (2007) считал, однако, что существование «микроизолята» сибирской козули «внутри ареала европейского вида даже теоретически представляется невозможным. Поэтому неудивительно, что наши исследования в Днепропетровской обл. (2001–2003 гг.) показали полное отсутствие сибирской козули во всех ее административных районах».

Цель работы — решить возникшую филогенетическую, таксономическую и в значительной мере охотоведческую проблемы с использованием молекулярно-генетических методов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведен молекулярно-генетический анализ восьми заспиртованных образцов мышечной ткани козуль, населявших Самарский лес Днепропетровской обл. Украины. В качестве митохондриального маркера использован ген цитохрома *b*. Получены полные нуклеотидные последовательности (н.п.) этого гена (1140). Для сравнения в анализ включено 212 соответствующих нуклеотидных последовательностей митохондриальной (мт) ДНК сибирской и европейской козуль из коллекции ИПЭЭ РАН (табл. 1). В качестве ядерных маркеров использовано 17 микросателлитных локусов (RT1, RT5, BM4513, RT27, RT9short, BM6506, NVHRT30, BMS1788, RT6, OheQ, BL42, NVHRT16, BMC745, Roe09, Roe01, RT24, IDVGA8) (Buchanan, Crawford, 1993; Bishop *et al.*, 1994; Moore *et al.*, 1994; Stone *et al.*, 1995; Kappes *et al.*, 1997; Wilson *et al.*, 1997; Roed, Midthjell, 1998; Jobin *et al.*, 2008). Для сравнения микросателлитных локусов ядерной ДНК проанализировано 49 образцов сибирской и европейской козуль: из Самарской области (29) и Алтайского края (8) России и 12 образцов из Черновицкой, Одесской и Тернопольской областей Западной и Юго-Западной Украины.

ДНК была выделена с использованием наборов Diatom DNA Prep 200 (Изоген, Москва) и Invitex (Германия) с помощью автоматической системы Kingfisher Flex (Thermo Fisher Scientific, США). Амплификацию проводили в 10 мкл с использованием (ПЦР) 5x MasterMix (Диалат, Россия) с добавлением полимеразы SmartTAQ (Диалат, Россия) с концентрация 2.5 ед./мкл по 0.1 мкл на 1 пробу, 1 мкл полученного раствора ДНК, по 1 мкл прямого и обратного праймеров (5 пмоль/мкл). Для амплификации гена цитохрома *b* использовали праймеры Cytb-ung-F (5'-GAAAAACCATCGTTGTATTC-3') и Cytb-ung-R (5'-TTTTCTGGTTTACAAGACCAGT RT-3'). Реакцию проводили в следующем режиме: 94°C — 3 мин (1 цикл); 94°C — 30 с, 62°C — 30 с, 72°C — 2 мин (35 циклов); 72°C — 6 мин (1 цикл). Продукт амплификации очищали методом осаждения раствором этилового спирта с добавлением 3М ацетата натрия. ПЦР с микросателлитными праймерами проводили при следующем режиме: 95°C — 2 мин 15 с; 60°C — 15 с (для праймеров BM6438 и BM203 — 57°C); 72°C — 1 мин; 60°C — 15 с (30 циклов) (для праймеров BM6438 и BM203 — 57°C и 35 циклов); 72°C — 5 мин (1 цикл); 15°C — 3 мин 30 с. Кроме того, проводили три мультислокусных ПЦР (первая — OheQ, BL42, NVHRT16, BMC745; вторая — RT24, BM6506, NVHRT30, BMS1788, RT6; третья — RT1, RT5, BM4513, RT27, RT9short) (Buchanan, Crawford, 1993; Bishop *et al.*, 1994; Moore *et al.*, 1994; Kappes *et al.*, 1997; Wilson *et al.*, 1997; Roed, Midthjell, 1998; Jobin *et al.*, 2008).

Таблица 1. Список образцов *Capreolus pygargus* и *C. capreolus*, включенных в анализ

