

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АРХАРА *Ovis ammon ammon*, СНЕЖНОГО БАРАНА *O. nivicola borealis* И ИХ ГИБРИДОВ*

В.А. БАГИРОВ¹, П.М. КЛЕНОВИЦКИЙ¹, Б.С. ИОЛЧИЕВ¹, Н.А. ЗИНОВЬЕВА¹,
В.В. КАЛАШНИКОВ², О.В. ШИЛО³, В.А. СОЛОШЕНКО⁴, Ш.Н. НАСИБОВ¹,
В.П. КОНОНОВ¹, А.В. КОЛЕСНИКОВ⁵

Резервом развития отечественного овцеводства может послужить гибридизация домашних овец с дикими представителями рода *Ovis*, позволяющая обогатить генофонд пород за счет внесения в него ценных генетических задатков, присущих диким сородичам. Гибридизация близкородственных видов также способна оказаться эффективным методом реконструкции и восстановления исчезающих представителей фауны. Нами была выполнена гибридизация снежного барана *Ovis nivicola borealis* и архара *O. ammon ammon* (соответственно отцовская и материнская формы), получено жизнеспособное плодовитое гибридное потомство и проведено сопоставление кариотипов архара, снежного барана, а также их гибрида. Поскольку родительские виды имеют различные диплоидные числа и неодинаковое число двуплечих аутосом, при нумерации хромосом и построении кариограммы мы использовали идеограмму, которая была основана на кариотипе козы, дополненном группой метacentрических хромосом. Результаты цитогенетического анализа в совокупности с данными о плодовитости гибридного потомства указывают на высокую степень близости сравниемых видов.

Ключевые слова: снежный баран *Ovis nivicola borealis*, архар *O. ammon ammon*, гибридизация, кариотип.

Keywords: *Ovis nivicola borealis*, *O. ammon ammon*, hybridization, karyotype.

В России в силу суровых природно-климатических условий овцеводство всегда было важной отраслью сельского хозяйства, обеспечивающей потребности населения и легкой промышленности в продуктах питания и специфических видах животного сырья. В ряде случаев овцы — единственный вид животных, способных использовать имеющиеся природные ресурсы.

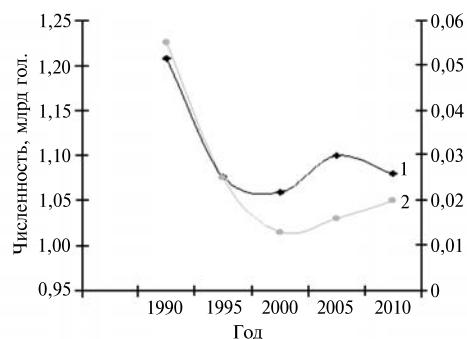


Рис. 1. Динамика численности поголовья овец в миллиардах голов в мире (1, ось слева) и в России (2, ось справа).

1079 млн гол. Минимальная численность овец (1060 млн гол.) приходилась на 2000 год, к 2005 году их поголовье незначительно увеличилось и достигло примерно 1100 млн гол., однако в течение следующего пятилетия произошел очередной спад численности. Стабильный рост поголовья овец в анализируемый период наблюдался лишь в Азии и Африке (соответ-

Большое разнообразие условий разведения и содержания привело к созданию приспособленных к ним многочисленных пород и породных групп овец с широким спектром генетически обусловленных морфологических и продуктивных качеств. Считается, что в настоящее время в мире существует около 850 пород овец (1).

По данным FAO (2), по сравнению с 1990 годом в 2010 году поголовье овец в мире снизилось на 10,7 %, составив при этом

* Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ, проект № 2012-1.4-12-000-2022-4509. В проведении исследований использовано оборудование ЦКП «Биоресурсы и биоинженерия сельскохозяйственных животных» ГНУ ВИЖ Россельхозакадемии.

