

СРАВНЕНИЕ ДРЕВНИХ ГАПЛОТИПОВ мтДНК ДАЛЬНЕВОСТОЧНОЙ ПОЛЕВКИ И СОВРЕМЕННЫХ ГАПЛОТИПОВ У ОСТРОВНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ

© 2020 г. И. Н. Шереметьева*

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

*e-mail: sheremet76@yandex.ru

Поступила в редакцию 21.06.2019 г.

После доработки 10.09.2019 г.

Принята к публикации 03.10.2019 г.

Проведено сравнение древних гаплотипов мтДНК дальневосточной полевки *Alexandromys fortis* (Buchner, 1889) из пещеры Медвежий Клык и современных гаплотипов полевок островных и прибрежных популяций залива Петра Великого (Японское море). Обнаружено, что древние и современные гаплотипы полевок разделились на две группы. Первая группа включает три древних гаплотипа возрастом более 30 тыс. лет, а также современные гаплотипы, фиксированные на островах архипелага Римско-Корсакова. Ко второй группе относятся древние гаплотипы возрастом 2–5 тыс. лет и современные гаплотипы полевок остальных островных и прибрежных популяций. Во второй группе обнаружено два широко распространенных гаплотипа – H1 и H7, при этом последний полностью совпадает с одной из древних последовательностей мтДНК, датированной 2–5 тыс. лет. Показано, что в островные популяции, которые первыми отделялись от материка, сохранили более древние гаплотипы.

Ключевые слова: эволюция, островные популяции, *Alexandromys*, древние гаплотипы, контрольный регион мтДНК.

DOI: 10.31857/S0016675820070140

Острова способствуют формированию новых видов, поэтому согласно концепции “горячих точек биоразнообразия”, которая была предложена в 1988 г. [1], имеют большое значение для сохранения биоразнообразия в мировом масштабе. Благодаря большому количеству и разнообразию островá залива Петра Великого представляют удобную модель для изучения микроэволюционных процессов в малых изолированных популяциях млекопитающих, в том числе и грызунов. В заливе Петра Великого (Японское море) имеется более 40 островов, окончательно отделившихся от материка 8–11 тыс. лет назад в ходе морской трансгрессии на рубеже плейстоцен-голоцен, ассоциированной с потеплением климата [2]. Максимальная ширина проливов, составляет не более 15 км, и в настоящее время популяции мелких грызунов на них изолированы друг от друга и от материка [3]. На островах залива Петра Великого обитает 17 видов млекопитающих [3], из которых наибольший интерес представляет дальневосточная полевка *Alexandromys fortis* (Buchner, 1889) поскольку является самым распространенным видом. Этот вид зарегистрирован на всех о-вах за исключением о-вов Стенина [4, 5], Верховского и

Аскольд [3]. Следует отметить, что популяции данного вида способны существовать даже на очень маленьких островах, поскольку обладают внутренними механизмами регуляции плотности населения [5], и на большинстве мелких островов представлены единственным видом млекопитающих. На прилегающей материковой части дальневосточная полевка имеет широкий ареал и в настоящее время является одним из фоновых видов открытых пространств [6]. Согласно палеонтологическим данным появление дальневосточной полевки в пещерах Южного Приморья датировано поздним плейстоценом [7]. При этом согласно данным В.Е. Панасенко и М.П. Тиунова [8] в период 30–24 тыс. лет назад (л. н.) этот вид был обычен в раскопках, а начиная с 24–21 тыс. л. н. частота встречаемости остатков вида резко сократилась вплоть до начала голоцена (10 тыс. л. н.). Это вероятно обусловлено последним климатическим минимумом в Южном Приморье, который по данным Короткого с соавт. был 20–18 тыс. л. н. [2].

