

УДК 575.174, 015.3: 599.363

МУЛЬТИЛОКУСНЫЙ АНАЛИЗ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИХ ОТНОШЕНИЙ В ВИДОВОМ КОМПЛЕКСЕ *CROCIDURA SUAVEOLENS* SENSU LATO: СРАВНЕНИЕ С МИТОХОНДРИАЛЬНЫМИ ДАННЫМИ

© 2023 г. В. А. Грицышин^{1,*}, А. А. Лисенкова¹, А. С. Сперанская², И. В. Артюшин¹,
Б. И. Шефтель³, В. С. Лебедев⁴, А. А. Банникова^{1,**}

Представлено академиком РАН В.В. Рожновым

Поступило 10.10.2022 г.

После доработки 07.11.2022 г.

Принято к публикации 08.11.2022 г.

Предпринята первая попытка изучения филогении видового комплекса малая белозубка с помощью мультилокусного анализа. Данные секвенирования 16 ядерных генов указывают на существование в рамках *C. suaveolens* s. l. нескольких обособленных форм, при этом структура видового комплекса в основных чертах не противоречит митохондриальной филогении. Сибирская белозубка характеризуется определенным своеобразием ядерного генома, но уровень ее генетического отличия не соответствует видовому. Прояснены связи *Crocidura* aff. *suaveolens* из южного Ганьсу и Сычуани с другими формами видового комплекса. Белозубки из Бурятии и Хэнтэя также относятся к этой форме, но их мтДНК, по-видимому, заимствована от *C. shantungensis*. В недавнее время происходила также гибридизация *C. suaveolens* s. str. с *C. aff. suaveolens* и *C. güeldenstaedtii*. Ввиду неоднократных событий интрогрессии в истории *C. suaveolens* s. l., анализ филогении комплекса в целом требует значительного расширения выборки генетических локусов.

Ключевые слова: видовой комплекс, малая белозубка, межвидовая гибридизация, мультигенный анализ, *Crocidura*

DOI: 10.31857/S2686738922600820, **EDN:** LZGICT

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время в центре филогенетических исследований находится эволюционная история многовидовых групп близкородственных видов относительно недавнего происхождения, так как их изучение позволяет приблизиться к пониманию исходных процессов видообразования. Однако молекулярно-филогенетическая реконструкция кладогенеза близкородственных видов может быть осложнена анцестральным полиморфизмом, событиями гибридизации в прошлом и сохранением потока генов в настоящем.

Видовой комплекс малая белозубка — *Crocidura suaveolens* sensu lato, занимает огромный ареал, простирающийся через всю Евразию от Пиренейского полуострова до о. Цусима через несколько природных зон. Все формы малой белозубки, кроме *C. sibirica*, имеют идентичный кариотип [1], вследствие чего существовало мнение, что все популяции с $2n = 40$ должны быть объединены в одном виде *C. suaveolens* [2, 3]. Но имеются также свидетельства морфологического и высокого молекулярного разнообразия этой группы [4–10]. В настоящее время в составе видовой группы “малая белозубка” по морфологическим данным и/или митохондриальной ДНК (мтДНК) различают не менее шести форм, однако, точка зрения на их видовой статус варьирует у разных авторов. Обычно распознают собственно малую белозубку *C. suaveolens* Pallas, 1811, сибирскую *C. sibirica* Dukelsky, 1930, кавказскую длиннохвостую *C. güeldenstaedtii* Pallas, 1811, каспийскую *C. caspica* Thomas, 1907, маньчжурскую *C. shantungensis* Miller, 1901 и белозубку Зарудного *C. zarudnyi* Ognev, 1928 [4, 8, 11]. Одни авторы придают также видовой статус и *C. mimula* Miller, 1901 из Западной Европы [8], другие — *C. aleksandrisi* Ves-

¹ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

² НИИ системной биологии и медицины Роспотребнадзора, 117246, Москва, Россия

³ Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, Москва, Россия

⁴ Зоологический музей МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

*e-mail: vladimir.sokol.gritsyshin@gmail.com

**e-mail: hylomys@mail.ru

manis, 1977 из Киренаики средиземноморского побережья Северной Африки [11]. Некоторые авторы включают *mimula* в состав *C. güeldenstaedtii* в качестве подвида наряду с *C. g. iculisma* Mottaz, 1908 и *C. g. cypria* Bate, 1903 [11]. По митохондриальным данным все эти формы (за исключением сибирской белозубки [12]), а также популяции Эгейского побережья и центрально-восточного Ирана формируют самостоятельные филогруппы [10]. Однако данные по изменчивости маркеров ядерной ДНК до сих пор практически отсутствовали, вследствие чего остается не ясным, в какой степени мтДНК отражает общий уровень обособленности их геномов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовано 420 образцов, географическое происхождение которых отражено на карте (рис. 1). Из них для 11 образцов получены последовательности митохондриального гена *cytb* (1140 п.о.), для 91-го образца отсеквенированы 16 ядерных локусов: *ABHD11*, *ApoB*, *BDNF*, *BRCA1*, *GHR10*, *ITPK1*, *MCGF*, *NHSL1*, *PALLD*, *PTGER4*, *RAG1*, *RAI14*, *ROGDI2*, *SORBS2*, *SPECC1L*, *vWF* (номера ГенБанка OP599577–OP599587, OP599602–OP599612, OQ374926–OQ376279). Для филогенетического анализа *cytb* из базы ГенБанк взято 398 образцов (номера сиквенсов AB077075–AB077090, AB0770278–AB077280, AY843448–AY843461, AY843487–AY843500, AY843502, AY843511, AY994368–AY994370, AY994372, AY994373, AY994375–AY994377, AY994386–AY994389, DQ059023, DQ242541, DQ630057–DQ630061, DQ630064–DQ630106, DQ630108, DQ630110–DQ630112, DQ630114–DQ630118, DQ630120, DQ630121, DQ630395, DQ641270, EU742583–EU742594, EU742605–EU742614, HM586991–HM586996, KX354172–KX354178, KX354180, KX354181, LR536317–LR536326, LR536367, LR536372, MF136304–MF136385, MF152782, MN690925–MN690944, MN691017, MW297680–MW297698, MW297700–MW297721, MW297723–MW297727, MW297729–MW297733, MW297735–MW297757, MW297759–MW297791. В качестве внешней группы в митохондриальном и ядерном анализах использованы *C. dsinezumi* (AB077274, AB077277), *C. lasiura* (AB077072, MW381915, MW381936, MW381956, MW381979, MW382002, MW382020, MW382042, MW410130), *C. leucodon* (MW381916, MW381937, MW381980, MW382003, MW382021, MW382043, MW410131) и *C. zaitsevi* (OL451379, OL451380, OL451373, OL451417, OL451434). В митохондриальный анализ включен дополнительный материал, содержащий внутривидовые выборки большего размера и последовательности отсутствующих у нас форм *C. suaveolens* s.l. (*zarudnyi*, *aleksandrisii*, *iculisma*)

