

УДК 575.174.015.3:599.742.1

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ПРЕДПОЛАГАЕМЫХ ГИБРИДОВ ВОЛКА И ОБЫКНОВЕННОГО ШАКАЛА

© 2024 г. П. А. Казимиров^{1, 2, *}, Ю. С. Белоконов¹, М. М. Белоконов¹, А. С. Мишин³,
В. В. Стахеев⁴, Ю. А. Яровенко⁵, А. Ю. Яровенко⁵, Д. В. Политов^{1, 2, **}

¹Институт общей генетики им. Н.В. Вавилова Российской академии наук, Москва, 119991 Россия

²Всероссийский научно-исследовательский институт охраны окружающей среды, Москва, 117628 Россия

³Воронежский государственный природный биосферный заповедник им. В.М. Пескова, Воронеж, 394080 Россия

⁴Институт аридных зон, Южный научный центр Российской академии наук, Ростов-на-Дону, 344006 Россия

⁵Прикаспийский институт биологических ресурсов Дагестанского федерального исследовательского центра Российской академии наук, Махачкала, 367000 Россия

*e-mail: farenklaw@gmail.com

**e-mail: dmitri_p@inbox.ru

Поступила в редакцию 11.12.2023 г.

После доработки 14.12.2023 г.

Принята к публикации 18.12.2023 г.

Приведены результаты генетического анализа 11 фенотипически девиантных особей волка, *Canis lupus* Linnaeus, 1758 sensu lato, из Воронежского государственного природного биосферного заповедника (Черноземная зона европейской части России) и Дагестана (Северный Кавказ, Россия), которые на основании морфологии были идентифицированы как предполагаемые гибриды волка с шакалом. По наследуемой по материнской линии мтДНК (последовательности фрагмента гена цитохрома *b*) и маркерам отцовской линии Y-хромосомным фрагментам *ZfY* не выявлено гибридов волка и шакала первого поколения, исключена также принадлежность исследованных особей к гибридам между разными особями F1 волка и шакала последующих поколений. Однако не исключается принадлежность морфологически атипичных особей R сложным гибридам, например различным вариантам бэккроссов. По результатам анализа набора аутосомных микросателлитных локусов предположительно идентифицирован один гибрид второго поколения. Также получены данные, которые можно рассматривать как следы гибридизации и интрогрессии у нескольких особей, идентифицированных как волки. Есть основания предполагать наличие потока генов между популяциями шакала и волка в южных регионах европейской части России, хотя явных указаний на интрогрессию между этими видами в рассматриваемых случаях не обнаружено. В то же время результаты как генетического, так и краниологического исследований позволяют предполагать гибридизацию волков с собаками на тех же территориях.

Ключевые слова: волк, шакал, собака, гибридизация, генетические маркеры.

DOI: 10.31857/S0016675824060073 **EDN:** BXSPKF

Волк, *Canis lupus* Linnaeus, 1758 и обыкновенный шакал, *C. aureus* Linnaeus, 1758 — представители семейства псовых, или собачьих (Canidae, отряд Carnivora, класс Mammalia), связанные относительно близким родством. Оба вида относятся к линии волка (род *Canis*, подтриба Canina, триба Canini), однако в пределах современных границ рода *Canis* по данным молекулярной филогении [1] обыкновенный шакал является наиболее дивергировавшим от волка таксоном. В Палеарктике эти виды в настоящее время частично викарируют географически и экологически. При этом волк имеет

циркумполярное и циркумбореальное распространение, встречается в Северной Евразии от Пиренейского полуострова на западе до Тихоокеанского побережья на востоке, и от зоны арктических пустынь и тундры на севере до степей, полупустынь и пустынь на юге, где его исторический ареал был значительно шире современного. В современную эпоху южные популяции волка подверглись существенной фрагментации. Шакал же в историческое время был ограничен в своем распространении частью Юго-Восточной Азии (к западу от Таиланда), Южной Азии (Индостан), югом Средней Азии,

Передней Азией, в Европе же был в значительной мере истреблен или вытеснен и с конца XIX в. встречался лишь на Балканах (страны бывшей Югославии, Греция, Албания, Болгария), где к середине XX в. стал весьма редким. Однако к началу XXI в. шакал продвинулся на север как в Азии, так и в Европе, этот процесс продолжается в настоящее время, так что ареал вида уже включает почти всю Среднюю Азию, южные области Казахстана и значительные территории Европы [2–5].

Происходит активное расширение ареала шакала и в европейской части России. Еще в середине прошлого века на территории современной России присутствие шакала, за редкими исключениями, было ограничено Кавказом и Закавказьем — хищники редко заходили севернее Новороссийска [6]. В настоящее время на юге России, по данным проекта “Млекопитающие России” (gusman.ru), существуют подтвержденные фотографиями случаи регистрации шакала на всей территории Предкавказья вплоть до Волгограда, в Саратовской, Пензенской, Воронежской, Брянской областях. При рассмотрении наблюдений без приложенных фотографий присутствие шакала фиксируется вплоть до восточной части Оренбургской области. В центральной полосе присутствие шакала зарегистрировано в Московской области и Республике Чувашия. В северных регионах шакал замечен в Псковской, Вологодской, Ленинградской и Архангельской областях, а также в Республике Коми [3]. Одновременно происходит и значительное повышение численности шакала на ранее освоенных им территориях. Так, согласно учетам охотничьих видов, численность шакала в Краснодарском крае с 2005 по 2016 г. возросла более чем в 3 раза [7].

