

УДК 577.21:599.735.5

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ БЛАГОРОДНОГО ОЛЕНЯ (*CERVUS ELAPHUS* L.) В БОЛГАРИИ

М.В. Кузнецова¹, Г.Г. Марков², А.А. Данилкин¹

¹Институт проблем экологии и эволюции имени А.Н. Северцова РАН, г. Москва;

²Институт зоологии Болгарской академии наук, г. София, Болгария;
e-mail: mkarja@mail.ru)

В работе исследована дифференциация гаплотипов фрагмента гена цитохрома *b* (427 н.п.) в популяции благородного оленя (*Cervus elaphus* L.), обитающего на Балканском полуострове. Среди 16 исследованных образцов выявлено 6 гаплотипов, из которых два принадлежали большинству образцов, а четыре очень близки к одному из двух основных. Четыре гаплотипа образцов благородного оленя из Болгарии близки к гаплотипам оленей, обитающих в Европе, а два остальных сформировали отдельную ветвь, к которой примкнули два образца из Туниса и с острова Сардиния. Сделан вывод о присутствии в болгарской популяции благородного оленя как минимум двух генетических линий.

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

Благородный олень (*Cervus elaphus* L.) занимает обширный ареал, на котором описано более 60 подвидов [1–4]. Систематика благородного оленя неоднократно претерпевала ревизии и все еще далека от ясности. В настоящее время многие авторы полагают, что благородный олень представлен не одним, а двумя видами (*C. elaphus* и *C. canadensis*), формирующими соответственно восточную и западную группы [5–7]. В то же время анализ генетической структуры благородного оленя в Европе, проведенный по маркерам митохондриальной ДНК (мтДНК), показывает наличие трех четко выраженных линий мтДНК или трех групп — западноевропейской, восточноевропейской и средиземноморской [5].

Балканский полуостров в позднем плейстоцене был связан с Малой Азией перешейком [8]. Благородные олени, населяющие этот полуостров сейчас, могут обладать генотипами, родственными генотипам представителей малоазийских, карпатских и северчерноморских популяций. Среди систематиков также нет единого мнения о таксономическом положении оленей, населяющих Балканы, их сближают с карпатским подвидом (*C. e. montanus*), другие — с кавказским (*C. e. taral*) или крымским (*C. e. brauneri*) или же просто относят к номинативному подвиду *C. e. elaphus*.

Целью исследования было изучение генетической изменчивости благородного оленя Болгарии по отношению к остальным популяциям вида в Юго-Восточной Европе.

Материалы и методы

Исследовано 16 образцов благородного оленя, собранных на территории Болгарии. ДНК

выделяли с помощью набора реактивов Diatom[®] DNA Prep (Россия). ПЦР проводили с использованием стандартных праймеров для цитохрома *b* [9, 10].

Последовательности ДНК определяли с помощью набора реактивов ABI PRISM[®] BigDye[™] Terminator v. 3.1 на автоматическом секвенаторе ДНК ABI PRISM 3100-Avant.

Всего в анализ включено 48 последовательностей: 16 определенных в данной работе образцов из Болгарии, 17 — из других районов Европы и Азии. Другие географические регионы представлены 15 последовательностями, извлеченными из GenBank (таблица). Последовательности выравнены вручную

Список образцов, их географическая локализация и выявленные у них гаплотипы

Обозначение образца	Регион	Гаплотип	Ссылка
Cer8	Беларусь	уникальный	[13]
Cer9	Амурская обл.	уникальный	[13]
Cer14	Адыгея	HC14	[13]
Cer15	Карачаево-Черкессия	уникальный	[13]
Cer28	Белгородская обл.	HC14	[13]
Cer29	Белгородская обл.	HC14	[13]
Cer30	Белгородская обл.	уникальный	[13]
Cer43	Крым	уникальный	[13]
Cer78	Калининградская обл.	уникальный	[13]
Cer90	Дагестан	HC14	[13]
Cer97	Украина, о. Бирючий	уникальный	[13]
Cer98	Украина, о. Бирючий	уникальный	[13]
70Krp	Карпаты, Украина	BLG7	[13]

