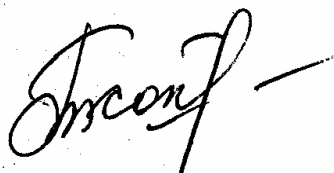


Российская Академия наук
Сибирское отделение
Институт систематики и экологии животных

На правах рукописи

УДК 575.222.5/6:591.56:599.323.43

Кокенова Гульмира Толегеновна



**ВЛИЯНИЕ БРАЧНОГО ПОДБОРА И ДЛИТЕЛЬНОГО ИНБРЕДНОГО
РАЗВЕДЕНИЯ НА РЕПРОДУКТИВНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
СТЕПНОЙ ПЕСТРУШКИ (*Lagurus lagurus* Pallas, 1773)**

03.00.08 – «зоология»

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Новосибирск – 2007

Работа выполнена в лаборатории экологических основ охраны генофонда животных Института систематики и экологии животных СО РАН

Научный руководитель:

кандидат биологических наук Потапов Михаил Анатольевич

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук Громов Владимир Степанович

кандидат биологических наук Назарова Галина Григорьевна

Ведущая организация: Институт экологии растений и животных Уральского отделения Российской Академии наук.

Защита состоится 24 апреля 2007 г. в 10 часов на заседании Диссертационного совета Д 003.033.01 при Институте систематики и экологии животных СО РАН по адресу: 630091 Новосибирск, ул. Фрунзе, 11.

Сайт Института: <http://www.eco.nsc.ru>

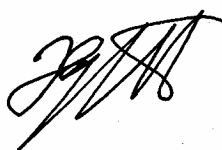
Факс: +7 (383) 217-0973

e-mail: pc@eco.nsc.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ИСиЭЖ СО РАН.

Автореферат разослан 23 марта 2007 г.

Ученый секретарь
Диссертационного совета,
доктор биологических наук



А.Ю. Харитонов

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. В последние десятилетия в лесостепной зоне Северной Кулунды численность степной пеструшки (*Lagurus lagurus* Pallas) остается стабильно низкой, что повлекло ее включение в Красную книгу Новосибирской области (Швецов, 2000). В связи с сокращением численности данный вид может столкнуться с проблемой вынужденного инбридинга в природе. Показательна судьба родственного вида – желтой пеструшки (*Eolagurus luteus* Eversmann), которая была широко распространена в Евразии в течение всего плейстоцена, разделяя биотопы со степной пеструшкой, и за сравнительно короткий в эволюционном отношении срок вымерла в пределах России. Сокращение численности вида предположительно сопровождалось и усугублялось инбридингом, снижавшим генетическую гетерогенность и, соответственно, устойчивость популяций к внешним факторам (Дупал, 2005).

Одним из способов поддержания биоразнообразия является разведение редких видов животных в условиях неволи. Использование при этом сравнительно узкого круга производителей рано или поздно неизбежно приводит к вынужденному проведению близкородственных скрещиваний. Негативные эффекты инбридинга выражаются в отклонениях развития, сниженной плодовитости и жизнеспособности, повышении неадаптивной фенотипической изменчивости (Ralls et al., 1988; Hedrick, Kalinowski, 2000; Keller, Waller, 2002), что нежелательно при разведении животных, которые в последующем подлежат репатриации в природу (Флинт, 2000, 2002).

Знание биологии размножения животных, их поведения во время формирования брачных пар, раскрытие внутренних причин совместимости брачных партнеров, изучение родительской заботы о потомстве имеют особую важность и являются залогом успешного содержания и разведения животных. В литературе есть указания на то, что в природе степные пеструшки встречаются преимущественно семьями, в которых обычно бывает лишь пара взрослых зверьков и неполовозрелые молодые особи (Млекопитающие..., 1978), однако система брачных отношений (система спаривания) у степной пеструшки в достаточной мере не исследована. Также практически неизученной остается реакция вида на длительный инбридинг. Известно лишь, что осуществить его в искусственных условиях затруднительно (Ченцова, 1969).

Цель работы. На примере степной пеструшки изучить влияние подбора брачных партнеров и длительного братско-сестринского разведения в контролируемых условиях на реализацию воспроизводительного потенциала и формирование морфологических признаков животных.

Задачи:

1. Уточнить представление о репродуктивной биологии вида, для чего провести эксперименты по выяснению системы спаривания у степной пеструшки.
2. Выяснить влияние на эффективность воспроизводства (плодовитость, ювенильную смертность и др. характеристики) взаимного предпочтения животными брачных партнеров.
3. В течение нескольких поколений инбредного разведения проследить изменения репродуктивных и морфологических характеристик животных.
4. Провести скрещивание полученных инбредных линий, происходящих из разных географических точек, и сопоставить репродуктивные и морфологические характеристики инбредных и гибридных животных.

Научная новизна. Впервые экспериментально установлена моногамная система брачных отношений у степной пеструшки. На примере данного вида показано положительное влияние брачного подбора, основанного на взаимном предпочтении партнеров, на реализацию репродуктивного потенциала животных. Выявлены изменения морфологических характеристик, сопровождающие длительное разведение степной пеструшки в неволе. В результате инбредного разведения в течение восьми последовательных поколений выявлены его эффекты на плодовитость и жизнеспособность животных. Показано частичное восстановление репродуктивных показателей через 5–6 поколений инбридинга. Установлено, что при межлинейной гибридизации увеличивается плодовитость и жизнеспособность животных, при этом впервые показано, что эти эффекты более выражены при скрещивании гибридов первого поколения между собой.

Практическая ценность. Знание системы брачных отношений и репродуктивного поведения мелких млекопитающих может помочь глубже изучить их экологию, пространственно-этологическую структуру, динамику

численности. Полученные результаты могут быть использованы для повышения продуктивности разводимых под контролем человека животных при использовании такого критерия подбора производителей как их взаимные предпочтения. В качестве способа сохранения редких видов в неволе обоснована целесообразность поддержания неродственных по происхождению инбредных сток с их последующей гибридизацией. Материалы диссертации использованы в курсе «Учение о популяции» для студентов Новосибирского государственного университета.