Если заходы шакала в северные регионы выглядят скорее как единичные случаи, которые едва ли смогут привести к появлению на этих территориях устойчивых популяций в ближайшем будущем, то на юге расширение ареала и повышение плотности населения шакала представляют собой устойчивый процесс, сопровождающийся значительным повышением численности хищника. При этом происходит проникновение и закрепление шакала на территориях, ранее занимаемых исключительно волком, что существенно расширяет зону симпатрии и возможности контакта двух видов. Различия в предпочитаемых экологических нишах, низкая напряженность прямой конкуренции за добычу и места для логовищ приводят к тому, что два вида способны сосуществовать в относительной гармонии. При этом шакалы, по всей видимости, все еще предпочитают территории, на которых активны нетерриториальные волки, а не участки, занятые устойчивыми стаями, что было описано ранее [8].

При симпатрии таких относительно близких видов, как волк и обыкновенный шакал, особенно в

условиях не только перестройки ареалов, но и изменения относительной численности, неизбежно возникает вопрос потенциальной гибридизации между видами. Ряд работ, описывающих гибридизацию как волка и собаки, так и волка и койота (как пример гибридизации двух видов диких канид) указывают на сильный эффект дестабилизации популяции (преимущественно за счет отстрела животных) на степень выраженности гибридизации. Играть роль также и соотношение численности. Так, при высокой численности одного из видов изъятая из размножающейся пары особь более вероятно будет замещена представителем того же вида, в то время как при малой численности ее место может занять особь другого вида [9–11]. В случае волков и шакалов на юге Российской Федерации, оба вида являются охотничьими и добываются в больших количествах. Более того, в ряде регионов наблюдается значительное преобладание по численности одного вида над другим (волка над шакалом или шакала над волком) [7]. Таким образом, зона пересечения ареалов волка и шакала должна, в теории, обладать благоприятными условиями для возникновения гибридов.

В частности, подозрения о гибридном происхождении отдельных особей возникают при выявлении особенностей морфологии, не характерных для чистых видов, к которым предположительно принадлежат добытые или наблюдаемые в природе особи. Тем не менее вопрос гибридизации волка с шакалом до сих пор остается слабо разработанным, в особенности это касается генетических исследований. Так, несколько предположительных гибридов волка/собаки с шакалом были добыты на территории Израиля, однако генетические исследования не подтвердили факта гибридизации, при этом по митохондриальным маркерам были обнаружены следы интрогрессии африканского волчьего шакала (*Canis lupaster* Hemprich & Ehrenberg, 1833) [12]. В 2015 г. в Хорватии был зафиксирован первый случай гибридизации шакала с домашней собакой (*C. lupus familiaris* L., 1758), подтвержденный молекулярными методами [2]. Анализ 15 микросателлитных локусов, трех локусов главного комплекса гистосовместимости (МНС), контрольного региона мтДНК и интрона гена *ZfY*, локализованного на Y-хромосоме, выявил две гибридные особи, одна из которых была классифицирована как бэккросс на шакала, и одна являлась бэккроссом на волка. Это свидетельствует, среди прочего, о том, что гибриды между представителями *C. lupus* и *C. aureus* фертильны [2]. В то же время идентификация особей, имеющих фенотип, который на первый взгляд выглядит промежуточным между волком и шакалом, может маркировать и результат гибридизации волка с домашними собаками [13].

В настоящем исследовании мы приводим результаты генетического анализа 11 образцов,

взятых от фенотипически девиантных особей волка, которые на основании морфологии были исходно идентифицированы как гипотетические гибриды волка с шакалом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Характеристика биологического материала

Десять образцов с территории Воронежского государственного заповедника были собраны в период 2016–2021 гг. одним из авторов (А.С. Мишин). Псовые с нетипичными для волка фенотипами (окрас, волосяной покров, форма головы) единично отмечались на территории Воронежского заповедника начиная с 1990-х гг., с 2013–2017 сформировав устойчивую популяцию, при этом в целом на территории Воронежской области еще в прошлом веке отмечалось много предполагаемых волко-собачьих гибридов [14]. Мы включили в анализ также один образец, взятый Ю.А. Яровенко у особи с промежуточной морфологией, добытой на территории Дахадаевского района Республики Дагестан в феврале 2022 г. Эта особь обликом и окрасом напоминала шакала, была гораздо мельче типичных волков, при этом степень стертости зубов свидетельствовала, что она была по меньшей мере взрослой, а скорее старой. В качестве референтных были использованы фиксированные этанолом образцы тканей четырех особей обыкновенного шакала, добытых в Азовском районе Ростовской области в январе 2022 г. (собранны В.В. Стахеевым). Для выделения ДНК были использованы заспиртованные или высушенные фрагменты тканей или крови, кроме одного образца атипичной морфологии из Воронежского заповедника (№ 2418), который был представлен костными останками. Также в качестве референтных использовались образцы волков и собак из коллекции лаборатории популяционной генетики им. Ю.П. Алтухова Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (ИОГен РАН). Выделение ДНК из полученных образцов проводилось наборами “ДНК-Экстрем 2” производства компании “Синтол” (Москва, Россия).

