

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ТРЕХ ИЗОЛИРОВАННЫХ
ПОПУЛЯЦИЙ МУЙСКОЙ ПОЛЕВКИ *Alexandromys tujanensis*
Orlov et Kovalskaja, 1978 (Rodentia, Arvicolinae)

© 2019 г. И. В. Картавецва¹, *, Т. В. Васильева¹, И. Н. Шереметьева¹, **,
Н. А. Лемская², И. В. Моролдоев³, Ф. Н. Голенищев⁴

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

²Институт молекулярной и клеточной биологии Сибирского отделения
Российской академии наук, Новосибирск, 630090 Россия

³Институт систематики и экологии животных Сибирского отделения
Российской академии наук, Новосибирск, 630091 Россия

⁴Зоологический институт Российской академии наук, Санкт-Петербург, 199034 Россия

*e-mail: Kartavtseva@biosoil.ru

**e-mail: sheremet76@yandex.ru

Поступила в редакцию 03.12.2018 г.

После доработки 18.02.2019 г.

Принята к публикации 02.04.2019 г.

В настоящей работе на основе цитогенетического и молекулярно-генетического (контрольный регион мтДНК) анализа дана оценка генетической изменчивости муйской полевки *Alexandromys tujanensis* — эндемика Бурятии и Северо-Запада Забайкальского края. Мы исследовали три изолированные популяции полевков из Муйско-Куандинской, Баргузинской котловин и берега оз. Баунт. Обнаружен полиморфизм числа плеч аутосом (NFa = 46–49) при стабильном числе хромосом ($2n = 38$), обусловленный изменчивостью морфологии четырех (MMUJ2, MMUJ7, MMUJ8 и MMUJ14) пар аутосом, а не двух, как считалось ранее. На сегодняшний день для муйской полевки выявлено 10 вариантов кариотипа. По-видимому, хромосомные перестройки (перичентрические инверсии, а также два варианта слияния акроцентрических пар — центромерно-центромерное и центромерно-теломерное), приведшие к изменчивости морфологии аутосом в популяциях муйской полевки, не являются вредными. В результате анализа контрольного региона мтДНК в целом для вида обнаружено высокое гаплотипическое и нуклеотидное разнообразие, при этом в выборках полевков Джергинского заповедника (Баргузинская котловина) и долины Баунтовских озер нуклеотидное разнообразие было пониженным в сравнении с выборкой из Муйско-Куандинской котловины. Несмотря на то, что каждая из исследованных популяций имеет уникальный состав хромосомных перестроек и гаплотипов мтДНК, все же можно предположить большее сходство популяций Муйско-Куандинской котловины и с популяциями из окрестностей Баунтовских озер.

Ключевые слова: эволюция, видообразование, контрольный регион мтДНК, цитогенетика, хромосомные перестройки, млекопитающие.

DOI: 10.1134/S0016675819080071

Ареалы видов млекопитающих, как правило, носят фрагментарный характер в связи с неравномерностью распределения благоприятных для вида условий обитания, образуя на краю изолированные популяции, сходные с островными. Так же как и островные, особи таких популяций в отсутствие связи или ограниченного потока мигрантов из основной части ареала могут накапливать отличия в виде закрепляющихся мутаций, как генных, так и хромосомных. Несмотря на то, что стабильность кариотипов многих видов грызунов позволяет использовать хромосомные ха-

рактеристики в систематике в качестве диагностических признаков, для ряда видов нередки случаи существования периодов внутри- и межпопуляционного хромосомного полиморфизма с последующей стабилизацией в краевых популяциях [1, 2]. Поэтому обнаружение в настоящее время хромосомно-полиморфных видов является свидетельством незавершенности процесса стабилизации кариотипа, а в некоторых случаях, возможно, и видообразования. Такие хромосомно-полиморфные виды часто вызывают дискусию систематиков по поводу таксономического

положения разных хромосомных рас [3]. Исследования видов млекопитающих с нестабильными кариотипами, состоящих из популяций с различным временем изоляции, представляют интерес для понимания роли хромосомных перестроек в дифференциации хромосомно-полиморфных видов [4], а применение методов молекулярно-генетического анализа ДНК позволит судить не только о характере хромосомных преобразований, но и о времени их фиксации [5]. Одним из удобных объектов исследования таких популяций является эволюционно молодая группа серых полевков (триба *Arvicolini* Gray, 1821), базальная радиация которых по данным молекулярно-генетического анализа происходила в начале плейстоцена [6], а эволюционные процессы интенсивно шли в течение последних 2.2 [7], 1 и 0.5 млн лет [8] с разной скоростью и различными путями дифференциации [9]. Представители этой трибы ранее объединялись в обширный род *Microtus* Schrank, 1798, включающий 65 видов [10] и демонстрирующий пример видообразования, сопровождавшегося хромосомными перестройками [11–15]. Таксономическое положение некоторых форм серых полевков все еще не определено, в связи с чем система рода постоянно пересматривается [10, 16–19] и все еще находится в состоянии ревизии [20]. Для трети видов этой трибы известен внутри- и межпопуляционный хромосомный полиморфизм [13], тем не менее виды, у которых хромосомный полиморфизм в популяциях регистрируется постоянно, – редки [12]. Как правило, внутри- и межпопуляционная изменчивость связана с перичентрическими инверсиями [14, 21–26], хотя для некоторых видов отмечен полиморфизм по иным перестройкам, таким как Робертсоновские слияния или перераспределение гетерохроматинного материала как в аутосомах, так и в половых хромосомах [11, 12, 27–29].

Одним из таких видов с широким спектром хромосомных перестроек является муйская полевка *Alexandromys* (= *Microtus*) *tujanensis* (Orlov et Kovalskaja, 1975), выделенная в самостоятельный вид на основе хромосомных ($2n = 38$, $NF = 50–52$) и гибридологических данных популяции из пос. Муя (приток р. Витим) Баунтовского (ныне Муйского) района Бурятии, долины р. Муя [22, 30]. Этот вид – эндемик влажных биотопов северных районов Бурятии и северо-запада Забайкальского края (Муйско-Куандинская котловина, Баргузинская котловина, окрестности оз. Баунт). По морфологическим характеристикам данный вид имеет сходство с широкоареальным азиатским видом – полевкой Максимовича *Alexandromys maximowiczii* Schrenck, 1859 ($2n = 36–44$, $NF = 52–62$) и эндемиком юга Дальнего Востока России – эворонской полевкой *Alexandromys evoronensis* Kovalskaya et Sokolov, 1980 ($2n = 38–40$, $NF = 53–56$). Каждый из трех видов имеет собственные хромо-

сомные характеристики и хромосомный полиморфизм, затрагивающий различные типы хромосомных перестроек и различные хромосомные пары, что позволяет дифференцировать виды по данным кариологического анализа [26, 31]. Однако молекулярно-генетические данные (мтДНК) показали незначительные дистанции между муйской и эворонской полевкой, с одной стороны, и полевкой Максимовича – с другой. Это привело к различным мнениям об их таксономическом статусе. Одни авторы предлагают рассматривать муйскую и эворонскую полевки в составе полевки Максимовича [20, 32], другие считают их самостоятельными видами [26, 33–39].

Кариотип муйской полевки с изменчивым числом плеч хромосом впервые описан для четырех потомков пары особей, отловленных в Муйской долине, в месте впадения р. Муя в р. Витим с западной стороны [30]. Рутинное окрашивание хромосом не позволило правильно описать морфологию X-хромосомы, и позже она была определена как субметацентрик средних размеров для особей другой популяции, расположенной на восточном берегу Витима (близ пос. Догочан Забайкальского края) после применения дифференциального окрашивания хромосом [31]. Авторы связывали изменчивость числа плеч хромосом с двумя типами инверсий в двух парах аутосом: перичентрической инверсией в паре хромосом средних размеров и парацентрической инверсией в мелкой паре [26]. Также для этих пар аутосом были предположены два альтернативных варианта образования двуплечих хромосом: первый предполагал слияние акроцентриков центромерами и формированием метацентрика; второй – тандемное слияние центромеры с теломерой, что приводило к образованию акроцентрика. Такая хромосома была названа “сложно-составной” [26, стр. 198].

Долгое время для муйской полевки не существовало постоянной нумерации хромосом [26, 31], что затрудняло сопоставление результатов, полученных разными авторами. Ситуация изменилась после исследования кариотипа потомства пары муйской полевки из локальной популяции в долине р. Муя (окр. пос. Таксимо), для которой была применена сквозная нумерация хромосом. Кроме этого, использование GTG-окрашивания и флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) позволило описать четыре варианта кариотипа, обусловленных перичентрическими инверсиями в двух парах аутосом – MMUJ8 и MMUJ14 [14]. Однако вопрос о меж- и внутривидовой изменчивости кариотипов в природных популяциях муйской полевки до сих пор остается открытым.

