

ПОЛИМОРФИЗМ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ТРЕХ ПОПУЛЯЦИЙ ЭВОРОНСКОЙ ПОЛЕВКИ ПО ДАННЫМ ИЗМЕНЧИВОСТИ КОНТРОЛЬНОГО РЕГИОНА МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК

© 2023 г. И. Н. Шереметьева¹ *, И. В. Картавцева¹, Л. В. Фрисман²

¹Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии Дальневосточного отделения
Российской академии наук, Владивосток, 690022 Россия

²Институт комплексного анализа региональных проблем Дальневосточного отделения
Российской академии наук, Биробиджан, 679016 Россия

*e-mail: sheremet76@yandex.ru

Поступила в редакцию 11.03.2022 г.

После доработки 27.04.2022 г.

Принята к публикации 11.05.2022 г.

В результате анализа контрольного региона митохондриальной ДНК для эворонской полевки было обнаружено высокое гаплотипическое (97%) и нуклеотидное (1.53%) разнообразие. Полученные данные свидетельствуют о низком уровне генетической дифференциации популяций. При этом популяции, географически расположенные ближе, подразделены сильнее, чем удаленные. В целом наблюдается согласованность между данными изменчивости контрольного региона митохондриальной ДНК и хромосомными расами. Однако если данные хромосомного анализа указывают на сохранение более древних вариантов кариотипа хромосомной расы “эворон” в Эвороно-Чукчагирской низменности, то данные молекулярно-генетического анализа свидетельствуют в пользу сохранения наиболее древнего мт гаплотипа (106-19) в популяции Верхнебуреинской впадины (хромосомная раса “арги”).

Ключевые слова: внутривидовая изменчивость, полиморфизм, контрольный регион мтДНК, *Alexandromys evoronensis*, эворонская полевка, хромосомные расы.

DOI: 10.31857/S0016675823010101, **EDN:** EGKVYU

Alexandromys evoronensis (Kovalskaya et Sokolov, 1980) — узкоареальный эндемик Дальнего Востока России [1–4]. В настоящее время некоторые исследователи рассматривают эворонскую полевку как полувид надвида “*maximowiczii*”. В данный надвид кроме эворонской полевки еще входят полевка Максимовича (*Alexandromys maximowiczii* Schrenck, 1858) и муйская полевка (*Alexandromys tujanensis* Orlov et Kowalskaia, 1978) [5]. Между представителями надвида “*maximowiczii*” выявлен низкий, сопоставимый с внутривидовым, уровень дифференциации по морфологическим, аллозимным и молекулярно-генетическим данным [6–12]. Несмотря на это, данные кариологического анализа и экспериментальной гибридизации свидетельствуют в пользу самостоятельности всех трех видов [6, 13–16]. До последнего времени принято было считать, что эворонская полевка обитает только в пределах Эвороно-Чукчагирской низменности [3, 6, 14, 17, 18] и ее проникновение на запад затруднено горными хребтами Буреинским, Дуссе-Алинь и Ям-Алинь [6]. Однако за последние 10 лет для эворонской полевки были

обнаружены две новые популяции за пределами Эвороно-Чукчагирской низменности: в Верхнебуреинской впадине в долине р. Ургал [19] и на северо-востоке Верхнезейской равнины в долине р. Арги [20]. Кариологический анализ показал наличие двух хромосомных рас у *A. evoronensis*: “эворон” ($2n = 38–41$, $NF = 54–59$) и “арги” ($2n = 34, 36, 37$, $NF = 51–56$) [15, 16]. К первой расе относятся полевки Эвороно-Чукчагирской низменности, ко второй — особи Верхнебуреинской впадины и Верхнезейской равнины.

Цель настоящей работы — оценить генетическое разнообразие и уровень дифференциации трех популяций эворонской полевки по данным изменчивости контрольного региона мтДНК и сопоставить полученные результаты с данными кариологического анализа.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы образцы тканей от 43 эворонских полевок, отловленных в трех популяциях: Эвороно-Чукчагирская низменность ($n = 12$),

Верхнебуреинская впадина ($n = 17$) и Верхнезейская равнина ($n = 14$) (табл. 1). Часть из этих полевков ранее были кариотипированы [15, 16]. Образцы хранятся в УНУ “Биоресурсная коллекция ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН” (г. Владивосток). Также в анализ включены пять нуклеотидных последовательностей контрольного региона мтДНК эворонской полевки из Эвороно-Чукчагирской низменности, полученных нами ранее [8] и помещенных в GenBank (NCBI) под номерами HM135858–HM135862.

