

Евроазиатская региональная ассоциация
зоопарков и аквариумов
Eurasian Regional Association of Zoos and Aquariums

Правительство Москвы
Government of Moscow

Московский государственный зоологический парк
Moscow Zoo

Научные исследования в зоологических парках

Выпуск 29

Scientific Research
in Zoological Parks

Volume 29

Москва

Moscow

2013

Использование биоакустического подхода для определения подвидов и гибридов благородного оленя в зоопарках и питомниках

И.А. Володин^{1,2}

Е.В. Володина²

¹ Биологический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова,

² Московский зоопарк

Благородные олени содержатся во многих зоопарках Евразии. К примеру, замечательная коллекция разных подвидов благородных оленей содержится в Тиерпарке Берлина. Современные требования к зоопаркам запрещают смешивать различные подвиды животных. Однако в настоящее время становится проблемой приобретать действительно чистые подвиды оленей. Эта проблема многих стран Европы, которая в последнее время все чаще возникает и в России. Владельцы оленевых хозяйств и ферм смешивают разные подвиды оленей, приобретая самцов-производителей не по признакам подвидовой чистоты, а только за высокие трофеинные качества рогов. Ниже мы покажем, что генетика далеко не всегда способна разделять подвиды оленей. В этом случае часто может прийти на помощь другая наука – биоакустика.

Как сформировалось разнообразие благородных оленей

Современные благородные олени представляют собой удивительную мозаику из подвидов и их гибридов, в которой непросто разобраться ни ученым, ни охотникам, ни просто любителям этих замечательных животных. Благородный олень как вид *Cervus elaphus* возник примерно два миллиона лет назад в Центральной Азии, откуда затем постепенно, двумя мощными стволами, распространился в двух противоположных направлениях (Гептнер, 1961; Mahmut et al., 2002). Олени западной ветви перешли Кавказ и Карпаты и заселили Европу, а олени восточной ветви перешли Тянь-Шань и заселили Сибирь и Северную Америку. Часть оленей так и не покинула центр происхождения и продолжает жить в тугайных лесах по берегам рек Средней Азии до наших дней.

Помимо естественных процессов расселения, люди сами перемещали оленей с места на место (Гептнер, 1961). Все это продолжалось века, если не тысячелетия. В результате некоторые популяции оленей были истреблены, а затем их стали восстанавливать, но зачастую завозили совсем других оленей, неродственных и непохожих на тех, что жили здесь прежде

(Nussey et al., 2006). Не все перемещения оленей были отражены в исторических документах, из которых многие сейчас утрачены. Поэтому воспроизвести историю перемешивания подвидов благородных оленей сложно, и в результате происхождение многих современных популяций остается неизвестным.

Прежде подвиды благородных оленей различали по размерам, внешнему виду и по форме рогов. Но эти способы неточны и недостаточны для надежного определения подвидов. Здесь могут помочь генетика и биоакустика.

Различия между оленями восточной, западной и центральной ветвей

По внешнему виду, размерам, рогам

Восточные олени крупные, с густой шейной гривой. Рога большие, до 9 кг пары, с 6–7 отростками. Из них самый большой – четвертый, от основания которого рог резко отгибается назад (Гептнер, 1961; Штарев, 1970; Федосенко, 1980).

Западные олени тоже бывают крупные (карпатский, шведский и центрально-европейский), есть и средние (испанский и шотландский) и небольшие (корсиканский и берберийский). Рога быков в природе обычно легче 7 кг, отростков до 12–16, и в концевой части рогов они образуют кустообразную корону (Гептнер, 1961; Штарев, 1970). У подвидов, живущих в холодном климате, шейная грива есть, а у южных ее нет, но нет никакой гарантии, что грива не вырастет у южных оленей после перевозки на север. Климат меняет даже размеры. К примеру, в Новой Зеландии шотландские олени за нескольких поколений подросли чуть ли не на голову.

Центральные олени бухарского подвида довольно крупные, без гривы. Рога обычно легче 5 кг, с 5–6 отростками и не образуют короны.