венно на 29 и 45 %), тогда как в остальных регионах оно значительно уменьшилось (в целом по Америке — на 25 %, по Европе и Океании — на 56 %).

В России в период с 1990 по 2000 год поголовье сократилось в 4,2 раза (с 55 до 13 млн гол.), однако в последнее десятилетие наблюдался его рост, и в 2010 году численность овец составила около 2 млн гол. (рис. 1). Несмотря на наметившиеся положительные перемены, отечественное овцеводство постоянно требует особого внимания. Резервом развития отрасли может послужить гибридизация с дикими представителями рода *Ovis*, позволяющая обогатить генофонд домашних овец за счет привнесения в него ценных генетических задатков, присущих диким сородичам (3). Гибридизация близкородственных видов способна также оказаться эффективным методом реконструкции и восстановления исчезающих видов (4-10).

Ареал диких овец охватывает обширную территорию от островов Средиземного моря и областей Передней Азии до Камчатки на Евразийском континенте и на западе Северной Америки. Представители рода *Ovis* хорошо приспособлены к жизни в различных географических зонах (от степей до горных хребтов), верхняя граница их обитания проходит на высоте 5000 м над уровнем моря (11).

В систематике диких баранов до настоящего времени нет единого взгляда на структуру рода *Ovis*. Наиболее обосновано выделение семи видов диких овец — уриал (*Ovis vignei*), муфлон европейский (*O. musimon*), муфлон азиатский (*O. orientalis*), архар, или горный баран (*O. amton*), снежный баран (*O. nivicola*), толсторог (*O. canadensis*), тонкорог (*O. dalli*). Результаты цитогенетических (12-15) и молекулярно-генетических (16-19) исследований однозначно свидетельствуют о том, что предком домашней овцы был азиатский муфлон (*O. orientalis*). Участие в домesticации уриала и архара противоречит этим данным. В отношении муфлона европейского (*O. musimon*) высказано предположение, что он является потомком одичавших овец (1). Хотя в овцеводстве имеется опыт получения гибридов домашней овцы с представителями разных видов диких баранов (5-7, 20-23), данные о гибридизации видов диких баранов между собой в литературе отсутствуют.

Цель настоящей работы заключалась в получении гибридов архара (*O. amton amton*) со снежным бараном (*Ovis nivicola borealis*) и их кариотипическом изучении.

Методика. В экспериментах по гибридизации в качестве отцовской формы был взят снежный баран (*Ovis nivicola borealis*), материнской — матки архара (*O. amton amton*). При цитогенетическом анализе исходных видов и гибрида материалом для исследования служила 72-часовая культура периферических лимфоцитов, стимулированных конканавалином А (ООО «ПанЭко», Россия) в дозе 10 мкг/мл. Культивирование, получение и обработку препаратов хромосом проводили по общепринятой методике с внесенными нами модификациями (24).

Результаты исследования документировали с помощью цифровой видеокамеры КС-583С («Digital», Тайвань) и пакета программ, совместимых с Windows. Обработку изображений и кариотипирование осуществляли по описанной ранее методике (25).

Результаты. Полагают, что исходный кариотип полорогих (*Bovidae*) содержал 60 хромосом, включая 29 пар одноплечих аутосом. Расхождение ветвей, давших начало современным представителям этого семейства, произошло 15-20 млн лет назад. Из современных полорогих кариологически наиболее близки к предковой форме представители рода *Capra*, обладающие хромосомной мономорфностью (26, 27).