Выделение ДНК осуществляли методом солевой экстракции [21] из фиксированных в спирте тканей мышц. Подробная методика по приготовлению реакционной смеси, схема ПЦР-реакции для получения фрагмента и подготовки проб к секвенированию были описаны ранее [22]. Нуклеотидную последовательность прочитывали на автоматическом секвенаторе ABI Prizm 3130 на базе центра коллективного пользования “Биотехнология и генетическая инженерия” ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН (г. Владивосток). Редактирование и выравнивание полученных последовательностей проводили с использованием программы BioEdit 7.0.9.0 [23]. Построение филогенетических деревьев выполнено в программе MEGA X [24] методом максимального правдоподобия (Maximum Likelihood), достоверность кластеризации оценивали с помощью бутстрэп-анализа (1000 повторностей). Анализ максимального правдоподобия проводили с использованием эволюционной модели Тамура–Нея93 (TN93) [28] со значением эволюционной нейтральности сайтов (+I) равного 0.87 и максимальным логарифмом правдоподобия – 1970.162. Выбор эволюционной модели ML-анализа определяли по результатам модель-теста в программе MEGA X [24], по которым для модели TN93+I были получены минимальные значения байесового информационного критерия (BIC = 5001.735). Сети гаплотипов построены при помощи программы Network 10.0.0.0 с использованием метода “median joining” [25]. Показатели генетического разнообразия и дифференциации популяций рассчитаны с помощью DnaSP 6.00 [26]. Расчет статистик нейтральности (Tajima’s D и Fu’s F_s), анализ демографической и пространственной экспансии проводили в программе Arlequin 3.5 [27].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для всех 43 новых образцов эворонской полевки из трех популяций были получены последовательности контрольного региона мтДНК длиной 952 пн, все они внесены в GenBank (NCBI) под номерами OM966944–OM966984. Уровень изменчивости митохондриальных фрагментов контрольного региона эворонской полевки (число нуклеотидных замен) был достаточно высоким,

число нуклеотидных различий между отдельными гаплотипами варьировало от 0 до 28 (0.0 до 2.9%) (табл. 2) и в среднем было равно 14.42. Частоты нуклеотидов составляли $A = 29.17\%$, $T = 32.72\%$, $C = 25.55\%$ и $G = 12.56\%$. Все нуклеотидные последовательности вида (48 экз.) содержали 76 переменных сайтов (включая пять делеций), среди которых 48 были парсимониально информативны. Частота транзиций составила 0.0659, а трансверсий – 0.0095. В целом для вида обнаружено 38 гаплотипов, из них пять были описаны ранее [8]. Из обнаруженных гаплотипов один был встречен у шести особей, один – у трех, три – у двух, остальные 33 гаплотипа (86.84%) были уникальными (встречены только у одной особи). Гаплотипическое разнообразие для вида в целом было -0.97 ± 0.014 , а нуклеотидное – 0.0153 ± 0.0005 .

В выборке эворонской полевки из Эвороно-Чукчагирской низменности нуклеотидные последовательности содержали 43 переменных сайта, среди которых 16 были парсимониально информативны (табл. 3). Для этой выборки характерны самые высокие показатели как гаплотипического (100%), так и нуклеотидного (1.1%) разнообразия, обнаруженные в пределах данного вида. Все отловленные в этой низменности особи имели уникальные гаплотипы, различающиеся 1–21 нуклеотидной заменой. Среднее число парных нуклеотидных различий между гаплотипами внутри выборки составило 10.26.

Генетическое разнообразие выборки из Верхнезейской равнины было ниже, чем для Эвороно-Чукчагирской низменности. Гаплотипическое разнообразие составило здесь 97.8%, а нуклеотидное – 0.86% (табл. 3). В выборке было обнаружено 12 гаплотипов, только два из которых были встречены у двух особей. В целом нуклеотидные последовательности этой выборки имели минимальное число переменных (24) и парсимониально информативных (16) сайтов. Минимальное среднее число парных нуклеотидных различий равно 8.41, при этом число нуклеотидных различий между отдельными гаплотипами варьировало от 1 до 14.

Самые низкие значения гаплотипического (86%) и нуклеотидного (0.68%) разнообразия были отмечены в выборке Верхнебуреинской впадины (табл. 3). Так же для этой выборки характерно минимальное число парсимониально информативных (10) сайтов. При этом общее число переменных сайтов было 25. Всего для выборки Верхнебуреинской впадины обнаружено 9 гаплотипов на 17 особей. Треть этих гаплотипов была обнаружена больше чем у одной особи. Отдельные гаплотипы отличались друг от друга 1–19 нуклеотидной заменой, при этом среднее число парных нуклеотидных различий между гаплотипами внутри выборки было не намного выше, чем в выборке Верхнезейской равнины, и составило 8.68.