Основные положения, выносимые на защиту:

Степная пеструшка характеризуется моногамной системой спаривания.

Взаимный выбор половых партнеров способствует наиболее полной реализации воспроизводительного потенциала степной пеструшки.

Апробация работы. Материалы диссертации были представлены на Всероссийской конференции с участием зарубежных ученых «Сибирская зоологическая конференция» (Новосибирск, 2004 г.), III Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы экологии» (Караганда, 2004 г.), 59-й Республиканской научной конференции молодых ученых и студентов «Актуальные проблемы современной биологии и биотехнологии» (Алматы, 2005 г.), Международной научной конференции «Поведение и поведенческая экология млекопитающих» (Москва, Черноголовка, 2005 г.), IV Международной научной конференции молодых ученых и студентов «Актуальные вопросы современной биологии» (Алматы, 2006 г.), Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы экологии и природопользования в Казахстане и сопредельных территориях» (Павлодар, 2006 г.). Основные положения диссертации докладывались и обсуждались на лабораторных и межлабораторных семинарах в Институте систематики и экологии животных СО РАН в 2004–2007 гг.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 7 работ, в том числе – статья в журнале «Доклады Академии наук».

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, пяти глав, выводов и списка литературы, включающего 280 позиций, в том числе – более половины иноязычных. Работа изложена на 120 страницах и содержит 30 рисунков и 6 таблиц.

Благодарности. Выражаю искреннюю благодарность заведующему лабораторией и моему научному руководителю к.б.н. М.А. Потапову за наставничество, ценные консультации и помощь на всех этапах работы. Отдельно огромную благодарность хочу выразить м.н.с. О.Ф. Потаповой за оказанное внимание, поддержку и неоценимую помощь при выполнении всей методической части работы. Также благодарю к.б.н. Г.Г. Назарову, д.б.н. Ю.Н. Литвинову, к.б.н. Т.А. Дупал, к.б.н. А.А. Позднякова, к.б.н. С.А. Абрамова и других за ценные замечания, П.А. Демидовича и П.А. Задубровского – за дружеское расположение и непосредственное участие в работе.

Работа поддержана грантами РФФИ (№05-04-49189), фонда поддержки ведущих научных школ (НШ-1038.2006.4), программы Президиума РАН «Происхождение и эволюция биосферы».

Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Проблема сохранения биоразнообразия

В разделе обсуждаются проблемы антропогенного воздействия на природу и поддержания численности природных популяций редких и исчезающих видов с последующим пополнением их животными, выращенными в неволе (Алтухов, 1995; Флинт, 2000, 2002; Lynch, O’Hely, 2001; Duchesne, Verpatechez, 2002). Приводится обзор методов сохранения разнообразия животных (Флинт, 2000, 2002; Fernandez, Caballero, 2001; Fernandez et al., 2001; Caballero, Toro, 2002; Good et al., 2003). Основное внимание обращено на инбридинг в природных популяциях, механизмы его избегания и негативные последствия для репродуктивных характеристик животных (Laikre et al., 1997; Lodé, 1999). Описывается использование метода гибридизации для сохранения биоразнообразия (Сипко, Белоусова, 1993), рассмотрены особенности проявления гетерозиса у млекопитающих (Евсиков и др., 1991, 1998; Потапов и др., 2001; Potarov et al., 1999). Также рассматриваются морфологические изменения, происходящие у животных при их содержании в неволе и при различных воздействиях (Фалеев и др., 2000; Wisely et al., 2002; Васильев и др., 2000, 2003).

1.2. Репродуктивная биология млекопитающих

Раздел посвящен системе брачных союзов, встречающихся в природе (Clutton-Brock, 1989), в том числе, обсуждены причины редкости моногамных отношений среди млекопитающих (Евсиков, 1975; Евсиков и др., 2001). Приведены примеры факультативной и облигатной форм моногамии у разных видов млекопитающих (Brotherton et al., 1997; Parker et al., 2001). Представлены современные данные по гормональной регуляции моногамной системы спаривания (Lim et al., 2003, 2004; Wang, Aragona, 2004; Young, Wang, 2004) и по использованию молекулярно-генетических методов для установления «внебрачного» отцовства при моногамии (Solomon et al., 2004). Обсуждается влияние моногамной системы спаривания на снижение генетической изменчивости в природных популяциях грызунов (Sommer et al., 2002; Sommer, 2005). Представлены виды мышевидных грызунов, которые признаны моногамными на основе полевых и/или экспериментальных данных, учитывающих такие особенности как общая территория пары, предпочтение прежнего полового партнера, забота о новорожденных их отцов и старших сибсов и др. (Kleiman, 1977; Ostfeld, Heske, 1993; Cushing, Kramer, 2005). Приводятся сведения литературы об образе жизни степной пеструшки, позволяющие предполагать моногамную систему спаривания у данного вида (Млекопитающие..., 1978), однако требующие экспериментального подтверждения.

Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на степных пеструшках (*Lagurus lagurus* Pall.), отловленных в лесостепной зоне Северной Кулунды – в окрестностях г. Карасук, вблизи Карасукского стационара ИСиЭЖ СО РАН (участок №1) и на остепненных участках Барабинской низменности – в Здвинском р-не Новосибирской области, вблизи Чановского стационара ИСиЭЖ СО РАН (участок №2). Животных содержали в виварии при постоянном световом режиме (14 ч света), комнатной температуре и свободном доступе к воде и корму в стандартных клетках (20×30×10 см). Постоянные температура, световой режим и режим кормления позволили в дальнейшем не учитывать сезонный фактор.

Для разведения использовали животных двухмесячного возраста. Оценивали репродуктивные характеристики пар: число живых и мертворожден-

ных детенышей (доля последних использовалась как показатель перинатальной смертности), рост и выживаемость детенышей в выводках до окончания выкармливания. Молодых животных отсаживали от матерей на 21-й день после рождения. По приросту веса тела самки от дня подсадки к самцу до первого дня после родов оценивали ее способность к созданию энергетических резервов для нужд последующей лактации (Назарова, Евсиков, 2000, 2004). Молочность самок оценивали косвенно – по абсолютному приросту суммарного веса всего выводка в день рассадки к таковому в день рождения (Nagai et al., 1971). В среднем каждой размножающейся паре предоставляли возможность принести два выводка.