Генетический анализ видовой принадлежности

Первый этап генетического анализа был проведен по унипарентальным маркерам: наследуемому по материнской линии фрагменту митохондриального гена цитохрома *b* (*cytb*) и интронам генов цинковых пальцев *ZfY* и *ZfX*, локализованных на Y- и X-хромосомах соответственно (*ZfY*, таким образом, маркирует отцовскую линию наследования). Для амплификации фрагмента гена *cytb* использовали праймеры MVZ04 и MVZ05 [15] в соответствии с мультиплексным протоколом,

приведенным в работе [13], секвенирование амплифицированных фрагментов проводилось с использованием сервисов компании “Евроген” (Москва, Россия) с использованием праймера MVZ04. Для одновременной амплификации фрагментов *ZfX* и *ZfY* использовались праймеры dZFY1F и dZFY2R [16]. Данная пара праймеров применялась для определения пола анализируемых животных, а также для выявления особей, относящихся к шакалу по отцовской линии, — у представителей *C. aureus* отсутствует имеющаяся у собак и волков инсерция в гене *ZfY*, что позволяет дифференцировать эти виды с помощью простой технологии ПЦР-амплификации и последующего электрофореза. Для подтверждения видового диагноза использовался дополнительный набор праймеров (YintF2, YintR и Yint2-335), разработанный специально для однозначного выявления наличия или отсутствия данной делеции по наличию двух или трех амплифицированных фрагментов [17]. Для считывания результатов ПЦР применялся электрофорез в полиакриламидном геле с использованием размерного стандарта 1кб производства компании “Сибэнзим” (Новосибирск, Россия).

Поскольку комбинация унипарентальных маркеров не может однозначно идентифицировать все классы гибридов, особенно возвратных (бэк-кроссов), был проведен также анализ аутоматических микросателлитных маркеров: 213, 2010, vWf 2079, PEZ03, 2201, 2096, 2140, 2006, 2054, 2168, 2159, 2001, CXX253, АНТ119, CXX250, CXX225, АНТ138, CXX123, CXX204, АНТ126, АНТ106 [18]. Условия ПЦР описаны в исходном источнике и отработаны нами на различных секвенаторах коммерческих сервисов [19], в настоящем исследовании использовался ДНК-анализатор “Нанофор 5” (Синтол).

Анализ микросателлитных маркеров с использованием описанных ранее мультиплексных реакций [18] был проведен для гибридных особей. В качестве референтного набора данных по популяции волков РФ были использованы генотипы 207 особей волков из 19 регионов: республики Адыгея, Калмыкия, Марий Эл, Мордовия, Татарстан, Чувашия, Кабардино-Балкарская, Удмуртская, Чеченская, Краснодарский и Ставропольский край, Калужская, Ленинградская, Нижегородская, Ростовская, Рязанская, Смоленская, Тверская и Тульская области. Для расчета видового происхождения особей была использована программа NewHybrids 1.1 [20] со стандартными параметрами и числом итераций 1000000. Для целей анализа референтные особи были классифицированы как представители чистого вида (волк или шакал). Предполагаемые гибриды, которые по обоим унипарентальным маркерам были определены как волки, были также отмечены как представители волков.

Морфологический анализ видовой принадлежности

Для проведения краниологического анализа были получены 3D-сканы 10 черепов предполагаемых волко-шакальных гибридов из коллекции Воронежского государственного заповедника. В качестве референсных образцов были использованы сканы черепов волков из коллекции Зоологического музея МГУ им. М.В. Ломоносова (ЗММГУ) и Государственного Дарвиновского музея (ГДМ), а также череп бродячей домашней собаки и череп шакала из коллекции лаборатории исторической экологии ИПЭЭ им. Северцова РАН, предоставленные А.Б. Савинецким. Сканирование черепов проводилось при помощи оптического сканера RangeVision Neo (RangeVision, Москва, Россия). Непосредственно сравнительный анализ черепов методом геометрической морфометрии проводился в пакете Geomorph [21, 22] для среды R [23].