Исследования древней ДНК являются важным инструментом оценки влияния событий, происходивших в прошлом, на генетическое разнообразие видов, поскольку они позволяют про-

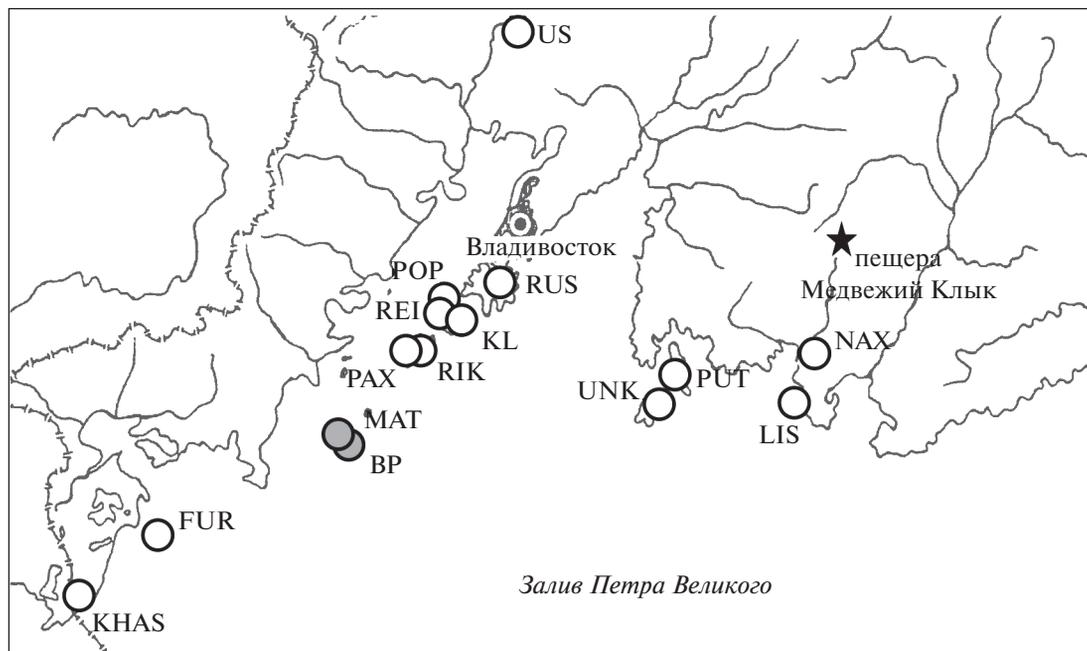


Рис. 1. Места сбора материала.

водить непосредственное сравнение существующих и древних (часто исчезнувших) гаплотипов [9]. Более тридцати лет прошло с тех пор как научились выделять ДНК из ископаемых остатков [10, 11]. Но до сих пор виды, для которых проанализирована древняя ДНК, единичны, при этом для грызунов исследований с древней ДНК значительно меньше [12–15], чем для крупных млекопитающих [16–24]. Дальневосточная полевка является одним из представителей грызунов, для которых имеются данные по древней ДНК [25]. Предварительный анализ древних образцов ДНК дальневосточной полевки, выделенных из ископаемых зубов (обнаруженных в разновозрастных слоях), был проведен авторами из отложений пещеры Медвежий Клык (рис. 1), расположенной на юге Приморского края (43°01'43" N, 133°01'23" E). Пещера является колодезем карстового происхождения, в которой было выделено 13 слоев, а глубина раскопа составила 5.3 м [8]. Слои формировались в конце плейстоцена и голоцена 11–45 тыс. л. н. [26], при этом предполагаемый возраст для слоя 7 (13790–14200 лет) был определен по данным радиоуглеродного анализа.

Задача настоящего исследования состояла в сравнении древних гаплотипов мтДНК с современными распространенными в островных популяциях дальневосточной полевки *Alexandromys fortis* залива Петра Великого (Японское море). И прояснить вопросы, касающиеся того, как происходило заселение островов и как быстро менялись гаплотипы и их распределение с течением времени.

В работе были использованы короткие последовательности контрольного региона мтДНК, полученные из тканей особей дальневосточной полевки, отловленных на островах залива Петра Великого с прибрежной материковой части ареала (табл. 1, рис. 1). Последовательности основных гаплотипов, выявленные у ныне живущих полевок, внесены в GenBank/NCBI под номерами: NM135816, NM135817, NM135819, NM135820, NM135826, NM135834–NM135837, NM135839, NM135840 и NM135845 [27]. Кроме этого в анализ включены восемь последовательностей (KJ207305, KJ207309, KJ207318, KJ207325, KJ207344, KJ207347, KJ207368 и KJ207373), которые принадлежат трем линиям мтДНК (“North”, “South” и “GX”), обнаруженным в Китае [28]. А также семь последовательностей древней мтДНК взяты из GenBank/NCBI под номерами KT438867–KT438874 [25].