для демонстрации разнообразия митохондриальных линий в этой группе.

Выделение ДНК, амплификацию и секвенирование по Сэнгеру проводили, как указано ранее [12, 13]. Для *cytb* и *BRCA1* использовали праймеры из публикаций [13], для других локусов — из публикаций [14, 15]. Значительная часть данных получена секвенированием ПЦР-продуктов методом Сэнгера. Для подавляющего числа образцов последовательности локусов *ABHD11*, *ITPK1*, *NHSL1*, *PALLD*, *RAI14*, *ROGDI2*, *SORBS2*, *SPECC1L*, а также локусов *ApoB*, *BDNF*, *BRCA1*, *GHR10*, *MCGF*, *PTGER4*, *RAG1* и *vWF* для меньшей части образцов получены путем секвенирования на платформе Illumina MiSeq. Библиотеки приготовлены с использованием набора от Illumina Inc. согласно рекомендации производителя из продуктов ПЦР всех локусов, пулированных в равных пропорциях для каждого образца отдельно. Из полученных прочтений удалялись последовательности праймеров, адаптеров и низкокачественные основания при помощи программы Trimmomatic v. 0.33 [16], картирование осуществляли программами bowtie v. 1.1.2 [17] и samtools [18] на референсные последовательности *C. suaveolens* s.l. или, для отдельных локусов, секвенированных нами впервые, ближайших родственных видов из базы GeneBank (*C. indochinensis* и *Sorex araneus*), с последующей заменой на консенсусные последовательности локусов. Коллинг замен осуществлен GATK 4.1.2.0 [19], создание консенсусных последовательностей проводили с помощью bcftools [20], позиции, в которых встречены делеции/инсерции, полностью заменены в выравниваниях на N. Основания с покрытием менее 40 считали непрочитанными. Консенсусные последовательности верифицировали по IGV 2.11.2 [21]. Последовательности выровнены с помощью программ BioEdit 7.2.5. и MEGA 11.0.8.

Для определения аллельного состава видов ядерные последовательности фазировали с помощью модуля Phase в пакете DnaSP 5.10.1 [22] и уточняли по IGV. Выделения групп популяций проводили в программе Structure 2.3.4 [23] (модель “Admixture” при 2,5 млн. MCMC повторов и 250 тыс. повторностей в качестве burn-in). Структуру разнообразия тестировали при заданном числе кластеров от 4 до 10 для последующей оценки оптимального числа кластеров в программе Structure Harvester [24].

Филогенетические деревья строили методом максимального правдоподобия (maximum likelihood, ML) в программе IQTREE 1.6.9 [25] и Байесовым методом (Bayesian inference, BI) в программе Mr.Bayes 3.2.6 [26]. Индивидуальные генные деревья и 5000 бутстрэп-реплик по всем 16 ядерным локусам использовали для построения видового дерева в ASTRAL 5.15.5 [27].