По генетике

Оленей восточного, западного и центрального стволов можно различать либо по митохондриальной ДНК (генетическому материалу, наследуемому по материнской линии), либо по ядерной ДНК (генетическому материалу, наследуемому от обоих родителей) (Mahmut et al., 2002; Ludt et al., 2004; Meredith et al., 2007). Для такого анализа понадобятся образцы крови или растущей шерсти. Подойдет и порошок, остающийся при распиле или сверлении сброшенного рога.

Олени западной ветви были исследованы наиболее тщательно усилиями четырех научных групп: норвежской (Skog et al., 2009), немецкой (Zachos, Hartl, 2011), польской (Niedzialkowska et al., 2011) и российской (Кузнецова и др., 2012). Ученые нашли у западных оленей несколько групп особых копий генов митохондриальной ДНК (называемых гаплотипами).

Эти гаплотипы, обозначаемые латинскими буквами «A», «B» и «C», возникли соответственно из трех изолятов: Южной Испании, Италии, и Балкан, в которых олени пережидали последний европейский ледниковый период. Когда около 12 тысяч лет назад ледник начал таять, олени из этих изолятов вновь заселили всю Европу.

Олени гаплотипа «A» из южной Испании мигрировали к центру и на север Европы и дали начало шотландскому, шведскому и норвежскому подвидам. Олени гаплотипа «B» из Италии образовали корсиканский и берберийский подвиды. Олени гаплотипа «C» с Балкан дали начало восточноевропейскому и карпатскому подвидам, и затем смешались с оленями гаплотипа «A» на севере Германии и Польши.

Олени пока еще анонимного четвертого гаплотипа, который вероятно назовут «D», одинаково неродственны оленям гаплотипов «A» и «C». Этот «D»-гаплотип был обнаружен у оленей немецкого происхождения в Воронежском заповеднике в России (Кузнецова и др., 2012). Из этого заповедника часть оленей была расселена по другим местам России, к примеру, в Брянский заповедник и Александровский лес Ростовской области.

По голосу самцов

Особенности гонных криков быков надежно разделяют самцов западного, центрального и восточного стволов оленей. Впервые такой способ биоакустической диагностики благородных оленей был предложен А.А. Никольским с соавторами (1979). Все западные быки ревут басом, а все восточные кричат пронзительные высокие бугли. Центральные способны и к реву и к буглям, но менее специализированы и в том, и в другом, хотя способны издавать рев и бугль одновременно, как бы в два голоса (Volodin et al., 2013).

Рев отличается от буглей на слух, а также визуально на изображениях этих звуков на компьютере (рис. 1). Такое изображение может построить любой пользователь компьютера при помощи программ для анализа звука, профессиональных либо хороших бесплатных (к примеру, www.praat.org).

Различия между западными подвидами оленей

По голосу самцов

Самцы разных подвидов западной ветви также различаются между собой по гонным крикам. Как ни удивительно, но самый низкий бас обнаружен у миниатюрных корсиканских самцов, притом что среднего размера шотландские и довольно крупные восточно-европейские самцы кричат более высокими голосами (Reby, McComb, 2003; Kidjo et al., 2008). По нашим данным, неразличимые по генетике испанский и шотландский подвиды (оба гаплотипа «A») легко различимы по гонным крикам самцов (Frey et al., 2012, рис. 2). В этом случае биоакустика помогает там, где