Места сбора образцов	Номера образцов в коллекции ИПЭЭ РАН, видовая принадлежность	Исследуемые молекулярно-генетические маркеры	Источник информации, номера гаплотипов в GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)
Самарский лес, Днепропетровская обл., Украина*	3483–3486, 3509–3512, <i>C. pygargus</i>	Ген цитохрома <i>b</i> мтДНК, 17 микросателлитных локусов	Коллекция ИПЭЭ РАН, новые образцы
Алтайский край, Россия	1507–1514, <i>C. pygargus</i>	17 микросателлитных локусов	Плахина и др., 2014
Самарская обл., Россия	2506, 2507, 2509, 2511–2515, 2517–2527, 2757–2763, <i>C. pygargus</i>	То же	То же
Западная, Юго-Западная Украина	594–596, 786–792, 797, 798, <i>C. capreolus</i>	”	”
Казахстан, Россия: Оренбургская, Свердловская и Курганская области, Алтайский и Красноярский края, Тува, Хакасия, Иркутская обл., Бурятия, Якутия, Хабаровский и Приморский края	149, 150, 154, 161, 179, 300–303, 310–325, 327, 333, 334, 493, 494, 496, 497, 685, 692, 721–725, 754, 765, 767–783, 1072–1074, 1156, 1158–1163, 1165–1170, 1172–1176, 1374–1376, 1508–1516, 1554, 1915, 1916, 1200, 1201, <i>C. pygargus</i>	Ген цитохрома <i>b</i> мтДНК	Звычайная и др., 2011б
Краснодарский край, Крым	586–588, 802–804, 849, 851, 854–857, 858–863, 1234, 1237, 1243, 2396, <i>C. capreolus</i> , <i>C. pygargus</i>	То же	Холодова и др., 2009; Zvychaynaya <i>et al.</i> , 2013
Московская, Смоленская и Тульская области	1379, 1461–1465, 1472–1475, 1483–1485, 1487–1489, 1491–1495, 1497–1505, 1517–1523, 1525–1528, <i>C. capreolus</i> , <i>C. pygargus</i>	”	Коллекция ИПЭЭ РАН, новые образцы
Ставропольский край	1909–1914, <i>C. pygargus</i>	”	Звычайная и др., 2014
Самарская обл.	2504–2515, 2517–2520, 2522–2527, <i>C. pygargus</i>	”	Коллекция ИПЭЭ РАН, новые образцы
Западная, Юго-Западная Украина	589, 592–596, 600, 785–800, 831–835, <i>C. capreolus</i>	”	Zvychaynaya <i>et al.</i> , 2013

* По результатам данного исследования.

Мультиплексную реакцию ПЦР проводили с использованием 5x MasterMix (Диалат, Россия) при следующем режиме: 95°C – 15 мин (1 цикл); 94°C – 30 с; 57°C – 1 мин; 72°C – 1 мин 20 с (35 циклов); 60°C – 30 мин (1 цикл). ПЦР осуществляли с помощью амплификатора Tetrad 2 (Bio-Rad, США). Фрагментный анализ продукта амплификации выполняли на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 3130 (Applied Biosystems, США) с использованием размерного стандарта LIZ500 (Applied Biosystems). Результаты фрагментного анализа считывали с помощью программы GeneMapper 4.1 (Applied Biosystems) и обрабатывали, в том числе рассчитывали, показатели генетического разнообразия с помощью программ MS-tools (Park, 2001) и GenAlEx 6.4 (Peakall, Smouse, 2006) для Microsoft office Excel, а также программ Structure 2.3.4 (Pritchard *et al.*, 2000) и Arlequin 3.5.1.3 (Excoffier, Lischer, 2010).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изменчивость гена цитохрома *b* мтДНК косуль Самарского леса Днепропетровской обл. невелика. Всего обнаружено 10 мутаций (0.88%), из которых 5 (0.44%) – единичные для выборки из восьми образцов.

Все полученные последовательности были идентичны или очень близки к обнаруженным ранее (Звычайная и др., 2011а, б; Данилкин и др., 2012) фрагментам мтДНК сибирской косули (рис. 1). Найдено четыре гаплотипа, причем

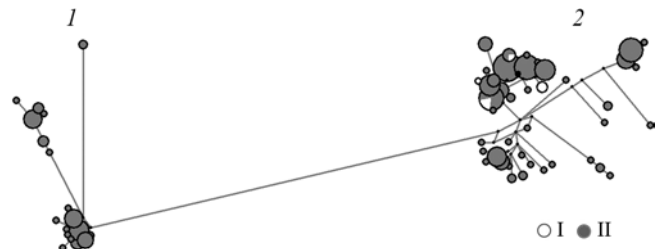


Рис. 1. Медианная сеть гаплотипов митохондриальной ДНК косуль, построенная в программе Network на основании филогенетического анализа 1140 нуклеотидных последовательностей гена цитохрома *b*. I и 2 – гаплогруппы *Capreolus capreolus* и *C. pygargus* соответственно. I – образцы Самарского леса, II – прочие образцы. Длина ветвей пропорциональна числу мутаций, размер узлов – числу образцов; для рис. 1 и 2.

все они относились к митохондриальной линии (рис. 1, 2), типичной для западной части ареала *C. pygargus*, а также распространенной в искусственно образованных восточно-европейских популяциях *Capreolus*. Гаплотип I был описан у семи образцов с Урала (Оренбургская, Свердловская и Курганская области), у трех – из Московской обл., у одного – из Алтайского края и у одного – из Казахстана. Гаплотип III был отмечен у трех образцов из Московской обл. Гаплотипы II и IV были уникальны: II был отделен одной заменой от последовательности гена, распространенной на Урале ($n = 9$) и зарегистрированной