В недавнее время для муйской полевки были обнаружены две новые точки распространения за пределами Муйско-Куандинской котловины в

Бурятии – в северо-восточной части Баргузинской котловины и в окрестностях оз. Баунт [37], в связи с чем был поднят вопрос о хромосомной и молекулярно-генетической (мтДНК) изменчивости трех изолированных популяций. На начальных этапах генетической изменчивости был исследован ген *cytb* мтДНК восьми особей из двух новых популяций и выявлен незначительный уровень генетических дистанций между этими популяциями (1.6%). Хромосомные и молекулярные данные позволили диагностировать этих грызунов как *A. tuijanensis* [39]. Однако этого, безусловно, недостаточно для выявления изменчивости вида и выяснения степени генетической дивергенции между изолированными популяциями. Кроме того, полностью отсутствуют данные по хромосомной изменчивости полевок из этих популяций.

В связи с вышесказанным целью настоящей работы было исследование генетической изменчивости и оценка степени дивергенции трех популяций муйской полевки с применением методов хромосомного (рутинное окрашивание красителем Гимза, GTG и FISH) и молекулярно-генетического (исследование контрольного региона мтДНК) анализов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом исследования послужила 21 особь муйской полевки из трех популяций Муйско-Куандинской (ТАК) и Баргузинской (GIR) котловин, а также берега оз. Баунт (BAUN) на севере Бурятии, собранные в экспедициях 2007, 2013, 2016 и 2018 гг. (рис. 1, табл. 1). Кроме этого, для анализа внутривидовой хромосомной изменчивости были использованы кариотипы шести особей лабораторной линии, опубликованные ранее [14], основатели которой были отловлены в долине р. Муя (левого притока р. Витим), 7 км на запад от пос. Таксимо (ТАК). Для сравнительного анализа использованы данные от двух полевок из окр. пос. Догочан (DOGOP) Забайкальского края, восточного берега р. Витим [26]. В анализе также были использованы последовательности контрольного региона мтДНК от 51 образца *A. tuijanensis* из трех выборок: Муйско-Куандинской, Баргузинской котловин и долины Баунтовских озер. Полученные последовательности длиной 848 пн внесены в GenBank/NCBI под номерами MH752688–MH752738. Также в работе использованы последовательности контрольного региона мтДНК, полученные ранее для четырех особей из исследуемой в настоящей работе популяции ТАК (номера GenBank/NCBI NM135853–NM135856) [32]. Образцы тканей и хромосомных препаратов, ваучерные материалы (череп, тушки), используемые в работе, хранятся в Биоресурсной коллекции образцов млекопитающих ФНЦ Биоразно-

образия ДВО РАН (г. Владивосток) и Зоологическом институте РАН (г. Санкт-Петербург). Культура клеток образцов некоторых особей из трех популяций хранится в Институте молекулярной и клеточной биологии СО РАН (г. Новосибирск).

Анализ кариотипов. Суспензии хромосом для особей популяции ТАК приготовлены из клеток костного мозга бедренной кости по стандартной методике [40] и из кратковременной культуры клеток костного мозга [41]. Для полевок выборок GIR и BAUN применяли культуру фибробластов, полученных из легкого и кожи с использованием описанных ранее методов [42] и примененных для муйской полевки из популяции ТАК [14]. Гомологию гетероморфных пар выявляли при помощи комплексного подхода, позволяющего с уверенностью говорить о конкретной хромосоме. На препаратах GTG-окрашенных метафазных хромосом [43] проводили флуоресцентную *in situ* гибридизацию (FISH) с использованием нескольких проб сортированных хромосом *M. agrestis* Linnaeus, 1761 (MAG). Этот метод позволил дифференцировать пары хромосом одной размерной группы, а также показать однородный или разнородный состав ДНК изменчивых пар хромосом. FISH выполнена по протоколам, опубликованным ранее [44, 45]. Нумерация и названия (MMJ) пар хромосом соответствуют таковым, примененным ранее для муйской полевки [14]. В случае отсутствия номеров пар хромосом в раскладках их последовательность сохранена (рис. 2). Выявление С-гетерохроматина проводили по инвертированному DAPI на стеклах после FISH (рис. 3,б). Метафазные пластинки анализировали с помощью флуоресцентного микроскопа Olympus BX 53 и программного обеспечения “ВидеоТест FISH 2.0” (iMicroТес, Россия) и микроскопа Axio Imager 1 с цифровой камерой AxioCamHR и программного обеспечения AXIOVISION 4.7 (Германия).

Построение кариограмм и нумерацию хромосом осуществляли в соответствии со схемой, опубликованной ранее для муйской полевки [14, 38]. Для полевок ТАК использовали рутинное окрашивание орсеином, для полевок популяций GIR и BAUN проводили FISH, GTG и С-окрашивание хромосом.

Анализ контрольного региона мтДНК. Выделение ДНК из мышечных тканей или печени, фиксированных 95%-ным этиловым спиртом, проводили методом солевой экстракции [46] с добавлением 2–5 мкл протеиназы К. Для амплификации фрагмента контрольного региона мтДНК применяли праймеры Pro+ и Phe–, использованные ранее [47, 48], и дополнительный (внутренний) Mic2+ (5'-ACCCGCCACCTTATGCATC-3'). Полимерно-цепную реакцию проводили в 25 мкл реакционной смеси, включающей 60–100 нг тоталь-

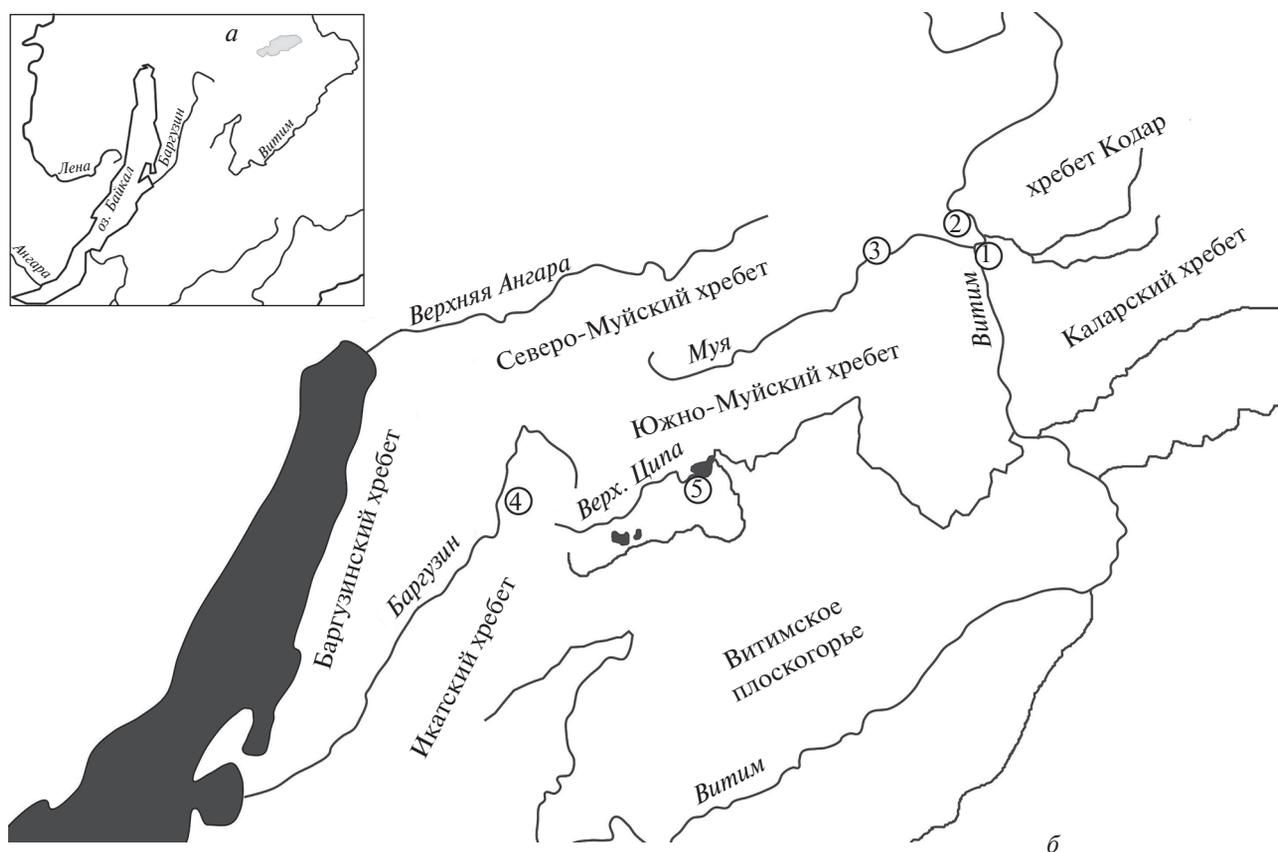


Рис. 1. Точки исследования кариотипа муйской полевки *Alexandromys mujanensis*: 1 – пос. Догочан (DOGOP), Забайкальский край (из Голенищев, Раджабли, 1981 [31], Мейер и др., 1996 [26]); 2 – окр. пос. Муя, Бурятия (из Орлов, Ковальская, 1978 [22]); 3 – пос. Таксимо (ТАК) Бурятия (из Lemskaya et al., 2015 [14], наши данные); 4 – Джергинский заповедник, Бурятия (GIR); 5 – окр. оз. Баунт, Бурятия (BAUN).