Род *Ovis* характеризуется четко выраженным хромосомным полиморфизмом. Входящие в него виды образуют четыре хромосомных класса. Принято считать, что хромосомные наборы в пределах рода *Ovis*, как и у всех полорогих, эволюционировали посредством центрических слияний. Первый, самый древний хромосомный класс с $2n = 58$ включает один вид — *O. vignei*. Кариотип уриала содержит только одну пару метacentрических хромосом. Ко второму классу относится архар, или горный баран (*O. ammon*, $2n = 56$), в кариотипе которого имеются две пары метacentрических хромосом. В третий класс входит муфлон европейский (*O. musimon*), муфлон азиатский (*O. orientalis*), толсторог (*O. canadensis*), тонкорог (*O. dalli*) и домашняя овца (*O. aries*). Кариотипы указанных видов идентичны, они содержат 54 хромосомы, в том числе три пары метацентриков. Эволюционно более молодой четвертый класс с $2n = 52$, включающий единственный вид — снежного барана (*O. nivicola*). В кариотипе снежного барана представлены четыре пары метacentрических хромосом.

К ранним попыткам выявить соответствие между хромосомами козы и разных видов рода *Ovis* относятся работы Т.Д. Bunch с соавт. (28, 29). Первоначально Т.Д. Bunch на основании результатов дифференциального G-окрашивания считал, что метacentрические хромосомы у всех видов овец возникли в результате четырех робертсоновских транслокаций, соответствующих центрическим слияниям козьих хромосом 1/5-й, 3/10-й, 4/9-й и 11/17-й (29). Позднее, исследуя кариотип у барана Северцова (*O. ammon severtzovi*), Т.Д. Bunch с соавт. (30) показали, что это подвид архара. Авторы отметили, что метацентрики у архара эквиваленты 1-й, 3-й, 5-й и 11-й хромосомам предкового кариотипа *Ovis*.

В результате применения дифференциального окрашивания с высоким разрешением удалось уточнить, какие эволюционные преобразования предкового кариотипа происходили в процессе дивергенции рода *Ovis*. Первая пара двуплечих хромосом у всех современных овец образовалась в результате слияния акроцентрических хромосом, соответствующих 1-й и 3-й парам хромосом предковой формы. Впервые она появилась у уриала (*O. vignei*, $2n = 58$) и присутствует у всех истинных овец с хромосомными числами 56, 54 и 52. Вторая пара метacentрических хромосом возникла при объединении 2-й и 8-й хромосом, которое произошло у предка архара и сохраняется у горных баранов с диплоидными числами 56, 54 и 52. Третья пара двуплечих хромосом сформировалась вследствие центрического слияния 5-й и 11-й хромосом, что привело к появлению видов с кариотипом, содержащим 54 хромосомы. Этот метацентрик присутствует и у снежного барана, кариотип которого содержит 52 хромосомы. Уменьшение диплоидного числа при образовании кариотипа *O. nivicola* произошло в результате слияния 9-й и 19-й хромосом (31).

Как показал анализ специальной литературы, цитогенетические исследования диких овец, выполненные на уровне подвидов, далеко не полны. В частности, из семи подвидов азиатского снежного барана (32, 33) кариотип описан только у *O. nivicola nivicola* (14, 34).

При сопоставлении кариотипов архара и снежного барана, а также их гибрида мы столкнулись с методической проблемой: поскольку оба исходных вида имеют различные диплоидные числа и неодинаковое число двуплечих аутосом, построение и сравнительное описание кариотипов с применением стандартных принципов кариотипирования было затруднено. Поэтому при нумерации хромосом и построении кариограммы мы использовали идеограмму, основанную на кариотипе козы (базовая часть), которую дополняли группой метacentрических хромосом. В зависимости