Таблица 1. Материал

Код популяции	Локалитет/год/координаты	№ хром. препарата	Хром. раса#/вариант кариотипа	Номер образца	Номер GenBank
Evoron	Окрест. с. Харпичан/2006/51°19' с.ш., 136°35' в.д.	2050	I/2n = 40a, NF = 57*	81-06	HM135862***
		2355	I/2n = 41a, NF = 56*	50-08	HM135861***
	Слияние рек Нимелени Амгунь/2008/52°26' с.ш., 136°34' в.д.	—		51-08	HM135860***
		—		59-08	OM966944
		—		60-08	OM966945
		2369	I/2n = 41a, NF = 56*	87-08	HM135858***
		2370	I/2n = 41a, NF = 56*	88-08	HM135859***
	Окрест. с. Полина Осипенко/2016/52°25.42' с.ш., 136°29.67' в.д.	—		11-16	OM966947
		—		23-16	OM966948
		—		34-16	OM966949
		0060	I/2n = 41a, NF = 56*	58-16	OM966950
		0064	I/2n = 40f, NF = 55*	91-16	OM966951
		0063	I/2n = 41a, NF = 56*	92-16	OM966952
		0062	I/2n = 40e, NF = 54*	93-16	OM966946
		—		94-16	OM966953
		0066	I/2n = 41a, NF = 56*	95-16	OM966954
		—		141-16	OM966955
Argi	Слияние р. Арги и Зейской протоки/2015/54°40' с.ш., 129°06' в.д.	—		2-15	OM966968
		—		3-15	OM966959
		3950	II/2n = 36a, NF = 54**	4-15	OM966969
		—		15-15	OM966956
		—		20-15	OM966960
		3991	II/2n = 36a, NF = 54**	21-15	OM966961
		3992	II/2n = 36a, NF = 54**	22-15	OM966962
		3993	II/2n = 34b, NF = 52**	23-15	OM966963
		3994	II/2n = 36c, NF = 55**	24-15	OM966964
		3995	II/2n = 36c, NF = 55**	25-15	OM966965
		3996	II/2n = 36d, NF = 55**	26-15	OM966958
		3997	II/2n = 36c, NF = 55**	27-15	OM966966
		—		28-15	OM966967
		3999	II/2n = 36c, NF = 55**	29-15	OM966957

Таблица 1. Окончание

Код популяции	Локалитет/год/координаты	№ хром. препарата	Хром. раса#/вариант кариотипа	Номер образца	Номер GenBank
Urgal	Окрест. пгт. Чегдомын/2014/ 51°05' с.ш., 132°33' в.д.	—		139-14	OM966985
		—		146-14	OM966986
	Окрест. пгт. Чегдомын/2016/ 51°05' с.ш., 132°33' в.д.	—		36-16	OM966983
		—		90-16	OM966984
	Окрест. пос. Ургал/2019/ 51°07' с.ш., 132°31' в.д.	—		36-19	OM966972
		—		37-19	OM966973
		—		70-19	OM966975
		—		72-19	OM966974
		—		73-19	OM966977
		—		74-19	OM966970
		—		75-19	OM966971
		—		80-19	OM966976
		—		82-19	OM966978
		4549	II/2n = 36c, NF = 55**	101-19	OM966979
		4554	II/2n = 37a, NF = 55**	106-19	OM966982
		4556	II/2n = 37b, NF = 55**	107-19	OM966980
		4557	II/2n = 36b, NF = 56**	108-19	OM966981

— хромосомные расы: I — “эворон”, II — “арги”; * — данные из статьи Картавцевой и др., 2021 [16]; ** — Kartavtseva et al., 2021 [15]; *** — Haring et al., 2011 [8].

Значения D Tajima для всех популяций эворонской полевки были незначимыми, но только для Верхнебуреинской впадины и Эворонно-Чукчагирской низменности они были отрицательными. Результаты теста Фу (Fu's F_s) на селективную нейтральность для всех популяций были не только отрицательными, но и высоко достоверно отличались от нуля, что может указывать на рост численности в прошлом (табл. 3).

Распределение попарных нуклеотидных различий между гаплотипами особей во всех популяциях было полимодальным (рис. 1). При этом максимальная частота для сравнений внутри популяций Эворонно-Чукчагирской низменности и Верхнезейской равнины располагается в области 9–10 (значения парных различий), а внутри популяции Верхнебуреинской впадины — в области 16–18.

Невысокие значения условного времени τ , а также низкие и статистически недостоверные значения суммы отклонений SSD свидетельствуют в пользу гипотезы роста численности с после-

дующей пространственной экспансией для всех исследуемых популяций в недавнем прошлом приблизительно в одно и то же время (табл. 3).

ML-анализ нуклеотидных последовательностей позволил построить дендрограмму и объединить последовательности в группы, характеризующие близкие гаплотипы эворонской полевки (рис. 2, а). На дендрограмме можно выделить клады, которые соответствуют трем популяциям: Эворонно-Чукчагирской низменности (Evoron), Верхнебуреинской впадины (Urgal) и Верхнезейской равнины (Argi). Исключением является гаплотип одной особи из популяции Urgal (106-19U). Этот гаплотип на дендрограмме имеет базальное расположение в единой для гаплотипов популяции Urgal и Argi кладе. С целью проведения более точной кластеризации гаплотипов эворонской полевки была построена медианная сеть (рис. 1). В целом сеть подтверждает данные, полученные при ML-анализе, показывая разделение всех гаплотипов на три группы согласно их географической приуроченности. Общих гаплотипов для

Таблица 2. Полиморфные сайты контрольного региона мтДНК эворонской полевки

	Urgal								Evoron												Argi																		
	106-19	74-19	36-19	70-19	73-19	82-19	108-19	36-16	90-16	87-08	88-08	51-08	50-08	81-06	59-08	60-08	93-16	11-16	23-16	34-16	58-16	91-16	92-16	94-16	95-16	141-16	15-15	29-15	3-15	20-15	21-15	22-15	23-15	25-15	27-15	28-15	2-15	4-15	
37*	T															A																							
38*	C																																						
40*	A																																						
41	A																																						
73	A																																						
75	C																																						