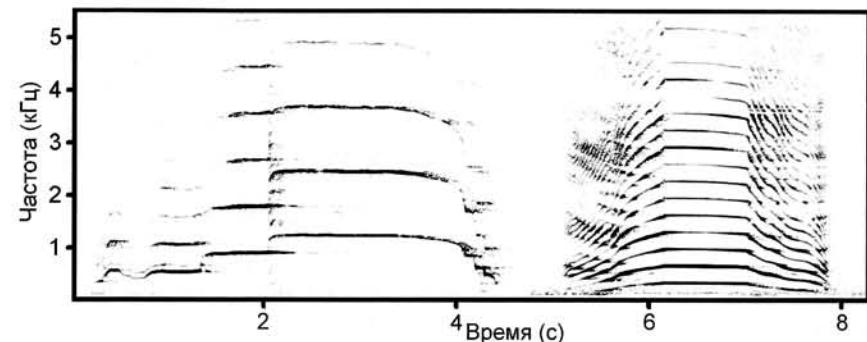


Рис. 1. Компьютерные изображения звуков демонстрируют очень сильные различия между гонными криками восточного и западного самцов. Слева – бугль сибирского марала, справа – рев испанского оленя. Как и у людей, у оленей звуки производятся с помощью парных голосовых связок, расположенных в гортани, которые колеблются с частотой несколько сотен или тысяч раз в секунду. Эта частота носит название основной частоты звука и измеряется в Герцах ($1 \text{ Гц} = 1 \text{ колебание в секунду}$). На изображениях звуков – спектрограммах, показывающих зависимость частоты звука от времени, частота колебаний голосовых связок прорисована в виде самой нижней в стопке лежащих друг над другом полос. Звуки и видео кричящих оленей разных подвидов представлены на сайте http://www.bioacoustica.org/gallery/mammals_rus.html#cervus

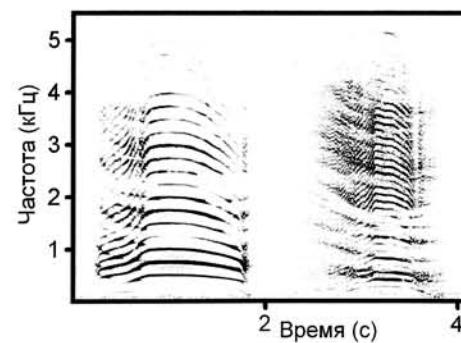


Рис. 2.
Компьютерное изображение звуков необходимо для того, чтобы различить рев испанского (слева) и шотландского (справа) оленей

не работает генетика. Возможное объяснение – это то, что временной период в 12 тысяч лет, который прошел со времени расхождения испанского и шотландского подвидов после окончания последнего ледникового периода оказался слишком коротким для того, чтобы отразиться в структуре ДНК. Но этого времени оказалось достаточно для того, чтобы у оленей изменился голос.

По крикам самок и оленят

Голос самок западных подвидов низкий, как у западных самцов.

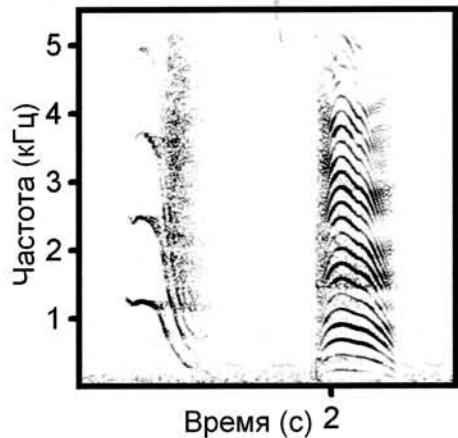


Рис. 3.

Крики оленух из восточной (слева – самка сибирского марала) и западной (справа – самка испанского оленя) ветви различаются также сильно, как крики восточных и западных самцов

А у восточных самок голоса высокие, как у восточных самцов (рис. 3). Самые низкие голоса оленух обнаружены у корсиканского подвида, в точности как у самцов этого подвида (Kidjo et al., 2008). Однако у любого подвида крики самок гораздо короче и тише чем крики самцов (если не считать тревожный лай, одинаково громкий у обоих полов).

Самки часто кричат, когда общаются с оленятами. Обычно самки и оленята начинают кричать, когда отделены друг от друга, к примеру, для ветеринарных процедур, взвешивания, дойки, или в научных целях. Западные оленята кричат ниже восточных взрослых, так что можно сказать, что эти малютки кричат басом!

По вокальному поведению

Самцы западных оленей во время гонных ревов оттягивают свой кадык вниз до самой грудины, а самцы восточных оленей только до середины

шеи (Frey, Riede, 2013). Это связано с длиной особой растяжимой ткани – вокального лигамента, на которой закреплен кадык, и которая при крике тянется, как резинка. У восточных оленей лигамент короче, чем у западных. Особенно хорошо смещение кадыка вниз при крике заметно у оленей без шейной гривы. Но даже если грива есть, то видно, как кадык после окончания крика рывком взлетает вверх, словно отпущенная пружина, возвращаясь на свое обычное место вверху шеи. Лучше всего это видно на видеозаписях кричащих оленей, снятых в профиль, особенно если просматривать их кадр за кадром.

Можно ли отличить гибридов между оленями западной и восточной ветвей?

По генетике?