Редактирование и выравнивание полученных последовательностей проводили с использованием программы BioEdit 7.0.9.0 [29]. Сеть гаплотипов построены при помощи программы Network 5.0.1.1 метод “median joining” [30].

После выравнивания длина участка контрольного региона составила 344 пн. Полученные фрагменты контрольного региона мтДНК содержали 29 вариативных сайта (табл. 2): 7 трансверсий (Tv) и 22 транзиций (Ts). Всего для полевок залива Петра Великого обнаружено 16 гаплотипов (табл. 1 и 2), из которых восемь оказались уникальными. Остальные гаплотипы: H1 обнаружены у семи экземпляров, H13 – у шести, H7 – у пяти, H9 – у четырех, H15 – у трех полевок и три

Таблица 1. Объем выборок дальневосточной полевки и гаплотипы участка контрольного региона мтДНК, обнаруженные в исследованных популяциях

Код	Выборка, координаты		Объем выборок	Гаплотипы
MAT	Острова залива Петра Великого	Матвеева, 42.67° с.ш., 131.43° в.д.	8	H13(4), H14(2), H15, H16
BP		Большой Пелис, 42.66° с.ш., 131.46° в.д.	4	H13(2), H15 (2)
PUT		Путятина, 42.83° с.ш., 132.42° в.д.	3	H1
LIS		Лисий, 42.76° с.ш., 132.91° в.д.	4	H7(3), H8
RUS		Русский, 43.00° с.ш., 131.85° в.д.	1	H9
POP		Попова, 42.95° с.ш., 131.72° в.д.	2	H11, H12
REI		Рейнеке, 42.90° с.ш., 131.72° в.д.	2	H9
KL		Клыкова, 42.94° с.ш., 131.77° в.д.	3	H9, H10(2)
RIK		Рикорда, 42.87° с.ш., 131.65° в.д.	5	H1, H3(2), H4, H5
FUR		Фуругельма, 42.47° с.ш., 130.92° в.д.	2	H6, H7
PAX		Пахтусова, 42.90° с.ш., 131.65° в.д.	4	H1(3), H2
UNK	Унковского, 42.82° с.ш., 132.37° в.д.	1	H7	
KHAS	Материковая часть, Приморский край	Окр. пос. Хасан, 42.43° с.ш., 130.65° в.д.	1	H1
NAX		Окр. г. Находка, 42.88° с.ш., 132.74° в.д.	1	H1
US		Окр. г. Уссурийск 43.79° с.ш., 131.97° в.д.	1	H1

Примечание. В скобках указано количество особей, обнаруженных с этим гаплотипом.

гаплотипа (H3, H10 и H14) у двух. Все проанализированные особи разделились на три филогенетические линии (табл. 2), которые согласуются с линиями “North”, “South” и “GX”, выделенными ранее на территории Китая [28]. При этом все особи о-вов залива Петра Великого попали в одну филолинию “North”. К этой же линии были отнесены образцы древней ДНК и ныне живущие особи с прибрежной материковой части ареала.

При более детальном рассмотрении гаплотипов полевки залива Петра Великого можно разделить на две группировки (табл. 2). К первой относятся гаплотипы полевки архипелага Римского-Корсакова (о-ва Матвеева и Большой Пелис), они имеют фиксированные отличия по четырем сайтам. При этом в сайтах 131 и 226 фиксируется тимин (табл. 2) не только в популяциях полевки о-вов Матвеева и Большой Пелис, но и в филогруппах “South” и “GX” соответственно, а в сайте 241 фиксируется цитозин так же как и в филогруппах “South” и “GX”. Ко второй группе относятся гаплотипы полевки всех остальных о-вов залива Петра Великого, а так же особей с прибрежной материковой части ареала.