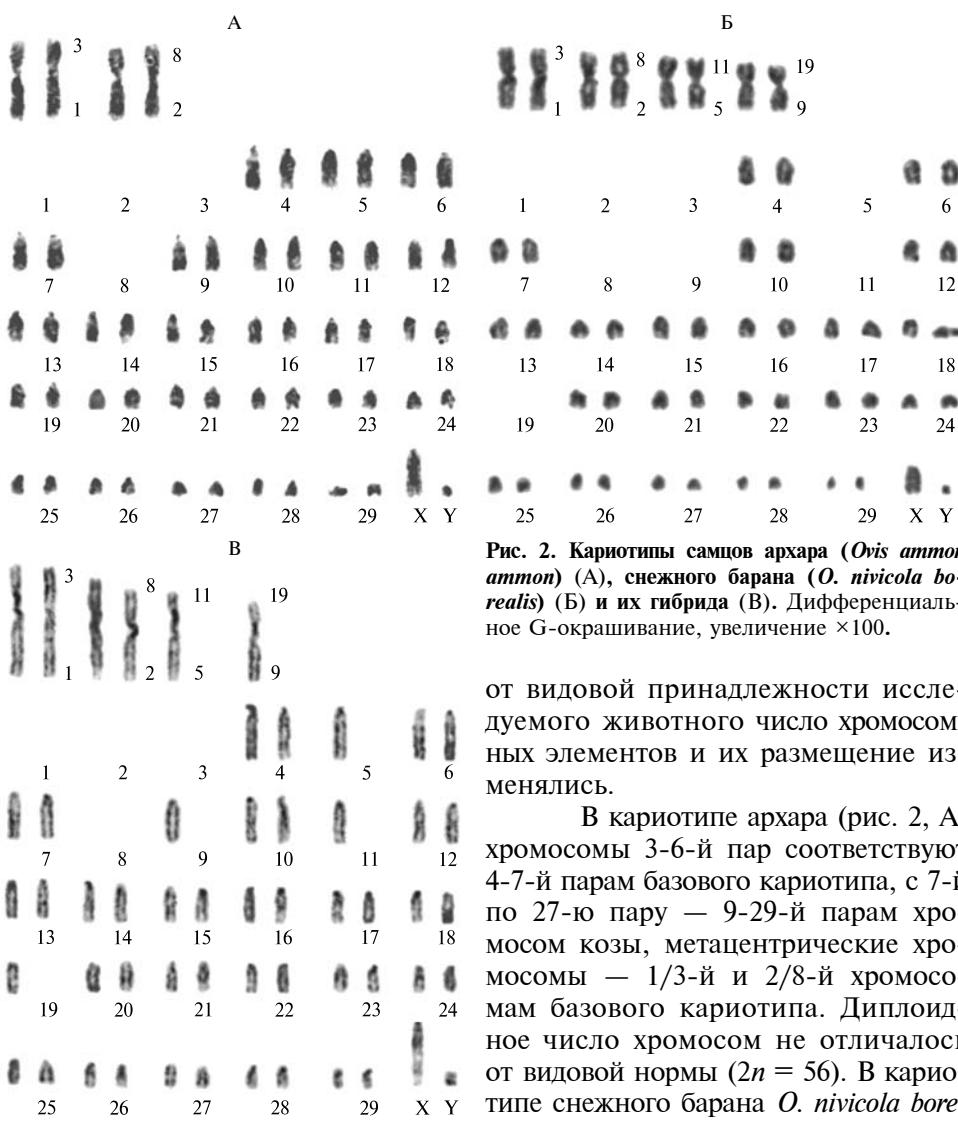


Рис. 2. Кариотипы самцов архара (*Ovis ammon ammon*) (А), снежного барана (*O. nivicola borealis*) (Б) и их гибрида (В). Дифференциальное G-окрашивание, увеличение $\times 100$.

от видовой принадлежности исследуемого животного число хромосомных элементов и их размещение изменились.

В кариотипе архара (рис. 2, А) хромосомы 3-6-й пар соответствуют 4-7-й парам базового кариотипа, с 7-й по 27-ю пару — 9-29-й парам хромосом козы, метacentрические хромосомы — 1/3-й и 2/8-й хромосомам базового кариотипа. Диплоидное число хромосом не отличалось от видовой нормы ($2n = 56$). В кариотипе снежного барана *O. nivicola borealis* (см. рис. 2, Б) диплоидное число