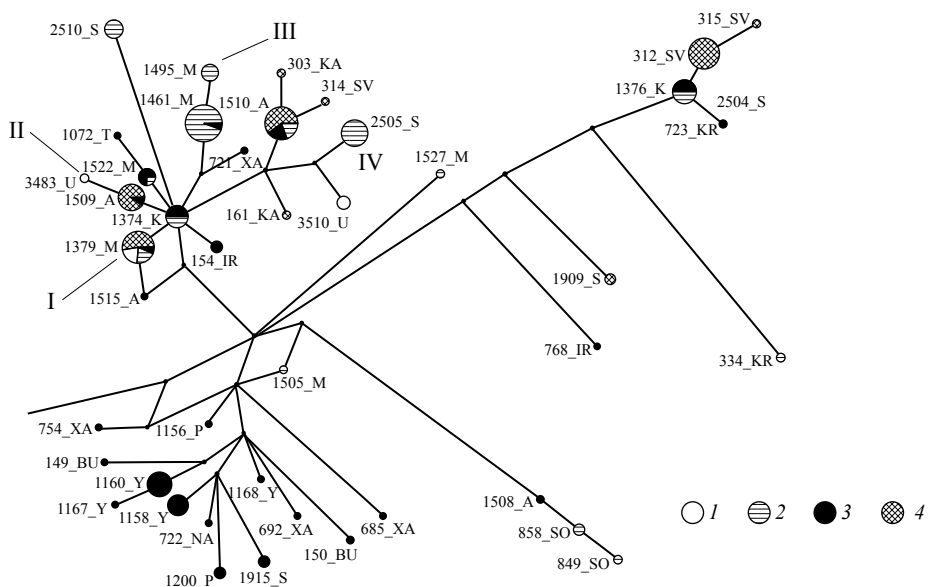


Рис. 2. Медианная сеть гаплотипов митохондриальной ДНК сибирской косули, ген цитохрома *b* (1140 пар нуклеотидов). I–IV – гаплотипы мтДНК образцов из Самарского леса; 1 – Украина (Самарский лес), 2 – европейская часть России (Московская и Самарская области, Краснодарский и Ставропольский края), 3 – Предуралье, Урал, Казахстан, 4 – Центральная и Восточная Сибирь, Якутия, Дальний Восток.

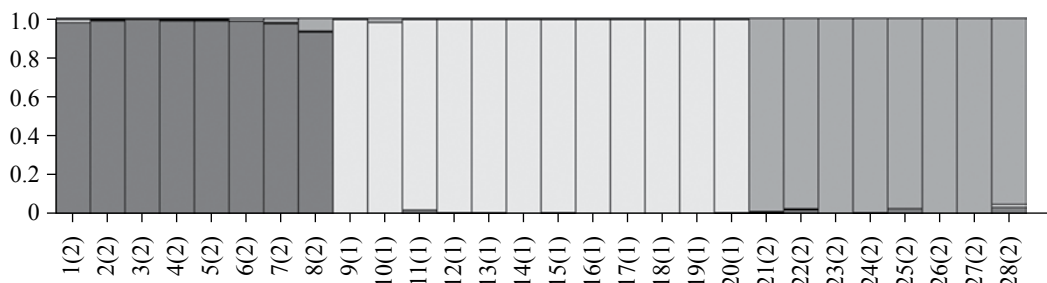


Рис. 3. Видовая дифференциация косуль из Днепропетровской области Украины (1–8, *Capreolus pygargus*), Юго-Западной Украины (9–20, *S. capreolus*) и из Алтайского края (21–28, *S. pygargus*) по результатам анализа 17 микросателлитных локусов при $k = 3$. Гистограмма построена с помощью программы Structure 2.3.4. По оси абсцисс – порядковые номера образцов, по оси ординат – вероятность попадания в один из k кластеров (Admixture Model и Allele Frequencies are Independent).