Таблица 2. Продолжение

	Urgal								Evoron												Argi																	
	106-19	74-19	36-19	70-19	73-19	82-19	108-19	36-16	90-16	87-08	88-08	51-08	50-08	81-06	59-08	60-08	93-16	11-16	23-16	34-16	58-16	91-16	92-16	94-16	95-16	141-16	15-15	29-15	3-15	20-15	21-15	22-15	23-15	25-15	27-15	28-15	2-15	4-15
278	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
286	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
288	G	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
370	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
411	T	C	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
432	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
617	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
628	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
630	G	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A
631*	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
632	A	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
633	G	A	A	T	T	T	T	A	A	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
652	A	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
653	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
655	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
656	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
657	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
669	A	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
670	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
677	G	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
685	G	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
700	C	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
706	G	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
711	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
723	G	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
728	A	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T

Таблица 2. Окончание

	Urgal								Evoron												Argi																	
	106-19	74-19	36-19	70-19	73-19	82-19	108-19	36-16	90-16	87-08	88-08	51-08	50-08	81-06	59-08	60-08	93-16	11-16	23-16	34-16	58-16	91-16	92-16	94-16	95-16	141-16	15-15	29-15	3-15	20-15	21-15	22-15	23-15	25-15	27-15	28-15	2-15	4-15
737	T	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	C	C	C	C	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.
741	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	G	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	
742	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	G	.	
743	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
748	G	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	
751	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	C	.	.	.	.	.	.	.	C	.</																

— делеции, * — трансверсии.

Таблица 3. Показатели генетического разнообразия трех популяций эворонской полевки

Параметр	Evoron	Argi	Urgal
n	17	14	17
N	17	12	9
V_s	43	24	25
$k \pm S.E.$	10.26 ± 1.924	8.41 ± 1.710	8.68 ± 1.823
$h \pm S.D.$	1.000 ± 0.0202	0.9782 ± 0.027	0.8603 ± 0.02
$\pi \pm S.D.$	0.01058 ± 0.0057	0.0086 ± 0.0047	0.0068 ± 0.0038
Tajima's D (P)	-0.99 (0.165)	0.36 (0.679)	-0.51 (0.319)
Fu's F_s (P)	-9.27 (0.00)	-7.64 (0.00)	-12.60 (0.00)
Показатели пространственной экспансии			
τ	8.8	7.9	8.2
θ	2.529	3.188	2.986
M	249.86	31.24	1.73
SSD (P)	0.007 (0.40)	0.014 (0.45)	0.028 (0.80)
Показатели демографической экспансии			
τ	11.2	11.1	11.2
θ_0	0.007	0.002	0.000
θ_1	44.093	27.148	10.238
SSD (P)	0.005 (0.90)	0.008 (0.95)	0.040 (0.45)

Примечание. n — объем выборки; N — число гаплотипов; V_s — число вариабельных сайтов; k — среднее число попарных нуклеотидных различий; h — гаплотипическое разнообразие; π — нуклеотидное разнообразие; Tajima's D — коэффициент теста Таджimy; Fu's F_s — коэффициент теста Фу; τ — время экспансии в мутационных единицах; θ — мутационные параметры на начальном и конечном этапах роста численности; M — межпопуляционный обмен мигрантами; SSD — сумма квадратов отклонений между наблюдаемым и ожидаемым распределением попарных нуклеотидных различий; S.D. — стандартное отклонение; S.E. — стандартная ошибка; P — p -значение.

двух и более популяций не обнаружено. Добавление в гаплотипическую сеть в качестве внешней группы гаплотипов характерных для полевки Максимовича позволило выявить, что гаплотип 106-19 имеет базальное расположение не только внутри единой клады “Urgal” и “Argi”, но и для вида в целом. Следует сказать, что ранее при проведении кариологического анализа у данной особи (№ 4554) была обнаружена неидентифицированная перестройка [16].

Средний коэффициент генной дифференциации (G_{ST}) для выборок всех популяций составил 0.0635, что указывает на то, что только 6.35% генетической изменчивости приходится на вариацию между популяциями (табл. 4). Значение Nm (потока генов) при этом составило 3.69, что указывает на высокий уровень потока генов и низкую или среднюю генетическую дифференциацию между популяциями. Стандартный тест на гомогенность при попарном сравнении выборок из разных популяций выявил достоверный ($p < 0.05$) уровень подразделенности только внутри пар Urgal–Argi ($\chi^2 = 31.00$, $P = 0.040$) и Urgal–Evoron

($\chi^2 = 34.00$, $P = 0.049$) (табл. 4). При этом значение коэффициента G_{ST} для этих пар выборок было одинаковым и составило 0.048 и 0.052 соответственно. А значение Nm при этом не превышало 4.94. Стандартный тест на гомогенность при попарном сравнении выборок из популяций Эворон–Чукчагирской низменности (Evoron) и Верхнезейской равнины (Argi) не выявил достоверный уровень подразделенности ($\chi^2 = 31.00$, $P = 0.154$). При этом только 2.34% генетической изменчивости приходится на вариацию между популяциями, а поток генов был в два раза выше ($Nm = 10.41$). При этом следует отметить, что популяция Верхнезейской равнины географически удалена от популяций Эворон–Чукчагирской низменности больше чем популяции Верхнебуруинской впадины (табл. 4).

