

КАРИОТИП СИБИРСКОЙ КОСУЛИ (*CAPREOLUS PYGARGUS* Pall.) АМУРСКО-ЗЕЙСКОЙ РАВНИНЫ

И.В. Картавецца

Биолого-почвенный институт ДВО РАН,
пр-т 100-летия Владивостока 159, г. Владивосток, 690022,
e-mail: irina-kar52@rambler.ru

*В настоящей работе проанализированы числа В-хромосом в кариотипах шести сибирских косуль *Capreolus pygargus tianschanicus* мигрирующей популяции Амурской области, долины р. Нора. Кариотипы были стабильны, числа В-хромосом варьировали от 3 до 8. Три из шести исследованных животных имели 3 В-хромосомы. Размах изменчивости чисел добавочных хромосом косули в Амурской области (В=3–8) шире, чем было выявлено ранее (В=6–8). Собственные и литературные данные позволили предположить, что у подвида *C. p. tianschanicus* (В=3–14) диапазон изменчивости чисел В-хромосом больше, чем у *C. p. pygargus* (В=0, 1–4). Клиальная изменчивость числа В-хромосом подвида *C. p. tianschanicus*, по имеющимся данным, не обнаружена.*

Ключевые слова: В-хромосомы, кариотип, сибирская косуля, *Capreolus pygargus*, подвиды, Дальний Восток.

Введение

Сибирская косуля *Capreolus pygargus* Pallas, 1771 широко распространена по территории Евразии: от Волги на западе до Сихотэ-Алиня на востоке. Подвидовая система вида все еще не определена. По морфологическим характеристикам вид включает три подвида (рис. 1): *C. p. pygargus* (от Волги до Байкала), *C. p. tianschanicus* Satunin, 1906 (= *C. s. bedfordi* Thomas, 1908) от Тянь-Шаня до Забайкалья, Монголии, Дальнего Востока и Китая) и *C. p. melanotis* Mill, 1911 (Тибет, Китай) [6]. В кариотипе сибирской косули помимо 70 хромосом основного набора (названного А-хромосомы) присутствуют добавочные или В-хромосомы, числа которых варьируют от 1 до 14 [6]. Исключение составила одна особь из Новосибирской области, в кариотипе которой В-хромосомы не обнаружены (В=0) [14]. Для сибирской косули Дальнего Востока России – *C. p. tianschanicus* известны кариотипы четырех особей: одной особи из Амурской области (В=8), одной из Еврейской АО (В=6), двух из Приморского края (В=6–8, 10) [7] и двух из Якутии (В=5–7) [1] и одной – из Забайкалья – (В=8, 10, 12) [7]. Для популяции *C. p. tianschanicus* Горного Алтая изучено шестнадцать особей, для которых отмечено максимальное для вида число В-хромосом (14) [4, 5, 14]. Имеющиеся данные позволили Данилкину с соавторами предположить клиальную изменчивость числа добавочных хромосом, т.е. увеличение числа В-хромосом *C. pygargus* с запада на восток [7].

Для близкого вида – европейской косули *Capreolus capreolus* Linnaeus, 1758 (2n=70), добавочные хромосомы не обнаружены [10]. Примечательно, что гибриды первого поколения (F1), полученные

при скрещивании *Capreolus capreolus* (самка, В=0) и *Capreolus pygargus* (самец, В=10), наследуют В-хромосомы сибирской косули (В=3) [6, 7].

Число В-хромосом в кариотипе сибирской косули может быть как стабильным, когда все клетки имеют одинаковое число В-хромосом, так и мозаичным, когда у одного животного имеются клетки с различным числом В-хромосом [6–8]. Характер мозаицизма В-хромосом этого вида исследован слабо.

Молекулярно-генетические исследования генов *cutb* и контрольного региона мтДНК показали высокую генетическую гетерогенность популяций сибирской косули, не позволяющую четко выделить описанные ранее подвиды [9, 15].

Межпопуляционная дифференциация по данным контрольного региона мтДНК *C. p. tianschanicus* была прослежена между тремя популяциями юга Дальнего Востока – одной в Амурской области и двумя в Приморском крае [13]. Показано, что популяция из Амурской области отличается от популяций Приморского края (центральный и Южный Сихотэ-Алинь), которые в свою очередь также дифференцируются.