Для изучения эффектов инбридинга из потомков 17-ти пар родителей, происходящих с участка №1, и трех пар с участка №2 сформировано соответственно 36 и 6 братско-сестринских пар, ставших основателями инбредных стокков, в дальнейшем – «линий» (Бландова и др., 1983). Контрольные пары образовывали подбором случайных неродственных партнеров среди отловленных диких животных и их потомков. После первого цикла инбредного разведения осталось всего пять стокков с участка №1 и два – с участка №2. К 5–6 поколениям инбридинга сохранилось только два стока («линии»), происходящие с двух участков. Проанализированы показатели 54 контрольных и 166 инбредных пар восьми последовательных поколений разведения.

Для получения гибридов первого поколения (F1) проводили скрещивание потомков двух линий четвертого поколения инбридинга. Сформировано 32 пары. Для получения гибридов второго поколения (F2) сформировано 20 пар среди гибридов F1.

На следующий день после рождения выводка родителей (сначала самку, затем самца) тестировали на проявление заботы о потомстве, которую оценивали по времени перетаскивания в гнездо первого из детенышей, всем выводком перемещенных экспериментатором в противоположный угол клетки (Евсиков и др., 2001). Максимальная продолжительность теста – 10 минут.

Поведение потомков ювенильного возраста (в среднем 25-ти дней от роду) изучали в диадном тесте на нейтральной арене. Ссаживали двух однополых особей и регистрировали все наблюдаемые поведенческие акты в течение 10-ти минут.

Ольфакторные тесты проводили на диких животных, отловленных весной на участке №1. Самкам в состоянии эструса предъявляли примерно равное количество (5–10 г) подстилки двух самцов. Для опыта использовали установку («ольфактометр»), состоящую из трех отделений (13×13×13 см каждое), последовательно соединяющихся проходами 4×4 см. Образцы подстилки помещали в крайние отделения ольфактометра, в среднее помещали самку. В течение 10-минутного теста регистрировали время пребывания самки в каждом из отсеков. То же самое проделывали с самцом, предъявляя ему запаховые стимулы самок, находящихся в состоянии эструса.

Чтобы сформировать пары на основе предпочтения, стимулы, которые самка и самец исследовали в течение относительно большего времени, противопоставляли в повторных тестах стимулам новых оппонентов. В случае повторного «предпочтения» (большого времени исследования стимула) и совпадения предпочтений, отдаваемых данной самкой данному самцу и наоборот, пару считали сформированной (Евсиков и др., 2001). Самца и самку держали совместно до появления признаков наступления беременности у последней, затем самца отсаживали.

Для того чтобы выяснить, предпочитают ли животные прежнего партнера, после рождения выводка, в послеродовом эстрове, самкам предъявляли запаховый стимул «своего» (т.е. отца ее детей) и «чужого» (незнакомое прежде) самца. Самцам также предлагали запаховые стимулы «своей» и «чужой» самки. После отсадки выводка (в постлактационном эстрове самок) тест проводили повторно. Контролем к парам, сформированным по предпочтению, служили пары, образованные случайным образом. Всего проведено более 200 тестов и проанализированы репродуктивные показатели 95 пар, сформированных с предварительным подбором партнера и случайно.

Чтобы оценить морфологические характеристики, после размножения животных (в возрасте 3–4 мес.) забивали, взвешивали, измеряли длину тела, хвоста и задней ступни. Затем их вскрывали, измеряли длину кишечника и взвешивали препуциальные железы и семенники у самцов. Весовые индексы (в процентах) рассчитывали относительно веса тела, линейные – относительно длины тела. До шестого поколения инбредного разведения промерены 13 краниометрических показателей. Черепные индексы рассчитывали по отношению к наибольшей длине черепа. На основании черепных промеров вы-

числяли показатель объема черепа. Для оценки физического состояния животных использовали индекс BCI (body condition index):

$$BCI = W / W_0,$$

где W – вес тела, W_0 – ожидаемый вес тела, рассчитанный из регрессии веса тела на длину тела, возведенную в куб, по выборке контрольных, не прошедших инбредного разведения, животных. Общий объем обработанного материала составляет 1032 особи, в том числе 327 черепов.

При математической обработке данных использовали стандартные процедуры, такие как корреляционный и регрессионный анализ. Статистические сравнения проводили с помощью критериев Стьюдента и χ^2 , дисперсионного анализа (ANOVA) и теста LSD из его арсенала, непараметрического парного теста Уилкоксона. В случае, когда не было выявлено половых, межлинейных и др. различий, соответствующие данные объединяли. Данные в тексте и на рисунках представлены как $M \pm SEM$.

Глава 3. РЕПРОДУКТИВНАЯ БИОЛОГИЯ СТЕПНОЙ ПЕСТРУШКИ

3.1. Система спаривания у степной пеструшки

Предположение о моногамной системе спаривания у степных пеструшек, основанное на фрагментарных полевых и лабораторных данных (Башенина, 1975; Млекопитающие..., 1978), нуждалось в экспериментальном подтверждении.

Одним из подходов к выяснению системы спаривания является тест на выявление предпочтения прежнего брачного партнера или незнакомца либо их запаховых стимулов (Patris, Baudoin, 1998; Tai et al., 2001). Результаты 10-минутных тестов на предпочтение партнера степной пеструшкой, проведенных в период послеродового и постлактационного эструса у самок, свидетельствуют в пользу моногамии у данного вида, поскольку во всех вариантах теста зарегистрировано предпочтение прежнего «партнера» (рис.1).