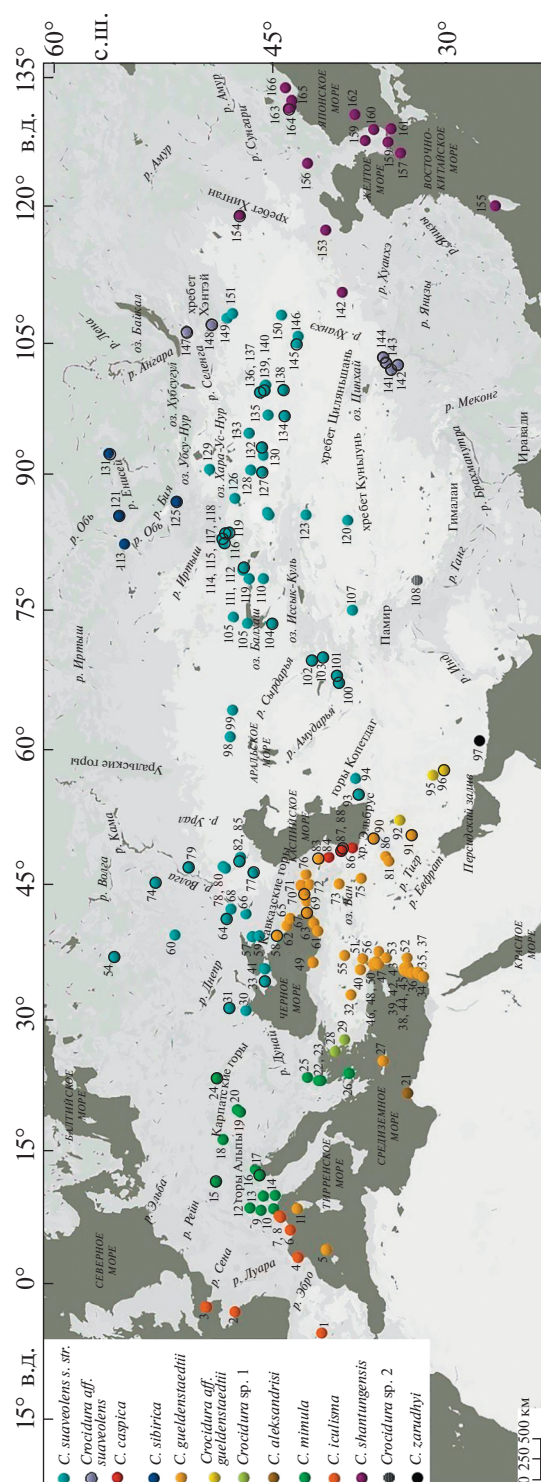


Рис. 1. Локалитеты образцов, использованных в работе: 1 – Испания, Канделарио; 2 – Франция, о. Озлик; 3 – Великобритания, о. Сарк; 4 – Испания, Фигерас-сес; 5 – Испания, Менорка; 6 – Франция, о. Поркероль; 7 – Италия, Вентимилья; 8 – Италия, Бадальукко, Фраугуза; 9 – Италия, Верчелли; 10 – Италия, Варацце; 11 – Франция, о. Корсика; 12 – Швейцария, Горлевино; 13 – Италия, Пьяченца, Сан-Николо; 14 – Италия, Фивизиано; 15 – Германия; 16 – Италия, Венеция; 17 – Италия, Латизана; 18 – Австрия, Вена; 19 – Австрия, Фулпахза; 20 – Венгрия; 21 – Ливия, Вади эль-Хуф; 22 – Греция, Эпаноми; 23 – Греция, Салоники; 24 – Украина, Воловец; 25 – Болгария, Сандански; 26 – Греция, Афины; 27 – Греция, Лесбос; 29 – Турция, Измир, Юкарыкызылджа; 30 – Украина, Одесса; 31 – Украина, Николаевская обл.; 32 – Турция, Конья; 33 – Крым; 34 – Израиль, Цезим; 35 – Израиль, ха-Шфела; 36 – Израиль; 37 – Израиль, Матз; 38 – Израиль, Ахзив; 39 – Израиль, Эйв Яаков; 40 – Турция, Алана; 41 – Крым, Феодосия; 42 – Израиль, Цивон; 43 – Израиль, Цфат; 44 – Израиль, Киннерет Мошава; 45 – Израиль, Тиверийское о-во; 46 – Сирия, Рас аль-Басит; 47 – Сирия, Джебел; 48 – Сирия, Рабия; 49 – Турция, Самсун, Чакаллы; 50 – Сирия, Силиффа; 51 – Турция, Ашагыкарафаклы; 52 – Сирия, Эс-Сувайда, Канава; 53 – Сирия, Каттина; 54 – Россия, Московская обл.; 55 – Турция, Кахраманмараш, Танды; 56 – Сирия, Хама; 57 – Россия, Азовское море; 58 – Россия, Краснодарский край, Туапсе; 59 – Россия, Краснодарский край; 60 – Россия, Воронеж; 61 – Турция, Алтынлере; 62 – Абхазия, Гагра; 63 – Турция, Ризе; 64 – Россия, Ростовская обл.; 65 – Абхазия, Сухум; 66 – Россия, Сальск; 67 – Грузия, Аджария, Батуми; 68 – Россия, Пензенская обл.; 75 – Иран, Мохаммединар; 76 – Грузия, Алазанская долина; 77 – Россия, Калмыкия, зап. “Черные земли”; 78 – Россия, Астраханская обл., пески Шкили; 79 – Россия, Саратовская обл., с. Дьяковка; 80 – Россия, о. Баскунчак; 81 – Иран, Бехистун; 82 – Россия, Аст-раханская обл.; 83 – Азербайджан, Кызылагадж; 84 – Азербайджан, Досанг; 86 – Иран, Хамдан, Аланы; 87 – Азербайджан, Астара, Сиов; 88 – Азербайджан, Ленкорань, Бюрджали; 89 – Иран, Гилян, Эсалем; 90 – Иран, Казвин, Фейзабад; 91 – Иран, Бахтиярия, Бахшабад; 92 – Иран, Исфahan, Эсфидан; 93 – Иран, Голестан, д. Имер; 94 – Иран, С Хорасан, п. Даркаш; 95 – Иран, Керман, хр. Джебель-Барез; 97 – Иран, Пир Сохраб; 98 – Казахстан, Аральск; 99 – Казахстан, Косколь; 100 – Узбекистан, Гиссарский зап.; 101 – Таджикистан, р. Сарытаг; 102 – Узбекистан, Чаткальский зап.; 103 – Таджикистан, Похтанор; 104 – Казахстан, Чу-Илийские горы; 105 – Казахстан, С3 Балхаш; 106 – Казахстан, С Балхаш; 107 – Китай, Синцзянь, Ташкуртан; 108 – Китай, Дзанда; 109 – Казахстан, Бельсексеул; 110 – Казахстан, Капал; 111 – Казахстан, Ала-Атинская обл.; 112 – Казахстан, Шыбынды; 113 – Россия, Новосибирск; 114 – Казахстан, Тассай; 115 – Казахстан, река Иртыш; 116 – Казахстан, Айгыркум; 117 – Казахстан, Аксуат; 118 – Казахстан, Шекельмес; 119 – Казахстан, Тугул; 120 – Китай, Синцзянь, Черчен; 121 – Россия, Кемерово; 122 – Китай, Синцзянь, Корля; 124 – Китай, Синцзянь, Мосован; 125 – Россия, Алтай, Телецкое о-во; 126 – Китай, Синцзянь, уезд Алтай; 127 – Монголия, Байтаг-Богд-Уул; 128 – Монголия, р. Булган-гол; 129 – Монголия, оз. Ша-азтай-нуур; 130 – Монголия, Барун-Шаргын-Гол; 135 – Монголия, Их-Дээрмаг; 136 – Монголия, Баянхонгор аймак, Ба-Цаган; 137 – Монголия, Говь-хонгор аймак, ю. скл. Баги-Богд-уул; 138 – Монголия, Барун-Шаргын-Гол; 139 – Монголия, о. Орог-нуур; 140 – Монголия, аймак Сэлэнгэ; 141 – Китай, Ю Ганьсу, монастырь Гойн Ба; 142 – Китай, Сычуань, Дзёгё; 143 – Китай, Ю Ганьсу, Лянхуашань; 144 – Китай, Ю Ганьсу, зап. Лянхуашань; 145 – Монголия, Гоби, Га-шуун-булаг; 146 – Монголия, Таван-Алдын Худун; 147 – Россия, Бурятия; 148 – Монголия, аймак Сэлэнгэ; 149 – Монголия, о. Чеджуло; 150 – Монголия, окр. Хинган-булаг; 151 – Монголия, В. Хантэй, Баян Уул; 152 – Китай, Шаньси, Нинъю; 153 – Китай, Хэбэй, Цзунхуа; 154 – Монголия, аймак Дорнод, хр. Хинган; 155 – Тайвань, Тайчжун; 156 – Китай, Ляонин, Синьбинь; 157 – Южная Корея, о. Чеджуло; 158 – Южная Корея, о. Чеджуло; 159 – Южная Корея; 160 – Южная Корея, Кенджу; 161 – Япония, о. Цусима; 162 – Южная Корея, о. Уллыно; 163 – Россия, Приморский край, о. Попова; 165 – Россия, Приморский край, о. Путятина; 166 – Россия, Приморский край, Лазовский зап. Локалитеты образцов, использованных в анализе ядерных генов, обведены черным.