Цель работы на основе собственных и литературных данных исследовать изменчивость чисел добавочных хромосом *C. p. tianschanicus* из популяции косуль Амурской области (Амуро-Зейская равнина) и рассмотреть размах изменчивости чисел В-хромосом ранее исследованных кариотипов из различных географических регионов.

Материалы и методы

Исследованы кариотипы шести особей сибирской косули: четырех самцов *C. p. tianschanicus* (№№ 078, 2082, 2099, 001) и двух самок (№№ 2079

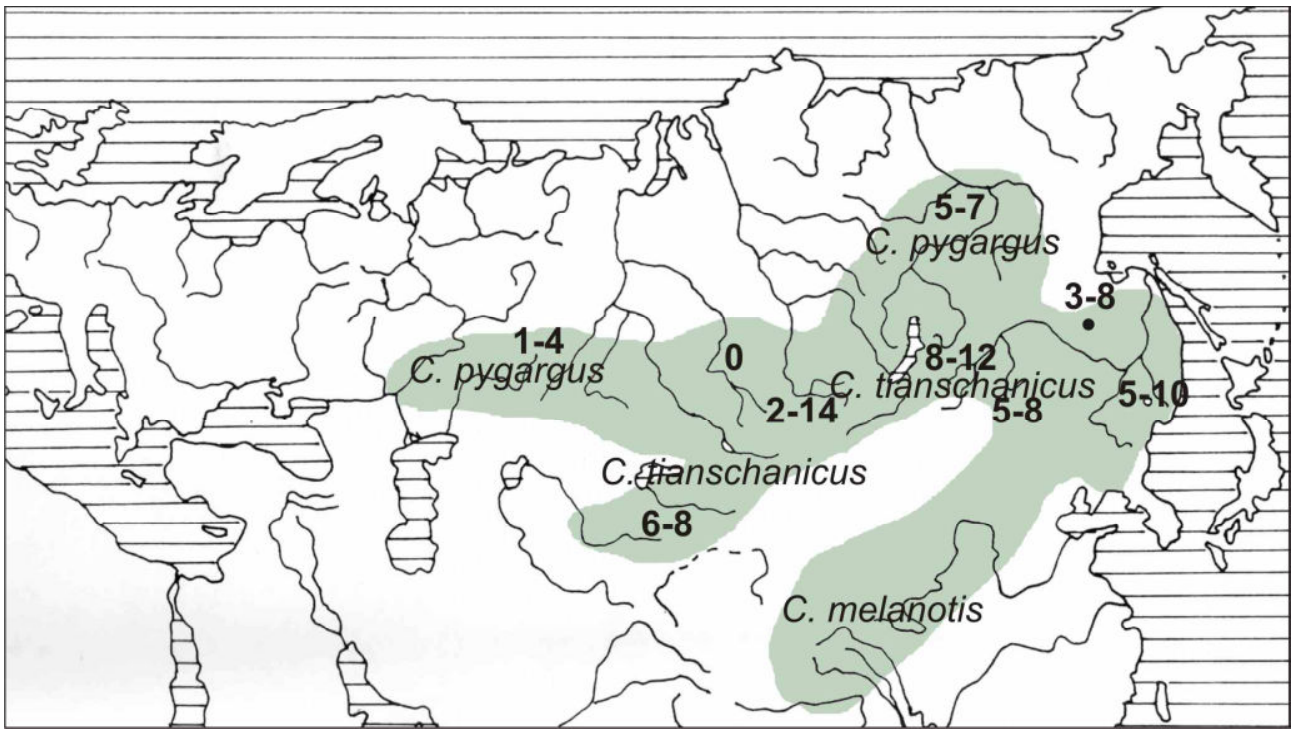


Рис. 1. Карта ареала сибирской косули *Capreolus pygargus* Pallas

Цифры указывают на число В-хромосом. Черный кружок – точка нашего исследования

Fig. 1. Map of the Siberian roe deer *Capreolus pygargus* Pallas habitat

The figures indicate the number of B chromosomes. A black circle shows the point of our investigation