Другим подходом к выяснению системы спаривания служит тест на отцовскую заботу о потомстве, которая максимальна у моногамных видов и минимальна у полигамных (Kleiman, 1977; Oliveras, Novak, 1986; Margulis, 1998; Reburn, Wynne-Edwards, 1999; Tai et al., 2001; Smorkatcheva, 2003). В

отсутствие временно удаленной из клетки самки 77% (n=247) исследованных самцов степной пеструшки в течение теста затаскивали в гнездо предварительно удаленных из него детенышей. Остальные самцы все же проявляли заботу о детях – оставались с ними, собирали их вместе и грели своим телом. Эти данные также говорят о моногамии степных пеструшек.

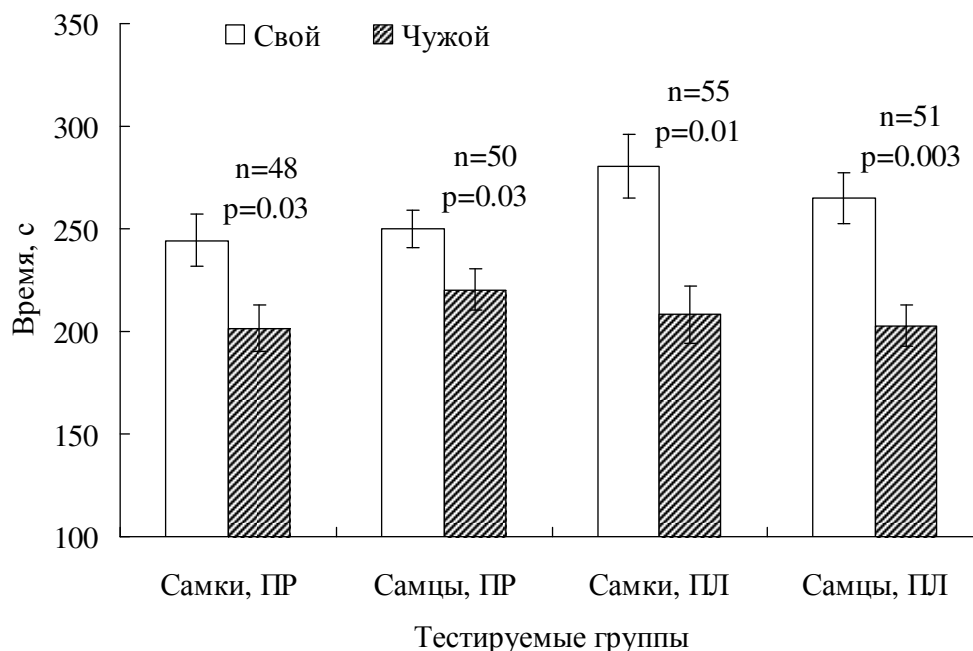


Рисунок 1. Время исследования самками и самцами степной пеструшки запаховых стимулов от прежнего («Свой») и незнакомого («Чужой») партнера. Приведено число тестов и достоверность отличий (по парному тесту Уилкоксона). Обозначения: ПР – послеродовый, ПЛ – постлактационный период.

Степные пеструшки не только осуществляют родительскую заботу, но и с каждым последующим выводком ее «совершенствуют». Как у самок ($p < 0.02$), так и у самцов ($p < 0.001$) с приобретением родительского опыта (от первого ко второму и последующим выводкам) сокращается время, затрачиваемое на перетаскивание детеныша в гнездо.

В диадных тестах у степной пеструшки впервые отмечена такая форма поведения как «таскание» ухваченного за шкурку партнера. Этот элемент отмечен у 35% (n=37) самок и 15% (n=73) самцов степной пеструшки ювенильного возраста. «Таскание» в 2.5 раза чаще проявляется в отношении младших на несколько дней партнеров по ссаживанию, чем ровесников (30%, n=23 и 12%, n=66 случаев соответственно; $\chi^2_1 = 4.08$, $p = 0.04$). Появление этого элемента поведения является, возможно, косвенным отражением особенности

моногамных семей – участия молодняка в прямой заботе за сибсами младших поколений (Roberts et al., 1998a; Margulis et al., 2005), включающей у грызунов их перетаскивание (Пегельман, 1977).

Межвидовые различия в системе брачных отношений сопряжены также с выраженностью полового диморфизма по размерам тела (Kleiman, 1977; Ostfeld, Heske, 1993; Cushing, Kramer, 2005). Как по длине (Heske, Ostfeld, 1990), так и по весу тела (Boonstra et al., 1993; Weckerly, 1998) половой диморфизм у моногамных видов проявляется слабо или вообще не выражен. Причем у некоторых полигинных видов полевок превышение веса тела самцов над таковым самок может составлять 70% (Голенищев, 1983). Вес тела самцов степной пеструшки превышает вес тела самок не так существенно – не более чем на 18%. По длине тела различия не превышают 5%.

Таким образом, нами получено достаточно аргументов, чтобы считать степную пеструшку моногамным видом. Как самки, так и самцы по окончании репродуктивного цикла предпочитали прежнего партнера, что характерно для моногамных видов. Доля самцов, проявивших родительскую заботу в 10-минутном тесте, составила почти 80%. Для сравнения, у мышей BALB/c доля заботливых отцов не превышает 30% (Евсиков и др., 2001), а многим видам грызунов отцовская забота вообще не свойственна. Половой диморфизм по весу и по длине тела выражен у степной пеструшки в меньшей степени, чем у других полевок.

3.2. Значение брачного подбора в регуляции воспроизводства

Очевидно, что особенно важно проанализировать влияние «самостоятельного» подбора брачных партнеров на успешность размножения у представителей моногамного вида с продолжительными семейными отношениями. Для изучения данного вопроса оценивали репродуктивные характеристики двух групп – контрольной (случайное сочетание партнеров) и опытной, в которой зверьки перед образованием пар проявили взаимное предпочтение.

Все 22 пары, сформированные на основе взаимного выбора, успешно размножились, в то время как из 50-ти случайно подобранных пар принесли потомство только 40 (отличия достоверны; $\chi^2_1=5.11$, $p<0.03$).

Оказалось, что плодовитость самок достоверно выше в случае спаривания с предпочитаемым партнером. Так, число новорожденных и отсаженных детенышей у пар, образованных на основе взаимного выбора, достоверно выше, чем у «случайных» (рис. 2).