хромосом равнялось 52, как и у *O. nivicola nivicola* (35), акроцентрики соответствовали 4-й, 6-й, 7-й, 10-й, с 12-й по 18-й и далее с 20-й по 29-ю хромосому базового кариотипа, метacentрики — 1/3-й, 2/8-й, 5/11-й и 9/19-й хромосомам базового кариотипа. У гибрида снежного барана с архаром (см. рис. 2, В) хромосомное число равнялось теоретически ожидаемому ($2n = 54$). Метacentрические хромосомы были представлены двумя парами гомологов, соответствующими хромосомам 1/3-й и 2/8-й исходного кариотипа, унаследованным как от отца, так и от матери, и двумя непарными метacentриками (5/11-я и 9/19-я), полученными от снежного барана. Парные акроцентрики, унаследованные от обоих родителей, соответствовали базовым хромосомам 4-й, 6-й, 7-й, 10-й, 12-18-й и 29-29-й, непарные акроцентрики, полученные от архара, — базовым хромосомам 5-й, 9-й, 11-й и 19-й. У животных исходных видов и гибридов в базовой части идеограммы отсутствовали 1-я, 2-я, 3-я и 8-я хромосомы, соответствующие 1-й и 2-й метacentрическим.

У всех исследованных животных фенотипический пол совпадал с определенным по составу половых хромосом. У архара, снежного барана и их гибридов X-хромосома представляла собой крупный акроцентрик, тогда как Y-хромосома была мелким метacentриком.

Как показали исследования, гибридные самцы первого поколения F₁ были плодовитыми, что редко происходит при отдаленной гибридизации. Аналогичные результаты получены при гибридизации домашних овец с камчатским снежным бараном *O. nivicola nivicola* (35). В совокупности с данными цитогенетического анализа это указывает на высокую степень близости сравниваемых видов.

Таким образом, получено жизнеспособное плодовитое гибридное потомство и проведено сопоставление кариотипов архара, снежного барана и их гибрида. Результаты цитогенетического анализа и данные о плодовитости гибридного потомства указывают на высокую степень близости сравниваемых исходных видов. Плодовитость созданных гибридных самцов — важное качество, позволяющее тиражировать ценных особей в широких масштабах, что составляет основу для формирования высокопродуктивных популяций овец.