и 2080), отловленных в Амурской области, на западном берегу р. Нора 3 октября 2006 г., во время их осенней миграции (с востока на запад) из Норского заповедника (52° 29,02' с.ш. 130°01' в.д.). Ранее все эти кариотипированные животные были исследованы молекулярно-генетическими методами для описания генетического разнообразия сибирской косули Дальнего Востока России [13] и сравнительного анализа молекулярно-генетических характеристик древней и современной ДНК этого вида [15]. Хромосомные суспензии приготовлены в полевых условиях из клеток костного мозга ребер методом кратковременной культуры по методике, предложенной Графодатским и Раджабли [3] с модификацией, которая заключалась в том, что клетки до введения в культуру колхицина выдерживали не 1,5–2 суток, как было рекомендовано, а один час. Клетки костного мозга инкубировали в течение 50 минут при температуре 37° С в среде Игла МЕМ с солями Эрла (70 мл) с добавлением эмбриональной телячьей сыворотки фирмы ПАНЭКО (10 мл). Среду добавляли непосредственно перед работой с клетками. Затем в культуру вводили каплю 0,04% колхицина еще на 50 минут. После осаждения клеток на ручной центрифуге (10 мин) надосадочную жидкость сливали и доливали 5 мл гипотонического раствора КН1 (560 мг на 100 мл дистиллированной воды), тщатель-

но перемешивая клетки. Гипотонию клеток проводили при комнатной температуре 20 минут. Осаждали клетки центрифугированием и фиксировали в этанол–уксусном растворе при соотношении 3:1 (не перемешивая клетки). Через 10 минут клетки перемешивали и осаждали центрифугированием. Смену фиксатора проводили три раза. Хромосомные препараты делали воздушно-капельным методом и окрашивали 2%-м орсеином. Для анализа метафазных хромосом использовали микроскоп Imager M1 (Zeiss, Германия) центра коллективного пользования «Биотехнология и генетическая инженерия» Биолого-почвенного института ДВО РАН.

Результаты

В кариотипе шести исследованных животных число аутосом равно 68: все акроцентрической морфологии убывающие в размерах, X-хромосома – крупный субметацентрик, Y-хромосома – акроцентрик, размеры которого не определены (рис. 2). Помимо основного набора, в кариотипе присутствовали добавочные или В-хромосомы, очень мелкие, без видимой морфологии. Числа добавочных хромосом варьировали от 3 до 8: В=3 (№№ 2082, 2099 и 001); В=5 (№ 2078); 7 В (№ 2080) и В=8 (№ 2079). Для каждой особи исследовано от 10 до 20 метафазных пластинок. Число В-хромосом в исследованных кариотипах было стабильно.

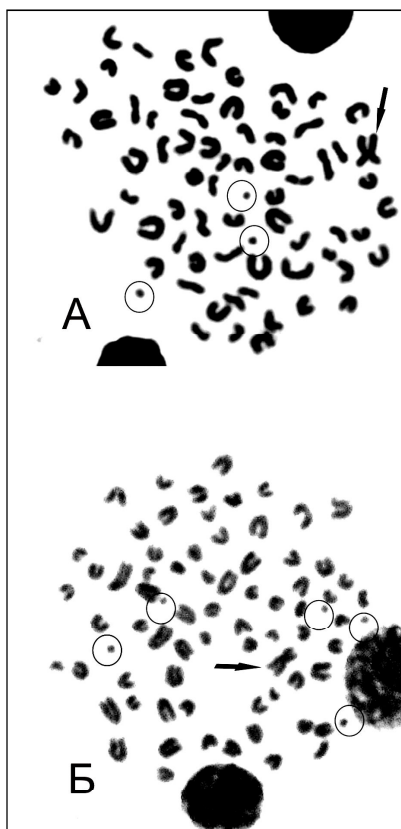


Рис. 2. Метафазные пластинки сибирской косули *Capreolus pygargus* Pallas Амурской области, западный берег р. Нора:

А) № 2082, самец, 3 В-хромосомы; Б) № 2078, самец, 5 В-хромосом; В-хромосомы в кружках. Стрелка указывает на X-хромосому

Fig. 2. Metaphase plates of *Capreolus pygargus* Pallas from the Amur region, the Nora River western bank:
А) № 2082, male, 3 B chromosomes. Б) № 2078, male, 5 B chromosomes; B chromosomes inside the circles

Нами впервые проведен анализ изменчивости числа В-хромосом у двух особей сибирской косули, исследованных ранее молекулярно-генетическим методом (№ 2078 и № 2079) [15]. Для этих особей в настоящей работе описаны числа В-хромосом – 5 и 8 соответственно. Особь с 5 добавочными хромосомами вошла в молекулярно-генетический кластер D, включающий особей Якутии, Северо-Восточного Китая и Денисовской пещеры (палеонтологический материал) на Алтае. Число В-хромосом в кариотипе косуль Якутии варьирует от 5 до 7, у исследованной нами косули (№ 2078) это число сходно с таковыми из якутской выборки. Данных о числе В-хромосом косуль Северо-Восточного Китая нет. Особь № 2079, с 8 добавочными хромосомами, вошла в кластер А, включающий косуль Северо-Восточного Китая. Этот кластер располагался в корне молекулярно-генетического дерева сибирской косули. В

кластер Е, вошла особь № 2083, число В – хромосом которой мы не смогли определить, но интересно то, что она вошла в третий кластер Е, в который вошли косули Алтая, Тянь-Шаня и Денисовской пещеры.