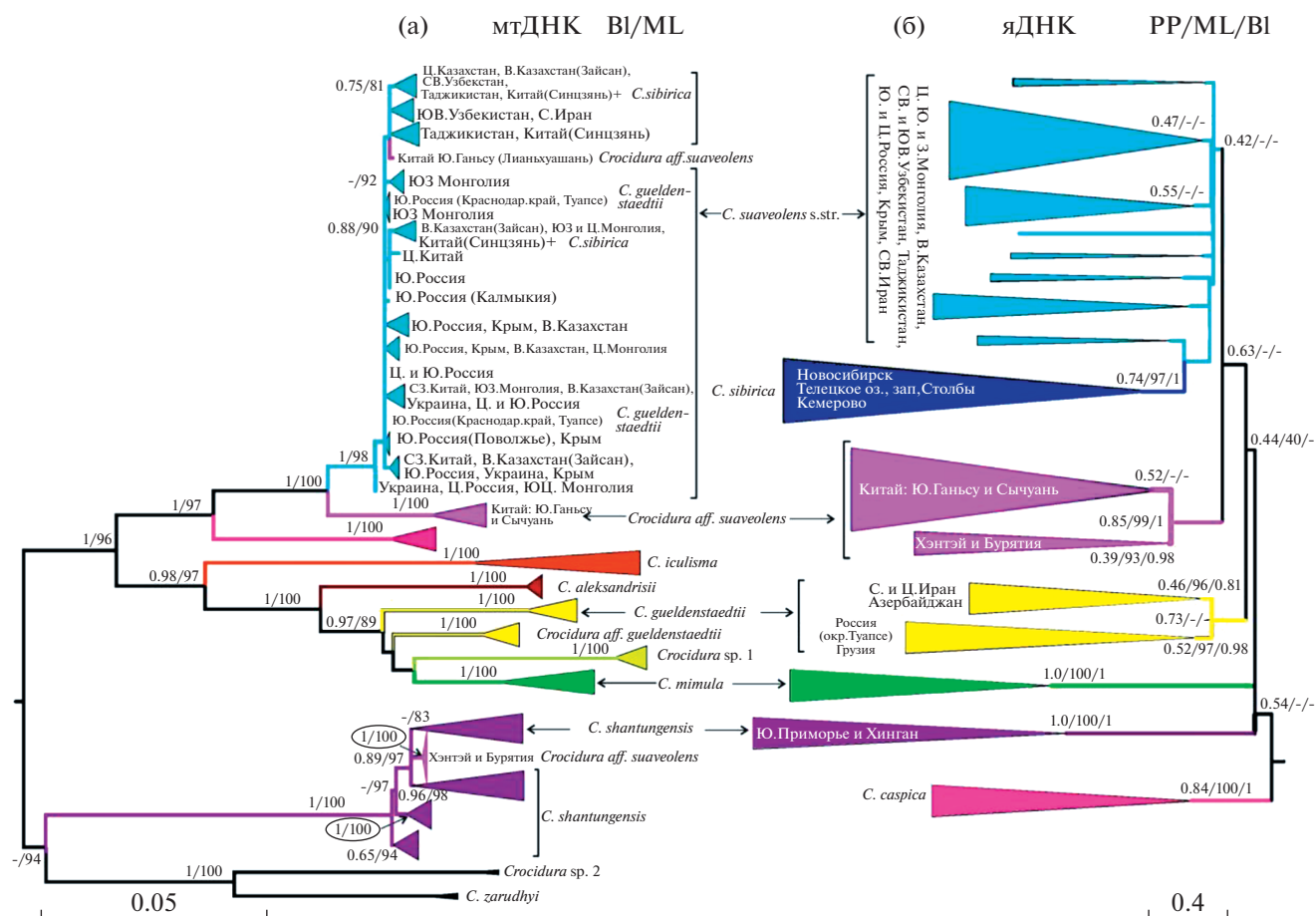


Рис. 2. (а) Филогенетическое дерево видовой группы *C. suaveolens* s.l. по результатам Байесового (BI) анализа митохондриального гена *cytb*. Вблизи узлов дерева приведены апостериорные вероятности (BPP) в Байесовом анализе и бутстрэп-поддержки в анализе методом максимального правдоподобия (ML); (б) Видовое дерево группы *C. suaveolens* s.l., построенное в программе ASTRAL 5.15.5 по данным 16 ядерных генов. В узлах указаны локальные апостериорные вероятности (local PP), рассчитанные программой, бутстрэп-поддержки в анализе методом максимального правдоподобия (ML) и апостериорные вероятности (BPP) в Байесовом анализе конкатенированных последовательностей ядерных локусов (PP/ML/BPP). Внешняя группа для каждого дерева удалена.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Митохондриальная филогения *C. suaveolens* s.l.

В составе *C. suaveolens* s.l. на дереве по *cytb* (рис. 2а) обнаруживаются 12 митохондриальных линий: (1) *C. suaveolens* s.str.+*C. sibirica*, (2) *Crocidura aff. suaveolens* — гаплотипы из южного Ганьсу и Сычуани, (3) *C. caspica*, (4) *C. iculisma*, (5) *C. aleksandrissi*, (6) *güeldenstaedtii*, (7) *C. aff. güeldenstaedtii* — гаплотипы из центрально-восточного Ирана, (8) *Crocidura* sp.1 — гаплотипы с о-ов Эгейского моря и близлежащей территории