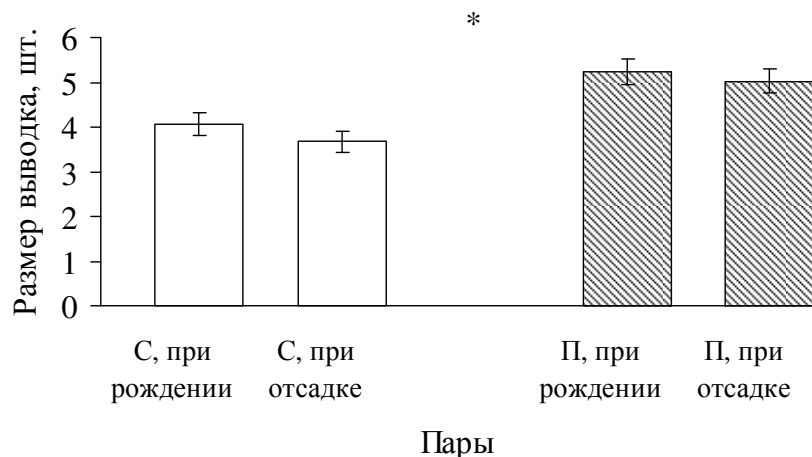


Рисунок 2. Размер выводка при рождении и при отсадке от матерей в парах степных пеструшек, сформированных случайно («С») и по взаимному предпочтению («П»). * – достоверность отличий между «случайными» и «предпочитаемыми» парами, $p < 0.003$.

Прирост суммарного веса всего выводка ко дню отсадки от матери выше в парах, которые в предварительных тестах «выбрали» себе партнеров, чем в парах, подсаженных случайным образом ($p < 0.001$), что, видимо, обеспечено большей отдачей и/или лучшим качеством молока. Молочность, в свою очередь, может определяться энергетическим резервом на нужды лактации, создаваемым самками. Прирост веса тела самок за период беременности положительно скоррелирован у степной пеструшки с числом новорожденных ($r_{203} = +0.34$, $p < 0.001$) и выкормленных детенышей в выводках ($r_{203} = +0.37$, $p < 0.001$) и отрицательно связан с перинатальной ($r_{203} = -0.15$, $p = 0.03$) и постнатальной ювенильной смертностью ($r_{203} = -0.23$, $p = 0.001$).

Улучшение репродуктивных характеристик сопряжено и с другими положительными эффектами брачного подбора. Родительская забота в парах из взаимно предпочитающих партнеров при рождении второго выводка существенно увеличивается, о чем свидетельствует сокращение времени доставки первого детеныша в гнездо как у самок ($p < 0.004$), так и у самцов ($p < 0.01$), в то время как в случайных парах такие различия не обнаружены. Увеличение

заботливости самцов в парах по предпочтению также подтверждает важность отцовской заботы для этих моногамных полевок.

Таким образом, степная пеструшка оказалась «хорошим» моногамом. Наши данные показали способность животных подбирать на основе изучения запахов таких партнеров, союз с которыми повышает их фактическую плодовитость. Неслучайный подбор пар в значительной мере благоприятствует реализации механизмов, при действии которых самки улучшают свои материнские качества, как физиологические, так и поведенческие. При моногамии взаимный брачный подбор становится особенно важным для наиболее полной реализации репродуктивного потенциала, поскольку, как показано в нашей работе, он обеспечивает лучшее физическое состояние лактирующей самки и большее число выкормленных потомков, а в итоге – большую «дарвиновскую приспособленность».

Глава 4. ЭФФЕКТЫ ИНБРИДИНГА И ГИБРИДИЗАЦИИ

4.1. Изменение репродуктивных характеристик

Доля успешно размножающихся животных снижается по отношению к аутбредному разведению уже в первых братско-сестринских парах – основателях линий. Так, если при аутбредном разведении успешно размножились 74% пар (25 из 34), то среди братско-сестринских пар первого инбредного цикла – только 19% (8 из 42) ($\chi^2_1=22.7$, $p<0.0001$). Показано, что по сравнению с контролем при инбридинге снижалось число живорожденных и выкормленных детенышей (рис. 3) за счет увеличения пери- и постнатальной ювенильной смертности. Особенно большая ювенильная смертность наблюдалась в 3–4 цикле инбридинга.

Прирост веса тела самок за период беременности также снижался к 3–4 поколениям инбридинга по сравнению с контролем (контроль: 6.4 ± 0.5 г ($n=49$), 1–2 поколения: 3.2 ± 0.5 г (32), 3–4 поколения: 2.2 ± 0.5 г (26); $F_{4,93}=7.01$, $p<0.001$). Средний вес тела детенышей на 21-й день снижался при инбридинге (контроль: 11.1 ± 0.1 г ($n=546$); 1–2 поколения: 10.1 ± 0.1 г ($n=199$), $p<0.001$; 3–4 поколения: 10.6 ± 0.2 г ($n=254$), $p<0.01$; 5–6 поколения: 10.8 ± 0.2 г ($n=187$); 7–8 поколения: 10.1 ± 0.2 г ($n=171$), $p<0.001$).

Следует отметить, что родительская забота в течение восьми поколений инбридинга не ухудшается. Оба родителя активно перетаскивают детенышей в гнездо. В 1–2 поколениях инбридинга отмечено даже увеличение по отношению к контролю заботливости родителей.