Обсуждение

Для шести исследованных в настоящей работе косуль Норского заповедника, принадлежащих крупнейшей в мире мигрирующей селемжинской популяции косуль (численность до 5–7 тыс. голов) отмечено стабильное число добавочных хромосом, равное 3, 5, 7, 8. Ранее в кариотипе одной особи отловленной близ пос. Ново-Киевский Увал, расположенного в долине р. Селемжа, было отмечено восемь В-хромосом [8]. Небольшое расстояние между точками отлова, не более 100 км с севера на юг, можно предположить, что косули принадлежат единой популяции Амуро-Зейской равнины. Всего для этого региона исследовано 7 особей, что позволяет говорить о относительно большом размахе изменчивости чисел В-хромосом (3–8) в этом регионе.

Также, из региона юга ДВ России, исследовано по одной особи из популяций: Еврейской Автономной области (ЕАО), близ г. Биробиджан (В=6) и Приморского края, близ г. Дальнереченск (В=5–8) и пос. Пограничный (В=6–10) (табл.).

Косуля из ЕАО, так же как и косули из долины р. Селемжа имела стабильное число добавочных хромосом, в то время как обе косули из Приморского края имели мозаичный кариотип [8]. Так, самец, отловленный в долине реки Усури, близ г. Дальнереченск (юго-западный склон Сихотэ-Алиня) в кариотипе имел 6–10 добавочных хромосом. Самка, отловленная из пос. Пограничный (Приханкайская низменность) в кариотипе имела 6, 7, 8 и 10 добавочных хромосом. Обе исследованные косули были мозаичными. У самца обнаружено 5 клонов с В-хромосомами, преобладающим клоном были клетки с 6, 7 и 8 В-хромосомами (25% – каждый клон), 15% клонов с 5, 10% с 10 В-хромосомами. У самки число В-хромосом варьировало от 6 до 10. С четырьмя клонами. Преобладали клоны с 8 (40%) и 10 (30%) В-хромосомами. Клоны с 6 и 7 В-хромосомами были представлены по 15% каждый.

Между косулями Приморского края и Амурской области наблюдается сходство по размаху изменчивости числа В-хромосом (Таблица) и различие по наличию или отсутствию мозаицизма. Однако, небольшое число исследованных особей в Приморском крае и ЕАО, не позволяет делать окончательных выводов о сходстве или различии исследованных популяций.

Сходный размах изменчивости числа добавочных хромосом и у косули из северной Монголии (5–8) [8]. Наибольший размах изменчивости чисел В-хромосом, от 2 до 14, обнаружен у косуль Горного

Распределение чисел В-хромосом сибирской косули *Capreolus pygargus* в исследованных географических районах

Table

The distribution of numbers of B chromosomes of the Siberian roe deer *Capreolus pygargus* in the studied geographical areas

Районы исследования	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
Источник	[8]			[4]	[8]						*	[8]			
n	?	2	?	15	2	1	?	?	1	1	6	1	1 Д	1 П	
пол	?	?	?	1 m 7 m 7 f	2 f	?	?	1 m	2 f	1 f	4 m 2 f	1 m	1 m	1 f	
V=1	есть														
V=2	есть		есть	есть											
V=3				есть											
V=4	есть		есть	есть											
V=5				есть		есть		есть		есть		есть			
V=6				есть		есть		есть		есть		есть		есть	
V=7				есть		есть		есть		есть		есть		есть	
V=8				есть		есть		есть		есть		есть		есть	
V=9															
V=10				есть				есть				есть			
V=11															
V=12				есть											
V=13				есть											
V=14				есть											

Примечание: 1 – Предуралье, 2 – Южный Урал, 3 – Зауралье, 4 – Алтай, 5 – Восточная Монголия (Халкин-Гол), 6 – Сев. Монголия, 7 – Казах стан и Киргизия, 8 – Забайкалье, 9 – Якутия, 10 – А.О., 11 – ЕАО, 12 – Приморский край, Д – Дальнегорск, П – Пограничный, * – наши данные, f – самка, m – самец, ? – неизвестно

Алтая (числа с 9 и 12 не обнаружены).