Анатолии, (9) *C. mimula*, (10) *C. shantungensis*, включая гаплотипы из северо-центральной Монголии (Хэнтэй) и Бурятии, (11) *C. zarudnyi* и (12) сестринская к ней ветвь из Западного Тибете — *Crocidura* sp.2. Наиболее близкое положение к корню занимают *C. shantungensis* и *C. zarudnyi/Crocidura* sp.2, однако их отношения не разрешены. Остальные

виды довольно четко делятся на две клады определенной географической приуроченности: западная и восточная.

Восточная клада состоит из восточно-европейских и азиатских представителей *C. suaveolens* s.str., *C. aff. suaveolens*, *C. sibirica* и *C. caspica*. Каспийская белозубка уверенно образует сестринскую ветвь группировки *C. aff. suaveolens*/(*C. suaveolens* s.str. + *C. sibirica*). Гаплотипы из ареала *C. sibirica* располагаются внутри гаплогруппы *C. suaveolens* s.str., не образуя монофилетической группы, также как гаплотипы *C. güeldenstaedtii* с Черноморского побережья Кавказа (Туапсе).

Западная клада включает белозубок из Западной и Центральной Европы, Ближнего Востока, Эгейского моря и близлежащей территории Анатолии, которые образуют несколько гаплогрупп, родственных *C. güeldenstaedtii* и *C. mimula*. Базаль-

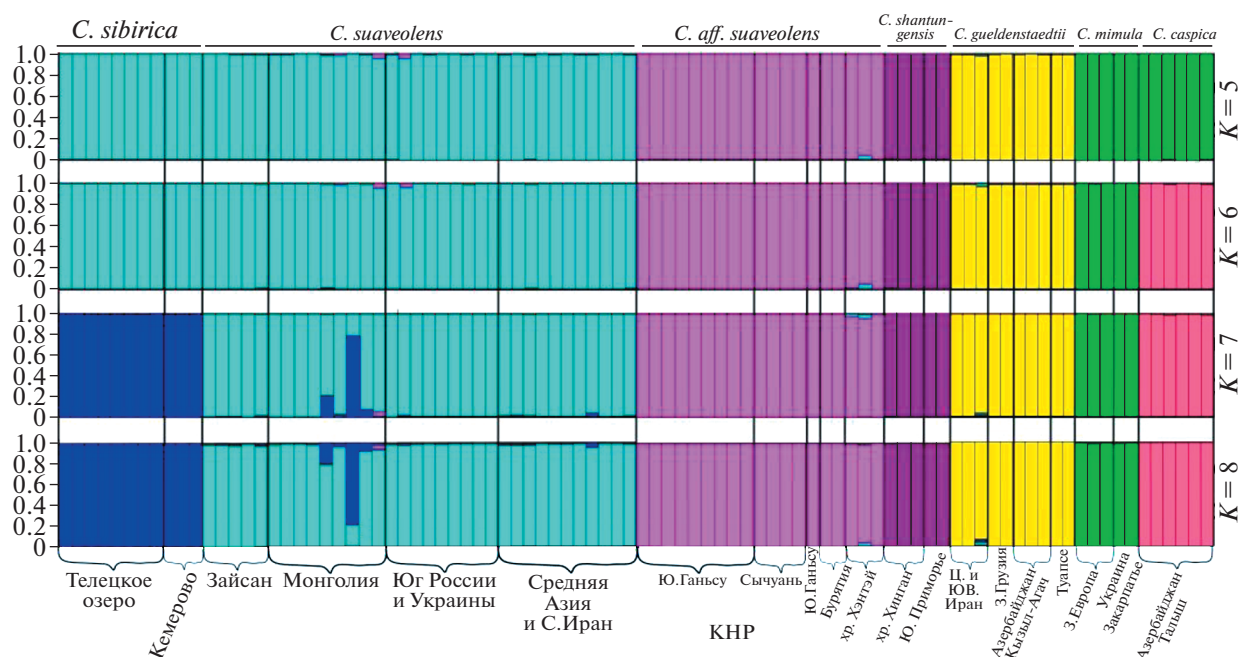


Рис. 3. Анализ частот аллелей 14 ядерных генов видового комплекса *C. suaveolens* s.l., в программе Structure 2.3.4.