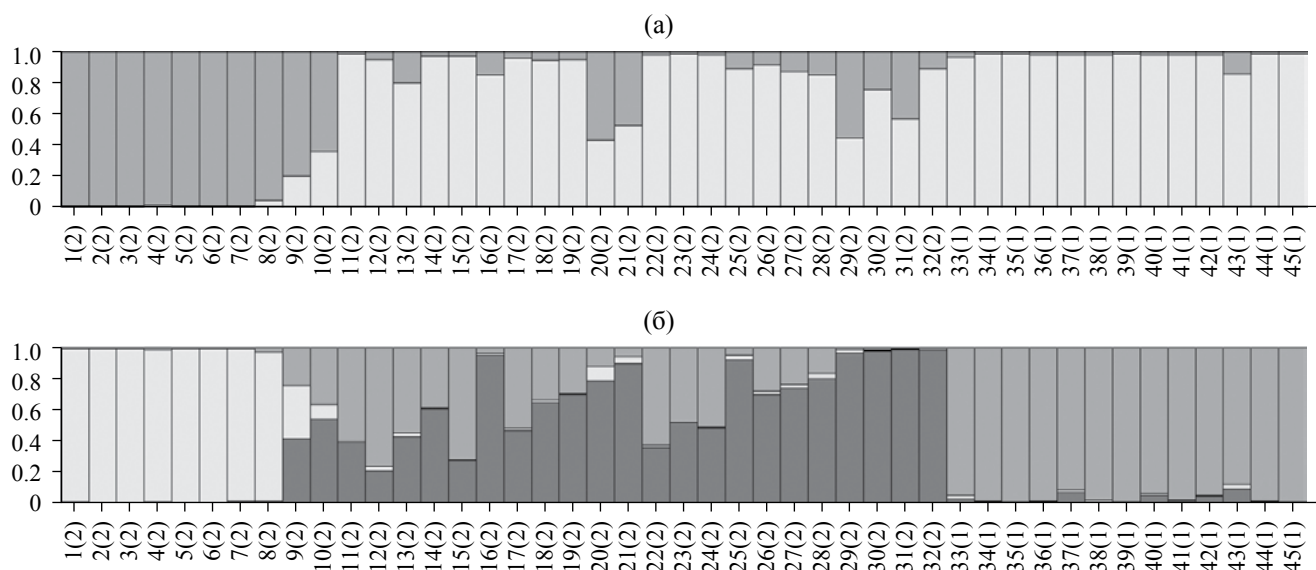


Рис. 4. Популяционная дифференциация образцов тканей косуль из Днепропетровской обл. Украины (1–8, *Capreolus pygargus*), Алтайского края (9–16, *S. pygargus*) и Самарской обл. (17–45, *S. pygargus*) по результатам анализа 17 микросателлитных локусов при $k = 2$ (а) и $k = 3$ (б). По оси абсцисс – порядковые номера образцов, по оси ординат – вероятность попадания в один из k кластеров.

в Алтайском крае ($n = 1$), а IV отделяют две замены от последовательности, полученной для 10 образцов из Самарской обл. Описанные гаплотипы были помещены в международную базу NCBI под номерами KT964431–KT964433.

Фрагментный анализ микросателлитных локусов ядерной ДНК подтвердил принадлежность исследуемой группировки к сибирскому виду. При принудительном разделении смешанной выборки, включающей в себя образцы из Самарского леса Днепропетровской обл. Украины, представителей *S. capreolus* из Юго-Западной Украины и *S. pygargus* из Алтайского края на два кластера ($k = 2$, $\ln = 1064.3$), особи этой группировки объединились с представителями *S. pygargus*. Наименьшее значение логарифма вероятности было

найдено для $k = 3$ и равно 966.7 (против $\ln = 1241$ для $k = 1$, $\ln = 1064.3$ для $k = 2$, $\ln = 1006$ для $k = 4$) (рис. 3). Однако при разделении выборки только сибирских косуль на два кластера образцы из Днепропетровской обл. показали достоверное отличие от таковых из Алтайского края и Самарской обл. (рис. 4а). При увеличении параметра k ($k = 3$) картина осталась прежней (рис. 4б): группировка косули Самарского леса Днепропетровской обл. сохранила свою целостность в отличие от других представителей *S. pygargus*, а остальная выборка имела тенденцию к дальнейшему разделению. При дальнейшем пошаговом увеличении числа предполагаемых групп (параметра k) для косуль Днепропетровской обл. вероятность попадания в один общий кластер сохраняется на уровне

Таблица 2. Показатели наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности для косуль из Самарского леса Украины, Юго-Западной Украины, Самарской обл. и Алтайского края РФ

Место сбора образцов	Видовая принадлежность	Гетерозиготность	
		наблюдаемая (Ho)	ожидаемая (He)
Самарский лес, Украина	<i>C. pygargus</i> (n = 8)	0.32 ± 0.043	0.44 ± 0.081
Юго-Западная Украина	<i>C. capreolus</i> (n = 12)	0.379 ± 0.035	0.497 ± 0.078
Самарская обл.	<i>C. pygargus</i> (n = 29)	0.455 ± 0.24	0.668 ± 0.56
Алтайский край	То же (n = 8)	0.415 ± 0.044	0.598 ± 0.074

Таблица 3. Показатели Fst (fixation index, F-статистика) для косуль из Самарского леса Украины, Юго-Западной Украины, Самарской обл. и Алтайского края РФ

	Самарский лес, Украина	Алтай	Самарская обл.	Юго-Западная Украина
Самарский лес, Украина	0	—	—	—
Алтай	0.36017	0	—	—
Самарская обл.	0.3304	0.03325	0	—
Юго-Западная Украина	0.51191*	0.36597	0.2914	0

*Все значения достоверны ($p < 0.05$).

100%, т.е. внутривидовая дифференциация по исследованным микросателлитным локусам отсутствует.

Наблюдаемая гетерозиготность (Ho) исследуемой популяции равна 0.32 ± 0.043 , а ожидаемая (He) — 0.44 ± 0.081 , тогда как у косуль из Юго-Западной Украины, Самарской обл. и Алтайского края России эти параметры выше (Zvychayna et al., 2013) (табл. 2). У косуль Самарского леса Днепропетровской обл. найдены 57 аллелей, у животных с Юго-Западной Украины — 75, Алтайского края — 73, Самарской обл. — 117. У днепропетровских и прочих украинских косуль обнаружен 31 общий аллель, днепропетровских и из Самарской обл. — 35, днепропетровских и алтайских — 30 аллелей. У исследованных животных Самарского леса найдено 13 специфичных аллелей (в семи локусах), по которым их можно отличить от других сибирских косуль.