ной ДНК, 2.5 мкл 10× буфера, 2 мкл 20 мМ смеси dNTPs, по 5 пМ праймеров, 0.5 ед. *Taq*-полимеразы и деионизированную воду (“СибЭнзим”, Новосибирск). ПЦР проводили при следующих условиях: начальная денатурация ДНК (94°C – 120 с), 35 циклов амплификации (94°C – 10 с, 58°C – 10 с, 72°C – 60 с), достройка цепей (72°C – 420 с). Реакцию присоединения меченых нуклеотидов проводили при помощи набора Bright Dye Terminator (Applied Biosystems, США) с использованием указанных праймеров: начальная денатурация ДНК (95°C – 60 с), 35 циклов амплификации (95°C – 30 с, 55°C – 10 с, 60°C – 180 с). Последовательности нуклеотидов определяли на автоматическом секвенаторе ABI Prizm 3130 на базе Центра коллективного пользования ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН. Последовательности редактировали и выравнивали вручную в программе BioEdit 7.0.9.0 [49].

Сеть гаплотипов была построена при помощи программы Network 5.0.0.3, где для расчета использован метод “median joining”. Расчет генетических дистанций проводили в программе MEGA6.06 [50]. В качестве внешней группы использованы нук-

леотидные последовательности контрольного региона мтДНК *A. taximowiczii*, полученные ранее [48] и зарегистрированные в GenBank/NCBI под номерами KM403496, KM403497, KM403506 и KM403507. Нуклеотидное и гаплотипическое разнообразие, число варибельных сайтов, среднее число нуклеотидных различий оценивали с помощью DNAsp 5.10 [51]. Расчет статистик нейтральности, тест Таджimy (Tajima’s D) [52] и тест Фу (Fu’s F) [53] и анализ демографической и пространственной экспансии популяции проводили в программе Arlequin 3.1 [54], а тест на дифференциацию популяций [55] – в программе DNAsp 5.10.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изменчивость кариотипа

Исследование хромосомных наборов *A. mujanensis* двадцати одной особи из трех популяций Бурятии выявило новые пределы изменчивости числа плеч аутосом ($NFa = 46–49$) при стабильном кариотипе ($2n = 38$). Ранее полиморфизм связывали с изменчивостью двух пар аутосом средних размеров [26]. Использование методов

Таблица 1. Материал муйской полевки, использованный в анализе

Код популяции	Локалитет, координаты, год отлова	№ кариотипированной особи	Вариант кариотипа	Номер ткани	Номер GenBank
ТАК	Россия, Бурятия, Муйская котловина, 7 км на запад от пос. Таксимо, Муйский р-н, N 56°22', E 114°45', 2006 г.	2230 (1)	e	11-07	HM135856*
				12-07	MH752691
		2232 (1)	g	13-07	MH752692
				14-07	MH752698
		2234 (1)	c	16-07	MH752694
		2235 (1)	g	17-07	MH752693
		2239 (1)	a	30-07	MH752690
		2241 (1)	a	32-07	MH752696
				36-07	MH752707
		2243 (1)	e	37-07	MH752695
		2244 (1)	b	38-07	MH752697
		2245 (1)	f	39-07	MH752706
		2250 (1)	c	44-07	MH752704
		2252 (1)	h	46-07	MH752689
				48-07	HM135853*
				53-07	HM135854*
		2261 (1)	d	56-07	MH752700
				58-07	MH752699
				59-07	MH752701
				60-07	MH752705
		2263 (1)	d	61-07	MH752702
		2264 (1)	c	62-07	HM135855*
				64-07	MH752703
		261-16	MH752708		
		2274 (1)	f		
		2295 (1)	f	80-07	MH752688
	Там же, лабораторное разведение	1 (1-4)**	a		
		2 (1-4)**	b		
		3, 4, 6 (1-4)**	c		
		5 (1-4)**	d		

Таблица 1. Окончание

Код популяции	Локалитет, координаты, год отлова	№ кариотипированной особи	Вариант кариотипа	Номер ткани	Номер GenBank			
GIR	Россия, Бурятия, Баргузинская котловина, Джергинский заповедник, кордон Джирга, правый берег р. Джирга, N 54°53', E 111°13', 2013–2014 гг.			263-16	MH752709			
				232-16	MH752710			
				233-16	MH752711			
				234-16	MH752712			
				235-16	MH752713			
				236-16	MH752714			
				237-16	MH752715			
				238-16	MH752716			
				239-16	MH752717			
				240-16	MH752718			
				241-16	MH752719			
				242-16	MH752720			
				243-16	MH752721			
				244-16	MH752722			
				245-16	MH752723			
				246-16	MH752724			
				247-16	MH752725			
				248-16	MH752726			
				249-16	MH752727			
		3371 (1–4)	j	250-16	MH752729			
				262-13	MH752728			
BAUN	Россия, Бурятия, Баунтовский р-н, пос. Горячий Ключ, правый берег р. Верхняя Цыпа, 3 км к юго-западу от ее впадения в оз. Баунт, N 55°08', E 112°55', 2014 г.			254-16	MH752730			
				255-16	MH752731			
				256-16	MH752732			
				257-16	MH752733			
				258-16	MH752734			
				259-16	MH752735			
				260-16	MH752736			
				То же, виварное разведение	G-1 (1–4)	f	223-16	MH752737
							224-16	MH752738
						4436 (1–3)	k	296-18
		4477 (1–3)	a	309-18				

Примечание. Образцы, использованные ранее в статьях: * Haring et al., 2011 [32] (молекулярный анализ); ** Lemskaya et al., 2015 (хромосомный анализ) [14]. Методы обработки препаратов указаны в скобках: 1 – рутинный, 2 – С-окрашивание, 3 – GTG, 4 – FISH.

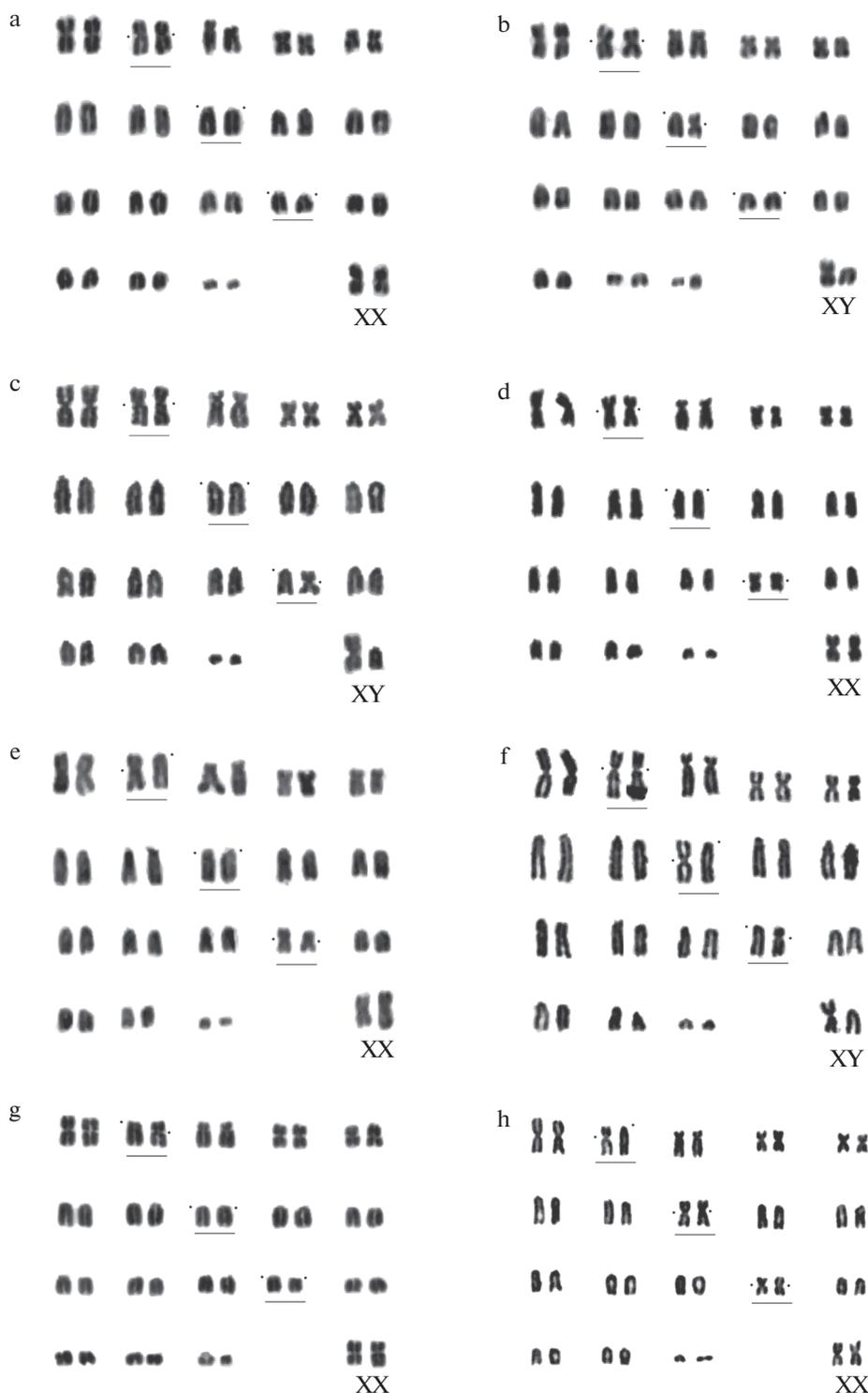


Рис. 2. Варианты кариотипа *Alexandromys mujanensis*. Вариант "a" – № 2241, NFa = 46; "b" – № 2244, NFa = 47; "c" – № 2264, NFa = 47; "d" – № 2263, NFa = 48; "e" – № 2243, NFa = 47; "f" – № 2245, NFa = 48; "g" – № 2235, NFa = 45; "h" – № 2252, NFa = 49. Изменчивые пары хромосом подчеркнуты.

