



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](mailto: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	<b>KR869158, KR869159, KR869160, KR869161, KR869167</b>
	Монголия, национальный парк Хубсугул	4	KJ556709, KJ556710, KJ556711, KJ556712
	Монголия, Уверхангай	1	KJ556619
<i>Alticola tuvinicus</i>	Монголия, окр. оз. Хубсугул	2	<b>KR869162, KR869163</b>
<i>Alticola olchonensis</i>	Россия, оз. Байкал, о. Ольхон, бух. Загли	3	<b>KR869164, KR869165, KR869166</b>
<i>Alticola strelzowi</i>	Россия, Республика Алтай, Онгудайский р-н, окр. оз. Теньга	1	<b>JN032745</b>
	Россия, Республика Алтай, Кош-Агачский р-н, плато Укок	1	<b>JN032744</b>
	Россия, Республика Алтай, Монгун-Тайгинский р-н, р. Каргы	1	<b>JN032746</b>
	Россия, Республика Алтай, Монгун-Тайгинский р-н, р. Моген-Бурен	3	<b>JN032747, JN032748, JN032749</b>
	Казахстан, Павлодарская область Баянаульский р-н, окр. пос. Баянаул	1	<b>JN032752</b>
	Казахстан, Карагандинская область, Каркаралинский р-н, окр. г. Каркаралинска	1	<b>JN032751</b>
	Казахстан, Карагандинская область, Жана- аркинский р-н, окр. пос. Атасу	1	<b>JN032750, JN032755</b>
	Казахстан, Карагандинская область, Уланский р-н, окр. с. Таинты	2	<b>JN032753, JN032754</b>
<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.

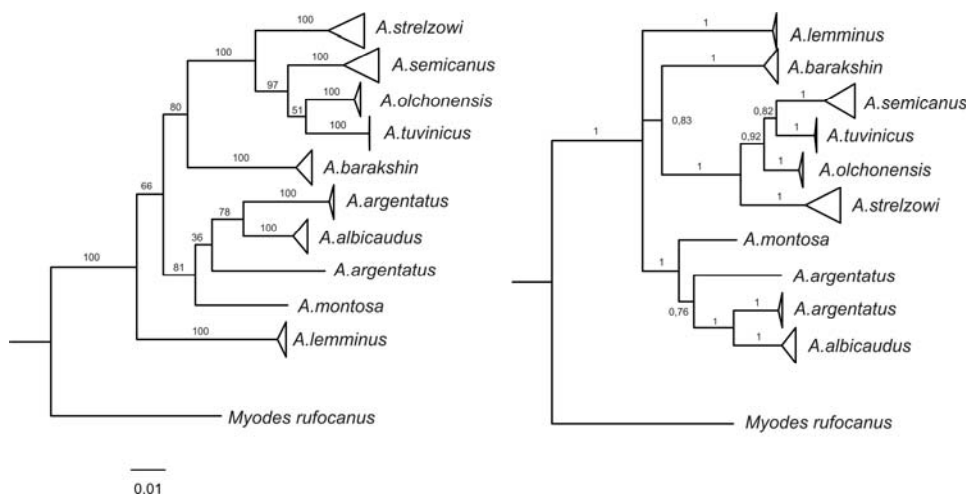


Рис. Дендрограмма филогенетических отношений рода *Alticola* по последовательностями гена цитохром *b* (783 пн), построенная по методу максимального правдоподобия (слева) и с применением байесовского филогенетического анализа (справа).

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*