



УДК 575.174.015.3:599.323.5

Генетическая дифференциация скальных полёвок в горностепных районах северо-востока Внутренней Азии

Ю. Н. Литвинов, С. А. Абрамов, О. В. Чертилина,
Е. П. Симонов, Н. В. Лопатина

Институт систематики и экологии животных СО РАН, Новосибирск
E-mail: litvinov@eco.nsc.ru

Аннотация. На основе изучения изменчивости фрагмента гена цитохром *b* исследованы филогенетические взаимоотношения пяти видов полёвок рода *Alticola*. Для реконструкции филогенетических отношений использован метод максимального правдоподобия (ML) и байесовский филогенетический анализ. Полученные результаты существенно дополняют картину филогенетических отношений в роде *Alticola* за счёт включения в анализ тувинской *A. tuvunicus* и ольхонской *A. olchonensis* полёвок. Показано, что ольхонская полёвка представляет собой валидный вид, составляя с хангайской полёвкой *A. semicanus* и *A. tuvunicus* единую группу близкородственных видов, сестринскую к плоскочерепной полёвке *A. strelzowi*.

Ключевые слова: скальные полёвки, филогенетические отношения, ген цитохрома *b*.

Введение

Многолетние изучения изменчивости в популяциях диких грызунов горных и равнинных степей Внутренней Азии позволяют понять направление эволюционных изменений в разных по историческому происхождению и территориально-биотопическим предпочтениям группах животных. Филогенетические связи в природных популяциях скальных полёвок можно объяснить, изучая процессы изменения генетической структуры популяционных группировок, связанных между собой хотя бы частично процессами обмена генетической информацией. Эволюционные преобразования, связанные с изменчивостью, в основном регистрируются в таксонах низкого ранга – родах, видах и подвидах. Отмеченные явления охватывают сравнительно небольшие во временном масштабе периоды [5]. Для иллюстрации подобных процессов можно использовать вычисление генетических расстояний между нуклеотидными последовательностями с кластерным анализом, показывающим уровень сходства или различия между сравниваемыми группами полёвок.

Известные материалы по филогении и таксономии скальных полёвок достаточно разрозненны и различаются по времени описания и взглядам на

проблему разных исследователей [4; 9]. Попытка изучить видовую и внутривидовую изменчивость территориальных группировок в роде *Alticola* была предпринята ранее с помощью морфологических методов [2; 3; 6]. В этих исследованиях были заложены основы современной видовой систематики скальных полёвок, обитающих на территории юга Сибири и северной Монголии. Особый интерес представляет систематическое положение ольхонской полёвки *A. olchonensis*, имеющей изолированный ареал. Как видовая, так и подвидовая системы рода *Alticola* нуждаются в корректировке и ревизии в связи с появлением новых данных. На современное систематическое положение группы скальных полёвок, несомненно, оказывают влияние их приуроченность к уникальным сухим скальным биотопам, предоставляющим адаптивные преимущества для этих зверьков [9], а также исторические особенности размещения этих форм в пространстве. Их палеонтологические находки (относящиеся к раннему и позднему плейстоцену) из азиатской части России анализируются ныне многими исследователями [11].

Материалы и методы

Для выявления филогенетических связей скальных полёвок использована ДНК, выделенная из тканей 22 экземпляров зверьков, отловленных в разных районах Северного Казахстана, Юго-Восточного и Центрального Горного Алтая, Западной Тувы, Прибайкалья (острова оз. Байкал), Северной Монголии (окр. оз. Хубсугул). У экземпляров, хранящихся в музейных коллекциях, выделение ДНК проводили при помощи 20%-ной ионно-обменной смолы «Chelex» (BioRad) из когтевых фаланг пальцев по стандартной методике, включающей инкубацию гомогенизированной ткани с протеиназой К и 1%-ным детергентом SDS и последующей депротенизацией фенол-хлороформом [12].