ЛИТЕРАТУРА

1. Состояние всемирных генетических ресурсов животных в сфере продовольствия и сельского хозяйства. Рим—М., 2010.
2. <http://faostat.fao.org/default.aspx>
3. Коробицына К.В., Воронцов Н.Н. Хромосомные наборы диких баранов и пути использования генофонда рода в отдаленной гибридизации с домашними овцами. Биологические исследования на Дальнем Востоке, 1975, 1: 135-158.
4. Багиров В.А., Насибов Ш.Н., Кленовицкий П.М., Лесин С.А., Воеводин В.А., Зиновьева Н.А., Эрнст Л.К., Калашников В.В., Солошенко В.А. Сохранение и рациональное использование генофонда животных. Докл. РАСХН, 2009, 2: 37-40.
5. Насибов Ш.Н., Багиров В.А., Кленовицкий П.М., Иолчиев Б.С., Зиновьева Н.А., Воеводин В.А., Амиршоев Ф.С. Генетический потенциал дикой фауны в создании новых селекционных форм животных. Достижения науки и техники АПК, 2010, 8: 59-62.
6. Насибов Ш.Н., Багиров В.А., Кленовицкий П.М., Иолчиев Б.С., Зиновьева Н.А., Воеводин В.А. Сохранение и рациональное использование генофонда снежного барана. Достижения науки и техники АПК, 2010, 12: 63-65.
7. Насибов Ш.Н., Иолчиев Б.С., Кленовицкий П.М., Багиров В.А., Воеводин В.А., Зиновьева Н.А. Криосохранение и рациональное использование генетических ресурсов овец и коз. Достижения науки и техники АПК, 2010, 9: 50-51.
8. Багиров В.А., Гладырь Е.А., Эрнст Л.К., Кленовицкий П.М., Зиновьева Н.А., Насибов Ш.Н. Сохранение и рациональное использование генетических ресурсов яка (*Bos mutus*). С.-х. биол., 2009, 2: 37-42.
9. Багиров В.А., Кленовицкий П.М., Насибов Ш.Н., Иолчиев Б.С., Зиновьева Н.А., Эрнст Л.К., Гусев И.В., Кононов В.П. Рациональное использование генетических ресурсов и гибридизация в козоводстве. С.-х. биол., 2009, 6: 27-33.
10. The yak /G. Wiener, H. Jalin, T.R. Ruiji (eds.). FAO, 2003.
11. Данкверт С.А., Холоманов А.М., Осадчая О.Ю. Овцеводство стран мира. М., 2010.
12. Орлов В.Н., Булатова Н.Ш. Сравнительная цитогенетика и кариосистематика млекопитающих. М., 1983.
13. Diploid numbers mammalian. Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk. (<http://www.bionet.nsc.ru/labs/chromosomes/mammalia.htm>).
14. Воронцов Н.Н., Коробицына К.К., Надлер Ч.Ф., Хоффман Р., Сапожников Г.Н., Горелов Ю.К. Цитогенетическая дифференциация и границы видов у настоящих баранов (*Ovis s. str.*) Палеоарктики. Зоологический журнал, 1972, 51(8): 1109-1121.
15. Воронцов Н.Н., Коробицына К.В., Надлер Ч.Ф. Хромосомы диких баранов и происхождение домашних овец. Природа, 1972, 3: 74-82.
16. Hiendleder S., Mainz K., Plante Y., Lewalski H. Analysis of mitochondrial DNA indicates that domestic sheep are derived from two different ancestral maternal sources: no evidence for contributions from urial and argali sheep. J. Hered., 1998, 89: 113-120.
17. Hiendleder S., Janke A., Wassmuth R. Molecular data on wild sheep genetic resources and domestic sheep evolution. Arch. Tierz., 2001, 44(Special Issue): 271-279.
18. Hiendleder S., Kaupe B., Wassmuth R., Janke A. Molecular analysis of wild and domestic sheep questions current nomenclature and provide evidence for domestication from two different subspecies. Proc. R. Soc. Lond., 2002, 269: 893-904.
19. Hamid Reza Rezaei. Phylogénie moléculaire du Genre *Ovis* (Mouton et Mouflons), implications pour la conservation du genre et pour l'origine de l'espèce Ddomestique. Thèse pour obtenir le grade de docteur en sciences. Université Josef Forster, Grenoble, 2007.