Для животных Горного Алтая отмечен мозаицизм по числу добавочных хромосом, однако, подробно характер мозаицизма не исследован. Мозаичный кариотип описан для самки из Забайкалья [8] – три клона с 8, 10 и 12 В-хромосомами (процент клонов не указан) и самки из Якутии – три клона с 5 (12,5%) 6 (70,8%) и 7 (16,7%) В-хромосомами. Интересно, что в Якутии, еще одна самка с шестью В-хромосомами, была со стабильным кариотипом [1]. Возможно, мозаицизм по числу В хромосом *C. p. tianschanicus* широко распространен по ареалу, однако небольшое число исследованных особей, не позволяет провести сравнительный анализ по этой характеристике кариотипа.

Для многих регионов, за исключением Алтайского края и Амурской области исследовано от одной до двух особей (Таблица), что также не позволяет говорить о размахе изменчивости чисел В-хромосом ни внутри популяций, ни между популяциями различных географических регионов. Однако, если нанести на карту ареала сибирской косули числа В-хромосом (рис. 2), то можно видеть, что подвид *C. p. tianschanicus*, как правило, имеет большие числа В-хромосом (до 14), чем *C. p. pygargus* (до 4). Обращает на себя внимание число В-хромосом (6–8) косуль *C. p. pygargus* из Якутии, которое сходно с числами В-хромосом *C. p. tianschanicus*, что

может свидетельствовать о кариотипическом сходстве косуль Якутии, Амурской области и Приморского края. О генетическом сходстве косуль Якутии с косулями из Амурской области говорят и данные анализа гена контрольного региона мтДНК [15], в то время как по данным исследования микросателлитных локусов ядерного ДНК косули якутской популяции из Якутии ближе к косулям популяций Сибири и Алтая [16]. Популяция косуль Якутии сформировалась в результате естественного расселения вида с Дальнего Востока и Южной Сибири под влиянием природно-климатических изменений [6]. Возможно, смешение популяций двух подвидов привело к формированию гетерогенной популяции имеющей собственные генетические характеристики, включающие числа В-хромосом, близкие таковым, описанные для косуль *C. p. tianschanicus*.

Интересно, что различия подвидов по числу и морфологии В-хромосом наблюдается у еще одного вида млекопитающих – восточноазиатской мыши *Apodemus peninsulae* Pall. При этом подвиды *A. peninsulae* имеют различия по числу микро и макро (хромосомы с видимой морфологией) В-хромосом: в Сибири и Забайкалье [12] – *A. p. nigritalus* Hollister, 1913 (В=0–10 макро + 0–20 микро); в Монголии – *A. p. major* Radde, 1862 non Pallas, 1779 (В=1–5 макро + 0–11 микро); Дальнем Востоке России – *A. p. praetor* Miller, 1914 (В=0–7 макро); Ко-

рее – *A. p. peninsulae* Thomas, 1906 (B=1–6 макро); Японии – *A. p. giliacus* Thomas, 1907 (B=1–5 макро + 1–9 микро); Китае – *A. p. sowerbyi* Jones, 1956 (B=0–1 макро + 0–13 микро).

Из выше сказанного можно сделать выводы:

1) по кариотипическим характеристикам подвид *C. p. pygargus* имеет меньший диапазон изменчивости чисел В-хромосом, чем *C. p. tianschanicus*; 2) кариотипы шести сибирских косуль из Амурской области, в отличие от кариотипов косуль Приморского края стабильны, числа В-хромосом соответствуют таковым *C. p. tianschanicus* и варьируют от 3 до 8; 3) размах изменчивости чисел В-хромосом Якутии ближе к таковому *C. p. tianschanicus*, а не *C. p. pygargus*; 4) кариотип сибирской косули нуждается в дальнейших исследованиях.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Боескоров Г.Г. Кариотип сибирской косули (*Capreolus pygargus* Pall.) с северной границы ареала // Доклады АН. 1998. Т. 359, № 5. С. 713–715.
2. Боескоров Г.Г., Данилкин А.А. О таксономическом статусе сибирской косули (*Capreolus pygargus*, Cervidae) Центральной Якутии // Зоологический журнал. 1998. Т. 77, № 9. С. 1–4.
3. Графодатский А.С., Раджабли С.И. Хромосомы сельскохозяйственных и лабораторных животных. Атлас. Новосибирск: Наука, 1988. 128 с.
4. Графодатский А.С., Шаршов А.А., Шутов В.В. Добавочные хромосомы косуль Алтая // Экология, морфология, использование и охрана диких копытных. М., 1989. Т. 1. С. 147.
5. Графодатский А.С., Шаршов А.А., Шутов В.В. Кариотипические взаимоотношения Cervidae // Зоологический журнал. 1990. Т. 69, № 4. С. 101–113.
6. Данилкин А.А. Косули (биологические основы управления ресурсами). М.: Товарищество научных изданий КМК, 2014. 316 с.
7. Данилкин А.А., Чистова Т.Ю., Яценко В.Н., Чуудиновская Г.А. О хромосомном полиморфизме косуль // Популяционная изменчивость вида и проблемы охраны генофонда млекопитающих. М., 1983. С. 37.
8. Данилкин А.А., Баскевич М.И. Кариотипы косуль (*Capreolus pygargus*) Дальнего Востока // Зоологический журнал. 1987. Т. 66, № 2. С. 314–317.
9. Звычайная Е.Ю., Данилкин А.А., Холодова М.В., Сипко Т.П., Бербер А.П. Анализ изменчивости контрольного региона и гена цитохрома b мтДНК сибирской косули *Capreolus pygargus* Pall. // Известия РАН. Серия биологическая. 2011. № 5. С. 511–517.
10. Картавцева И.В. Кариосистематика лесных и полевых мышей (Rodentia, Muridae). Владивосток: Дальнаука, 2002. 142 с.
11. Соколов В.Е., Орлов В.Н., Чуудиновская Г.А., Данилкин А.А. Хромосомные различия двух подвидов косуль – *Capreolus capreolus capreolus* L. и *C. c. pygargus* Pall. // Зоологический журнал. 1978. Т. 57, № 7. С. 1109–1112.
12. Шереметьева И.Н., Шереметьев И.С., Картавцева И.В., Журавлев Ю.Н. Полиморфизм короткого фрагмента контрольного региона (ДПЕТЛИ) митохондриального генома сибирской косули *Capreolus pygargus* Pallas, 1771 (Artiodactyla, Cervidae) Дальнего Востока России // Генетика. 2010. Т. 46, № 5. С. 677–684.
13. Kartavtseva I.V., Roslik G.V. A complex B chromosome system in the Korean field mouse, *Apodemus peninsulae* // Cytogenetic and Genome Research. 2004. Vol. 106. P. 271–278.
14. Trifonov V.A., Dementyeva P.V., Larkin D.M., O' Brien P. SM, Perelman P.L., Yang F., Ferguson-Smith M.A., Graphodatsky A.S. Transcription of a protein-coding gene on B chromosomes of the Siberian roe deer (*Capreolus pygargus*) // BMC Biology. 2013. Vol. 11. P. 90–100.
15. Vorobieva N.V., Sherbakov D.Y., Druzhkova A.S., Stanyon R., Tsybankov A.A., Vasil'ev S.K., Shunkov M.V., Trifonov V.A., Graphodatsky A.S. Genotyping of *Capreolus pygargus* fossil DNA from Denisova cave reveals phylogenetic relationships between ancient and modern populations // PLoS One. 2011. Vol. 6. N 8 :e24045. doi: 10.1371/journal.pone.0024045. Epub 2011 Aug 29.

In this paper we analyze the number of B-chromosomes in karyotypes of six Siberian roe deer (Capreolus pygargus tianschanicus) from the migrating population in the Nora River valley of the Amur region. The karyotypes are stable; the number of chromosomes varies from 3 and 8. Three of the six tested animals had 3 B-chromosomes. Supernumerary chromosomes in the deer of the Amur region varied much more (B=3–8) than it had been observed before (B=6–8). On base of the collected and available data we can assume that the range of variation in number of chromosomes at subspecies C. p. tianschanicus (B=3–14) is more than at C. p. pygargus (B=0, 1 to 4). Judging by the available data, clinal variability in chromosomes number at subspecies C. p. tianschanicus has not been found out.

Keywords: B-chromosomes, karyotype, roe deer, *Capreolus pygargus*, subspecies, Far East.