дифференциального окрашивания позволило определить эти пары (MMUJ8 и MMUJ14) и показать, что изменчивость морфологии хромосом обусловлена перичентрической инверсией, на

основании чего было выявлено четыре варианта кариотипа ("a", "b", "c" и "d") [14]. Однако в результате исследования изменчивости морфологии хромосом большого числа особей из природ-

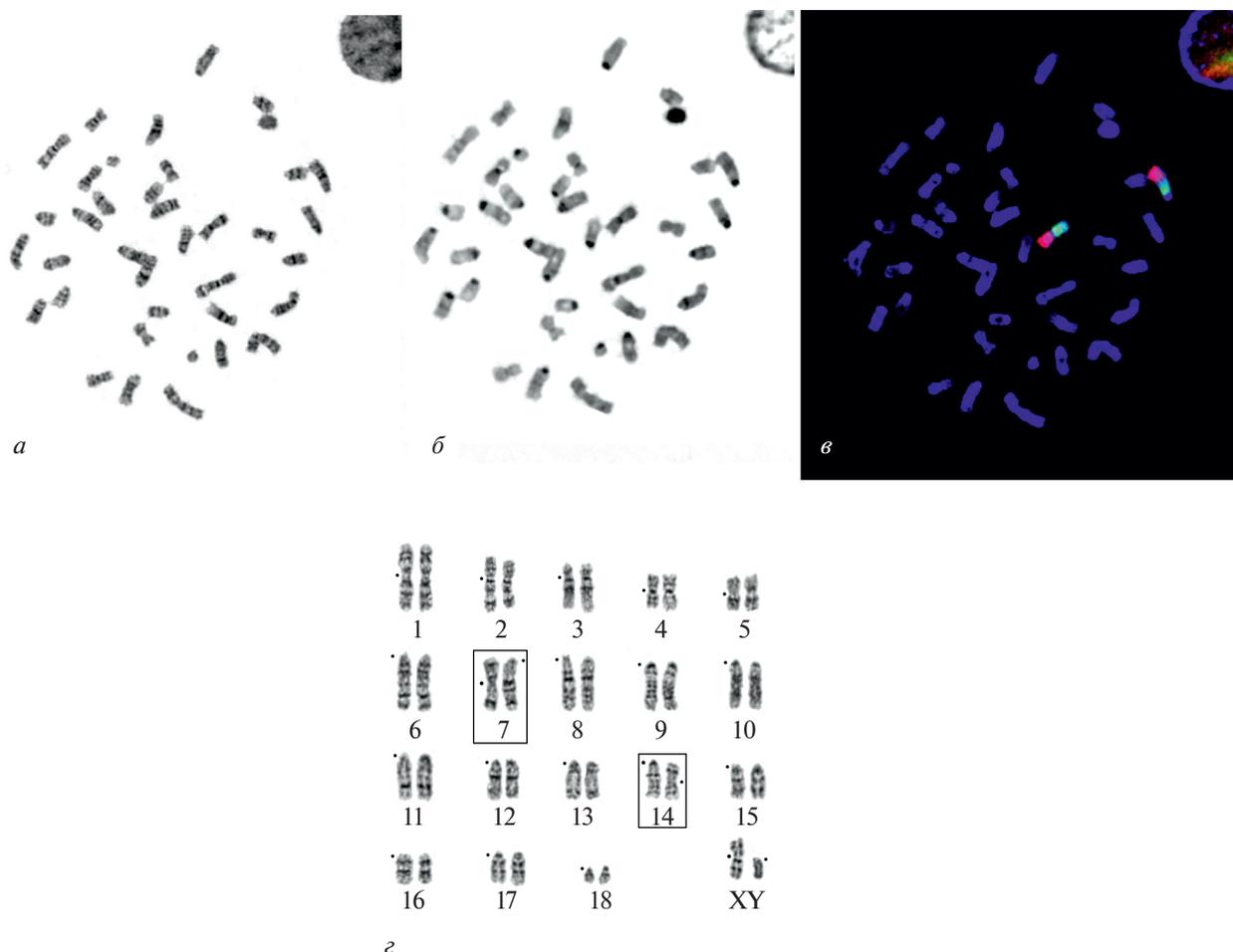


Рис. 3. Хромосомы *Alexandromys mujanensis* из баргузинской популяции (GIR) (точка № 4 на рис. 1): *a* – GTG-окрашенная метафазная пластинка; *б* – CBG-окрашенная метафазная пластинка; *в* – локализация ДНК-проб хромосом *Microtus agrestis* пар 15-й (зеленый цвет сигнала) и 17-й (красный цвет сигнала) на аутосоме MMUJ7 муйской полевки методом FISH; *г* – кариограмма GTG-окрашенной метафазной пластинки. Номера хромосом по Lemskaya et al., 2015 [14]. Рамкой выделены изменчивые пары хромосом, точками обозначены положения центромер.

ных популяций мы обнаружили изменчивость четырех пар аутосом (MMUJ8, MMUJ14, MMUJ2 и MMUJ7), что позволило дополнительно описать еще шесть вариантов кариотипа (табл. 2).

Муйская долина (ТАК). Хромосомные наборы 16 особей муйской полевки из природной популяции Муйской долины имели изменчивое число плеч аутосом ($N_{Fa} = 46-49$). Числа двуплечих хромосом варьировали от 11 до 15, одноплечих – от 23 до 27 (включая половые хромосомы). Половые хромосомы средних размеров: X-хромосома – метацентрик средних размеров, Y – акроцентрик. Для полевок популяции ТАК Муйской котловины выявлено 8 вариантов кариотипа (табл. 1 и 2, рис. 2).

Вариант “а”. Пара MMUJ2 – метацентрическая (M/M), пары MMUJ8 и MMUJ14 акроцентрические (A/A), обнаружен для самок 2239 и 2241.

Вариант “b”. Пара MMUJ2 – M/M, пара MMUJ8 – M/A, пара MMUJ14 – A/A, у самца 2244.

Вариант “c”. Пара MMUJ2 – M/M, пара MMUJ8 – A/A, пара MMUJ14 – M/A, у самок 2250, 2234 и самца 2264.

Вариант “d”. Пара MMUJ2 – M/M, пара MMUJ8 – A/A, пара MMUJ14 – M/M, у самок 2261 и 2263.

Вариант “e”. Пара MMUJ2 – M/A, пара MMUJ8 – A/A, пара MMUJ14 – M/M, у самок 2230 и 2243.

Вариант “f”. Пара MMUJ2 – M/M, пары MMUJ8 и MMUJ14 – M/A, у самцов 2245, 2274 и самки 2295.

Вариант “g”. Пара MMUJ2 – M/A, пары MMUJ8 и MMUJ14 – A/A, у самок 2232 и 2235.

Вариант “h”. Пара MMUJ2 – M/A, пары MMUJ8 и MMUJ14 – M/M, у самки 2252.

Таблица 2. Схема вариантов изменчивых пар аутосом *Alexandromys tjujanensis*

Вариант	Номер пары аутосом				Популяция				
	2-я	7-я	8-я	14-я	ТАК		GIR	BAUN	DOGOP**
					природные	лабораторные*			
a	XX		ΛΛ	ΛΛ	2♀	1♂		1♀	1♂
b	XX		XΛ	ΛΛ	1♂	1♂		1♂	1♂
c	XX		ΛΛ	XΛ	2♀1♂	2♂, 1♀			
d	XX		ΛΛ	XX	2♀	1♀			
e	XΛ		ΛΛ	XX	2♀				
f	XX		XΛ	XΛ	1♀, 2♂			1♀	
g	XΛ		ΛΛ	ΛΛ	2♀				
h	XΛ		XX	XX	1♀				
j	XX	XΛ		XΛ			1♂		
k	XX		XΛ	XX				1♀	

* По Lemskaya et al., 2015 [14].

** По Мейер и др., 1996 [26].

В лабораторной популяции [14] обнаружено меньше вариантов кариотипа, чем в природной популяции, так как в хромосомный анализ лабораторной популяции вошли потомки одной пары, имеющей гетерозиготное состояние пар MMUJ8 и MMUJ14.

Баргузинская котловина (GIR). Дифференциальное GTG окрашивание хромосом одной особи (№ 3371) позволило выявить изменчивость морфологии двух пар аутосом MMUJ7 и MMUJ14 (табл. 1 и 2, рис. 3).