Статистический индекс Fst группировки Самарского леса в Днепропетровской обл. и Юго-Западной Украины оказался максимальным (0.51) для вышеописанной выборки из четырех популяций (табл. 3), что может свидетельствовать о генетической изоляции популяции Самарского леса.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные нами результаты подтверждают существование локальной группировки сибирской косули на территории Самарского леса Днепропетровской обл. Украины. Ее генофонд, видимо, не подвергался существенным трансформациям в историческое время, за исключением неизбежной потери генетического разнообразия в условиях жесткого антропогенного пресса. В 1920-х гг. все поголовье косуль в Самарском лесу насчитывало, скорее всего, несколько десятков особей (Барабаш, 1928; Браунер, 1928; Волох, 2007).

Родственные митохондриальные линии были найдены нами в популяциях сибирской косули из Заволжья, Урала и Алтайского края, а также в искусственно образованной подмосковной популяции, где сохранились потомки особей, завезенных из западной части ареала этого вида (Звычайная и др., 2011а, б; Данилкин и др., 2012). Вполне возможно, что именно эти гаплотипы и есть реликтовое наследие сибирской косули, сохранившейся на Украине до наших дней. Результаты микросателлитного анализа подтверждают эту гипотезу и свидетельствуют о генетической своеобразии группировки Самарского леса.

Тем не менее возникает вопрос: а не могла ли группировка Самарского леса сформироваться в результате искусственного расселения? Достоверных сведений о выпусках сибирских косуль на Украине в XIX в. или ранее нет, но такую возможность исключать нельзя. В 1929, 1959 и 1968 гг. в Киевской обл. были выпущены 72 сибирские косули, завезенные из Приморского края (Болденков и др., 1971; Павлов и др., 1974; Павлов, 1999), и их потомки могли расселиться на Украине. Кроме того, в 1953 г. в Павлоградское охотничье хозяйство Днепропетровской обл. завезли 20 особей с Кавказа (Волох, 2007). Наш анализ, однако, не выявил сходных митохондриальных генов ни у дальневосточных, ни у кавказских зверей.

Интересно, что исследуемая группировка сибирской косули длительное время находится в современном ареале европейской косули и в ее окружении (Данилкин, 1992а, 1999, 2014; Волох, 2007), что подтверждается результатами молекулярно-генетического анализа популяций запада Украины и Крыма (Zvychaynaya *et al.*, 2013). Однако «генетических следов» смешения с европейским видом нами не обнаружено. Такая же ситуация характерна и для ставропольской популяции сибирской косули (Звычайная и др., 2014). Сибирская косуля, очевидно, имеет преимущества при совместном обитании с европейской, что и позволяет ее локальным группировкам сохраняться (или сохранять свой генофонд) даже в окружении последней.

Тем не менее существуют и смешанные популяции европейской и сибирской косуль. В подмосковной популяции, образованной в результате искусственного расселения обоих видов, преобладают (78%) особи с сибирским митотипом (Звычайная и др., 2011а). Являются ли последние чисто сибирскими, или гибридами с европейской косулей, или наблюдается интрогрессия митохондриального генома — покажут дальнейшие исследования. Пока обнаружено, что доля гибридных особей в выборке ($n = 42$) из группировок косуль европейской части России составляет 4.8% (Плахина и др., 2014). мтДНК сибирского типа найдена также у части особей в популяциях косуль Белоруссии (Звычайная и др., 2010), Восточной Польши (Matosiuk *et al.*, 2014) и Литвы (Lorenzini *et al.*, 2014), что может свидетельствовать о более значительных генетических последствиях искусственного расселения сибирской косули, чем считалось ранее. Однако весьма вероятно, что «сибирский» геном в отдельных популяциях — результат постледникового обитания *C. pygargus* в Восточной и, возможно, Центральной Европе.

Современная группировка косуль Самарского леса в Днепропетровской обл. типично «сибирская» по генотипу, однако по фенотипу, как показывают сравнительно недавно проведенные

исследования, — «европейская», хотя всего 100 лет назад она была «сибирской» и по фенотипу (Браунер, 1915), в чем нет сомнения. Этот факт пока не поддается разумному объяснению. Фенотип особей, возможно, мог измениться при критически низкой численности группировки в начале XX в. По сути она прошла через пресловутое «бутылочное горлышко», что теоретически могло привести к инбридингу и последующему уменьшению размеров животных. Однако наши результаты свидетельствуют лишь о небольшом снижении показателей генетического разнообразия (гетерозиготности и числа микросателлитных аллелей). Можно предположить также, что причиной изменения фенотипа этой «островной» группировки могла стать выборочная охотничья элиминация крупных особей. Известно, например, что в европейской части России, на юге Сибири и Дальнего Востока в результате длительного избирательного отстрела лось измельчал, некогда типичные лопатообразные рога у самцов стали редкостью, и его популяции здесь фактически утратили трофейную ценность. Популяции сибирской косули Предуралья и Зауралья, родственные по генотипу особям Самарского леса, тоже подвергались сильнейшему охотничьему прессу, но сохранили при этом «сибирский» фенотип. Тем не менее местные охотники утверждают, что косули Самарского леса крупные по размерам и массе, а самцы имеют мощные широко расставленные рога, отличные от рогов европейского вида (опрос был проведен А. В. Домничем в апреле 2014 г.).