В большинстве случаев фрагмент митохондриального гена цитохрома *b* длиной около 900 пар нуклеотидов (далее пн) амплифицировали при помощи пары праймеров CBU и USBL [9], для сильно деградированной ДНК из музейных экземпляров использовали три пары праймеров: CBU/H15162ALT [9], L15128ALT/H15419ALT и L15402ALT/USBL [1], позволяющих получить короткие перекрывающиеся фрагменты (примерно по 350 пн) интересующего нас участка. Контроль продуктов ПЦР осуществляли при помощи электрофореза в 1%-ном агарозном геле (Biozym Scientific, Германия). Секвенирование проводили на автоматическом секвенаторе ABI 3130XL (Applied Biosystems, США) с применением наборов BigDye (Applied Biosystems, США) и праймеров, использовавшихся при амплификации. Полученные последовательности депонированы в базу данных GenBank (табл.).

Нуклеотидные последовательности цитохрома *b* для ряда других видов были получены из базы данных GenBank (см. табл.). В качестве внешней группы использованы последовательности этого гена у красно-серой полёвки *Myodes rufocanus*. Выравнивание нуклеотидных последовательностей проводили с помощью программы BioEdit v.7.0 [7], их итоговая длина составила 783 пн.

Таблица

Характеристика материалов, использованных для определения
филогенетических отношений полёвок рода *Alticola*

Вид	Локалитет	<i>n</i>	Номер GenBank
<i>Alticola semicanus</i>	Россия, Республика Тыва, окр. оз. Торе-холь	5	KR869158, KR869159, KR869160, KR869161, KR869167
	Монголия, национальный парк Хубсугул	4	KJ556709, KJ556710, KJ556711, KJ556712
	Монголия, Уверхангай	1	KJ556619
<i>Alticola tuvinicus</i>	Монголия, окр. оз. Хубсугул	2	KR869162, KR869163
<i>Alticola olchonensis</i>	Россия, оз. Байкал, о. Ольхон, бух. Загли	3	KR869164, KR869165, KR869166
<i>Alticola strelzowi</i>	Россия, Республика Алтай, Онгудайский р-н, окр. оз. Теньга	1	JN032745
	Россия, Республика Алтай, Кош-Агачский р-н, плато Укок	1	JN032744
	Россия, Республика Алтай, Монгун-Тайгинский р-н, р. Каргы	1	JN032746
	Россия, Республика Алтай, Монгун-Тайгинский р-н, р. Моген-Бурен	3	JN032747, JN032748, JN032749
	Казахстан, Павлодарская область Баянаульский р-н, окр. пос. Баянаул	1	JN032752
	Казахстан, Карагандинская область, Каркаралинский р-н, окр. г. Каркаралинска	1	JN032751
	Казахстан, Карагандинская область, Жана- аркинский р-н, окр. пос. Атасу	1	JN032750, JN032755
	Казахстан, Карагандинская область, Уланский р-н, окр. с. Таинты	2	JN032753, JN032754
<i>Alticola albicaudus</i>	Пакистан	3	KJ556729.1, KJ556726.1, KJ556627.1
<i>Alticola argentatus</i>	Китай	2	KJ556727.1, KJ556628.1
<i>Alticola montosa</i>	Пакистан	1	KJ556728.1
<i>Alticola lemminus</i>	Россия, Чукотский автономный округ	3	KJ556635.1, KJ556634.1, KJ556633.1
<i>Alticola barakschin</i>	Монголия	7	KJ556693.1, KJ556691.1, KJ556668.1, KJ556645.1, KJ556640.1, KJ556682.1, KJ556680.1

Примечание. Выделены номера GenBank, соответствующие материалам, собранным авторами.

Для реконструкции филогенетических отношений использовали метод максимального правдоподобия (ML) и байесовский филогенетический анализ. Выбор моделей, наилучшим образом описывающих эволюцию изучаемых последовательностей, осуществляли в программе TOPALi v.2.5 [13]. Программа MetaPIGA 3.0 [8] использовалась для построения филогенетического дерева с использованием метода ML на основе модели Тамуры-Нея (TrN+G). Программа MrBayes v.3.2.1 [10] использовалась для байесовского анализа на основе модели GTR+G.