Сравнение современных последовательностей с древними также подтверждает разделение гаплотипов филогруппы “North” на две группы (табл. 2). При этом часть последовательностей древней ДНК, имеет большее сходство с современными гаплотипами, фиксированными на архипелаге Римского-Корсакова (о-ва Матвеева и Большой Пелис). Тогда как другая часть последо-

вательностей обнаружила большее сходство с гаплотипами полевки остальных островов залива Петра Великого и прибрежной материковой части ареала. При этом следует отметить, что все древние образцы схожие с гаплотипами полевки архипелага Римского-Корсакова датированы были как более старые >40 и >30 тыс. л. н. [25].

Для определения филогенетических отношений гаплотипов современных островных дальневосточных полевки и древних гаплотипов построена медианная сеть по принципу “median joining” (рис. 2). Гаплотипы, фиксированные на о-вах Матвеева и Большой Пелис, формируют звездчатую структуру с анцестральным гаплотипом H13. Звездчатая структура сети гаплотипов свидетельствует о монофилетическом происхождении этих популяций, а гаплотип H13 по-видимому является предковым для остальных гаплотипов этой группы. Следует отметить, что два из четырех гаплотипов для о-вов Матвеева и Большой Пелис – общие, а остальные два уникальны для особей о-ва Матвеева, что является подтверждением, что оба острова отделились от материка единым блоком. Древние гаплотипы мтДНК, обнаруженные у образцов KT438871, KT438873 и KT438874, отличаются от анцестрального гаплотипа H13 на 1–2 замены.

Гаплотипы дальневосточной полевки других о-вов залива Петра Великого образуют более сложную структуру. В этой группе отмечено два наиболее широко распространенных гаплотипа H1 и H7, каждый из них встречается на трех уда-

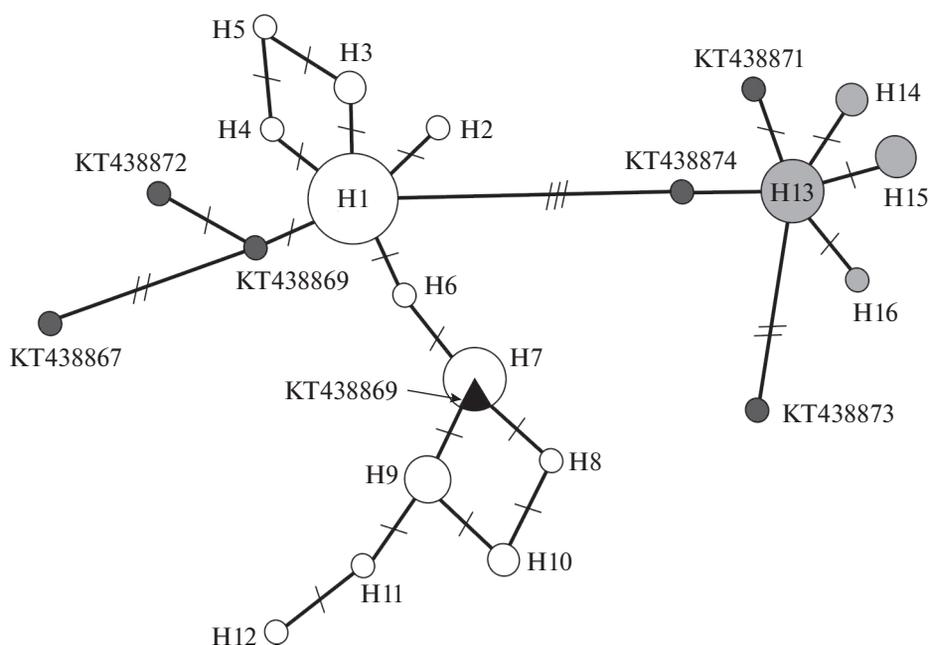


Рис. 2. Филогенетическая сеть гаплотипов мтДНК дальневосточной полевки *Alexandromys fortis*. Размеры кружков на сети пропорциональны частотам вариантов мтДНК. Насечки на длинных ветвях сети указывают количество замен. Серым отмечены особи с о-вов архипелага Римского-Корсакова, черным — экземпляры с древней ДНК. Коды выборок соответствуют кодам в табл. 1.