20. Шайдуллин И.Н., Жиряков А.М., Каплинская Л.И., Стрекозов Н.И., Шикалова В.П., Син Ю.С., Прошкин А.В., Бин Н.Н., Лихачева Г.Н. Выведение мясо-шубных овец в типе романовской породы в условиях камчатского региона методами акклиматизации отдаленной гибридизации со снежным бараном *Ovis nivicola nivicola* (Мат. Межд. конф. «Прошлое, настоящее и будущее зоотехнической науки». Науч. тр. ВИЖ (Дубровицы), 2004, 66(1): 204-215.
21. Шайдуллин И.Н., Ролдугин В.Н. Возможная отдаленная гибридизация. Овцеводство, 1986, 4: 40-41.
22. Иванов М.Ф. Полное собрание сочинений. Т. 3. М., 1964.
23. Гикиншили Н.С. Племенная работа в цветном каракулеводстве. М., 1976.
24. Багиров В.А., Кленовицкий П.М., Насибов Ш.Н., Иолчиеv Б.С., Зиновьева Н.А., Эрнст Л.К. Цитогенетический анализ при отдаленной гибридизации полорогих. Достижения науки и техники АПК, 2009, 8: 41-43.
25. Кленовицкий П.М., Багиров В.А., Иолчиеv Б.С., Допев А.В. Вопросы прикладной цитогенетики сельскохозяйственных животных. Достижения науки и техники АПК, 2003, 10: 17-19.
26. Wurster D.H., Benirschke K. Chromosome studies in the superfamily *Bovidae*. Chromosoma, 1968, 25: 152-171.
27. Buckland R.A., Evans H.J. Cytogenetic aspects of phylogeny in the *Bovidae*. I. G-banding. Cytogenet. Cell. Genet., 1978, 21(1): 42-63.
28. Bunch T.D. Fundamental karyotype in domestic and wild species of sheep Identity and ranking of autosomal acrocentrics involved in bimarmed formations. J. Hered., 1978, 69(2): 77-80.
29. Bunch T.D., Nadler C.F., Simmonds L. G-band patterns, hemoglobin, and transferrin types of the bharal chromosomal evolutionary relationships with sheep and goats. J. Hered., 1978, 69(5): 316-320.
30. Bunch T.D., Vorontsov N.N., Lyapunova E.A., Hoffmann R.S. Chromosome number of Severtzov's sheep (*Ovis ammon severtzovi*): G-banded karyotype comparisons within ovis. J. Hered., 1998, 89(3): 266-269.
31. Bunch T.D., Wu C., Zhang Y.-P., Wang S. Phylogenetic analysis of snow sheep (*Ovis nivicola*) and closely related taxa. J. Hered., 2006, 97(1): 21-30.
32. Ревин Ю.В., Сопин Л.В., Железнов Н.К. Снежный баран. Новосибирск, 1988.
33. Фил В.И., Молосов В.И. Снежный баран Камчатки. Петропавловск-Камчатский, 2010.
34. Смирнов О.К., Живалев И.К., Кленовицкий П.М., Кракасевич А.Н. Кариотипическое исследование азиатского снежного барана, домашней овцы и их гибридов. Бюл. ВИЖ, 1986, 87: 16-20.
35. Шайдуллин И.Н. Гибриды плодовиты. Овцеводство, 1992, 3: 18-21.

¹ГНУ Всероссийский НИИ животноводства

Россельхозакадемии,

142132 Московская обл., Подольский р-н, пос. Дубровицы,

e-mail: klenpm@mail.ru;

²Российская академия сельскохозяйственных наук,

117218 г. Москва, ул. Кржижановского, 15, корп. 2,

e-mail: vugarbagirov@mail.ru;

³Новосибирский зоопарк,

630001 г. Новосибирск, ул. Тимирязева, 71/1;

⁴ГНУ Сибирский НИИ животноводства

Россельхозакадемии,

630501 Новосибирская обл., Новосибирский р-н, р.п. Краснообск;

⁵ФГБОУ ВПО Самарская государственная

сельскохозяйственная академия,

446442 г. Кинель, пос. Усть-Кинельский, ул. Учебная, 2

Поступила в редакцию

1 октября 2012 года

CYTOGENETIC CHARACTERISTIC OF *Ovis ammon ammon*, *O. nivicola borealis* AND THEIR HYBRIDS

V.A. Bagirov¹, P.M. Klenovitskiy¹, B.S. Iolchiev¹, N.A. Zinovieva¹, V.V. Kalashnikov²,
O.V. Shilo³, V.A. Soloshenko⁴, Sh.N. Nasibov¹, V.P. Kononov¹, A.V. Kolesnikov⁵

S u m m a r y

By a hybridization of wild and domestic sheep, a gene fond of sheep breeds can be enriched with useful traits, and the rare and disappearing species reconstructed. In our experiments, the hybridization between *Ovis nivicola borealis* and *O. ammon ammon* resulted in a reproductive offspring. The parental and hybrid animals were compared as to their karyograms which were determined on the base of ideogram for goats with addition of metacentric chromosomes. The cytogenetic data and the reproductive state of the hybrid confirm that the taxa used in hybridization are closely related.