Результаты и обсуждение

Проанализированные последовательности цитохрома *b* пяти видов скальных полёвок (*Alticola semicanus*, *A. tuvunicus*, *A. olchonensis*, *A. strelzowi* и *A. barakschin*), отловленных в районах наших исследований, позволяют сформировать предварительную гипотезу об их филогенетических отношениях. Ольхонская полёвка рассматривается как отдельный вид, поскольку имеет изолированный ареал и значительно различается морфологически с другими формами [3].

На основе изменчивости фрагмента гена цитохром *b* (длиной 783 пн) было получено филогенетическое дерево (рис.), отражающее взаимоотношения девяти видов рода *Alticola*. Согласно полученной реконструкции, род разбивается на три группы, первая из которых включает *A. semicanus*, *A. tuvunicus*, *A. olchonensis*, *A. strelzowi* и *A. barakschin*, вторая состоит из *A. montosa*, *A. argentatus* и *A. albicaudus*, *A. lemminus* же кластеризуется отдельно.

Монофилия всего рода имеет высокую статистическую поддержку (100 %). Внутри первой группы выделяются две клады, первая из которых представлена единственным видом *A. barakschin*, все прочие же образуют отдельную кладу со 100%-ной поддержкой, группировка внутри которой соответствует видам, выделяемым на основе морфологических признаков. При этом байесовский анализ показал, что *A. semicanus* и *A. tuvunicus* являются сестринскими видами и формируют сестринскую группу по отношению к *A. olchonensis*, тогда как согласно результатам метода максимального правдоподобия *A. semicanus* является сестринским таксоном по отношению к группе *A. tuvunicus* – *A. olchonensis*. Объединение этих трёх видов в одну группу статистически поддержано в обоих случаях (97/0,92), тогда как объединение *A. tuvunicus* – *A. olchonensis* на ML-дереве малодостоверно (51), а группировка *A. semicanus* – *A. tuvunicus* в байесовском анализе имеет достаточно высокую поддержку (0,82), согласуясь с представлениями о структуре ареалов этих форм. Ареалы *A. tuvunicus* и *A. semicanus* практически перекрываются на территории Тувы и Монголии, тогда как ареал *A. olchonensis* изолирован и отделён от первых сотнями километров.

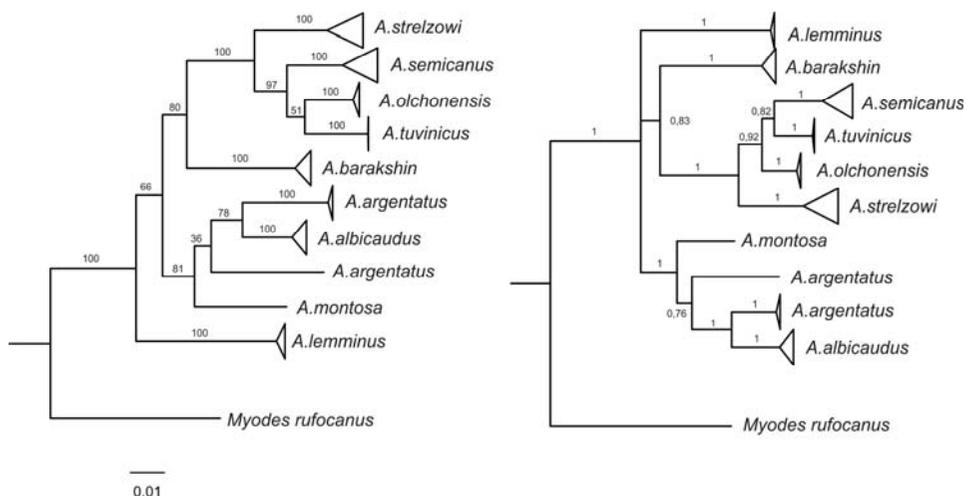


Рис. Дендрограмма филогенетических отношений рода *Alticola* по последовательностями гена цитохром *b* (783 пн), построенная по методу максимального правдоподобия (слева) и с применением байесовского филогенетического анализа (справа).