Пары MMUJ7 и MMUJ14 представлены гетероморфными хромосомами – метацентрик/acrocentрик (M/A) среднего и мелкого размера соответственно. Этот вариант кариотипа обозначен как “j” (табл. 2). Полиморфизм обеих пар можно объяснить перичентрической инверсией. При FISH пара MMUJ7 маркирована двумя парами хромосом (MAG15 и MAG17) полевки *M. agrestis* (рис. 3,з).

C-гетерохроматин в кариотипе исследованной особи в основном ограничен небольшими прицентромерными блоками, Y-хромосома целиком гетерохроматиновая (рис. 3,б), что соответствует таковому для полевок из Догопчана (DOGOP) [26].

Баунтовская котловина (BAUN). Дифференциальное окрашивание и характер изменчивости хромосом полевок из этой выборки связаны с изменчивостью морфологии хромосом пар MMUJ8 и MMUJ14. В результате выявлено четыре варианта, из которых “a”, “b” и “f” характерны для полевок из выборки ТАК в Муйско-Куандинской котловине, тогда как вариант “k”, обнаруженный пока только в баунтовской популяции (табл. 1, 2), гипотетически можно ожидать и у полевок Муйско-Куандинской котловины.

Вариант “k”. Пара MMUJ2 – M/M, пара MMUJ8 – M/A, пара MMUJ14 – M/M у самки 4436.

Изменчивость морфологии аутосом

Ранее проведенный Zoo-FISH хромосом *M. agrestis* на метафазные хромосомы *A. tjujanensis* из популяции ТАК [14] показал, что три изменчивые пары муйской полевки образованы слиянием трех пар аутосом *M. agrestis*. Так, пара хромосом MMUJ2 образована парами MAG5 и MAG9, пара MMUJ7 – парами MAG15 и MAG17, пара MMUJ8 – парами MAG4 и MAG15. Пары MMUJ14 соответствует только пара MAG6. Три из четырех морфологически изменчивых пар аутосом представлены генетическим материалом двух пар *M. agrestis* [14]. Этот факт может свидетельствовать в пользу гипотезы образования этих пар путем как перичентрической инверсии, так и двумя слияниями акроцентрических хромосом: одно центрическое (двулучий вариант), второе – центрально-теломерное (acrocentрический вариант) [26]. Для пары MMUJ14 ранее показана перичентрическая инверсия [14].

По-видимому, хромосомные перестройки, приведшие к изменчивости морфологии аутосом в популяциях муйской полевки, не являются критическими, так как при перекрестном скрещивании полевок из разных популяций было получено плодовитое потомство [39].

Перичентрические инверсии аутосом млекопитающих могут быть как значимыми, так и нейтральными [3]. Для полевок рода *Alexandromys*, включающего 12 видов Восточной Азии: *A. evoronensis* Kovalskaya et Sokolov, 1980; *A. shantaricus*

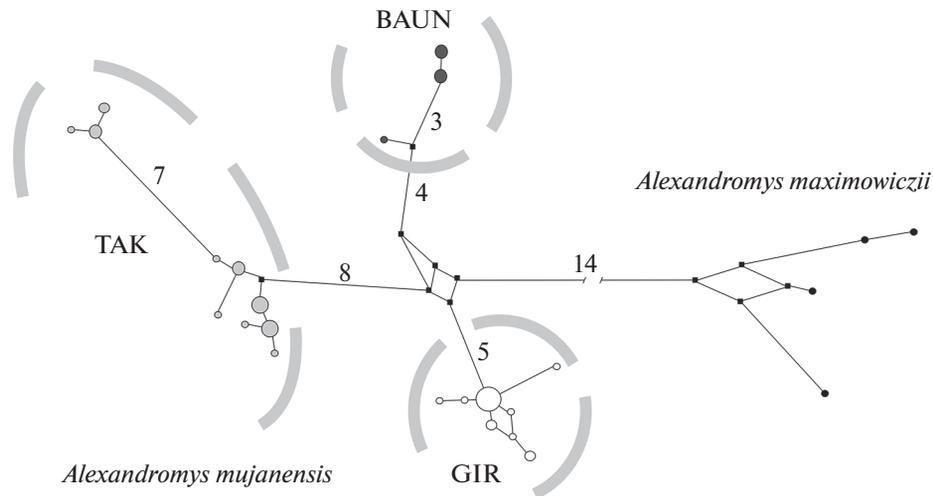


Рис. 4. Филогенетическая сеть гаплотипов мтДНК (390 пн) *Alexandromys mujanensis*, построенная в программе Network 5.0.0.3. Размеры кружков пропорциональны количеству образцов с данным гаплотипом. Цифры – количество нуклеотидных замен.

Ognev, 1929; *A. kikuchii* Kuroda, 1920; *A. limnophilus* Büchner, 1889; *A. maximowiczii*; *A. middendorffi* Poljakov, 1881; *A. mongolicus* Radde, 1861; *A. montebelli* Milne-Edwards, 1872; *A. mujanensis*; *A. oeconomus* Pallas, 1776; *A. sachalinensis* Vasin, 1955; *A. fortis* Büchner, 1889, помимо муйской полевки, изменчивость морфологии хромосом описана для полевок *A. middendorffi*, *A. maximowiczii*, *A. evoronensis* [26] и *A. fortis* [25, 56]. Для последнего вида при исследовании 295 особей из 53 популяций России, Монголии и Кореи была показана различная частота встречаемости животных с акроцентрическим (A) и субметацентрическим (ST) вариантами седьмой пары аутосом в различных подвидах [25]. Так, частота акроцентрического варианта хромосомы у подвида *A. fortis michnoi* Kastschenko, 1905, распространенного в Забайкалье и Монголии, равна 0.966, у подвида *A. f. pelliceus* Thomas, 1911, распространенного на юге Дальнего Востока России, – 0.168, подвида *A. f. uliginosus*, распространенного в Корее, – 0. Гетерозиготное состояние варианта (A/ST) обнаружено лишь у одной особи из популяции Приморского края в России.

Изменчивость контрольного региона мтДНК

На основании исследования последовательности контрольного региона мтДНК образцов трех популяций было показано, что последовательности содержали 37 полиморфных сайтов, среди которых 31 был информативным для парсимонии. Всего для вида (55 экз.) в настоящее время обнаружено 19 гаплотипов (табл. 3, рис. 4), из них 3 были описаны ранее [32] и 16 выявлены впервые. Из обнаруженных гаплотипов 8 (42.1%) были уникальными, остальные (52.6%) встречались у 2–6 особей (4 гаплотипа у двух особей, 1 – у трех,

3 – у четырех, 2 – у шести) и один гаплотип был общим для 12 полевок. Гаплотипическое разнообразие для вида в целом было высоким – 92%. Число нуклеотидных различий между отдельными гаплотипами варьировало от 1 до 28 и в среднем было равно 10.541, при этом нуклеотидное разнообразие составило 1.2%. Средний уровень генетической дивергенции гаплотипов (p -дистанции) между парами индивидуумов для вида составил 0.0125 ± 0.0023 . Высокие значения нуклеотидного и гаплотипического разнообразия в выборке возможны либо при длительной стабильности генетически однородных популяций с высокой численностью, либо если выборка представлена изолированными популяциями [57]. Тест Фу и тест Таджиджи выявили отклонение от модели селективной нейтральности, что может указывать на наличие положительного отбора. Парное сравнение генетических дистанций позволило выявить бимодальное распределение, что связано с наличием различных групп гаплотипов (рис. 5).

На сети гаплотипов (рис. 4) выявлено деление всех гаплотипов на три дивергировавшие группировки, обозначенные TAK, GIR и BAUN. Каждая отдельная группировка представлена особями только одной исследованной выборки, общих гаплотипов для одной и более выборок не обнаружено. Дистанции между этими группировками составили: 0.0174 ± 0.0040 между TAK и GIR, 0.0183 ± 0.0041 – TAK и BAUN, 0.0166 ± 0.0041 – GIR и BAUN, что согласуется с данными, полученными по *cytb* мтДНК (1.6%) [39]. Наибольшее число фиксированных замен оказалось между выборками полевок из баргузинской и муйской популяций – 14 мутационных позиций, а наименьшее – между выборками GIR и BAUN – 10.

Таблица 3. Показатели генетического разнообразия *Alexandromys tuijanensis* трех популяций муйской полевки

Исследуемые показатели	Популяция		
	ТАК	GIR	BAUN
<i>n</i>	25	21	9
<i>N</i>	10	8	3
<i>Is</i>	16	8	5
<i>h</i> ± S.D.	0.877 ± 0.039	0.676 ± 0.111	0.667 ± 0.105
π ± S.D.	0.0059 ± 0.0009	0.0017 ± 0.0004	0.0017 ± 0.0008
<i>D</i> ± S.E.	0.0059 ± 0.0015	0.0017 ± 0.0006	0.0017 ± 0.0008
Tajima's <i>D</i> (<i>P</i>)	0.62(0.765)	-1.16(0.109)	-0.91(0.231)
Fu's <i>F</i> (<i>P</i>)	-25.49(0.00)	-27.96(0.00)	-10.62(0.00)
Показатели пространственной экспансии			
τ	9	1.4	0.9
θ	4.238	0.494	0.004
<i>M</i>	0.616	3.623	99999.0
SSD(<i>P</i>)	0.029(0.37)	0.007(0.72)	0.063(0.09)
Показатели демографической экспансии			
τ	12.0	2.5	6.5
θ_0	0.000	0.004	0.000
θ_1	6.131	2.379	1.589
SSD(<i>P</i>)	0.032(0.43)	0.006(0.77)	0.084(0.29)

Примечание. *n* — объем выборки, *N* — число гаплотипов, *Is* — число переменных сайтов, *h* — гаплотипическое разнообразие, π — нуклеотидное разнообразие, Tajima's *D* — тест Таджиджи; Fu's *F* — *F*_s тест 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* — вероятность получения тестовой статистики.