Европейских (западных) оленей многократно скрещивали с американскими (восточными) вапити чтобы получить потомство с большими рогами. Так в результате этих попыток рога не увеличились, то эти эксперименты были прекращены (Hartl et al., 2003). Если судить по историческим хроникам, то 14 оленевых парков в Англии неоднократно гибридизировали оленей шотландского подвида с американским вапити. Тем не менее, ядерная ДНК современных оленей из этих парков не содержит никаких следов ДНК вапити (Perez-Espina et al., 2011).

В чем же причина отсутствия следов вапити в геноме потомков этих гибридов? Прежде всего, это может быть результатом того, что вышеупомянутые генетические исследования проводили на Y-хромосоме, которая наследуется от отца к сыну. Поэтому признаки вапити могли и проглядеть в том случае, если они наследовались по материнской линии. Кроме того, известно, что хотя быки вапити крупнее, местные шотландские самцы более активны и агрессивны. Поэтому в тех случаях, когда самцов вапити размножали не в вольере с группой самок, а выпускали бегать свободно, аборигенные самцы могли монополизировать большинство спариваний с самками, исключив таким путем вапити из размножения. Помимо этого, во влажном английском климате вапити страдают от болезни копыт, которая снижает их жизнеспособность (Perez-Espina et al., 2011).

По голосам самцов?

Вымывание признаков вапити из потомков между гибридами шотландских оленей с вапити подтвердило и наш биоакустический экспресс-анализ нескольких гонных криков, записанных в парке Вобурн Людеком Бартошем и присланного нам для исследования. Все эти крики оказались ревами западного типа, без какого либо следа бутлей вапити. При этом было точно известно, что гибридизация с вапити имела место несколько поколений назад.

Сейчас в среднюю полосу России из восточных оленей попадают преимущественно не американские вапити, а сибирские маралы. Хотя результаты длительного содержания сибирских маралов в средней полосе России еще не опубликованы, вполне возможно, что более сухой, чем в Англии климат этого региона, может оказаться для них подходящим. Также и гибриды сибирского марала с европейскими подвидами могут в этом климате оказаться жизнестойкими. Изменятся ли крики у перемещенных маралов? Как будут кричать гибриды? Пока мы этого не знаем, это должны показать будущие исследования.

Как обнаруживать по голосу гибридов между разными западными подвидами?

По нашим предварительным данным (прежде всего, из-за дефицита удобных площадок для такой работы), гибридные быки между шотландским и восточно-европейским подвидом издают очень разнообразные гонные крики. Некоторые кричат очень похоже на один из родительских подвидов, в то время как другие издают крики, промежуточные между двумя родительскими подвидами. Что еще более удивительно, гибриды могут производить крики, которые не похожи ни на один из родительских подвидов, но при этом показывают близкое сходство с каким-нибудь из других, посторонних европейских подвидов.

В то же время, наши данные по гонным крикам самцов испанского подвида говорят о том, что у негибридных особей изменчивость акустических признаков гонных криков быков минимальна. Все гонные ревы испанских самцов из двух заповедников, двух охотхозяйств и с экспериментальной фермы Университета Кастилья Ла-Манча были очень похожими друг на друга по всем измеренным акустическим параметрам. Иными словами, если это испанский подвид, то он будет кричать одинаково вне зависимости от места, откуда прибыл (Frey et al., 2012; Passilongo et al., 2013).

Таким образом, большая изменчивость гонных криков среди самцов может указывать на их гибридное происхождение, хотя это пока только гипотеза. Нужно исследовать больше криков от гибридов и не-гибридов для того чтобы установить наследуемость структуры гонных криков у разных подвидов благородных оленей.

Как отличить гибридов между благородным и пятнистым оленем?

Олени европейских подвидов способны скрещиваться со своими дальневосточными родичами – пятнистыми оленями *Cervus nippon*. По данным исследований, проведенных в Англии, известно, что если пят-

нистые и благородные олени сосуществуют вместе на одной территории, то примерно одно из 500 спариваний происходит между пятнистым и благородным оленем (Zachos, Hartl, 2011). Эти гибриды плодовиты и засоряют популяцию благородного оленя чужеродными генами.