Полученные результаты согласуются с полученными Б. Коли с соавторами [11] и отчасти В. С. Лебедевым с соавторами [9], хотя последние исследовали существенно меньшее число видов рода *Alticola*. При включении в филогенетический анализ, основанный на митохондриальной ДНК, других видов трибы *Myodini* *A. lemminus* группируется совместно с представителями рода *Myodes* [11], что объясняет слабую статистическую поддержку этого вида на полученном нами дереве. При анализе ядерных маркеров *A. lemminus* группируется совместно с другими представителями рода *Alticola*, являясь при этом сестринским таксоном по отношению ко всем остальным видам, что может быть объяснено гибридизацией и интрогрессией мтДНК в прошлом [11]. Во всех остальных аспектах наши данные совпадают с результатами Б. Коли с соавторами [11], дополняя и расширяя их за счёт включения в анализ *A. tuvunicus* и *A. olchonensis*.

Заключение

Таким образом, нам удалось показать, что ольхонская полёвка действительно представляет собой валидный вид, обособленный от других скальных полёвок северо-востока Внутренней Азии не только в морфологическом, но и в филогенетическом плане. При этом *A. semicanus*, *A. tuvunicus* и *A. olchonensis* составляют единую группу близкородственных видов, сестринскую к плоскочерепной полёвке *A. strelzowi*. Наши данные также подтверждают результаты предыдущих исследований, обосновывающие неправомерность выделения плоскочерепной полёвки в отдельный род или подрод *Platyocranius* [9].

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 14-04-00121-а).

Список литературы

1. Генетическое разнообразие плоскочерепной полевки (*Alticola strelzowi* (Kastschenko, 1899)) по данным об изменчивости гена цитохрома *b* / О. В. Чертилина [и др.] // Генетика. – 2012. – Т. 48, № 3. – С. 352–360.
2. Изменчивость и систематика скальных полёвок (*Alticola s. str.*) Монголии, Тувы, Прибайкалья и Алтая / О. Л. Россолимо [и др.] // Зоол. журн. – 1988. – Т. 67, № 3. – С. 426–437.
3. Литвинов Ю. Н. Морфологическая изменчивость изолированных популяций ольхонской полевки *Alticola olchonensis* (Rodentia, Arvicolidae) с островов Байкала / Ю. Н. Литвинов, Н. И. Литвинов, А. А. Поздняков // Зоол. журн. – 2000. – Т. 79, № 1. – С. 71–79.
4. Млекопитающие России: систематико-географический справочник / И. Я. Павлинов, А. А. Лисовский (ред.). – М. : Т-во науч. изд. КМК, 2012. – 604 с.
5. Ратнер В. А. О некоторых молекулярных критериях дивергенции, конвергенции и систематики / В. А. Ратнер // Проблемы эволюции. – Новосибирск : Наука, 1972. – Т. 2. – С. 5–27.
6. Россолимо О. Л. Таксономический статус тувинской полевки *Alticola (A.) tuvinicus* Ognev (Mammalia: Arvicolinae) / О. Л. Россолимо, И. Я. Павлинов, Г. И. Шенброт // Биол. науки. – 1992. – № 6. – С. 58–62.
7. Hall T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. / T. A. Hall // Nucl. Acids Symp. – 1999. – Vol. 41. – P. 95–98.
8. Helaers R. MetaPIGA v2.0: maximum likelihood large phylogeny estimation using the metapopulation genetic algorithm and other stochastic heuristics [Electronic resource] / R. Helaers, M. Milinkovitch // BMC Bioinformatics. – 2010. – N 11. – P. 379. – URL : <http://biomedcentral.com/1471-2105/11/379>
9. Molecular phylogeny of the genus *Alticola* (Cricetidae, Rodentia) as inferred from the sequence of the cytochrome *b* gene / V. Lebedev [et al.] // Zoologica Scripta. – 2007. – Vol. 36, N 6. – P. 547–563.
10. MrBayes 3.2: Efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. / F. Ronquist [et al.] // Syst. Biol. – 2012. – Vol. 61, N 3. – P. 539–542.
11. Multilocus systematics and non-punctuated evolution of Holarctic Myodini (Rodentia: Arvicolinae) / B. A. Kohli [et al.] // Molecular phylogenetics and evolution. – 2014. – N 76. – P. 18–29.
12. Sambrook J. Molecular Cloning: A Laboratory Manual / J. Sambrook, E. Fritsch, T. Maniatis – N. Y. : Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989. – 398 p.
13. TOPALi: Software for Automatic Identification of Recombinant Sequences within DNA Multiple Alignments / I. Milne [et al.] // Bioinformatics – 2004. – Vol. 20, N 11. – P. 1806–1807.