В результате анализа контрольного региона митохондриальной ДНК для эворонской полевки было показано высокое генетическое разнообразие для вида (гаплотипическое разнообразие равно 97%, нуклеотидное — 1.53%), несмотря на его небольшой ареал. В целом эти показатели оказа-

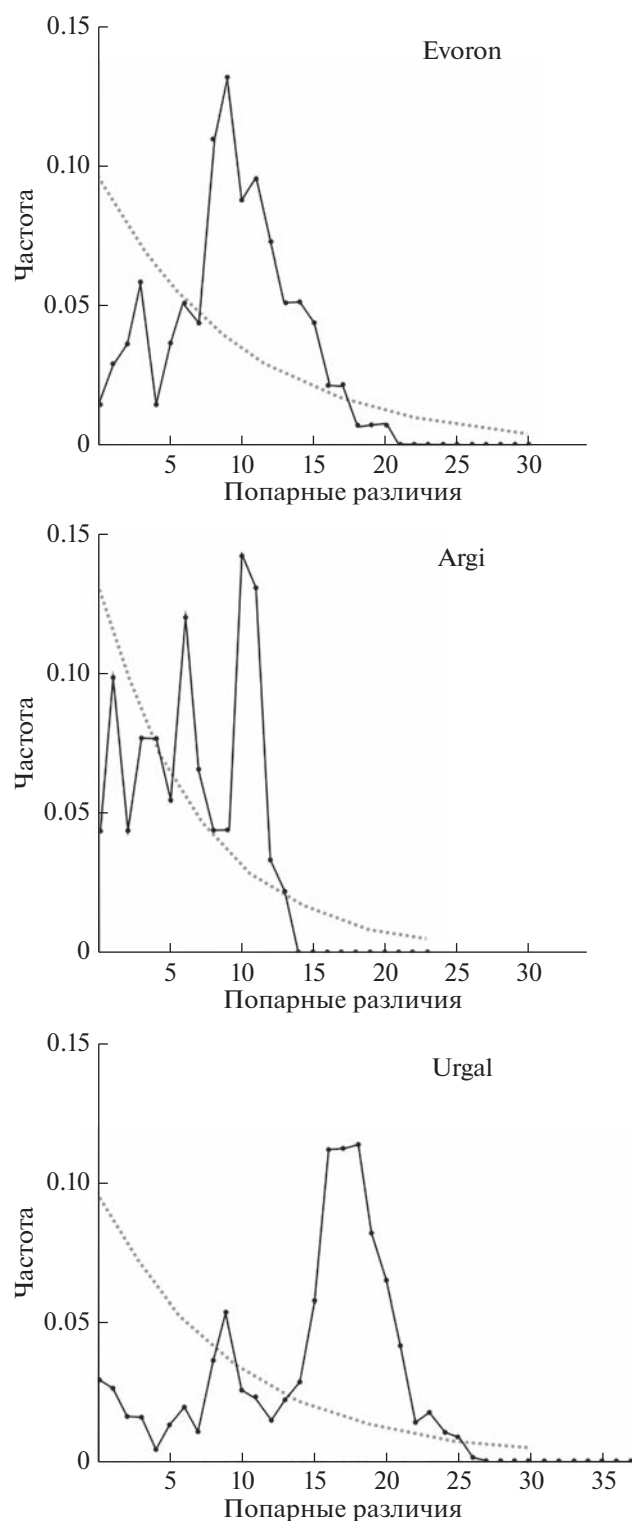


Рис. 1. Частота (ось ординат) попарных нуклеотидных различий (ось абсцисс) в трех популяциях эворонской полевки. Наблюдаемая частота обозначена сплошной линией, ожидаемое распределение — пунктирной линией.

лись значительно выше, чем аналогичные для муйской полевки (92 и 1.2%) [29], и сопоставимы с генетическим разнообразием для таких широкоареальных видов рода как полевка Максимовича

(99 и 1.41%) [22] и дальневосточная полевка (94 и 1.63%) [30]. Полученные нами данные свидетельствуют о низком уровне генетической дифференциации трех популяций. Самый большой поток