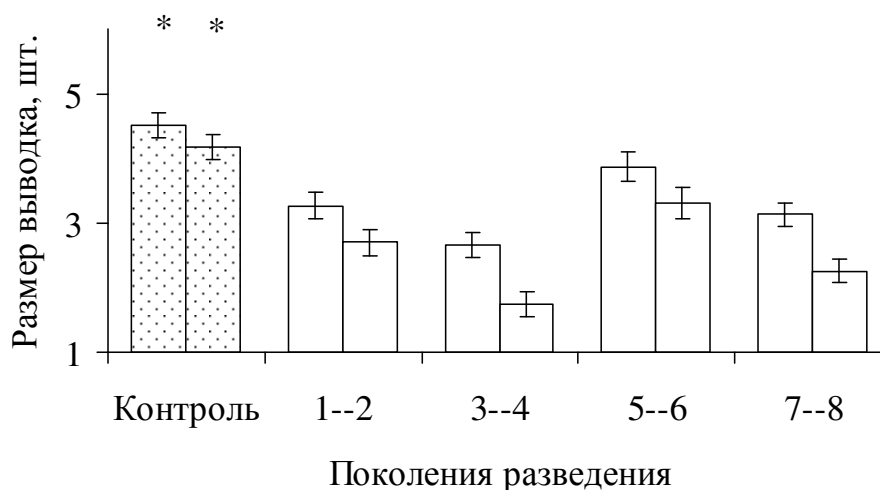


Рисунок 3. Размер выводков у контрольных и инбредных производителей (левые столбики – при рождении, правые – при отсадке). * – достоверность отличий от контроля, от $p < 0.05$ до $p < 0.001$ в разных поколениях.

Таким образом, тесный инбридинг в течение 3–4 поколений резко снижает репродуктивные характеристики степной пеструшки, приводя к «инбредной депрессии». Ухудшаются материнские качества инбредных самок (способность родить и выкормить детенышей), хотя родительская забота о потомстве сохраняется на прежнем уровне. В то же время, в 5–6 поколениях инбридинга частично улучшаются репродуктивные показатели, что, видимо, связано с некоторым преодолением инбредной депрессии. Улучшаются как воспроизводительные характеристики самок, так и физическое состояние выводков при отсадке.

При гибридизации двух линий степных пеструшек у линейных животных, рождающих гибридное потомство F1, плодовитость возрастает за счет увеличения числа как живорожденных, так и выкормленных детенышей по сравнению с производителями того же поколения, рождающих инбредное потомство (рис. 4). Доля успешно размножившихся инбредных пар при гибридизации повысилась до 83% ($n=32$), а у их потомков, гибридов F1 – до 100% ($n=20$).

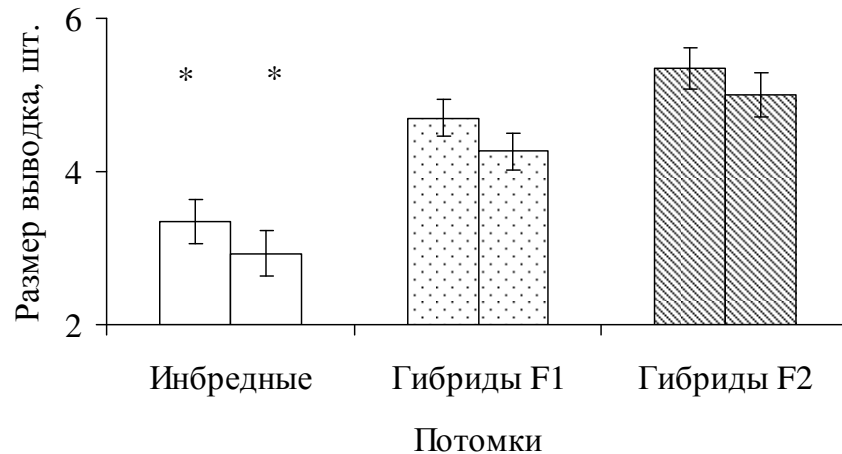


Рисунок 4. Размер выводка при рождении (левые столбцы) и отсадке от самки (правые столбцы) в случае инбредного разведения (4-е поколение), межлинейной гибридизации (F1) и скрещивания гибридов между собой (F2). * – достоверные отличия от других групп, $p < 0.05$.

Повышается также скорость роста и вес тела гибридных детенышей при отсадке. Так, в инбредных выводках, рожденных инбредными самками 4-го поколения, прирост суммарного веса всего выводка ко дню отсадки в среднем составляет 37.7 ± 0.4 г ($n=26$), в то время как у гибридов F1, рожденных также инбредными самками, он выше: 45.8 ± 0.4 г ($n=56$) ($p < 0.01$). У гибридов F2, рожденных гибридными самками F1, прирост веса выводка больше, чем у инбредных потомков и гибридов F1: 61.9 ± 0.3 г ($n=20$) ($p < 0.01$).

При гибридизации возрастает не только прирост веса всего выводка за время выкармливания, но и вес тела каждого детеныша в отдельности. Повышение молочных качеств самок при гибридизации приводит к тому, что средний вес тела при отсадке гибридных потомков как первого, так и второго поколения достоверно превышает таковой потомков не только инбредного разведения, но и (в случае F2) даже контрольного аутбредного (контроль: 11.0 ± 2.2 г ($n=546$), гибриды F1: 11.6 ± 2.2 г ($n=309$), гибриды F2: 13.5 ± 1.9 г ($n=132$); $F_{2,984}=74.9$, $p < 0.001$).

Параллельно изменению репродуктивных характеристик меняются и показатели родительской заботы. Как у самок, так и у самцов, воспитывающих гибридное потомство, время, затрачиваемое на перетаскивание первого детеныша в гнездо, сокращается по сравнению с линейными родителями при их инбредном разведении ($p < 0.05$).

Таким образом, при скрещивании двух линий степных пеструшек, происходящих с разных участков, по сравнению с животными, производящими инбредное потомство, повышаются не только репродуктивные показатели инбредных самок, рожающих гибридное потомство, но и их молочные качества, а также родительская забота, причем как матерей, так и отцов. Эти результаты согласуются с данными о проявлении гетерозиса у млекопитающих, при котором в лактационный период продолжается действие запущенных еще во время беременности физиологических механизмов, способствующих эффективному развитию генетически чужеродных потомков (Евсиков и др., 1991, 1998).