Окончание таблицы

Обозначение образца	Регион	Гаплотип	Ссылка
72Krym	Крым	уникальный	[13]
73Krym	Крым	уникальный	[13]
79	Таджикистан	уникальный	наши данные
80	Таджикистан	уникальный	наши данные
1B	Болгария	BLG1	наши данные
2B	Болгария	BLG2	наши данные
4B	Болгария	BLG7	наши данные
5B	Болгария	BLG7	наши данные
6B	Болгария	BLG7	наши данные
7B	Болгария	BLG7	наши данные
8B	Болгария	BLG8	наши данные
9B	Болгария	BLG7	наши данные
10B	Болгария	BLG8	наши данные
11B	Болгария	BLG7	наши данные
12B	Болгария	BLG7	наши данные
13B	Болгария	BLG7	наши данные
14B	Болгария	BLG14	наши данные
15B	Болгария	BLG15	наши данные
16B	Болгария	BLG7	наши данные
17B	Болгария	BLG7	наши данные
Turk AY118197	Турция	ATR	[5]
Austr1 AY044857	Австрия	уникальный	[5]
Austr2 AY118197	Австрия	ATR	[5]
Poland AY044860	Польша	WE*	[5]
Germ1 AF423196	Германия	уникальный	[5]
Germ2 AY044858	Германия	уникальный	[5]
Rom AY070225	Румыния	уникальный	[5]
Hisp AY044859	Испания	WE*	[5]
Hung AF489279	Венгрия	уникальный	[5]
France AY244491	Франция	WE*	[5]
Norway AY070226	Норвегия	WE*	[5]
Sard AY244489	Сардиния	AF**	[5]
Tunisia AY070222	Тунис	AF**	[5]
Iran AF489280	Иран	уникальный	[5]
Bulg AF423195	Болгария	уникальный	[5]

* — обозначение гаплотипа из работы [5], от “West Europe”; ** — обозначение гаплотипа из работы [5], от “Africa”.

с помощью программы BioEdit [11] Медианные сети расстояний между гаплотипами построены в программе Network 4.111 [12]. В качестве внешней группы использована последовательность изюбря (*C. e. xanthopygus*).