Очевидно, что необходимо тщательное с использованием большого материала изучение косуль как Самарского леса, так и соседних популяций на Левобережной и Правобережной Украине. Это может привести к неожиданным находкам и уточнению гипотез видообразования (Данилкин, 1999, 2014; Загороднюк, 2002) и таксономии косуль.

Авторы благодарят зоологов, охотоведов, егерей и охотников, участвовавших в сборе проб европейской и сибирской косуль.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы Президиума РАН «Биоразнообразие природных систем» и РФФИ (грант 14-04-01135а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Барабаш *І. І.* Нарис фавни степової Наддніпрянщини (колишньої Катеринославщини). Харків: Держвидав України, 1928. 138 с.
- Бибикова *В. И.* Из истории голоценовой фауны позвоночных в Восточной Европе // Природная обстановка и фауны прошлого. Киев: Изд-во АН УССР, 1963. Вып. 1. С. 119–146.
- Бибикова *В. И.* О смене некоторых компонентов фауны копытных на Украине в голоцене // Бюл. МОИП. Отд. биол. 1975. Т. 80. Вып. 6. С. 67–72.

- Болденков С. В., Крайнев Е. Д., Галака Б. А. О завозе на Украину дальневосточных кабана, пятнистого оленя и косули // Пути повышения эффективности охотничьего хозяйства. Матер. 3-й конф. охотников Сибири. Ч. 1. Иркутск, 1971. С. 41–43.
- Браунер А. А. К какому виду принадлежат козули Южной России и Крыма? // Записки Крымского общества естествоиспытателей и любителей природы. Симферополь: Тип. Таврического губ. Земства, 1915. Т. 5. С. 111–113.
- Браунер А. А. Сельскохозяйственная зоология. Киев: Укрздат, 1923. 436 с.
- Браунер А. А. Про сибірську козулю // Україн. мислив. та рибалка. 1928. № 10. С. 33.
- Верецагин Н. К. Млекопитающие Кавказа. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1959. 703 с.
- Волох А. М. Динамика ареала косули (*Capreolus capreolus*) в Украине // Вестн. охотоведения. 2007. Т. 4. № 1. С. 35–43.
- Гептнер В. Г., Насимович А. А., Банников А. Г. Млекопитающие Советского Союза: Парнокопытные и непарнокопытные. М.: Высш. шк., 1961. Т. 1. 776 с.
- Горбачев С. Н. Млекопитающие Орловской губернии по новым данным 1910–1914 гг. // Матер. к познанию природы Орловской губернии. 1915. № 21. С. 1–13.
- Громов В. И. Палеонтологическое и археологическое обоснование стратиграфии континентальных отложений четвертичного периода на территории СССР (млекопитающие, палеолит) // Тр. Ин-та геол. наук. Сер. геол. 1948. Вып. 64. № 17. 521 с.
- Громова В. И. Остатки млекопитающих из раннеславянских городищ вблизи г. Воронежа // Материалы и исследования по археологии СССР. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1948. Вып. 8. С. 113–123.
- Данилкин А. А. Ареал // Европейская и сибирская косули: Систематика, экология, поведение, рациональное использование и охрана. М.: Наука, 1992а. С. 64–85.
- Данилкин А. А. Цитогенетическая изменчивость // Европейская и сибирская косули: Систематика, экология, поведение, рациональное использование и охрана. М.: Наука, 1992б. С. 47–50.
- Данилкин А. А. Млекопитающие России и сопредельных регионов. Олени (Cervidae). М.: ГЕОС, 1999. 552 с.
- Данилкин А. А. Косули (биологические основы управления ресурсами). М.: КМК, 2014. 337 с.
- Данилкин А. А., Звычайная Е. Ю., Холодова М. В. Какая косуля населяет Заволжье? // Вестн. охотоведения. 2012. Т. 9. № 2. С. 200–208.
- Загороднюк І. В. Алови́ди сарни (*Capreolus*): природа відмінностей між ними і статус популяцій з України // Вісн. Луганського держ. педаг. ун-ту. Луганськ. 2001. № 12. С. 206–222.
- Звычайная Е. Ю., Холодова М. В., Данилкин А. А. Последствия расселения сибирской косули (*Capreolus pygargus*) в Восточной Европе. Молекулярно-генетический анализ контрольного региона мтДНК // Целостность вида у млекопитающих: изолирующие барьеры и гибридизация. М.: КМК, 2010. С. 39.
- Звычайная Е. Ю., Кирьякулов В. М., Холодова М. В., Данилкин А. А. О генофонде косуль (*Capreolus*) Подмосковья: анализ изменчивости контрольного региона мтДНК // Вестн. охотоведения. 2011а. № 2. С. 168–172.
- Звычайная Е. Ю., Данилкин А. А., Холодова М. В., Синко Т. П., Бербер А. П. Анализ изменчивости контрольного региона и гена цитохрома b мтДНК сибирской косули *Capreolus pygargus* Pall. // Изв. РАН. Сер. биол. 2011б. № 5. С. 511–517.
- Звычайная Е. Ю., Плахина Д. А., Данилкин А. А., Холодова М. В., Траутвайн И. Г., Друп А. И. О генофонде ставропольской группировки косули // Вестн. охотоведения. 2014. Т. 11. № 1. С. 31–36.
- Карпенко А. В. Биоэкологическое обоснование системы мероприятий защиты леса от вредного влияния косули в лесах левобережной лесостепи. УССР: Автореф. дис. канд. биол. наук. Харьков: Харьк. с.-х. ин-т им. В. В. Докучаева. 1977. 21 с.
- Кириков С. В. Промысловые животные, природная среда и человек. М.: Наука, 1966. 348 с.
- Корнеев О. П. Визначник звірів УРСР. Київ: Рад. шк., 1952. 216 с.
- Короткевич Е. Л., Данилкин А. А. Филогения, эволюция, систематика // Европейская и сибирская косули: Систематика, экология, поведение, рациональное использование и охрана. М.: Наука, 1992. С. 8–21.
- Крыжановский В. И. Благородный олень и косуля на Украине, их экология и перспективы хозяйственного использования: Автореф. дис. канд. биол. наук. Киев: Ин-т зоологии им. И. И. Шмальгаузена. АН УРСР, 1965. 27 с.
- Мигулін О. О. Шкідні та корисні звірі Україні. Харків: Рад. селянин, 1927. 130 с.
- Мигулін О. О. Визначник звірів Україні. Харків: Даржавне вид-во України, 1929. 95 с.
- Павлов М. П. Акклиматизация охотничье-промысловых зверей и птиц в СССР. Ч. 3. Киров: Волго-Вятское кн. изд-во, 1999. 666 с.
- Павлов М. П., Корсакова И. Б., Лавров Н. П. Акклиматизация охотничье-промысловых зверей и птиц в СССР. Ч. 2. Киров: Волго-Вятское кн. изд-во, 1974. 460 с.
- Підопличко І. Г. Матеріали до вивчення минулих фаун УРСР. Київ: Вид-во АН УРСР, 1956. Вып. 2. 189 с.
- Плахина Д. А., Звычайная Е. Ю., Холодова М. В., Данилкин А. А. Выявление гибридов европейской (*Capreolus capreolus* L.) и сибирской (*C. pygargus* Pall.) косуль микросателлитным методом // Генетика. 2014. Т. 50. № 7. С. 862–867.
- Соколов В. Е., Данилкин А. А. Сибирская косуля: Экологические аспекты поведения. М.: Наука, 1981. 144 с.
- Соколов В. Е., Шурхал А. В., Данилкин А. А., Подогас А. В., Ракицкая Т. А., Марков Г. Г. Сравнительный анализ электрофоретических спектров белков крови