Гаплотипы внутри различных группировок отличаются друг от друга по 1–8 заменам.

Поток мигрантов, *Nm*, между полевками из Муйско-Куандинской и Баргузинской котловин, а также между Муйско-Куандинской котловиной и Баунтовскими озерами составил 0.91 и 0.93 соответственно. Поток мигрантов из долины р. Баргузин и Баунтовских озер вдвое меньше — 0.44. Тест на дифференциацию популяций χ^2 для проверки независимости популяций позволил выявить наибольшую близость выборок Баргузинской и Муйско-Куандинской котловин ($\chi^2 = 46.000$, *P*-value = 0.0002). Меньший уровень зависимости выявлен между полевками из окр. пос. Таксимо (муйская популяция) и долины Баунтовских озер ($\chi^2 = 34.000$, *P*-value = 0.0007). Между выборками баунтовской и баргузинской популяций $\chi^2 = 30.000$, *P*-value = 0.0009.

Минимальные различия обнаружены внутри группы BAUN. Эта группа представлена тремя гаплотипами. Два из них, отличающиеся одной заменой, обнаружены у восьми из девяти особей с равной частотой. Третий гаплотип отличается от предыдущих на 4 замены, при этом на сети указан гипотетический гаплотип, который нами не об-

наружен. Среднее количество замен было равно 1.444. Всего для выборки BAUN из окр. оз. Баунт отмечено пять полиморфных сайтов, кроме этого, для этой выборки отмечены самые низкие показатели генетического разнообразия (табл. 3). Понижение нуклеотидного и гаплотипического разнообразия характерно для популяций, испытывающих снижение численности, что может возникать в популяциях на краю ареала либо при эффекте “бутылочного горлышка”. Попарное сравнение генетических дистанций для особей BAUN позволило выявить бимодальное распределение, что связано с наличием в этой группе одного дифференцированного гаплотипа. Значение теста Таджиджи для этой выборки было отрицательным, но не значимым, что указывает на возможное наличие отрицательного отбора, а также может свидетельствовать о демографической экспансии популяции либо большом пространственном расширении ареала вида. Проверка выполнимости модели пространственной экспансии показала высокий уровень значимости (*p* > 0.05), при этом условное значение возраста пространственной экспансии для выборки BAUN имело минимальное значение (0.9) (табл. 3).

Группировка GIR представлена особями выборки из долины р. Баргузин, которая также характеризуется низкими показателями генетического разнообразия (табл. 3). Для этой группы отмечена радиальная структура из восьми гаплотипов, различающихся 1–3 нуклеотидными заменами с одним анцестральным гаплотипом, который встречается у 57% особей этой выборки, в среднем гаплотипы отличались на 1.448 нуклеотидных замен (k). Более либеральный тест Фу допускает недавнее увеличение численности популяции, поскольку имеет статистически значимые отрицательные значения. Попарное сравнение генетических дистанций для особей GIR демонстрирует унимодальное отклонение, смещенное влево, что наряду с низкими показателями генетического разнообразия является свидетельством вселения небольшого числа особей (“эффект основателя”) предковой популяции и указывает на незначительный возраст изолированной популяции, а также на одностороннюю миграцию. Условное значение возраста демографической экспансии (2.5) для выборки GIR также подтверждает молодость этой выборки по сравнению с другими.

Группировка ТАК отличается наибольшим разнообразием. Так, значения гаплотипического и нуклеотидного разнообразия *A. mujanensis* из выборки Муйской долины ($h = 0.87667 \pm 0.039$, $\pi = 0.00589 \pm 0.00091$) выше значений этих показателей для полевков из Баунтовских озер и Баргузинской котловины. Значение теста Таджимы для этой выборки было положительным, но не значимым. Тест Фу допускает недавнее увеличение численности популяции, поскольку имеет статистически значимые отрицательные значения. Группировка ТАК представлена десятью гаплотипами, при этом они разделились на две подгруппы (рис. 5), что имеет свое отражение на графике попарного сравнения генетических дистанций для особей ТАК, который демонстрирует бимодальное распределение (рис. 4). При этом один пик имеет двойную вершину. В данном кластере между гаплотипами наблюдалось наибольшее количество мутационных позиций (8) в сравнении с двумя другими группами. Среднее число нуклеотидных различий составило 4.987. Высокие показатели генетического разнообразия наряду с графиком попарных генетических дистанций могут говорить о стабильной популяции с высокой численностью.

Наибольшим генетическим разнообразием отличались полевки, отловленные близ с. Таксимо в долине р. Муя, что наряду с условным временем существования популяции указывает на ее более длительный возраст и, возможно, анцестральный статус по отношению к двум другим популяциям. Обнаружение в данной популяции наибольшего числа хромосомных вариантов (восемь из десяти) также свидетельствует о более высоком кариоти-

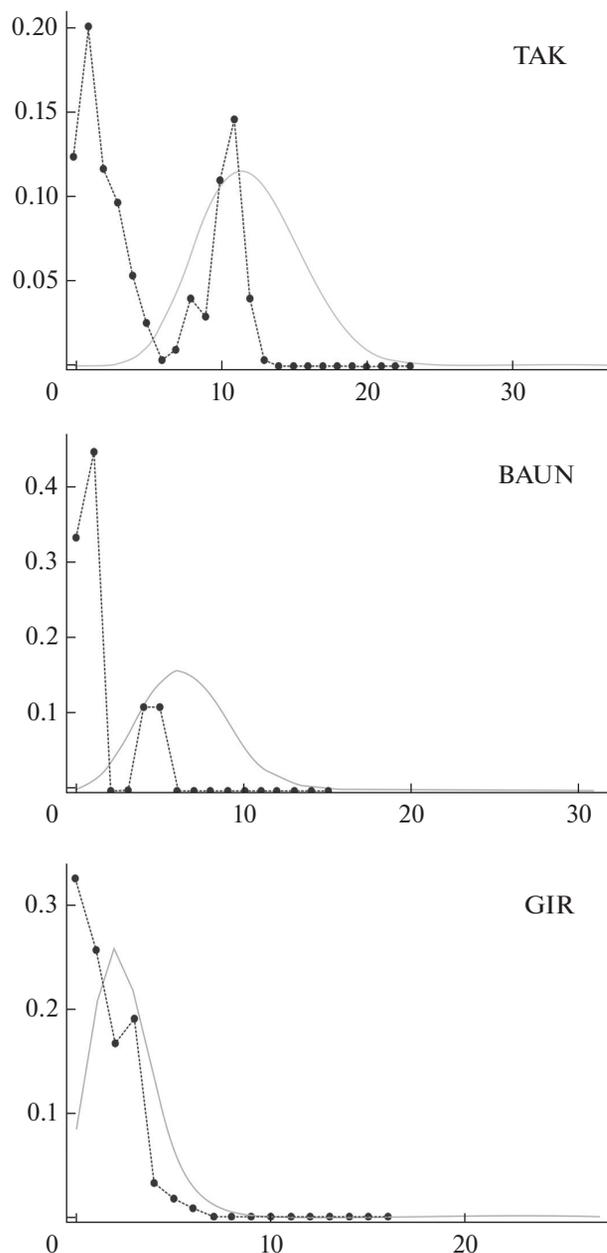


Рис. 5. Частота (ось ординат) попарных нуклеотидных различий (ось абсцисс) в популяциях *Alexandromys mujanensis* с применением модели роста–уменьшения популяции. Наблюдаемая частота обозначена пунктирной линией.

пическом разнообразии по сравнению с джиргинской и баунтовской популяциями. Однако небольшое число исследованных полевков из последних двух популяций не позволяет с большой долей уверенности говорить о разнообразии их хромосомной изменчивости.

Исходя из пониженного нуклеотидного разнообразия и значения потока мигрантов Nm , наряду с небольшими значениями условного времени существования популяции, баунтовская выборка,

возможно, представляет край единой панмиктической популяции. На это же указывает и отсутствие одномодального распределения. Таким образом, возможно, эта выборка не является частью изолированной популяции Баунтовской котловины, а является краевой выборкой единой “муйско-баунтовской” популяции. Характер изменчивости кариотипа, выявленный в рамках настоящего исследования, также объединяет эти две популяции полиморфизмом по одинаковым парам хромосом (ММУJ8 и ММУJ14).