ное положение в западной кладе занимает *C. iculisma* (Пиренейский п-ов, юг и запад Франции).

Анализ ядерных данных в программе Structure

Результаты, полученные в программе Structure, оказались нестабильны, т.к. характер разбиения на группы различался при повторении анализов при одном и том же числе кластеров (K). Оптимальное значение K, предложенное программой Harvester, соответствует разбиению на пять групп (рис. 3). В лучшем из решений при данном K (с максимальным Ln Prob) в самостоятельные кластеры выделяются *C. shantungensis*, *C. aff. suaveolens* и *C. gueldenstaedtii*; в единые кластеры объединяются *C. suaveolens* s.str. + *C. sibirica* и *C. mimula* + *C. caspica*. В лучшем решении при K = 6 *C. mimula* и *C. caspica* формируют самостоятельные кластеры; при K = 7 *C. sibirica* отделяется от *C. suaveolens* s.str.; при K = 8 характер разбиения не отличается от K = 7. Заметный сигнал обмена генами отмечается только между *C. sibirica* и *C. suaveolens* s.str.

Филогенетический анализ ядерных данных

Видовое дерево. Для того чтобы получить видовое дерево в условиях, когда генные деревья могут достоверно различаться, был выполнен анализ в программе Astral. На полученном видовом дереве (рис. 26) обнаружены 6 группировок, взаимоотношения между которыми не разрешены: (1) *C. shantungensis* (Южное Приморье и Хинган); (2) *C. mim-*

ula (Закарпатье на Украине и Западная Европа); (3) *C. gueldenstaedtii*, включающая две сестринские линии из северного и центрального Ирана и Азербайджана, с одной стороны, и Грузии и Черноморского побережья Краснодарского края России, с другой; (4) *C. caspica*; (5) *C. aff. suaveolens* (КНР, Бурятия и Хэнтэй); (6) группировка *C. suaveolens* s.str. + *C. sibirica*, монофилия которой слабо поддержана; *C. sibirica* внутри нее формирует поддерживанный кластер.

ML и Байесов анализ объединенной последовательности ядерных генов. На филогенетическом дереве по результатам ML и Байесова анализа объединенной последовательности ядерных генов (дерево не приведено) в рамках *C. suaveolens* s.l. состав группировок не значительно отличается от видового дерева (рис. 36). Две ветви *C. gueldenstaedtii* не объединяются в единую кладу; *C. caspica* и *C. sibirica* оказываются среди множества ветвей *C. suaveolens* s.str., не связанных географической принадлежностью, где образуют поддерживаемые монофилетические группировки. Объединение *C. suaveolens* s.str. + *C. caspica* + *C. sibirica* в Байесовом анализе имеет только низкую поддержку, в ML поддержки вообще отсутствуют (0.74/27).

ОБСУЖДЕНИЕ

Мультилокусное филогенетическое дерево демонстрирует существование в рамках видового комплекса *C. suaveolens* s.l. нескольких обособленных форм. Хотя порядок их дивергенции уста-

новить не удастся, своеобразие большинства из них вполне очевидно.

C. mimula — монофилетическая самостоятельная форма, представленная в нашем исследовании небольшим числом особей, происходящих из разных частей ареала. По нашим данным именно этот вид населяет Закарпатскую Украину. Следов гибридизации между *C. mimula* и *C. suaveolens* s.str. не обнаружено.

В составе *C. güeldenstaedtii* по ядерным данным обнаружены две сестринские линии, населяющие северо-западную и восточную часть ареала, соответственно. Представители западной линии с Черноморского побережья Кавказа (окрестности Туапсе) несут заимствованную мтДНК *C. suaveolens* s.str. Однако в ядерных генах следов заимствования не обнаружено. Возможно, это объясняется недавней гибридизацией, сопровождающейся интрогрессией мтДНК, о чем говорит полная идентичность митохондриальных гаплотипов *C. güeldenstaedtii* с Черноморского побережья Кавказа гаплотипам малой белозубки.

Собственно малая белозубка, *C. suaveolens* s.str., парафилетична относительно сибирской и имеет крайне слабую структуру, что соответствует и митохондриальным данным [7, 12]. *C. caspica* монофилетична как по митохондриальным, так и по ядерным данным, однако в последнем случае восстановить ее филогенетические связи с другими видами комплекса *C. suaveolens* s.l. пока не удается.

Существенным отличием от митохондриального дерева является поддержанная монофилия *C. sibirica*. Ранее по митохондриальным данным мы предположили, что сибирская белозубка образовалась в период изоляции от *C. suaveolens* s.str. около 20 тыс. лет назад [12]. Основываясь на анализе ядерных генов, можно предположить, что гипотеза недавнего происхождения сибирской белозубки в целом подтверждается и одна из митохондриальных линий *C. sibirica* является аутентичной. Отсутствие монофилии сибирской белозубки по мтДНК может объясняться заимствованием части митотипов в результате вторичного контакта с малой белозубкой. Таким образом, хотя сибирская белозубка и характеризуется определенным своеобразием ядерного генома, однако она все же крайне близка к *C. suaveolens* s.str. Уровень ее генетического отличия не соответствует видовому. Приходится признать, что генетические данные не дают основания для придания сибирской белозубке статуса полного вида.