По голосу самцов

Этих гибридов было предложено выявлять биоакустическими методами. Группа английских исследователей под руководством А.М. Лонга сравнили звуки самцов благородных оленей, пятнистых оленей и их гибридов, и обнаружили, что звуки метисов обличаются от обеих чистых форм (Long et al., 1988). Безусловно, гибридных особей между пятнистым и благородным оленем можно распознать также и генетически. Однако для этого оленя придется поймать и взять у него образцы ДНК для последующих лабораторных исследований. Это не всегда возможно со свободноживущими оленями, поэтому биоакустический метод для поиска и выбраковки таких гибридных самцов во время гона может оказаться предпочтительней. Что же касается гибридных самок, пока их звуки не изучены. И это еще одно из перспективных направлений дальнейших исследований.

Благодарности

Мы выражаем искреннюю благодарность Томасу Ландете-Кастильехос (Dr. Tomas Landete-Castillejos) за возможность проведения исследований на экспериментальной ферме университета Кастилия Ла-Манча, и Людеку Бартушу (Dr. Ludek Bartos) из предоставление звуков гибридных оленей для анализа. Исследование было поддержано РФФИ (грант 12-04-00260а).

Список литературы

Гептнер В.Г. Настоящий, благородный олень // Млекопитающие Советского Союза. Т. 1. Парнокопытные и непарнокопытные. М.: Высшая школа. 1961. С. 121–172.

Кузнецова М.В., Данилкин А.А., Холодова М.В. Филогеография благородного оленя (*Cervus elaphus*): данные анализа полиморфизма митохондриального гена цитохрома b // Известия РАН, Серия биол. 2012. №4. С. 391–398.

Никольский А.А., Переладова О.Б., Рутовская М.В., Формозов Н.А. Географическая изменчивость признаков брачного крика самцов настоящих оленей // Бюллетень МОИП, отдел биологический, 84, вып. 6. 1979. С. 46–55.

Федосенко А.К. Марал (экология, поведение, хозяйственное значение). Алма-Ата: Наука. 1980. 200 с.

Штарев Ю.Ф. Результаты акклиматизации марала в Мордовской АССР // Труды Мордовского государственного заповедника им. П.Г. Смирновича. Вып. 5. Саранск. 1970. С. 137–170.

Frey R., Riede T. The anatomy of vocal divergence in North American elk and European red deer // *Journal of Morphology*, 274. 2013. P. 307–319.

Frey R., Volodin I., Volodina E., Carranza J., Torres-Porras J. Vocal anatomy, tongue protrusion behaviour and the acoustics of rutting roars in free-ranging Iberian red deer stags (*Cervus elaphus hispanicus*) // *Journal of Anatomy*, 220. 2012. P. 271–292.

Hartl G.B., Zachos F., Nadlinger K. Genetic diversity in European red deer (*Cervus elaphus* L.): anthropogenic influences on natural populations // *Comptes Rendus Biologies*, 326. 2003. P. 37–42.

Kidjo N., Cargnelutti B., Charlton B.D., Wilson C., Reby D. Vocal behaviour in the endangered Corsican deer: description and phylogenetic implications // *Bioacoustics*, 18. 2008. P. 159–181.

Long A.M., Moore N.P., Hayden T.J. Vocalizations in red deer (*Cervus elaphus*), sika deer (*Cervus nippon*), and red × sika hybrids // *Journal of Zoology*, 224. 1998. P. 123–134.

Ludt C.J., Schroeder W., Rottmann O., Kuehn R. Mitochondrial DNA phylogeography of red deer (*Cervus elaphus*) // *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 31. 2004. P. 1064–1083.

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 // *Zoological Science*, 19. 2002. P. 485–495.

Meredith E.P., Rodzen J.A., Banks J.D., Schaefer R., Ernest H.B., Famula T.R., May B.P. Microsatellite analysis of three subspecies of elk (*Cervus elaphus*) in California // *Journal of Mammalogy*, 88. 2007. P. 801–808.

Niedzialkowska M., Jedrzejewska B., Honnen A.C., Otto T., Sidorovich V.E., Perzanowski K., Skog A., Hartl G.B., Borowik T., Bunevich A.N., Lang J., Zachos F.E. Molecular biogeography of red deer *Cervus elaphus* from Eastern Europe: insights from mitochondrial DNA sequences // *Acta Theriologica*, 56. 2011. P. 1–12.