Популяция *A. mujanensis* Баргузинской котловины является наиболее молодой и произошла от небольшого количества особей. Полевки из Баргузинской котловины характеризуются отличным типом кариотипической изменчивости, затрагивающим ММУJ7, что не характерно для муйских полевок из долины Баунтовских озер и из окрестностей с. Таксимо долины р. Муя.

Полученная структура генеалогического рода трех популяций муйской полевки по данным молекулярно-генетического анализа подтверждается и анализом ландшафтно-геологического строения этого района. Ранее [39] было сделано предположение, что проникновение предка муйской полевки в межгорные котловины Северного Забайкалья могло происходить после исчезновения ледниково-подпрудных озер в раннем голоцене после Сартанского оледенения не ранее 12 тыс. лет назад [58]. Однако если между Муйско-Куандинской котловиной и котловиной Баунтовского озера отсутствуют горные хребты, то между Баргузинской котловиной и ближайшей к ней Баунтовской поднимается Икатский хребет, преодолеть который муйская полевка могла только по долинам рек, освободившихся от горных ледников. Наиболее благоприятное время (7–8 тыс. лет назад) для проникновения полевок в Баргузинскую котловину из Баунтовской возможно было в период, когда многие ледники в этом районе полностью растаяли [59].

Таким образом, для муйской полевки из трех изолированных популяций в Бурятии выявлено 10 вариантов кариотипа, связанных с изменчивостью в четырех парах аутосом, а не двух, как было показано ранее. По-видимому, хромосомные перестройки, приведшие к изменчивости морфологии аутосом в популяциях муйской полевки, не являются вредными. Изменчивость пар ММУJ2, ММУJ7, ММУJ8 можно объяснить как перичентрической инверсией, так и двумя слияниями акроцентрических хромосом: одно центрическое (двулучий вариант), второе – центромерно-теломерное (акроцентрический вариант), в то время как для пары ММУJ14 – перичентрической инверсией.

Анализ данных контрольного региона мтДНК в целом для вида выявил высокое гапло-

типическое и нуклеотидное разнообразие, однако в баргузинской популяции и выборке полевок из долины Баунтовских озер нуклеотидное разнообразие было пониженным, а гаплотипическое разнообразие при этом оставалось высоким.

Данные хромосомных и молекулярно-генетических характеристик и небольшие значения условного времени существования популяции указывают на наличие единой “муйско-баунтовской” популяции в долине р. Витим, тогда как популяция *A. mujanensis* Баргузинской котловины является наиболее молодой и, по-видимому, произошла от небольшого числа особей “муйско-баунтовской” популяции.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке госзадания лаборатории эволюционной зоологии и генетики ФНЦ Биоразнообразия ДВО РАН № АААА-А17-117062710083-0 и лаборатории териологии ЗИН РАН № АААА-А17-117022810195-3 и грантов Российского фонда фундаментальных исследований: проекты 12-04-00662а, 14-04-31555, 15-04-03871 и 19-04-00557а.

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. King M. Chromosomal Speciation Revisited (Again). Species Evolution. The Role of Chromosome Change. Cambridge Univ. Press, 1993. 336 p.
2. Solano E., Taylor P.J., Rautenbach A. et al. Cryptic speciation and chromosomal repatterning in the south african climbing mice *Dendromus* (Rodentia, Nesomyidae) // PLoS One. 2014. V. 9. № 2. e88799. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088799>
3. Dobigny G., Britton-Davidian J., Robinson T.J. Chromosomal polymorphism in mammals: an evolutionary perspective // Biol. Rev. 2017. V. 92. P. 1–21. <https://doi.org/10.1111/brv.12213>
4. Silva W.O.D., Pieczarka J.C., Ferguson-Smith M.A. et al. Chromosomal diversity and molecular divergence among three undescribed species of *Neacomys* (Rodentia, Sigmodontinae) separated by Amazonian rivers // PLoS One. 2017. V. 12. № 8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182218>
5. Romanenko S.A., Perelman P.L., Trifonov V.A., Graphodatsky A.S. Chromosomal evolution in Rodentia // Hereditas (Edinb.). 2012. V. 108. № 1. P. 4–16. <https://doi.org/10.1038/hdy.2011.110>
6. 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 // Biol. J. Linn. Soc. 2010. V. 99. P. 595–613.
7. Chalvine J., Graf J.D. Phylogeny of the Arvicolidae (Rodentia): Biochemical and paleontological evidence // J. Mammal. 1988. V. 69. № 1. P. 22–33. <https://doi.org/10.2307/1381744>

8. *Zakrzewski R.J.* The Fossil Record / Ed. Tamarin R.H. Biology of New World *Microtus*. Special Publication of the American Society of Mammalogists. 1985. V. 8. 51 p.
9. *Conroy C.J., Cook J.A.* MtDNA evidence for repeated pulses of speciation within arvicoline and murid rodents // *J. Mammal. Evol.* 1999. V. 6. P. 221–245.
10. *Musser G.G., Carleton M.D.* Order Rodentia // *Mammal Species of the World: A Taxonomic and Geographic Reference* / Eds Wilson D.E., Reeder D.M. Baltimore: Johns Hopkins Univ. Press, 2005. P. 989–1019.
11. *Малыгин В.М.* Систематика обыкновенной полевки. М.: Наука, 1983. 206 с.
12. *Modi W.S.* Phylogenetic analyses of chromosomal banding patterns among the Nearctic Arvicolidae (Mammalia, Rodentia) // *Syst. Zool.* 1987. V. 36. № 2. P. 109–136.
13. *Загороднюк И.В.* Кариотипическая изменчивость и систематика серых полевок (Rodentia, Arvicolini). Сообщение 1. Видовой состав и хромосомные числа // *Вестн. зоол.* 1990. № 2. С. 26–37.
14. *Lemskaya N.A., Kartavtseva I.V., Rubtsova N.V. et al.* Chromosome polymorphism in *Microtus (Alexandromys) tujanensis* (Arvicolinae; Rodentia) // *Cytogenet. Genome Rus.* 2015. V. 146. № 3. P. 238–242. <https://doi.org/10.1159/000439096>
15. *Romanenko S.A., Serdyukova N.A., Perelman P.L. et al.* Multiple intrasyntenic rearrangements and rapid speciation in voles // *Sci. Rep.* 2018. V. 8. № 1. 14980. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33300-6>
16. *Голенищев Ф.Н., Саблина О.Л.* К систематике афганской полевки *Microtus (Blanfordimys) afghanus* // *Зоол. журн.* 1991. Т. 70. № 7. С. 98–110.
17. *Громов И.М., Поляков И.Я.* Фауна СССР: Млекопитающие. Т. III. Вып. 8. Полевки (Microtinae). Л.: Наука, 1977. 504 с.
18. *Kryštufek B., Zorenko T., Buzan E.V.* New insights into the taxonomy and phylogeny of social voles inferred from mitochondrial cytochrome b sequences // *Mamm. Biol.* 2012. V. 77. P. 178–182. <https://doi.org/10.1016/j.mambio.2011.11.007>
19. *Golenishchev F.N., Malikov V.G.* The “developmental conduit” of the tribe Microtini (Rodentia, Arvicolinae): systematic and evolutionary aspects // *Russian J. Theriol.* 2006. V. 5. № 1. P. 19–26.
20. *Lissovsky 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>
21. *Гилева Э.А.* Хромосомный полиморфизм у двух близких форм субарктических полевок (северосибирской полевки и полевки Миддендорфа) // *Докл. АН СССР.* 1972. Т. 203. № 2. С. 689–692.
22. *Орлов В.Н., Ковальская Ю.М.* *Microtus tujanensis* sp. n. (Rodentia, Cricetidae) из бассейна реки Витим // *Зоол. журн.* 1978. Т. 57. Вып. 8. С. 1224–1232.
23. *Гилева Э.А., Ракитин С.Б.* О факторах поддержания хромосомного полиморфизма у обыкновенной полевки *Microtus arvalis* Pallas, 1779: репродуктивные характеристики и мейотический драйв // *Генетика.* 2006. Т. 42. № 5. С. 620–627.
24. *Баскевич М.И., Миронова Т.А., Черепанова Е.В., Кривоногов Д.М.* Новые данные по хромосомной изменчивости, распространению видов-двойников и гибридизации 46-хромосомных форм *Microtus arvalis* sensu lato (Rodentia, Arvicolinae) в Верхнем Поволжье (Rodentia, Arvicolinae) из Восточной Европы // *Зоол. журн.* 2016. Т. 95. № 9. С. 1096–1107.
25. *Sheremetyeva I.N., Kartavtseva I.V., Frisman L.V.* Karyological and allozyme variability of Far Eastern Voles *Microtus fortis* Büchner, 1889 (Cricetidae, Rodentia) from the Russian Far East // *Rus. J. Genet.* 2006. V. 42. № 6. P. 833–844.
26. *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.
27. *Wang J.X., Zhao X.F., Deng Y. et al.* Chromosomal polymorphism of mandarin vole, *Microtus mandarinus* (Rodentia) // *Hereditas.* 2003. V. 133. P. 47–53.
28. *Баскевич М.И., Хляп Л.А., Миронова Т.А. и др.* К вопросу о стабильности и изменчивости кариотипа полевки-экономки (*Microtus oeconomus*, Rodentia, Arvicolinae): анализ новых находок из Восточной Европы // *Зоол. журн.* 2016. Т. 95. № 4. С. 476–483.
29. *Lamelas L., Arroyo M., Fernández J.F. et al.* Structural and evolutionary relationships in the giant sex chromosomes of three *Microtus* species // *Genes.* 2018. V. 9. № 27. <https://doi.org/10.3390/genes9010027>
30. *Орлов В.Н., Ковальская Ю.М.* Новый вид серых полевок *Microtus tujanensis* (Rodentia, Cricetidae) из бассейна р. Витим (Забайкалье) // *Систематика и цитогенетика млекопитающих.* М.: Наука, 1975. С. 32.
31. *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.
32. *Haring E., Sheremetyeva I., Kryukov A.* Phylogeny of Palearctic vole species (genus *Microtus*, Rodentia) based on mitochondrial sequences // *Mammal. Biol.* 2011. V. 76. P. 258–267.
33. *Voyta L.L., Golenishchev F.N., Tiunov M.P.* Analysis of shape and size variation of the first lower molar in Far Eastern grey voles of genus *Alexandromys* (Rodentia: Cricetidae) from Russian fauna using geometric morphometrics // *Rus. J. Theriol.* 2013. V. 12. № 1. P. 19–60.
34. *Шереметьева И.Н., Картавцева И.В., Васильева Т.В., Фрисман Л.В.* Серые полевки рода *Alexandromys* из Верхнебуреинской впадины // *Зоол. журн.* 2016. Т. 95. № 5. С. 597–603.
35. *Шереметьева И.Н., Картавцева И.В., Васильева Т.В.* Обитает ли эворонская полевка (*Alexandromys evoropensis*) на северо-востоке Верхнезейской равнины? // *Зоол. журн.* 2017. Т. 96. № 4. С. 477–474.
36. *Докучаев Н.Е., Шереметьева И.Н.* Об идентичности серых полевок (Cricetidae, Rodentia) острова Большой Шантар (Охотское море) и полевки Громова (*Alexandromys gromovi* Vorontsov et al. 1988) // *Зоол. журн.* 2017. Т. 96. № 11. С. 1425–1430.
37. *Голенищев Ф.Н., Войта Л.Л., Абрамсон Н.И. и др.* Новые находки серых полевок рода *Alexandromys* в Забайкалье // *Структура вида у млекопитающих: Матер. конф.* М.: Т-во научн. изд. КМК, 2015. 92 с.