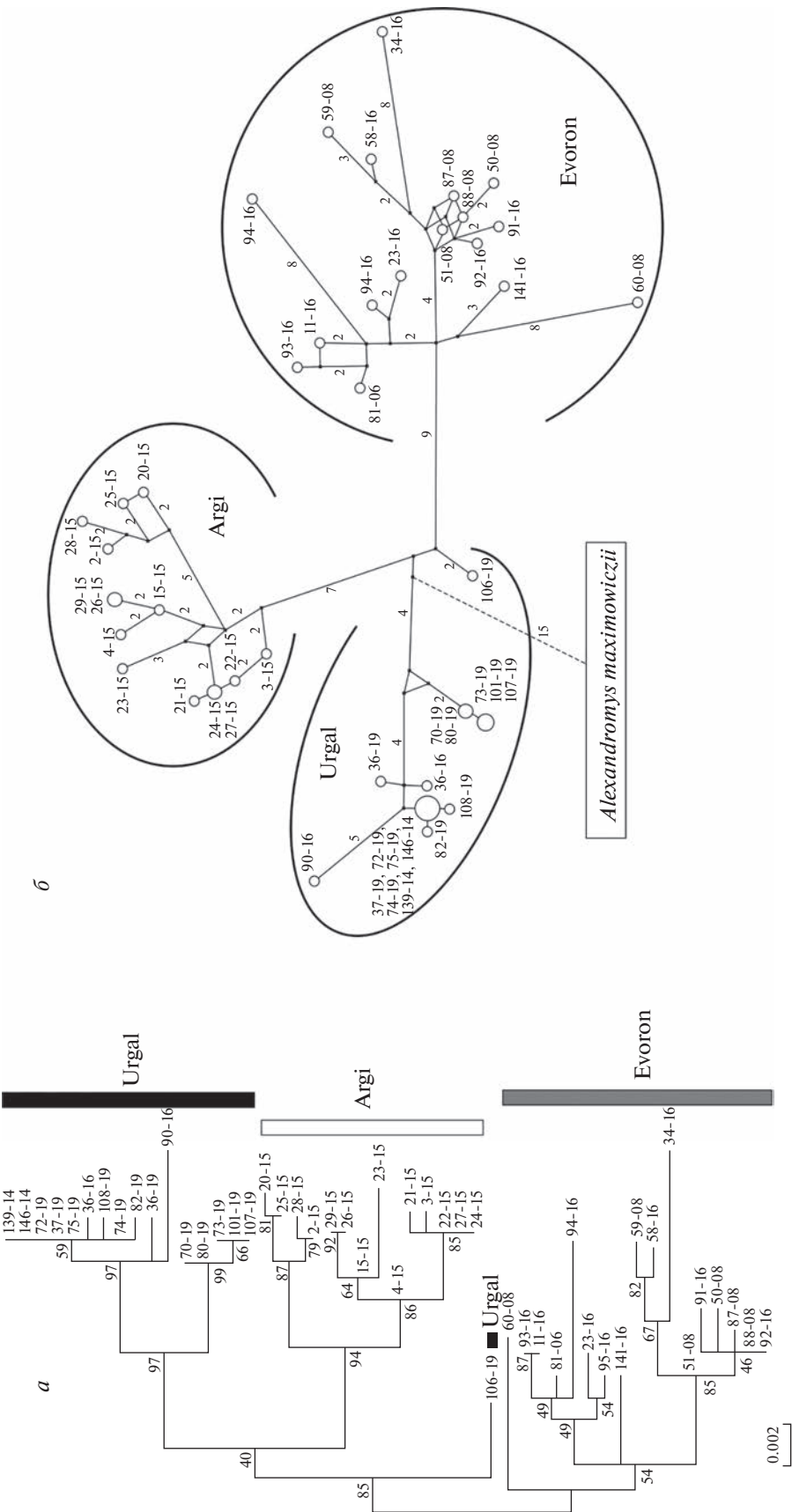


Рис. 2. ML-дендрограмма (а) и филогенетическая сеть гаплотипов мтДНК (б) эворонской полевки из трех популяций. Размеры кружков пропорциональны количеству образцов с данным гаплотипом. Образцы обозначены в соответствии с табл. 1. Цифры на ветвях сети соответствуют числу нуклеотидных замен больше 2.

Таблица 4. Показатели генетической подразделенности трех популяций эворонской полевки

Параметр	Evoron/Urgal	Evoron/Argi	Urgal/Argi
Среднее число нуклеотидных замен между популяциями	18.799	17.592	17.878
G_{ST}	0.0522	0.0234	0.0482
Nm	4.54	10.41	4.94
$\chi^2 (P)$	34.00 (0.049)	31.00 (0.154)	31.00 (0.040)
Расстояние (в км) по прямой между выборками	306	536	460

Примечание. G_{ST} — коэффициент генной дифференциации; Nm — поток генов; χ^2 — стандартный тест на гомогенность выборки; P — p -значение.

генов обнаружен между популяциями полевков Эвороно-Чукчагирской низменности и Верхнезейской равнины, которые относятся к двум разным хромосомным расам — “эворон” и “арги” соответственно. Проведенный нами анализ показал, что географически удаленные популяции имеют больше сходства (табл. 4). Две популяции эворонской полевки, относящиеся к одной хромосомной расе “арги”, на филогенетических реконструкциях — сестринские. Наибольшим генетическим разнообразием отличались полевки, отловленные в Эвороно-Чукчагирской низменности, относящиеся к хромосомной расе “эворон”. Самые низкие показатели генетического разнообразия выявлены для особей из Верхнебуреинской впадины, относящиеся к хромосомной расе “арги”, при этом именно в этой популяции обнаружен гаплотип 106-19, который имеет базальное расположение на филогенетических реконструкциях и может считаться наиболее древним для вида.