- и мышечной ткани европейской (*Capreolus capreolus* L.) и сибирской (*C. pygargus* Pall.) косуль // Докл. АН СССР. 1986. Т. 288. № 5. С. 1274–1276.
- Татаринов К.А. Фауна неогеновых и антропогенных позвоночных Подолии и Прикарпатья, ее история и современное состояние: Автореф. дис. докт. биол. наук. Киев: Ин-т зоологии им. И.И. Шмальгаузена, 1970. 56 с.
- Тимченко Н.Г. К истории охоты и животноводства в Киевской Руси (позднее Поднепровье). Киев: Наук. думка, 1972. 204 с.
- Цалкин В.И. Материалы для истории скотоводства и охоты в древней Руси // Материалы и исследования по археологии СССР. М.: Изд-во АН СССР, 1956. № 51. 185 с.
- Цалкин В.И. Млекопитающие бассейна Оки и Верхней Волги в начале нашей эры // Бюл. МОИП. Отд. биол. 1961. Т. 66. Вып. 1. С. 23–39.
- Цалкин В.И. К истории млекопитающих восточноевропейской лесостепи // Бюл. МОИП. Отд. биол. 1963. Т. 68. Вып. 2. С. 43–62.
- Шарлемань М. Зоогеография УСРР. Київ: Вид-во АН УСРР, 1937. 234 с.
- Bishop M. D., Kappes S. M., Keele J. W., Stone R. T., Sunden S. L. F., Hawkins P. G. A., Toldo S. S., Fries R., Grosz M. D., Yoo J., Beattie C. W. A genetic linkage map for cattle // Genetics. 1994. V. 136. P. 619–639.
- Buchanan F. C., Crawford A. M. Ovine microsatellites at the OarFCB11, OarFCB128, OarFCB193, OarFCB266 and OarFCB304 loci // Anim. Genet. 1993. V. 24. № 2. P. 145.
- Cotta V. Asupra capriorului siberian (*Capreolus capreolus pygargus* Pallas) in Romania // Rev. Padurilor. 1969. V. 84. № 7. P. 345–348.
- Excoffier L., Lischer H. E. L. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows // Mol. Ecol. Res. 2010. V. 10. P. 564–567.
- Jobin R. M., Patterson D., Zhang Y. DNA typing in populations of mule deer for forensic use in the Province of Alberta // Genetics. 2008. V. 2. № 3. P. 190–197.
- Kappes S. M., Keele J. W., Stone R. T., McGraw R. A., Sonstegard T. S., Smith T. P. L., Lopez-Corrales N., Beattie C. W. A second-generation linkage map of the bovine genome // Gen. Res. 1997. V. 7. № 3. P. 235–249.
- Lehmann E. Einige Bemerkungen zum Sibirischen Reh (*Capreolus capreolus (pygargus) caucasicus* Dinnik, 1910) in Mitteleuropa // Z. Jagdwiss. 1976. Bd 22. № 2. S. 75–84.
- Lorenzini R., Garofalo L., Xuebo Q., Voloshina I., Lovari S. Global phylogeography of the genus *Capreolus* (Artiodactyla: Cervidae), a Palaearctic meso-mammal // Zool. J. Linnean Soc. 2014. V. 170. P. 209–221.
- Matosiuk M., Borkowska A., Swislocka M., Mirski P., Ratkiewicz M., Borowski Z., Krysiuk K., Danilkin A. A., Zvyhaynaya E. Y., Saveljev A. P. Unexpected population genetic structure of European roe deer in Poland: an invasion of the mtDNA genome from Siberian roe deer // Mol. Ecol. 2014. V. 23. № 10. P. 2559–2572.
- Moore S. S., Byrne K., Berger K. T. Characterization of 65 bovine microsatellites // Mamm. Gen. 1994. V. 5. № 2. P. 84–90.
- Park S. D. E. The Excel Microsatellite Toolkit (version 3.1). 2001. Animal Genomics Laboratory, UCD, Ireland. <http://animalgenomics.ucd.ie/sdepark/ms-toolkit/>.
- Peakall R., Smouse P. E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // Mol. Ecol. Notes. 2006. V. 6. P. 288–295.
- Pritchard J. K., Stephens M., Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics. 2000. V. 155. P. 945–959.
- Roed K. H., Midthjell L. Microsatellites in reindeer, *Rangifer tarandus*, and their use in other cervids // Mol. Ecol. 1998. V. 7. № 12. P. 1773–1776.
- Stone R. T., Pulido J. C., Duyk G. M., Kappes S. M., Keele J. W., Beattie C. W. A small-insert bovine genomic library highly enriched for microsatellite repeat sequences // Mamm. Genome. 1995. V. 6. P. 714.
- Wilson G. A., Strobeck C., Wu L., Coffin J. W. Characterization of microsatellite loci in caribou, *Rangifer tarandus*, and their use in other artiodactyls // Mol. Ecol. 1997. V. 6. № 7. P. 697–699.
- Zvyhaynaya E. Yu., Volokh A. M., Kholodova M. V., Danilkin A. A. Mitochondrial DNA polymorphism of the European roe deer, *Capreolus capreolus* (Artiodactyla, Cervidae), from the South-West of Ukraine // Vestn. zool. Kiev. 2013. V. 47. № 5. P. 415–420.