38. *Sablina O.V., Radjabli S.I., Graphodatsky A.S.* Selected karyotypes // Atlas of Mammalian Karyotypes / Eds O'Brien S.J., Nash W.G., Menninger J.C. 2006. P. 266–267.
39. *Голенищев Ф.Н., Войта Л.Л., Моролдоев И.В. и др.* Новые находки муйской полевки (Rodentia: Cricetidae: *Alexandromys mujanensis*) в Забайкалье // Тр. Зоол. ин-та РАН. 2018. Т. 322. № 3. С. 357–384.
40. *Ford C.F., Hamerton J.L.* A colchicine hypotonic citrate squash preparation for mammalian chromosomes // Stain Technol. 1956. V. 31. P. 247–251.
41. *Графодатский А.А., Раджабли С.И.* Хромосомы сельскохозяйственных и лабораторных млекопитающих: Атлас. Новосибирск: Наука, 1988. 128 с.
42. *Sitnikova N.A., Romanenko S.A., O'Brien P.C. et al.* Chromosomal evolution of Arvicolinae (Cricetidae, Rodentia). I. The genome homology of tundra vole, field vole, mouse and golden hamster revealed by comparative chromosome painting // Chromosome Res. 2007. V. 15. P. 447–456.
43. *Seabright M.* A rapid banding technique for human chromosomes // Lancet. 1971. V. 2. P. 971–972.
44. *Yang F., O'Brien P.C., Milne B.S. et al.* A complete comparative chromosome map for the dog, red fox, and human and its integration with canine genetic maps // Genomics. 1999. V. 62. P. 189–202.
45. *Graphodatsky A.S., Yang F., O'Brien P.C. et al.* A comparative chromosome map of the Arctic fox, red fox and dog defined by chromosome painting and high resolution G-banding // Chromosome Res. 2000. V. 8. № 3. P. 253–263.
46. *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.
47. *Шереметьева И.Н., Картавцева И.В., Павленко М.В. и др.* Генетическая изменчивость краевой популяции крысовидного хомячка *Tscherskia triton* (De Winton 1899) Северо-Восточной части ареала по данным секвенирования контрольного региона мтДНК // Изв. РАН. Сер. биол. 2017. Т. 44. № 4. С. 391–400.
<https://doi.org/10.7868/S0002332917040130>
48. *Шереметьева И.Н., Картавцева И.В., Фрисман Л.В. и др.* Полиморфизм и генетическая структура полевки Максимовича *Microtus taximowiczii* (Schrenck, 1858) (Rodentia, Cricetidae) Среднего Приамурья по данным секвенирования контрольного региона мтДНК // Генетика. 2015. Т. 51. № 10. С. 1154–1162.
49. *Hall T.A.* BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT // Nucl. Acids. Symp. 1999. № 41. P. 95–98.
50. *Tamura K., Stecher G., Peterson D. et al.* MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0 // Mol. Biol. Evol. 2013. V. 30. № 12. P. 2725–2729.
51. *Librado P., Rozas J.* DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data // Bioinformatics. 2009. № 25. P. 1451–1452.
52. *Tajima F.* Statistical methods for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism // Genetics. 1989. № 123. P. 585–595.
53. *Fu Y.X.* Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking, and background selection // Genetics. 1997. № 147. P. 915–925.
54. *Excoffier L., Laval G., Schneider S.* Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis // Evol. Bioinform. Online. 2005. V. 1. P. 47–50.
55. *Hudson R.R., Boos D.D., Kaplan N.L.* A statistical test for detecting population subdivision // Mol. Biol. Evol. 1992. № 9. P. 138–151.
56. *Kartavtseva I.V., Kryukov A.P.* Karyotype of *Microtus fortis* (Rodentia, Cricetidae) from extreme south of Far East Russia // Chromosome Sci. 1998. V. 2. P. 31–34.
57. *Avice J.C.* Phylogeography: The History and Formation of Species. Cambridge (MA): Harvard Univ. Press, 2000. 464 p.
58. *Еникеев Ф.И., Старышко В.Е.* Гляциальный морфогенез и россыпеобразование Восточного Забайкалья. Чита: ЧитГУ, 2009. 370 с.
59. *Еникеев Ф.И., Старышко В.Е.* Ледники хребта Кодаар (Северное Забайкалье) // География и природ. ресурсы. 2014. № 1. С. 107–117.

Genetic Variability of Three Isolated Populations of the Muya Valley Vole, *Alexandromys mujanensis* Orlov et Kovalskaja, 1978 (Rodentia, Arvicolinae)

I. V. Kartavtseva^{a,*}, T. V. Vasilieva^a, I. N. Sheremetyeva^{a,**},
N. A. Lemskaya^b, I. V. Moroldoev^c, and F. N. Golenishchev^d

^aFederal Center for Terrestrial Biota Diversity of Eastern Asia, Far East Branch,
Russian Academy of Sciences, Vladivostok, 690022 Russia

^bInstitute of Molecular and Cellular Biology, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090 Russia

^cInstitute of Systematics and Ecology of Animals, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630091 Russia

^dZoological Institute, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 199034 Russia

*e-mail: Kartavtseva@biosoil.ru

**e-mail: sheremet76@yandex.ru

Based on cytogenetic and molecular genetic approaches the variability and divergence in an endemic species Muya Valley vole, *Alexandromys mujanensis* were studied in the three isolated populations from Buryatia and

the northwestern Trans-Baikal region. Voles from the Barguzinskaya and Muisko-Kuandinskaya depressions and the Baunt Lake valley were analyzed using chromosomes data and mtDNA control region sequences. The karyotype was stable ($2n = 38$) while fundamental number ($N_{Fa} = 46-49$) were variable. Such a peculiarity of karyotypes may be attributed to the morphological variability of four chromosome pairs (MMUJ2, MMUJ7, MMUJ8 and MMUJ14) rather than to two as previously thought. At the moment, ten karyotype variants in total were identified for the Muya Valley vole. Apparently, chromosomal rearrangements (pericentric inversions, as well as two variants of the fusion of acrocentric pairs – centromeric-centromeric and centromeric-telomeric), which led to variability in the morphology of autosomes in the populations of the Muya Valley are not harmful to animal survival. High haplotype and nucleotide diversity was shown for the species in the area studied while in the samples of voles from Dzherginsky Nature Reserve (Barguzinskaya depression) and the Baunt Lake valley there was low diversity, especially as compared to the Muisko-Kuandinskaya depression samples. Despite the unique chromosomal rearrangements composition and mtDNA haplotypes of obtained in each studied population, a greater similarity of the Muisko-Kuandinskaya depression and the Baunt Lake valley populations could be assumed.

Keywords: evolution, speciation, mtDNA control region, cytogenetics, chromosomal rearrangements, mammals.