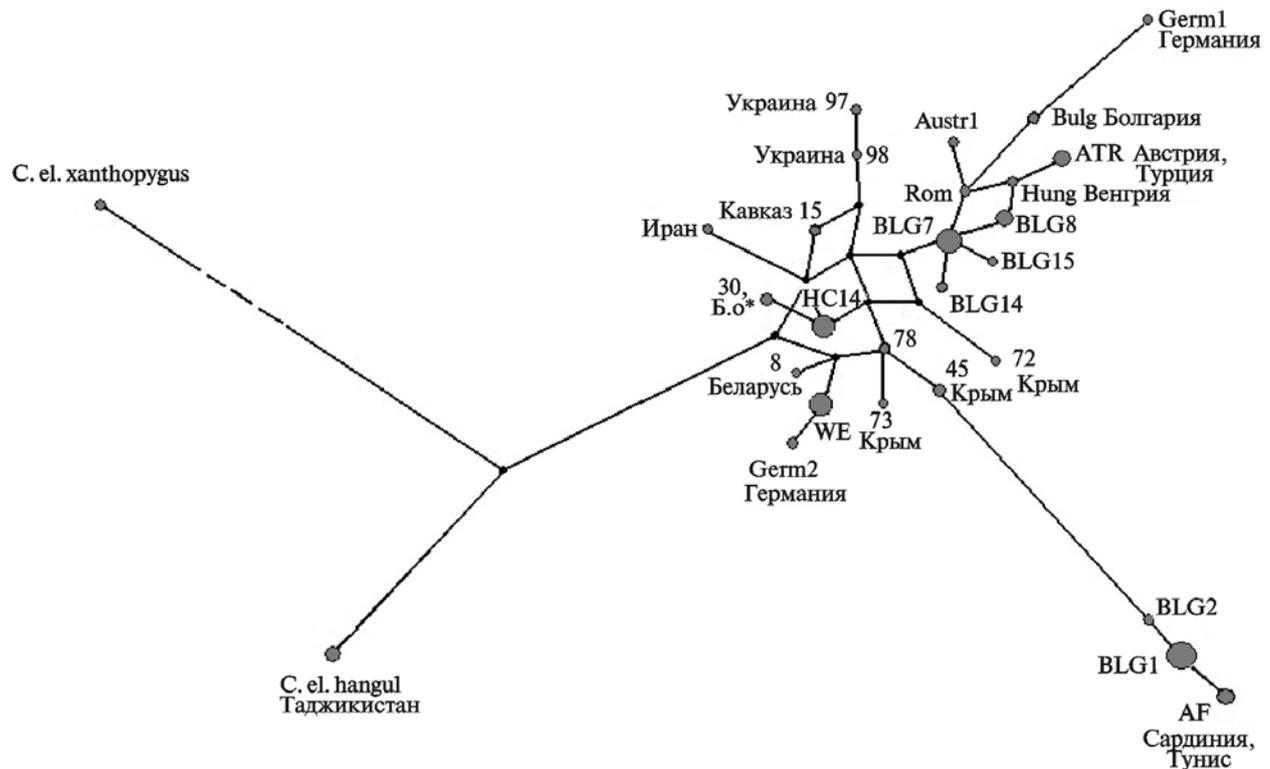
Результаты и обсуждение

Общее число гаплотипов в исследованной выборке составило 28, их медианная сеть представлена на рисунке. Общее количество мутаций — 75 (17,6% сайтов). Количество мутаций, использованных программой для построения кратчайшего дерева, — 15.

Гаплотип изюбря (*C. e. xanthopygus*) находится на большом расстоянии от всех остальных, что соответствует представлению о генетической обособленности “европейской” и “азиатско-американской” группировок благородных оленей [5, 13]. Промежуточное положение заняли два образца бухарского оленя (*C. e. hangul*) из Таджикистана как представители “среднеазиатской” клады. Примечательное положение на схеме также занял образец из Ирана, оказавшись среди европейских оленей, по соседству с особями с Кавказа и Украины и довольно далеко от бухарского оленя. Остальные образцы сгруппировались в относительно компактную кладу. Гаплотип HC14 выявлен у образцов из Адыгеи (1), Дагестана (1) и Белгородской обл. (2), причем еще один образец из Белгородской обл. непосредственно примыкает к данному гаплотипу, отличаясь только на одну замену. Этот гаплотип условно можно назвать “южнороссийским”. Гаплотип образцов из Польши, Испании, Франции и Норвегии, видимо, имеет в основном западноевропейское распространение, и в работе Людта с соавт. [5] он назван “западноевропейским” (в таблице обозначен как WE). Такое единообразие гаплотипов у образцов из разных частей Европы может быть связано с относительно низким генетическим разнообразием европейских благородных оленей в результате многочисленных интродукций этих животных в качестве охотничьего вида.

Исследованные образцы из Болгарии четко распределились в две группы (рисунок). Гаплотип BLG1 обнаружен у 7 образцов, а гаплотип BLG7 — у 5. Положение двух основных гаплотипов оленей Болгарии на схеме практически диаметрально противоположно. Гаплотип BLG7 занимает центральное положение, и его “производными” являются еще четыре гаплотипа (три из нашей выборки: BLG8, BLG14 и BLG15 и один, “Bulg”, из GenBank — AF423195), а также гаплотипы, принадлежащие образцам из Австрии, Германии, Венгрии, Румынии и Турции. Длинную ветвь в этой группе образует образец из Германии (AF423196), а почти посередине ее располагается еще один образец из Болгарии (AF423195), ранее исследованный другими авторами [5].

Второй основной гаплотип болгарской популяции BLG1 (а также близкий к нему BLG2) образует



Медианная сеть гаплотипов, обнаруженных у благородных оленей Европы и некоторых сопредельных регионов (см. таблицу).

*Б.о. — Белгородская область, Россия

на схеме отдельную ветвь, далеко отклоняющуюся от всех “центральных” гаплотипов и включающую образцы с о-ва Сардиния и из Туниса. Эта генетическая линия не вписывается в рамки “балканской” клады, описанной ранее [5] и, видимо, представляет собой группировку, родственную благородным оленям, обитающим на средиземноморских островах и в Африке, и обозначенную в вышеупомянутой работе как “африканская” клада.

Таким образом, нам удалось выявить две отдельные генетические линии в популяции благородных оленей, живущих на территории Болгарии,

причем в континентальной Европе впервые обнаружены гаплотипы, которые ранее были идентифицированы только у оленей, обитающих в Африке и на островах Средиземноморья.