В связи с тем, что не все сканированные черепа имели полную структурную целостность (у одного из черепов из Воронежского заповедника отсутствовали височные дуги), были проведены два независимых морфометрических анализа. Первый был проведен с использованием пяти фиксированных (установленных вручную) опорных точек (наиболее роstralная точка соприкосновения носовых костей, крайние точки надглазничных отростков, наиболее задние точки мышечков) и 500 сгенерированных автоматически опорных точек. Второй анализ был проведен с использованием девяти фиксированных опорных точек (приведенные выше, а также наиболее внешние точки височных дуг в месте их максимальной ширины, начальная и наиболее задняя точки сагиттального гребня) и 2000 сгенерированных автоматически опорных точек. На основе полученных точек была проведена нормализация черепов по размеру и анализ методом главных компонент (PCA).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Генетический анализ видовой принадлежности

Генотипы по фрагменту гена цитохрома *b* были получены для 11 предполагаемых гибридов, четырех шакалов, двух домашних собак и пяти волков из коллекции лаборатории популяционной генетики им. Ю.П. Алтухова ИОГен РАН. Полученные в рамках исследования последовательности депонированы в GenBank под номерами PP16645–PP16666. Длина полученных фрагментов после выравнивания составила 320–381 пн. По результатам анализа BLAST по базам данных GeneBank NCBI все 11 предположительно гибридных особей, все исследованные волки и домашние собаки с вероятностью 99.6–100% по материнской линии оказались представителями вида *Canis lupus* s. l.

(то есть волк или домашняя собака) и не являются носителями митохондриальных гаплотипов обыкновенного шакала (табл. 1). Четыре референсных образца шакалов имели гаплотипы *cytb*, которые также с высокой вероятностью (98.498.7%) относились к виду *Canis aureus*.

По результатам молекулярного определения пола с использованием праймеров dZFY1F и dZFY2R среди предполагаемых гибридов было выявлено шесть самцов и четыре самки (качество ДНК образца 2418 не позволило получить результаты по ядерным маркерам и он был исключен из дальнейшего анализа). Все самцы по длине амплифицируемого фрагмента были определены как принадлежащие к *C. lupus* s. l. Видовая идентификация была подтверждена с использованием праймеров YintF2, YintR и Yint2-335. Функциональность обоих наборов праймеров была проверена на четырех образцах волка и четырех образцах шакала (по два самца и две самки), на которых половая и видовая принадлежность, установленная генетическим анализом, соответствовала исходным данным о видовых диагнозах (рис 1).

По результатам анализа микросателлитных маркеров три из четырех самок предполагаемых гибридов были определены как представители *Canis lupus* с вероятностью 88.7–99.6%. Одна из самок (проба 2420CLA, отобранная в Воронежском заповеднике в сентябре 2021 г.) была определена как гибрид второго поколения (F2) с вероятностью 79%, при этом большая доля оставшейся вероятности приходилась на отнесение ее к *Canis aureus* (19,2%). Данная самка несла по трем локусам (2201, АНТ138, СХХ204) аллели, не присутствующие в референсной популяции волков. Однако у четырех имеющихся шакалов этих аллелей также не обнаруживалось. Для четырех самцов из предполагаемых гибридов (пробы 2413CL–2415CL и 2421CL) наблюдалась низкая вероятность отнесения к *C. lupus*, вплоть до 53.7–78.2%. При этом наибольшая оставшаяся вероятность (16.3–33.6%) приходилась на гибрид второго поколения (F2). Два самца (пробы 2413CL и 2414CL) несли каждый по одному локусу (СХХ204 и АНТ106 соответственно), в которых присутствовали аллели, отсутствующие в референсной популяции волков. Один из этих аллелей (в локусе СХХ204) присутствовал у одной из особей шакала (проба 2423CA).

Морфологический анализ видовой принадлежности

По результатам первого краниометрического анализа наблюдалось удаление черепа собаки от общей группы по первой главной компоненте (32.81% изменчивости). При этом один из черепов из Воронежского заповедника (датированный 2019 г.) находился по первой компоненте дальше, чем череп собаки. Еще один череп из Воронежского