ленных друг от друга островах. Гаплотип Н1 обнаружен у всех особей о-ва Путягина, а также у полевков о-вов архипелага Императрицы Евгении (Рикорда и Пахтусова). Следует отметить, что именно гаплотип Н1 отмечен также у всех ныне живущих полевков на прибрежной материковой части ареала. Второй наиболее широко встречаемый гаплотип Н7 выявлен у полевков с о-вов Унковского, Лисий и Фуругельма. Гаплотипы, обнаруженные на островах Русский, Попова, Рейнеке и Клыкова, формируют на сети отдельную ветку, что свидетельствует о монофилетическом происхождении этих популяций. При этом основной гаплотип полевков этих островов (Н9) отличается от гаплотипа Н7 только одной нуклеотидной заменой (рис. 2). Следует отметить, что гаплотип Н7 полностью совпадает с одной из древних последовательностей мтДНК КТ438868, датированный 2–5 тыс. лет. Остальные древние последовательности имеют свои уникальные гаплотипы и отличаются от анцестрального гаплотипа этой группы (Н1) на 1–3 замены и образуют на сети отдельную ветку. Таким образом гаплотип Н7 можно считать единственным древним гаплотипом, сохранившимся на сегодняшний момент.

Своеобразная генетическая структура дальневосточной полевки могла сформироваться в результате сложной истории, предполагающей двухкратную экспансию вида на рассматриваемой территории, а структура сети отражает общие этапы формирования островных популяций вида

на о-вах залива Петра Великого. На первом этапе, около 10 тыс. л. н. происходило отделение единым массивом о-вов Матвеева и Большой Пелис [3]. Этот этап находит свое подтверждение и по результатам генетического анализа, при этом на этих островах сохранились наиболее древние гаплотипы, которые в то время были распространены на северо-восточной части ареала вида. Вероятно после отделения этих островов на прилегающей материковой территории происходит смена основных гаплотипов, и островные популяции, отделившиеся позже чем 10 тыс. л. н., заселялись особями, имеющими другие гаплотипы более молодой линии. Факт смены гаплотипов находит свое отражение и в палеонтологической летописи, проявляясь как сокращение частоты встречаемости остатков вида с 24–21 тыс. л. н. до начала голоцена — 10 тыс. л. н. [8] и следующего за ним резкого подъема численности.

Таким образом, в результате сравнения древних гаплотипов мтДНК участка контрольного региона *Alexandromys fortis* (Buchner, 1889) из пещеры Медвежий Клык и современных гаплотипов полевков островных и прибрежных популяций залива Петра Великого (Японское море) показано, что у вида около 9 тыс. л. н. происходило сокращение численности, которое привело к смене основных гаплотипов. При этом на основной части ареала древние гаплотипы были утрачены, но они сохранились в изолированных островных популяциях.

Автор благодарен сотрудникам Дальневосточного морского заповедника за помощь, оказанную при сборе материала.

Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ 15-04-03871 и программы “Приоритетные научные исследования в интересах комплексного развития ДВО РАН” № 18-4-031.