Siberian Roe Deer (*Capreolus pygargus* Pallas, 1771) in Ukraine: the Analysis of Mitochondrial and Nuclear DNA

A. A. Danilkin^{*,@}, D. A. Plahina^{*}, E. Y. Zvychnaya^{*}, A. V. Domnich^{**},
M. V. Kholodova^{*}, P. A. Sorokin^{*}, A. M. Volokh^{***}

^{*} *Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences,
Leninskii pr. 33, Moscow, 119071 Russia*

^{**} *Zaporozhye State University, ul. Zhukovskogo 66, Zaporozhye, 69000 Ukraine*

^{***} *Taurian State Agro-Technological University, pr. B. Hmel'nitskogo 18, Melitopol, 72312 Ukraine*

[@]*E-mail: ldan@mail.ru*

A molecular-genetic analysis of the nucleotide sequences of the cytochrome *b* gene (1140 base pairs) of mitochondrial DNA and 17 microsatellite loci of eight samples of roe deer from the Samara forest of the Dnipropetrovsk region (Ukraine) was carried out. For comparison, 212 corresponding mtDNA sequences of Siberian and European roe deer and data on the variability of microsatellite markers in 49 representatives of these species were included in the study. It was noted that all analyzed mitochondrial sequences of individuals from the Samara forest are characteristic of the Siberian roe *Capreolus pygargus* Pall. 1771. Four haplotypes were described, all of which belonged to the haplogroup typical for the western part of *C. pygargus* range. Fragment analysis of microsatellite loci of nuclear DNA confirmed the belonging of the investigated group to the Siberian species.