Таблица 1. Морфологические и генетические диагнозы образцов особей рода *Canis*

Образец	Регион	Диагноз (фенотип)	Диагноз мтДНК	Диагноз (ZfY)	Диагноз (nSSR)	<i>aureus</i>	<i>lupus</i>	F1	F2	<i>lupus</i> ВК	<i>aureus</i> ВК
2410CL	Республика Дагестан	<i>lupus</i> x <i>aureus</i>	<i>lupus</i> 99.9%	<i>lupus</i>	<i>C. lupus</i>	0.00000	0.95243	0.00124	0.03246	0.00013	0.01374
2412CL	Воронежская обл.	<i>lupus</i> x <i>aureus</i>	<i>lupus</i> 99.9%	N/A(самка)	<i>C. lupus</i>	0.00000	0.98841	0.00000	0.00689	0.00000	0.00470
2413CL	То же	<i>lupus</i> x <i>aureus</i>	<i>lupus</i> 99.9%	<i>lupus</i>	<i>C. lupus</i>	0.00000	0.72693	0.00038	0.22797	0.00014	0.04457
2414CL	»	<i>lupus</i> x <i>aureus</i>	<i>lupus</i> 99.7%	<i>lupus</i>	<i>C. lupus</i>	0.00000	0.53735	0.06157	0.33663	0.00968	0.05476
2415CL	»	<i>lupus</i> x <i>aureus</i>	<i>lupus</i> 100%	<i>lupus</i>	<i>C. lupus</i>	0.00000	0.78208	0.00006	0.18939	0.00001	0.02846
2416CL	»	<i>lupus</i> x <i>aureus</i>	<i>lupus</i> 100%	самка	<i>C. lupus</i>	0.00000	0.99691	0.00000	0.00153	0.00000	0.00157
2417CL	»	<i>lupus</i> x <i>aureus</i>	<i>lupus</i> 99.8%	N/A(самка)	<i>C. lupus</i>	0.00000	0.88760	0.00017	0.09915	0.00014	0.01294
2418CL	»	<i>lupus</i> x <i>aureus</i>	<i>lupus</i> 99.6%	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
2419CL	»	<i>lupus</i> x <i>aureus</i>	<i>lupus</i> 99.8%	<i>lupus</i>	<i>C. lupus</i>	0.00000	0.98280	0.00001	0.01436	0.00000	0.00283
2420CLA	».	<i>lupus</i> x <i>aureus</i>	<i>lupus</i> 100%	N/A(самка)	F2	0.19228	0.00000	0.00000	0.79064	0.01706	0.00001
2421CL	»	<i>lupus</i> x <i>aureus</i>	<i>lupus</i> 100%	<i>lupus</i>	<i>C. lupus</i>	0.04565	0.77287	0.00064	0.16304	0.00521	0.01260
2422CA	Ростовская обл.	<i>aureus</i>	<i>aureus</i> 98.5%	<i>aureus</i>	<i>C. aureus</i>	0.94799	0.00005	0.00027	0.02530	0.02637	0.00003
2423CA	То же	<i>aureus</i>	<i>aureus</i> 98.7%	N/A(самка)	<i>C. aureus</i>	0.96959	0.00000	0.00017	0.00879	0.02146	0.00000
2424CA	»	<i>aureus</i>	<i>aureus</i> 98.5%	N/A(самка)	<i>C. aureus</i>	0.98375	0.00000	0.00026	0.00288	0.01311	0.00000
2425CA	»	<i>aureus</i>	<i>aureus</i> 98.4%	<i>aureus</i>	<i>C. aureus</i>	0.92954	0.00000	0.00277	0.02177	0.04590	0.00003

Примечание. Жирным шрифтом выделены значения, соответствующие наиболее вероятным диагнозам. nSSR – ядерные микросателлитные локусы. *lupus*ВК – бэккросс на волка; *aureus*ВК – бэккросс на шакала; N/A – нет данных.

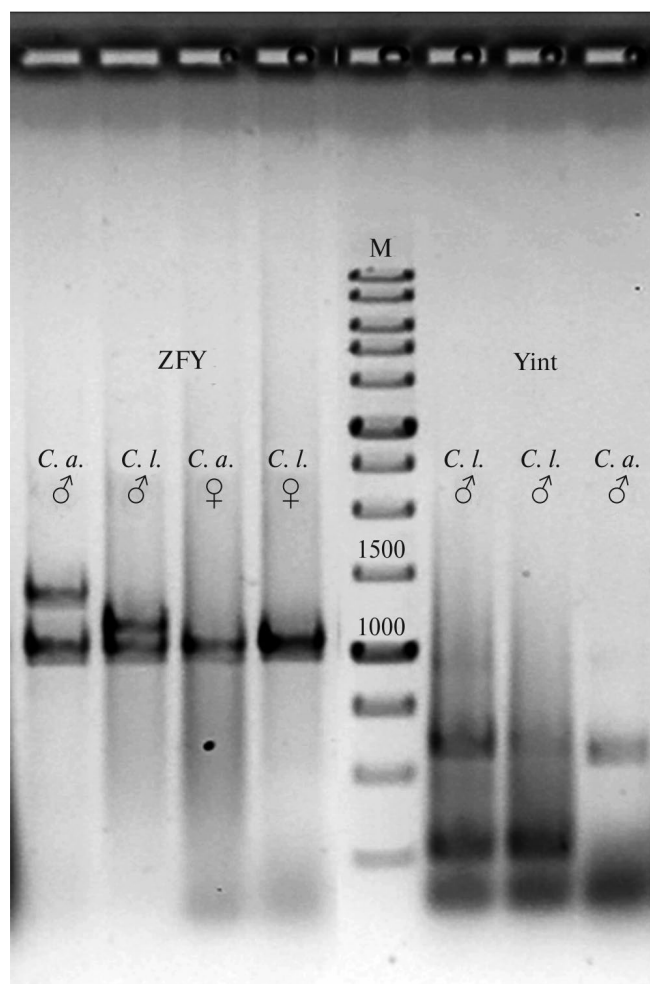


Рис. 1. Результат электрофореза ПЦР-продуктов, полученных с использованием наборов праймеров dZFY1F/dZFY2R и YintF2/YintR/Yint2-335. *C. a.* — *Canis aureus*, *C. l.* — *Canis lupus*, М — размерный стандарт 1кб, длины фрагментов в пн.