Согласно данным хромосомного анализа можно считать, что в популяции Эвороно-Чукчагирской низменности сохранились наиболее древние варианты кариотипа (с наибольшим числом акроцентрических пар хромосом — 26 и $2n = 41$), поскольку анцестральный для этого вида кариотип имел $2n = 42$ [16]. Кроме того, учитывая, что показатели генетического разнообразия выше в центральных популяциях вида, можно было бы считать популяцию Эвороно-Чукчагирской низменности исходной для вида. Однако обнаружение наиболее древнего гаплотипа (106-19) в популяции Верхнебуреинской впадины ставит это предположение под сомнение и нуждается в дальнейшем детальном исследовании.

Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ 15-04-03871, в рамках Государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № 121031500274-4 “Эволюционные аспекты формирования наземной биоты востока Азии”).

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Gerrie R., Kennerley R. *Microtus evoronensis* (errata version published in 2017) // The IUCN Red List of Threatened Species. 2016. e.T13429A115112487. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2016-3.RLTS.T13429A22350421>
2. Shenbrot G.I., Krasnov B.R. An Atlas of the Geographic Distribution of the Arvicoline Rodents of the World (Rodentia, Muridae: Arvicolinae). Sofia: Pensoft, 2005. 336 p.
3. Громов И.М., Ербаева М.А. Млекопитающие фауны России и сопредельных территорий. Зайцеобразные и грызуны. СПб.: Изд. Зоол. ин-та РАН, 1995. 520 с.
4. Костенко В.А. Грызуны (Rodentia) Дальнего Востока России. Владивосток: Дальнаука, 2000. 209 с.
5. Абрамсон Н.А., Лисовский А.А. Род *Alexandromys* Ognev, 1914 // Млекопитающие России: систематико-географический справочник (Сб. трудов Зоологического музея МГУ. Т. 52) / Под ред. Павлинова И.Я., Лисовского А.А. М.: Т-во науч. изд. КМК, 2012. С. 258–365.
6. Мейер М.Н., Голенищев Ф.Н., Раджабли С.И., Саблина О.Л. Серые полевки фауны России и сопредельных территорий СПб.: Зоол. ин-т РАН, 1996. 320 с.
7. Bannikova A.A., Lebedev V.S., Lisovsky A.A. et al. Molecular phylogeny and evolution of the Asian lineage of vole genus *Microtus* (Arvicolinae, Rodentia) inferred from mitochondrial cytochrome *b* sequence // Biological J. Linnean Society. 2010. V. 99. P. 595–613. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2009.01378.x>
8. Haring E., Sheremetyeva I., Kryukov A. Phylogeny of Palearctic vole species (genus *Microtus*, Rodentia) based on mitochondrial sequences // Mammalian Bi-