Особый интерес представляет обнаруженный феномен сохранения и даже преумножения «гетерозисного» эффекта во втором поколении гибридизации. У инбредных самок степных пеструшек благоприятные модификации (увеличение плодовитости и отдачи молока), запускающиеся при вынашивании гибридных потомков, полностью реализуются через поколение, что находит отражение в еще большем увеличении плодовитости и молочности их гибридных дочерей и, соответственно, в лучшем развитии внуков. Это подтверждает действие механизмов взаимодействия в системе «мать–потомок» у млекопитающих, при котором «гетерозисные» самки F₁ проявляют свою «гибридную силу» в том числе и в повышении количества и/или качества отдаваемого своим потомкам молока и в лучшей заботе о них, что и сказывается на появлении эффектов, аналогичных гетерозису, во втором поколении гибридов. Эти результаты находятся в соответствии с представлениями об увеличении материнского вклада как одном из механизмов гетерозиса у млекопитающих (Potapov et al., 1999; Потапов и др., 2001б).

4.2. Изменение морфологических характеристик

Показано, что при разведении в неволе с применением схемы тесного инбридинга у самцов степных пеструшек постепенно снижается индекс семенников, и все инбредные поколения достоверно отличаются от контроля ($F_{4,361}=13.7$, $p<0.001$). После некоторого роста в 1–2 поколениях (отличие от контроля: $p<0.02$), начиная с 3-го поколения, уменьшается индекс андрогенозависимых препуциальных желез (отличие от контроля: $p<0.01$). У гибридов

F2 индекс семенников превышает таковой инбредных и гибридных животных F1 и достигает уровня, характерного для контрольных самцов.

Обнаружено, что у самцов индекс физического состояния (BCI) отрицательно скоррелирован с индексом семенников ($r_{481}=-0.34$, $p<0.001$). Вообще, у размножавшихся самок и самцов BCI ниже, чем у неразмножавшихся, не оставивших потомства (1.1 ± 0.03 ($n=278$) и 1.3 ± 0.05 ($n=91$) соответственно, $p<0.001$). Таким образом, высокий BCI не отражает репродуктивных преимуществ, свидетельствуя скорее не о физическом благополучии особи, а об «ожирении», отрицательно сказывающемся на размножении полевок (Башенина, 1975). У гибридных животных F1 и F2 BCI достоверно ниже, чем у инбредных 1–2 и 3–4 поколений ($p<0.01$) и не превышает такового у контрольных животных, составляя 0.97 ± 0.01 ($n=332$), что и может быть связано с их лучшими репродуктивными качествами.

К 7–8 поколениям инбридинга у степной пеструшки сокращается по сравнению с контролем относительная длина слепой кишки (контроль: $96\pm 20\%$ ($n=191$), 7–8 поколения: $76\pm 10\%$ ($n=67$); $p<0.001$).

Как известно, животные, разводимые в неволе, по сравнению с их дикими предками характеризуются изменением соотношения между лицевой и мозговой частями черепа, а также меньшим размером черепа (Wisely et al., 2002; Hannan et al., 2005). В соответствии с этой закономерностью объем черепа степных пеструшек сокращался к 5–6 поколениям разведения в неволе по отношению к контролю ($p<0.01$). Изменения черепных признаков были также однонаправленными в обеих линиях в сторону сокращения к 5–6 поколениям индексов наибольшей длины черепа, длин лицевой части, верхнего и нижнего зубных рядов и увеличения индекса длины нижней диастемы (табл. 1). Обнаружены устойчивые межлинейные отличия по ряду черепных признаков. Зверьки, происходящие с разных участков, отличаются по индексам длин верхнего и нижнего зубных рядов: у Карасукских животных (участок №1) длины зубных рядов изначально больше, чем у Чановских (участок №2) и характер этих различий сохраняется при инбридинге. Выявленные межлинейные различия по длине зубного ряда опосредованы, как мы полагаем, случайным фактором – «принципом основателя».

Таблица 1. Значения некоторых черепных индексов степной пеструшки

Группы	Уча- сток	1 НДЧ	2 ДЛЧ	3 ДВЗР	12 ДНЗР	13 ДНД	n
Контроль	№1, К	26,0 ±0,3	61,4 ±0,1	24,8 ±0,1	24,2 ±0,1	15,4 ±0,1	110
	№2, Ч	27,2 ±0,3*	61,1 ±0,3	23,8 ±0,3*	23,0 ±0,3*	15,5 ±0,2	23
5–6 поколе- ния инбри- динга	№1, К	24,6 ±0,2†	60,8 ±0,2†	24,1 ±0,1†	23,6 ±0,2†	15,9 ±0,1†	38
	№2, Ч	24,8 ±0,2†	59,8 ±0,2*†	23,0 ±0,1*†	22,1 ±0,2*†	16,3 ±0,1†	48

* – достоверные отличия между линиями; † – достоверные отличия от контроля. Обозначения: К – Карасук, Ч – Чаны; НДЧ – наибольшая длина черепа, ДЛЧ – длина лицевой части, ДВЗР – длина верхнего зубного ряда, ДНЗР – длина нижнего зубного ряда, ДНД – длина нижней диастемы.

Таким образом, при инбридинге в условиях неволи у степных пеструшек происходят направленные изменения морфологических характеристик. В частности, показанные нами редукция относительного веса семенников, укорочение зубных рядов, сокращение относительной длины слепой кишки являются, видимо, результатом направленного отбора в искусственных условиях, который действует при ослаблении давления стабилизирующего отбора, обеспечивающего сохранение оптимального проявления признаков в условиях естественной среды обитания (Шмальгаузен, 1968). В то же время у гибридов F2 относительный размер семенников возвращается к «норме» – к контрольным значениям. Положительные эффекты гибридизации на репродуктивные и морфологические показатели животных позволяют приближаться к цели сохранения и поддержания гено- и фенотипически полноценных особей в условиях неволи для возможной репатриации их в природу.

Глава 5. ОБСУЖДЕНИЕ

Глава содержит обсуждение полученных результатов.

Результаты проведенных исследований помогают лучше понять механизмы регуляции важнейшего свойства животных – плодовитости и причастность к этому процессу системы брачных отношений. Нами показано, что степная пеструшка является моногамным видом, для регуляции воспроизводительной функции которого взаимный выбор брачных партнеров имеет осо-

бое значение, поскольку он поддерживает показатели плодовитости на оптимальном видоспецифическом уровне.