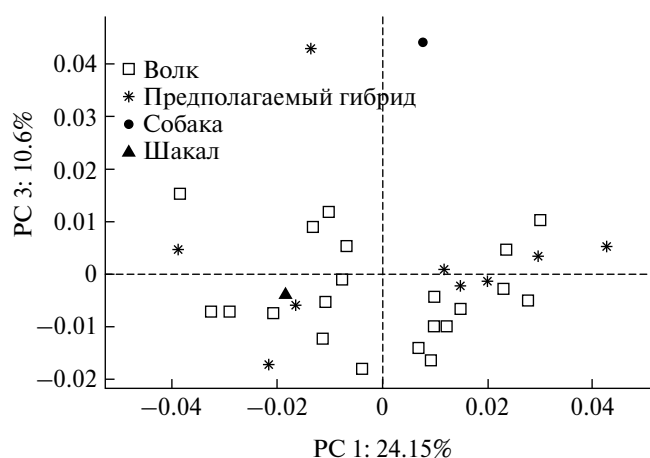


Рис. 2. Результаты краниометрического анализа по 3D-моделям методом главных компонент.

заповедника (датированный 1990 г.) находился по первой компоненте между черепом собаки и ближайшим к ней черепом волка.

По результатам второго анализа (рис. 2) наблюдалось удаление черепа шакала от остальных черепов по комбинации первой и второй компонент (24.15% и 18.77% изменчивости соответственно). При этом ни один из черепов предполагаемых гибридов не был ближе к черепу шакала, чем к какому-либо из черепов волков. По третьей компоненте (10.6% изменчивости) наблюдалось значительное удаление черепа собаки и одного из черепов предполагаемых гибридов (череп 02-2021).

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, по результатам работы не было выявлено гибридов волка и шакала первого поколения, также комбинация унипарентальных маркеров позволила исключить принадлежность исследованных особей к гибридам между разными особями F1 волка и шакала последующих поколений. Однако логика этого подхода для установления окончательного диагноза вызывает сомнения. Во-первых, самки не могут быть проанализированы по Y-хромосомным маркерам. Во-вторых, особи с мтДНК и тяжелым фрагментом *ZfY*, указывающим на принадлежность к волкам, не могут быть результатом скрещивания волка с шакалом только если мы рассматриваем первое поколение (F1) или последующие поколения размножения гибридных особей F1 внутри себя. Если же в систему скрещивания вовлечены возвратные скрещивания, то особи, определенные по митохондриальным и Y-хромосомным маркерам как волки, могут быть возвратными гибридами второго и последующих поколений. Так, например, потомок-самка от родителей ♀*lupus* × ♂*aureus* будет с характерным для родительского вида материнским вариантом, а ее братья-самцы будут с мтДНК волка и Y-хромосомой шакала. Однако уже в следующем поколении потомки этой самки — самцы-бэкрессы на волка (♂*lupus*) будут иметь ту же комбинацию гаплотипов *cytb* и *ZfY*, что и “чистые” волки. Подобная ситуация может возникать также и при некоторых комбинациях третьего и последующих поколений бэкрессов. Таким образом, в данном контексте не исключаются сложные гибриды.

По результатам анализа микросателлитных маркеров был предположительно идентифицирован один гибрид второго поколения, также получены данные, которые можно рассматривать как следы гибридизации у нескольких особей, идентифицированных как волки. Таким образом, есть некоторые основания предполагать наличие потока генов между популяциями шакала и волка в южных регионах европейской части России. Однако четких указаний на интрогрессию волка и

шакала в рассматриваемых случаях не обнаружено. В то же время результаты как генетического, так и краниологического исследований позволяют предполагать гибридизацию волков с собаками на тех же территориях. Уклоняющийся, нетипичный для волка, облик выявляемых особей рода *Canis* с большей вероятностью может отражать поток генов между волком и собакой, либо между шакалом и собакой, либо между волком и шакалом. Однако последний вариант менее вероятен, он крайне плохо документирован в Европе, нет надежных данных и по азиатской части зоны симпатрии двух диких видов псовых. Сомнения в успешности гибридизации волка и шакала, и тем более широкой интрогрессии между ними, остаются, хотя хорошо документировано, что каждый из этих диких видов успешно гибридизирует с собакой [2, 24]. Как отмечалось выше, это соответствует современным представлениям, что волк и обыкновенный шакал не являются ближайшими родственными таксонами.

Что касается Воронежского заповедника, следует отметить, что волки, вновь заселившие заповедник в 1970-е гг. после прекращения плановой борьбы с ними, обладали типичными морфологическими и этологическими признаками, характерными для вида. Хотя иногда их осторожно именовали “высококровными по волку гибридами”. При этом, на территории Воронежской области во второй половине прошлого века отмечалось много предполагаемых волко-собачьих гибридов [13]. Единственный до последнего десятилетия случай появления псового с нетипичными для волка фенотипом на территории Воронежского заповедника отмечен в 1990 г. Вероятная гибридизация с собакой могла иметь место в 2013 г., когда в марте была встречена волчица, сопровождаемая крупным кобелем. Применение фотоловушек с 2017 г. позволило ежегодно регистрировать хищников с нетипичным для волка внешним видом (окрас, особенности волосяного покрова, форма головы), при этом они проявляли типично волчье поведение и избегали человека.