Наиболее сложный вопрос — это взаимоотношения формы *C. aff. suaveolens* с другими группировками видового комплекса. На митохондриальном дереве эта форма складывается только из образцов южного Ганьсу и Сычуани (КНР) и занимает сестринское положение по отношению к

C. suaveolens s.str./*C. sibirica*. На ядерном дереве наблюдается похожая тенденция, однако теперь в эту группу входят также образцы из Бурятии и Хэнтя, которые на митохондриальном дереве образуют одну из гаплогрупп в составе *C. shantungensis*. Образцы из Южного Приморья и Хингана, имеющие митотип настоящей *C. shantungensis*, и на ядерном дереве составляют самостоятельную кладу, соответствующую маньчжурской белозубке. Таким образом, белозубки из Бурятии и Хэнтя относятся к форме *C. aff. suaveolens*, однако их мтДНК, по-видимому, заимствована в прошлом от *C. shantungensis*. Интересно, что в южном Ганьсу экземпляр из нижней части гор Лианьхуашани, наоборот, имел обычный митотип малой белозубки, но на ядерном дереве группировался с *C. aff. suaveolens* из субальпийского пояса гор севера Сычуани. Это показывает, что в разное время и на разных участках ареала происходила (и происходит до сих пор?) гибридизация *C. aff. suaveolens* не только с маньчжурской, но и с малой белозубкой. Удивительным фактом является огромный разрыв ареала *C. aff. suaveolens*, поскольку на юге Монголии встречается только типичная *C. suaveolens* s.str. Направление этого заимствования и происхождение самой формы, как и ее статус нуждаются в дальнейшем пристальном изучении.

Итак, с учетом вероятной интрогрессии мтДНК *C. suaveolens* s.str. и *C. shantungensis* в геном *C. aff. suaveolens*, а также недавней гибридизации между *C. suaveolens* s.str. и *C. güeldenstaedtii* на восточно-черноморском побережье, полученная ядерная филогения в основных чертах не противоречит митохондриальной. Однако не вполне уверенные поддержки самых внутренних узлов митохондриального дерева и их отсутствие на ядерном дереве не дают возможности уверенно выстроить порядок кладогенетических событий в эволюционной истории *C. suaveolens* s.l.

Таким образом, видовой комплекс “малая белозубка” — это наглядный пример недавней серии событий видообразования, в которых большую роль играли не только дивергентные, но и ретикулярные процессы. По митохондриальным оценкам [8] максимальный возраст дивергенции безусловных видов этой группы составляет не более 1.3 млн лет (*C. shantungensis*), а минимальный — 680 тыс. лет (*C. caspica*/(*C. suaveolens* s.str. + *C. sibirica*)), а о чрезвычайно недавней дивергенции линий *C. suaveolens* s.str. + *C. sibirica* мы упоминали выше. Для разрешения ветвей филогенетического дерева такой группы, пережившей быструю и недавнюю диверсификацию, сопровождавшуюся ретикулярными событиями, требуется серьезное умножение числа информативных генетических локусов. Разработка таких маркеров составляет предмет наших дальнейших исследований.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант РНФ № 21-14-00007).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