Genetic Differentiation of High-Mountain Voles from Mountain Steppe Regions of Northeast Inner Asia

Yu. N. Litvinov, S. A. Abramov, O. V. Chertilina, E. P. Simonov,
N. V. Lopatina

Institute of Systematics and Ecology of Animals SB RAS, Novosibirsk

Abstract. In order to elucidate the phylogenetic relationships within *Alticola* voles mitochondrial cytochrome *b* (cyt *b*) gene variation was estimated in 5 *Alticola* species. Maximum likelihood (ML) and Bayesian phylogenetic analysis were used for the reconstruction of phylogenetic relationships. The results are substantially complete the picture of the phylogenetic relationships in the genus *Alticola* by the inclusion of Tyva vole *A. tuvinicus* and Olkhon vole *A. olchonensis* in the analysis. It is shown that *A. olchonensis* is a valid species, which is associated with Mongolian silver vole *A. semicanus* and *A. tuvinicus* in closely related species group sister to the flatheaded vole *A. strelzowi*.

Keywords: high-mountain voles, phylogenetic relationships, cytochrome *b* gene.

Литвинов Юрий Нарциссович
доктор биологических наук,
заведующий лабораторией
Институт систематики и экологии
животных СО РАН
630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 11
тел.: (383) 217-09-86
факс: (383) 217-09-73
e-mail: terio@eco.nsc.ru

Litvinov Yuri Narzissoovich
Doctor of Sciences (Biology)
Head of Laboratory
Institute of Systematics and Ecology
of Animals SB RAS
11, Frunze st., Novosibirsk, 630091
tel.: (383) 217-09-86
fax:(383) 217-09-73
e-mail: terio@eco.nsc.ru

Абрамов Сергей Александрович
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник
Институт систематики и экологии
животных СО РАН
630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 11
тел.: (383) 217-09-86
факс: (383) 217-09-73
e-mail: litvinov@eco.nsc.ru

Abramov Sergey Alexandrovich
Candidate of Sciences (Biology)
Senior Research Scientist
Institute of Systematics and Ecology
of Animals SB RAS
11, Frunze st., Novosibirsk, 630091
tel.: (383) 217-09-86
fax:(383) 217-09-73
e-mail: litvinov@eco.nsc.ru

Чертилина Ольга Владимировна
младший научный сотрудник
Институт систематики и экологии
животных СО РАН
630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 11
тел.: (383) 217-09-86
факс: (383) 217-09-73
e-mail: winny@mail.ru

Chertilina Olga Vladimirovna
Junior Research Scientist
Institute of Systematics and Ecology
of Animals SB RAS
11, Frunze st., Novosibirsk, 630091
tel.: (383) 217-09-86
fax:(383) 217-09-73
e-mail: winny@mail.ru

Симонов Евгений Петрович
кандидат биологических наук,
научный сотрудник
Институт систематики и экологии
животных СО РАН
630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 11
тел.: (383) 217-09-86
факс: (383) 217-09-73
e-mail: snake_pnz@mail.ru

Simonov Evgeniy Petrovich
Candidate of Sciences (Biology),
Research Scientist
Institute of Systematics and Ecology
of Animals SB RAS
11, Frunze st., Novosibirsk, 630091
tel.: (383) 217-09-86
fax:(383) 217-09-73
e-mail: snake_pnz@mail.ru

Лопатина Наталья Васильевна
младший научный сотрудник
Институт систематики и экологии
животных СО РАН
630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 11
тел.: (383) 217-09-86
факс: (383) 217-09-73
e-mail: winny@mail.ru

Lopatina Natalia Vasilyevna
Junior Research Scientist
Institute of Systematics and Ecology
of Animals SB RAS
11, Frunze st., Novosibirsk, 630091
tel.: (383) 217-09-86
fax:(383) 217-09-73
e-mail: winny@mail.ru