Стоит отметить, что в настоящей работе как в генетической, так и в краниологической части исследования, набор референсных образцов шакалов был весьма ограничен. В связи с этим очевидны необходимость расширения набора данных по генотипам, морфологии и краниологии шакала и дальнейшая отработка методов идентификации гибридов и мониторинга событий гибридизации волка, собаки и шакала, которые становятся все более частыми в связи с расширением ареала шакала в европейской части России и в целом в Европе. Экспансия шакала вызывает беспокойство природоохранных организаций, поскольку в большинстве случаев он ведет себя как инвазивный вид, негативно влияя на биоразнообразие в

экосистемах, в которые внедряется [5]. Генетический мониторинг популяций волка должен включать не только выявление так называемых “волкособов”, но и тестирование на волко-шакалов. В частности, весьма многообещающим выглядит использование не только микросателлитов [4], но и панелей однонуклеотидных полиморфизмов (SNP). Однако до настоящего времени широкого тестирования на обыкновенных шакалах панелей SNP, исходно разрабатываемых для выявления волко-собачьих гибридов, не проводилось [24].

Авторы искренне благодарят А.Б. Савинецкого, любезно предоставившего череп собаки и давшего ценные консультации о сравнительном анализе морфологии и анатомии канид.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-24-00635, <https://rscf.ru/project/23-24-00635/>.

Этические нормы обращения с животными не нарушались, ни одно животное не было добыто специально для данного исследования. Все образцы взяты от законно добытых особей. Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы использования животных были соблюдены.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lindblad-Toh K., Wade C.M., Mikkelsen T.S. et al. Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog // *Nature*. 2005. V. 438. № 7069. P. 803–819. <https://doi.org/10.1038/nature04338>
2. Galov A., Fabbri E., Caniglia R. et al. First evidence of hybridization between golden jackal (*Canis aureus*) and domestic dog (*Canis familiaris*) as revealed by genetic markers // *Royal Society Open Science*. 2015. V. 2. № 12. <https://doi.org/10.1098/rsos.150450>
3. Rykov A.M., Kuznetsova A.S., Tirronen K.F. The first record of the golden jackal (*Canis aureus* Linnaeus, 1758) in the Russian Subarctic // *Polar Biology*. 2022. V. 45. № 5. P. 965–970.
4. Stronen A.V., Bartol M., Boljite B. et al. “Passive surveillance” across species with cross-amplifying molecular markers: the potential of wolf (*Canis lupus*) genetic monitoring in tracking golden jackal (*C. aureus*) colonization and hybridization // *Hystrix, the Italian J. Mammalogy*. 2020. V. 31. № 1. P. 74–76. <http://dx.doi.org/10.4404/hystrix-00259-2019>
5. Trouwborst A., Krofel M., Linnell J.D.C. Legal implications of range expansions in a