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

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят Ю.Н. Литвинова, Ф.М. Голенищева, В.Г. Маликова, А.В. Абрамова и других коллег, принявших участие в сборе материала для генетического анализа.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Графодатский А.С., Раджабли С.И., Шаршов А.В., и др. Кариотипы пяти видов землероек-белозубок фауны СССР // Цитология. 1988. Т. 30. № 10. С. 1247–1251.
2. Catzeflis F., Maddalena T., Hellwing S., et al. Unexpected findings on the taxonomic status of East Mediterranean *Crocridura russula* auct. (Mammalia, Insectivora) // Zeitschrift für Säugetierkd. 1985. V. 50. № 4. P. 185–201.
3. Vogel P., Maddalena T., Catzeflis F. A contribution to the taxonomy and ecology of shrews (*Crocridura zimmermanni* and *C. suaveolens*) from Crete and Turkey // Acta Theriol. 1986. V. 31. № 39. P. 537–545.
4. Зайцев М.В. Видовой состав и вопросы систематики землероек-белозубок (Mammalia, Insectivora) фауны СССР // Труды Зоологического института Академии наук СССР. 1991. Т. 243. С. 3–46.
5. Jiang X.L., Hoffmann R.S. A revision of the white-toothed shrews (*Crocridura*) of Southern China // Journal of Mammalogy. 2001. V. 82. №4. P. 1059–1079.
6. Vogel P., Cosson J.-F., Jurado L.F.L. Taxonomic status and origin of the shrews (Soricidae) from the Canary islands inferred from a mtDNA comparison with the European *Crocridura* species // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2003. V. 27. № 2. P. 271–282.
7. Ohdachi S.D., Iwasa M.A., Nesterenko V.A., et al. Molecular Phylogenetics of *Crocridura* Shrews (Insectivora) in East and Central Asia // Journal of Mammalogy. 2004. V. 85. № 3. P. 396–403.
8. Bannikova A.A., Lebedev V.S., Kramerov D.A., et al. Phylogeny and systematics of the *Crocridura suaveolens* species group: corroboration and controversy between nuclear and mitochondrial DNA markers / Phylogénie et systématique du groupe d'espèces *Crocridura suaveolens*: coordination et contradiction des marqu // Mammalia. 2006. V. 70. № 1–2. P. 106–119.
9. Dubey S., Zaitsev M., Cosson J.-F., et al. Pliocene and Pleistocene diversification and multiple refugia in a Eurasian shrew (*Crocridura suaveolens* group) // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2006. V. 38. № 3. P. 635–647.
10. Dubey S., Cosson J.F., Magnanou E., et al. Mediterranean populations of the lesser white-toothed shrew (*Crocridura suaveolens* group): an unexpected puzzle of Pleistocene survivors and prehistoric introductions // Molecular Ecology. 2007. V. 16. № 16. P. 3438–3452.
11. Burgin C.J., He K., Haslauer R., et al. Family Soricidae (shrews). In: Wilson D.E., Mittermeier R.A. (Eds.), Vol. 8. Insectivores, Sloths and Colugos. Handbook of the Mammals of the World. Barcelona, Lynx Edicions; 2018. P. 332–551.
12. Грицышин В.А., Артюшин И.В., Бурская В.О., и др. Филогеография малой *Crocridura suaveolens* и сибирской *Crocridura sibirica* белозубок: В поисках географической родины // Известия Российской академии наук. Серия Биологическая. 2022. № 2. С. 1–14.
13. Bannikova A.A., Zemlemerova E.D., Lebedev V.S., et al. The phylogenetic relationships within the Eastern Afromontane clade of *Crocridura* based on mitochondrial and nuclear data // Mammalian Biology. 2021. V. 101. № 6. P. 1005–1018.
14. Esselstyn J.A., Achmadi A.S., Siler C.D., et al. Carving out turf in a biodiversity hotspot: multiple, previously unrecognized shrew species co-occur on Java Island, Indonesia // Molecular ecology. 2013. V. 22. № 19. P. 4972–4987.
15. Igea J., Juste J., Castresana J. Novel intron markers to study the phylogeny of closely related mammalian species // BMC evolutionary biology. 2010. V. 10. № 369.
16. Bolger A.M., Lohse M., Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data // Bioinformatics. 2014. V. 30. № 15. P. 2114–2120.
17. Langmead B., Salzberg S.L. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2 // Nature Methods. 2012. V. 9. P. 357.
18. Li H., Handsaker B., Wysoker A., et al. The Sequence Alignment/Map format and SAMtools // Bioinformatics. 2009. V. 25. № 16. P. 2078–2079.
19. Van der Auwera G.A., O'Connor B.D. Genomics in the Cloud: Using Docker, GATK, and WDL in Terra (1st Edition). O'Reilly Media, 2020.
20. Narasimhan V., Danecek P., Scally A., et al. BCFtools/ROH: a hidden Markov model approach for detecting autozygosity from next-generation sequencing data // Bioinformatics. 2016. V. 32. № 11. P. 1749–1751.
21. Robinson J.T., Thorvaldsdóttir H., Winckler W., et al. Integrative Genomics Viewer // Nature Biotechnology. 2011. V. 29. № 1. P. 24–26.
22. Librado P., Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data // Bioinformatics. 2009. V. 25. № 11. P. 1451–1452.
23. Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data // Genetics. 2000. V. 155. № 2. P. 945–959.
24. Earl D.A., von Holdt B.M. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method // Conservation Genetics Resources. 2012. V. 4. № 2. P. 359–361.

25. *Nguyen L.-T., Schmidt H.A., von Haeseler A., et al.* IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum likelihood phylogenies // *Molecular Biology and Evolution*. 2015. V. 32. № 1. P. 268–274.
26. *Ronquist F., Teslenko M., van der Mark P., et al.* MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and model choice across a large model space // *Systematic Biology*. 2012. V. 61. № 3. P. 539–542.
27. *Chao Z., Rabiee M., Sayyari E., et al.* ASTRAL-III: Polynomial Time Species Tree Reconstruction from Partially Resolved Gene Trees // *BMC Bioinformatics*. 2018. V. 19. № 6. P. 15–30.

MULTILOCUS ANALYSIS OF PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS IN THE *CROCIDURA SUAVEOLENS* SENSU LATO SPECIES COMPLEX: COMPARISON WITH MITOCHONDRIAL DATA

**V. A. Gritsyshin^{a, #}, A. A. Lisenkova^a, A. S. Speranskaya^b, I. V. Artyushin^a,
B. I. Sheftel^c, V. S. Lebedev^d, and A. A. Bannikova^{a, ##}**

^a *Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation*

^b *Research Institute for Systems Biology and Medicine, Moscow, Russian Federation*

^c *A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

^d *Zoological Museum of Moscow University, Moscow, Russian Federation*

[#]*e-mail: vladimir.sokol.gritsyshin@gmail.com*

^{##}*e-mail: hylomys@mail.ru*

Presented by Academician of the RAS V.V. Rozhnov

For the first time, we attempt to study the phylogeny of the *Crocidura suaveolens* s. l. species complex using multilocus analysis. Sequencing data for 16 nuclear genes indicate the existence of several distinct forms within the species complex, and its structure does not in general contradict mitochondrial phylogeny. Siberian shrew is characterized by some specificity of the nuclear genome, but the degree of its genetic differentiation does not correspond to species-level. We clarified the relationships of *Crocidura* aff. *suaveolens* from South Gansu and Sichuan with other forms of the species complex. The shrews from Buryatia and Khentii also belong to this form, but their mtDNA had apparently introgressed in the past from *C. shantungensis*. In the recent time, hybridization of *C. suaveolens* s.str. with *C. aff. suaveolens* and *C. güeldenstaedtii*, had also occurred. Taking into account multiple introgression events in the history of *C. suaveolens* s.l., for the analysis of the phylogenetic relations between its forms a significant increase in the set of loci is required.

Keywords: Species complex, Lesser White-toothed Shrew, interspecies hybridization, multigene analysis, *Crocidura*