- ology. 2011. V. 76. P. 258–267.
<https://doi.org/10.1016/j.mambio.2010.04.006>
9. Лисовский А.А., Оболенская Е.В. Структура краниометрического разнообразия серых полевков *Microtus* подрода *Alexandromys* // Тр. Зоол. ин-та РАН. 2011. Т. 315. № 4. С. 461–477.
https://www.zin.ru/journals/trudyzin/doc/vol_315_4/tz_315_4_lisovsky.pdf
 10. Фрисман Л.В., Картавецова И.В., Шереметьева И.Н. и др. Аллозимная дифференциация и кариотипические особенности восточноазиатских полевков Дальнего Востока России // Вестник СВНЦ ДВО РАН. 2016. № 3. С. 93–103.
 11. Lisovsky A.A., Petrova T.V., Yatsentyuk S.P. et al. Multilocus phylogeny and taxonomy of East Asian voles *Alexandromys* (Rodentia, Arvicolinae) // Zool. Scripta. 2018. V. 47. № 1. P. 9–20.
<https://doi.org/10.1111/zsc.12261>
 12. Лисовский А.А., Кадетова А.А., Оболенская Е.В. Морфологическое определение видов восточноазиатских серых полевков *Alexandromys* (Rodentia, Cricetidae) России и сопредельных территорий // Зоол. журн. 2018. Т. 97. № 1. С. 101–113.
<https://doi.org/10.7868/S0044513418010099>
 13. Ковальская Ю.М., Соколов В.Е. Новый вид полевков (Rodentia, Cricetidae, *Microtus*) из нижнего Приамурья // Зоол. журн. 1980. Т. 59. № 9. С. 1409–1416.
 14. Голенищев Ф.Н., Раджабли С.И. Новый вид серой полевки с берегов озера Эворон // Докл. Акад. наук СССР. 1981. Т. 257. № 1. С. 248–250.
 15. Kartavtseva I.V., Sheremet'yeva I.N., Pavlenko M.V. Intraspecific multiple chromosomal variations including rare tandem fusion in the russian far eastern endemic evoron vole *Alexandromys evoronensis* (Rodentia, Arvicolinae) // Comparative Cytogenetics. 2021. V. 15. № 4. P. 393–411.
<https://doi.org/10.3897/compcytogen.v15.i4.67112>
 16. Картавецова И.В., Шереметьева И.Н., Павленко М.В. Множественный хромосомный полиморфизм, хромосомной расы “эворон” эворонской полевки (Rodentia, Arvicolinae) // Генетика. 2021. Т. 57. № 1. С. 82–94.
<https://doi.org/10.31857/S0016675821010082>
 17. Картавецова И.В., Шереметьева И.Н., Немкова Г.А., Лазурченко Е.В. Хромосомные исследования полевки Максимовича *Microtus maximowiczii* Schrenk, 1858 в Норском заповеднике Амурской области и эворонской *Microtus evoronensis* Kovalsk. et Socolov, 1980 окрестностей озера Эворон Хабаровского края // Териофауна России и сопредельных территорий. М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2007. С. 188.
 18. Шереметьева И.Н., Картавецова И.В., Войта Л.Л., Тиунов М.П. Новые данные по распространению серых полевков рода *Microtus* (Rodentia: Cricetidae) на Дальнем Востоке России // Зоол. журн. 2010. Т. 89. № 10. С. 1273–1276.
 19. Шереметьева И.Н., Картавецова И.В., Васильева Т.В., Фрисман Л.В. Серые полевки рода *Alexandromys* из Верхнебуреинской впадины // Зоол. журн. 2016. Т. 95. № 5. С. 597–603.
<https://doi.org/10.7868/S0044513416050111>
 20. Шереметьева И.Н., Картавецова И.В., Васильева Т.В. Обитает ли эворонская полевка (*Alexandromys evoronensis*) на северо-востоке Верхнезейской равнины? // Зоол. журн. 2017. Т. 96. № 4. С. 477–474.
<https://doi.org/10.7868/S0044513417020076>
 21. Aljanabi S.M., Martinez I. Universal and rapid salt extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques // Nucl. Acids Res. 1997. V. 25. № 22. P. 4692–4693.
<https://doi.org/10.1093/nar/25.22.4692>
 22. Шереметьева И.Н., Картавецова И.В., Фрисман Л.В. и др. Полиморфизм и генетическая структура полевки Максимовича *Microtus maximowiczii* (Schrenck, 1858) (Rodentia, Cricetidae) Среднего Приамурья по данным секвенирования контрольного региона мтДНК // Генетика. 2015. Т. 51. № 10. С. 1154–1162.
<https://doi.org/10.7868/S0016675815100161>
 23. Hall T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98 // Nucl. Acids Symposium Series. 1999. V. 41. № 41. P. 95–98.
<https://doi.org/10.1021/bk-1999-0734.ch008>
 24. Kumar S., Stecher G., Li M. et al. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms // Mol. Biol. Evol. 2018. V. 35. № 6. P. 1547–1549.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
 25. Bandelt H.J., Forster P., Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // Mol. Biol. Evol. 1999. V. 16. № 1. P. 37–48.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036>
 26. Rozas J., Ferrer-Mata A., Sánchez-DelBarrio J.C. et al. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism Analysis of large datasets // Mol. Biol. Evol. 2017. V. 34. P. 3299–3302.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msx248>
 27. Excoffier L., Lischer H.E.L. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows // Mol. Ecol. Resources. 2010. № 10. P. 564–567.
<https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>
 28. Tamura K., Nei M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees // Mol. Biology and Evolution. 1993. V. 10. P. 512–526.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040023>
 29. Картавецова И.В., Васильева Т.В., Шереметьева И.Н. и др. Генетическая изменчивость трех изолированных популяций муйской полевки *Alexandromys tujanensis* Orlov et Kovalskaja, 1978 (Rodentia, Arvicolinae) // Генетика. 2019. Т. 55. № 8. С. 920–935.
<https://doi.org/10.1134/S0016675819080071>
 30. Шереметьева И.Н., Картавецова И.В., Павленко М.В. и др. Формирование генетической структуры популяций дальневосточной полевки *Alexandromys fortis* (Rodentia, Arvicolinae) северной периферии ареала // Зоол. журн. 2022. Т. 101. № 10. С. 1173–1189.

Polymorphism and Differentiation of the Evoron Vole Three Populations according to the mtDNA Control Region Variability

I. N. Sheremetyeva^{a, *}, I. V. Kartavtseva^a, and L. V. Frisman^b

^a*Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity Far East Branch,
Russian Academy of Sciences, Vladivostok, 690022 Russia*

^b*Institute for Complex Analysis of Regional Problems Far East Branch,
Russian Academy of Sciences, Birobidzhan, 679016 Russia*

**e-mail: sheremet76@yandex.ru*

As a result of the control region mtDNA analysis for the Evoron vole, a high haplotype (97%) and nucleotide (1.53%) diversity was found. The data obtained indicate a low level of genetic differentiation populations. At the same time, populations geographically located closer are subdivided more strongly than remote ones. In general, there is agreement between the data on the variability of the mitochondrial DNA control region and chromosome races. However, if the data of chromosomal analysis indicate the preservation of the karyotype more ancient variants in the Evoron-Chukchagir lowland (“*evoron*” chromosomal race), then the data of molecular genetic analysis testify in favor of the preservation of the most ancient mt haplotype (106-19) in the upper Bureya depression population (“*argi*” chromosomal race).

Keywords: intraspecific variability, polymorphism, mtDNA control region, *Alexandromys evoronensis*, Evoron vole, chromosome races.