Nussey D.H., Pemberton J., Donald A., Kruuk L.E.B. Genetic consequences of human management in an introduced island population of red deer (*Cervus elaphus*) // *Heredity*, 97. 2006. P. 56–65.

Passilongo D., Reby D., Carranza J., Apollonio M. Roaring high and low: composition and possible functions of the Iberian stag's vocal repertoire // *PLoS ONE* 8(5):e63841. 2013. doi:10.1371/journal.pone.0063841

Perez-Espona S., Perez-Barberia F.J., Pemberton J.M. Assessing the impact of past wapiti introductions into Scottish Highland red deer populations using a Y chromosome marker // *Mammalian Biology*, 76. 2011. P. 640–643.

Reby D., McComb K. Anatomical constraints generate honesty: acoustic cues to age and weight in the roars of red deer stags // *Animal Behaviour*, 65. 2003. P. 519–530.

Skog A., Zachos F.E., Rueness E.K., Feulner P.G.D., Mysterud A., Langvatn R., Lorenzini R., Hmwe S.S., Lehoczky I., Hartl G.B., Stenseth N.C., Jakobsen K.S. Phylogeography of red deer (*Cervus elaphus*) in Europe // *Journal of Biogeography*, 36. 2009. P. 66–77.

Volodin I., Volodina E., Frey R., Carranza J., Torres-Porras J. Spectrographic analysis points to source-filter coupling in rutting roars of Iberian red deer // *Acta Ethologica*, 16. 2013. P. 57–63.

Zachos F.E., Hartl G.B. Phylogeography, population genetics and conservation of the European red deer *Cervus elaphus* // *Mammal Review*, 41. 2011. P. 138–150.

Summary

I.A. Volodin, E.V. Volodina. *Applying bioacoustical approach for discriminating across subspecies of red deer and their hybrids in zoos*. Many zoos keep different subspecies of red deer *Cervus elaphus* in their collections. Mixing subspecies is not accepted practice for zoo collections. However, identifying subspecies of red deer can be problematic. In addition, deer managers in all countries are mixing up different deer subspecies in attempts to obtain best trophy animals. The current DNA techniques often fail to discriminate subspecies. In some cases, bioacoustics is more powerful tool for this purpose. This paper shows how bioacoustic and genetic approaches can interact for identifying subspecies of deer. The red deer originated in Central Asia two million years ago and then migrated in two opposite directions, with two stems. The Western stem colonized the Europe, whereas the Eastern one inhabited the Siberia and North America. The Central stem deer remained in Middle Asia. The Eastern, Western or Central stems can be discriminated by mitochondrial or nuclear DNA or by stag rutting calls. The Western stags produce roars, whereas the Eastern stags produce bugles, and the Central stem stags produce both bugles and roars and biphonic bugle-roars. Roars differ from bugles by ear or by spectrograms. The Western stem red deer comprises a few groups of haplotypes of mitochondrial DNA. The haplotypes «A», «B» and «C» emerged respectively from three isolates, where red deer survived during the Ice Period: Southern Spain, Italy, and Balkans. After ice melting, which started 12,000 years ago, red deer from these isolates again re-colonized the Europe. Deer of «A» haplotype, from Spain, gave rise to Scottish, Swedish and Norwegian subspecies. Deer of «B» haplotype, from Italy, turned to be Corsican and Barbarian subspecies. Deer of «C» haplotype, from the Balkan Peninsula, gave rise to the Eastern-European

an and Carpathian subspecies. Deer of an anonymous fourth haplotype, which probably will be named «D», are equally unrelated to deer of «A» and «C» haplotypes. Deer of «D» haplotype were found in animals in the Voronezh State reserve. Within the Western stem, stags of different subspecies differ by their rutting calls. By our findings, undistinguishable by genetics Spanish and Scottish subspecies (both of «A» haplotype) can be easily discriminated by their stag rutting roars. In this case, bioacoustics works where genetics fails. In addition, our data suggest that in non-hybrids, acoustic variation of male rutting calls is minimal, whereas hybrids produce very variable calls. More research of calls from hybrids and non-hybrids is necessary to test this hypothesis.

Аналитические и обзорные статьи