- terrestrial carnivore: the case of the golden jackal (*Canis aureus*) in Europe // Biodiversity and Conservation. 2015. V. 24. № 10. P. 2593–2610. <https://doi.org/10.1007/s10531-015-0948-y>
6. Новиков Г.А. Хищные млекопитающие фауны СССР. М.; Л.: АН СССР, 1956. 294 с.
 7. Волк. Происхождение, систематика, морфология, экология / Под ред. Бибикова Д.И. М.: Наука, 1985. 606 с.
 8. Кудактин А.Н., Яровенко Ю.А., Яровенко А.Ю. Современное распространение и экология шакала обыкновенного *Canis aureus* (L., 1758) в России и на Кавказе // Вестник охотоведения. 2019. Т. 16. № 1, С. 22–28.
 9. Rutledge L.Y., White B.N., Row J.R., Patterson B.R. Intense harvesting of eastern wolves facilitated hybridization with coyotes // Ecol. Evol. 2012. V. 2. № 1. P. 19–33. <https://doi.org/10.1002/2Fece3.61>
 10. Bohling J.H., Waits L. P. Factors influencing red wolf–coyote hybridization in eastern North Carolina, USA // Biol. Conservation. 2015. V. 184. P. 108–116. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2015.01.013>
 11. Leonard J.A., Echegaray J., Randi E., Vila C. Impact of hybridization with domestic dogs on the conservation of wild canids // Free-Ranging Dogs and Wildlife Conservation / Ed. Gompper M.E., Oxford: Oxford Univ. Press, 2014. P. 170–184.
 12. Barash A., Preiss-Bloom S., Machluf Y. et al. Possible origins and implications of atypical morphologies and domestication-like traits in wild golden jackals (*Canis aureus*) // Sci. Reports. 2023. V. 13:7388. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-34533-w>
 13. Хейдорова Е.Э., Шпак А.В., Гомель К.В. и др. Молекулярно-генетическая идентификация инвазивного вида — шакала азиатского (*Canis aureus*) на территории Беларуси // Докл. Нац. академии наук Беларуси. 2018. Т. 62. № 1. С. 86–92.
 14. Рябов Л.С. Волки Черноземья. Воронеж: Изд-во ВГУ, 1993. 168 с.
 15. Smith M.F., Patton J.L. Variation in mitochondrial cytochrome b sequence in natural populations of South American akodontine rodents (Muridae: Sigmodontinae) // Mol. Biol. Evol. 1991. V. 8. № 1. P. 85–103. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040638>
 16. Boonyaparakob U., Homsavart S., Noosud J., Tungtrakonpoung R. Cloning and comparative analysis of zinc-finger protein gene on Y-chromosome (ZFY) between Thai Bangkaew dog and other Thai canids // Agriculture and Nat. Resources. 2017. V. 51. № 3. P. 212–217. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anres.2016.12.007>
 17. Galov A., Sindicic M., Gomercic T. et al. PCR-based Y chromosome marker for discriminating between golden jackal (*Canis aureus*) and domestic dog (*Canis lupus familiaris*) paternal ancestry // Conservation Genet. Resources. 2014. V. 6. № 2. P. 275–277. <https://doi.org/10.1007/s12686-013-0110-7>
 18. Akesson M., Liberg O., Sand H. et al. Genetic rescue in a severely inbred wolf population // Mol. Ecol. 2016. V. 25. № 19. P. 4745–4756. <https://doi.org/10.1111/mec.13797>
 19. Казимиров П.А., Леонтьев С.В., Нечаяева А.В. и др. Популяционно-генетическая структура степного волка России и Казахстана по микросателлитным локусам // Генетика. 2022. Т. 58. № 11. С. 1261–1272. <https://doi.org/10.31857/S0016675822110042>
 20. Anderson E., Thompson E. A model-based method for identifying species hybrids using multilocus genetic data // Genetics. 2002. V. 160. № 3. P. 1217–1229. <https://doi.org/10.1093/genetics/160.3.1217>
 21. Adams D.C., Collyer M.L., Kaliontzopoulou A., Baken E.K. Geomorph: Software for Geometric Morphometric Analyses. R package version 4.0.6. 2023. <https://cran.r-project.org/package=geomorph>
 22. Collyer M.L., Adams D.C. {RRPP}: Linear model evaluation with randomized residuals in a permutation procedure // Meth. Ecol. Evol. 2023. V. 9. № 2. P. 1772–1779. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13029>
 23. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing // 2022. <https://www.R-project.org>
 24. Harmoinen J., von Thaden A., Aspi J. et al. Reliable wolf-dog hybrid detection in Europe using a reduced SNP panel developed for non-invasively collected samples // BMC Genomics. 2021. V. 22:473. <https://doi.org/10.1186/s12864-021-07761-5>

Genetic Identification of Putative Hybrids Between Grey Wolf and Golden Jackal

P. A. Kazimirov^{a, b, *}, Yu. S. Belokon^a, M. M. Белоко́нь^a, A. S. Mishin^c,
V. V. Stakheev^d, Yu. A. Yarovenko^e, A. Yu. Yarovenko^e, D. V. Politov^{a, b, **}

^a*Vavilov Institute of General Genetics Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia*

^b*All-Russian Research Institute for Environmental Protection, Moscow, 117628 Russia*

^c*Peskov Voronezhsky State Nature Biosphere Reserve, Voronezh, 394080 Russia*

^d*Institute of Arid Zones, South Scientific Centre Russian Academy of Sciences, Rostov-on-Don, 344006 Russia*

^e*Caspian Institute of Biological Resources, Dagestan Federal Research Centre Russian Academy of Sciences, Makhachkala, 367000 Russia*

^{*}*e-mail: farenklaw@gmail.com*

^{**}*e-mail: dmitri_p@inbox.ru*

We describe the results of genetic analysis of 11 phenotypically deviant individuals of grey wolf (*Canis lupus* Linnaeus, 1758) sensu lato collected in Voronezh State Nature Biosphere Reserve (Chernozem zone of European Russia) and Dagestan (Northern Caucasus, Russia) putatively identified morphologically as hybrids between grey wolf and golden jackal (*Canis aureus* Linnaeus, 1758). By means of maternally inherited mtDNA (sequences of cytochrome b gene fragment) and paternal lineage markers ZfY no F1 wolf-jackal hybrids were identified. As well, possibility of classification of the studied individuals to next generation hybrids from crosses between different wolf-jackal F1s. However, attribution of these animals to complex hybrids such as various backcrosses cannot be rejected. From the results of analysis by a set of autosomal microsatellite loci we putatively diagnosed a single F2 hybrid. As well, we obtained data that can be considered as traces of hybridization between wolf and jackal in southern regions of European Russia, albeit direct indications of introgression between these species not found. At the same time, the results of both genetic and craniological studies could be interpreted as indication to hybridization between wolves and domestic dogs on the same territories.

Keywords: wolf, jackal, dog, hybridization, genetic markers.