Однако, возможно, именно моногамная система является одной из причин снижения численности данного вида, продолжающегося в настоящее время и, вкупе с антропогенными факторами, приводящего к фрагментации ареала и возрастанию уровня инбридинга. На других видах показано, что последствия моногамии сказываются не только на динамике численности, но и на генетической изменчивости популяций и небезразличны для эволюции видов в целом (Sommer, Hommen, 2002; Sommer, 2005). Считается, что родственный вид – желтая пеструшка вымерла на большей части своего ареала вследствие снижения устойчивости популяций к изменяющимся климатическим условиям из-за низкого уровня генетической изменчивости (Дупал, 2005), причиной которой могла быть, в том числе, моногамная система спаривания, характерная для данного вида (Пегельман, 1977).

При разведении диких животных в условиях неволи знание особенностей их репродуктивной биологии является важным для планирования схем разведения и создания необходимых условий содержания. Продемонстрированная в работе способность животных оптимизировать воспроизводство при «самостоятельном» выборе брачного партнера позволяет в качестве практического подхода в работах в такого рода рекомендовать предоставление животным возможности подобного выбора.

Данные, полученные нами при изучении эффектов близкородственного разведения и межлинейной гибридизации степных пеструшек, позволяют предложить практиковать поддержание нескольких неродственных инбредных стокв для их последующей гибридизации в целях преодоления инбредной депрессии и частичного восстановления гетерогенности. Эти меры могут быть использованы при разработке программ по поддержанию малочисленных популяций с пополнением их животными, разводимыми в неволе.

ВЫВОДЫ

1. Экспериментально установлено, что степная пеструшка является моногамным видом, о чем свидетельствует предпочтение прежнего репродуктивного партнера, участие отцов в заботе о потомстве, слабая выраженность полового диморфизма по размерам тела.
2. Показано, что в парах, где зверьки взаимно предпочитают друг друга, по сравнению со случайно образованными парами, самки достигают лучшего физического состояния к началу лактации, у обоих родителей более выражена родительская забота, выше фактическая плодовитость – число выкормленных детенышей.
3. При длительном разведении у степных пеструшек происходят закономерные изменения морфологических характеристик: сокращаются размер черепа, длина слепой кишки, длина верхнего и нижнего зубных рядов, вес семенников и препуциальных желез у самцов.
4. Тесный инбридинг в течение первых четырех поколений снижает репродуктивные характеристики степной пеструшки, а затем, в 5–6 поколениях, наблюдается их частичное восстановление.
5. При межлинейной гибридизации плодовитость степных пеструшек повышается. Эффекты, аналогичные гетерозису по весу тела, более отчетливо проявляются у гибридов F₂, что обусловлено бóльшим вкладом в них их родителей – гибридов F₁ за счет повышения молочности самок и заботы о потомстве обоих родителей.
6. При разработке программ сохранения видов в искусственных условиях следует учитывать негативные эффекты длительного инбредного разведения. В то же время, может быть рекомендовано поддержание нескольких неродственных стоков с их последующей гибридизацией.

ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Евсиков В.И., **Кокенова Г.Т.**, Задубровский П.А., Потапова О.Ф., Потапов М.А. Моногамия как один из путей реализации адаптивного потенциала млекопитающих (на примере степной пеструшки, *Lagurus lagurus* Pallas) // Доклады Академии наук. – 2006. – Т. 411, №5. – С. 708–710.
2. **Кокенова Г.Т.**, Задубровский П.А., Потапова О.Ф. Изменение морфометрических показателей степной пеструшки (*Lagurus lagurus* Pall.) при разведении в неволе // Республиканская науч. конф. «Актуальные проблемы современной биологии и биотехнологии» (Алматы, 20–22 апреля 2005 г.): Тез. докл. – Алматы: Казахский национальный университет, 2005. – С. 49.
3. **Кокенова Г.Т.**, Задубровский П.А., Потапова О.Ф., Потапов М.А. Поведение в диадных тестах степной пеструшки (*Lagurus lagurus*), содержащейся в контролируемых условиях // Сибирская Зоологическая конференция: Тез. докл. всеросс. конф., посв. 60-летию ИСиЭЖ СО РАН (Новосибирск, 15–22 сентября 2004 г.) – Новосибирск: ООО «Талер-Пресс», 2004. – С. 269–270.
4. **Кокенова Г.Т.**, Потапова О.Ф., Задубровский П.А., Потапов М.А. Инбридинг и сохранение биоразнообразия: Изменение репродуктивных характеристик и поведения степных пеструшек (*Lagurus lagurus* Pall.) при инбредном разведении // Актуальные проблемы экологии: Мат-лы III Междунар. науч.-практ. конф. – Караганда: Изд-во КарГУ, 2004. – Ч. 1. – С. 152–155.
5. **Кокенова Г.Т.**, Потапова О.Ф., Потапов М.А. Изменение репродуктивных характеристик степной пеструшки (*Lagurus lagurus*) в нескольких поколениях инбредного разведения // Актуальные вопросы современной биологии (20–28 апреля 2006 г., г. Алматы): Тез. 4-ой Междунар. науч. конф. молодых ученых и студентов. – Алматы: Казахский национальный университет им. аль-Фараби, 2006. – С. 20–21.
6. **Кокенова Г.Т.**, Потапова О.Ф., Потапов М.А. Снижение репродуктивных характеристик степной пеструшки (*Lagurus lagurus*) при инбредном разведении // «Актуальные проблемы экологии и природопользования в Казахстане и сопредельных территориях»: Материалы Междунар. науч.-практ. конф. (25–26 мая 2006 г., г. Павлодар) / ред. Е.М. Арын. – Павлодар: Изд-во ПГУ, 2006. – Т. 1. – С. 319–321.
7. **Кокенова Г.Т.**, Потапова О.Ф., Потапов М.А., Евсиков В.И. Изменение этологических и морфометрических характеристик степной пеструшки (*Lagurus lagurus* Pall.) при инбредном разведении // Поведение и поведенческая экология млекопитающих: Мат-лы науч. конф. (4–8 октября 2005 г., Черноголовка) – М.: Т-во научных изданий КМК, 2005. – С. 251–253, 357–359.