* * *

Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (грант № 10-04-01351а), а также программой фундаментальных исследований Президиума РАН “Биологическое разнообразие” — подпрограмма “Генофонды и генетическое разнообразие”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гентнер В.Г., Цалкин В.И. Олени СССР (систематика и зоогеография). М.: Изд-во Моск. о-ва испыт. природы. 1947. 176 с.
2. Geist V. Deer of the World: Their Evolution, Behaviour, and Ecology. Swan Hill Press, UK, 1999. 267 p.
3. Данилкин А.А. Млекопитающие России и сопредельных регионов. Олени (Cervidae). М.: ГЕОС, 1999. 552 с.
4. Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference (3rd ed) / Eds. D.E. Wilson, D.M. Reeder. Johns Hopkins University Press. 2005. 365 p.
5. Ludt C.J., Schroeder W., Rottmann O., Kuehn R. Mitochondrial DNA phylogeography of red deer (*Cervus elaphus*) // Mol Phylogenet Evol. 2004. Vol. 31. P. 1064—1083.
6. Randi E., Mucci N., Claro-Hergueta F., Bonnet A., Douzery E.J.P. A mitochondrial DNA control region phylogeny of the Cervinae: speciation in Cervus and its implications for conservation // Anim. Conserv. 2001. Vol. 4. P. 1—11.
7. Skog A., Zachos F.E., Rueness E.K., Feulner P.G.D., Myrsterud A., Langvatn R., Lorenzini R., Hmwe S.S., Lehoczy I., Hartl G.B., Stenseth N.C., Jakobsen K.S. Phylogeography of red deer (*Cervus elaphus*) in Europe // J. Biogeogr. 2009. Vol. 36. P. 66—77.
8. Lang G. Quartäre Vegetationsgeschichte Europas. Meth. und Erg. Jena: G. Fischer, 1994. P.1—462.
9. Palumbi S.R. Nucleic acids II: the polymerase chain reaction // Molecular systematics / Eds. D.M. Hillis, C. Moritz, B.K. Mable. Sunderland, MA: Sinauer Associates, 1996. P. 205—247.
10. Kocher T.D., Thomas W.K., Meyer A., Edwards S.V., Paabo S., Villablanca F.X., Wilson A.C. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1989. Vol. 86(16). P. 6196—6200.

11. Hall T.A. 1999 BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT / Nucl. Acids Symp. Ser. Vol. 41. P. 95–98.

12. www.fluxus-engineering.com (Fluxus Technology Ltd., 2005).

13. Кузнецова М.В., Волох А., Домнич В.И., Тышкевич В.Е., Данилкин А.А. Молекулярно-генетическое исследование благородного оленя *Cervus elaphus* (Cervidae) Восточной Европы // Вестн. зоол. (Украина). 2007. Т. 41. № 6. С. 505–509.

Поступила в редакцию
16.04.10

HAPLOTYPE DIVERSITY OF BULGARIAN RED DEER (*CERVUS ELAPHUS* L.)

M.V. Kuznetsova, G.G. Markov, A.A. Danilkin

To estimate the haplotype diversity of red deer (*Cervus elaphus* L.) from Balkan Peninsula, a fragment of cytochrome *b* (427 bp) was analyzed. In the investigated red deer from Bulgaria (16 individuals) 6 haplotypes were revealed. In the comparative analyses were included 32 sequences (15 from GenBank and 17 our samples from different locations of *Cervus elaphus* area). As outgroup we used a sequence *C. e. xanthopygus*. Four Bulgarian red deer haplotypes were closely related to other European haplotypes, when two other haplotypes formed a separate branch, encompassing also two samples from Sardinia and Tunisia. Thereby, our results indicated an existence in Bulgaria at least two different genetic lines of red deer.

Key words: *Cervus elaphus*, phylogeny, cytochrome *b*.

Сведения об авторах

Кузнецова Мария Владимировна — канд. биол. наук, науч. сотр. Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, г. Москва. Тел. (495)954-75-53; факс. (495)954-55-34; e-mail: mkarja@mail.ru

Марков Георгий Георгиевич — PhD., Институт зоологии, Академия наук Болгарии, г. София; e-mail: georgimar@gmail.com

Данилкин Алексей Алексеевич — докт. биол. наук, проф. Института проблем экологии и эволюции имени А.Н. Северцова РАН, г. Москва; e-mail: ldan@mail.ru