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. Myers N. Threatened biotas: ‘hotspots’ in tropical forests // *The Environmentalist*. 1988. V. 8. № 3. P. 187–208.
<https://doi.org/10.1007/BF02240252>
2. Короткий А.М., Гребенникова Т.А., Пушкарь В.С. Климатические смены на территории юга Дальнего Востока в позднем кайнозое (миоцен-плейстоцен). Владивосток: Дальнаука, 1996. 158 с.
3. Шереметьев И.С. Формирование наземной териофауны островов залива Петра Великого (Японское море) // *Вестник ДВО РАН*. 2001. № 4. С. 11–22.
4. Чугунов Ю.Д., Катин И.О. Численность и распределение по биотопам грызунов на островах Дальневосточного государственного морского заповедника // *Животный мир Дальневосточного морского заповедника*. Владивосток: Изд-во ДВНЦ АН СССР, 1984. С. 107–121.
5. Катин И.О. Динамика популяций дальневосточной полевки в условиях островной изоляции // *Териологические исследования на юге Дальнего Востока*. Владивосток: Изд-во ДВО АН СССР, 1989. С. 89–99.
6. Костенко В.А. Грызуны (Rodentia) Дальнего Востока России. Владивосток: Дальнаука, 2000. 208 с.
7. Алексеева Э.В., Голенищев Ф.Н. Ископаемые остатки серых полевок рода *Microtus* из Южного Приморья (пещера Близначь) // *Грызуны и зайцеобразные позднего кайнозоя* (Тр. Зоол. ин-та АН СССР; Т. 156). 1986. С. 134–142.
8. Панасенко В.Е., Тиунов М.П. Население мелких млекопитающих (Mammalia: Eulipotyphla, Rodentia, Lagomorpha) на южном Сихотэ-Алине в позднем плейстоцене и голоцене // *Вестник ДВО РАН*. 2010. № 4. С. 60–67.
9. Willerslev E., Cooper A. Ancient DNA // *Proc. Royal Society B: Biol. Sci.* 2005. V. 272. P. 3–16.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2004.2813>
10. Higuchi R., Bowman B., Freiburger M. et al. DNA sequences from the quagga, an extinct member of the horse family // *Nature*. 1984. V. 312. P. 282–284.
<https://doi.org/10.1038/312282a0>
11. Pääbo S. Ancient DNA: Extraction, characterization, molecular cloning, and enzymatic amplification // *PNAS USA*. 1989. V. 86. P. 1939–1943.
<https://doi.org/10.1073/pnas.86.6.1939>
12. Hadly E.A., van Tuinen M., Chan Y., Heiman K. Ancient DNA evidence of prolonged population persistence with negligible genetic diversity in an endemic tuco-tuco (*Ctenomys sociabilis*) // *J. Mammalogy*. 2003. V. 84. P. 403–417.
[https://doi.org/10.1644/1545-1542\(2003\)084<0403:AD-EOPP>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1644/1545-1542(2003)084<0403:AD-EOPP>2.0.CO;2)
13. Chan Y.L., Lacey E.A., Pearson O.P., Hadly E.A. Ancient DNA reveals Holocene loss of genetic diversity in a South American rodent // *Biol. Letters*. 2005. V. 1. P. 423–426.
<https://doi.org/10.1098/rsbl.2005.0354>
14. Spaeth P.A., van Tuinen M., Chan Y.L. et al. Phylogeography of *Microtus longicaudus* in the tectonically and glacially dynamic central Rocky Mountains // *J. Mammalogy*. 2009. V. 90. P. 571–584.
<https://doi.org/10.1644/08-MAMM-A-204R2.1>
15. Martinková N., Barnett R., Cucchi T. et al. Divergent evolutionary processes associated with colonization of offshore islands // *Mol. Ecol.* 2013. V. 22. P. 5205–5220.
<https://doi.org/10.1111/mec.12462>
16. Hagelberg E., Thomas M.G., Cook C.E.J. et al. DNA from ancient mammoth bones // *Nature*. 1994. V. 370. P. 333–334.
<https://doi.org/10.1038/370333b0>
17. Yang H., Golenberg E.M., Shoshani J. Phylogenetic resolution within the Elephantidae using fossil DNA sequence from the American mastodon (*Mammuth americanum*) as an outgroup // *PNAS USA*. 1996. V. 93. P. 1190–1194.
<https://doi.org/10.1073/pnas.93.3.1190>
18. Leonard J.A., Wayne R.K., Cooper A. Population genetics of Ice Age brown bears // *PNAS USA*. 2000. V. 97. P. 1651–1654.
<https://doi.org/10.1073/pnas.040453097>
19. Debruyne R., Barriel V., Tassy P. Mitochondrial cytochrome b of the Lyakhov mammoth (Proboscidea, Mammalia): New data and phylogenetic analyses of Elephantidae // *Mol. Phylogenetics and Evol.* 2003. V. 26. P. 421–434.
[https://doi.org/10.1016/S1055-7903\(02\)00292-0](https://doi.org/10.1016/S1055-7903(02)00292-0)
20. Krause J., Dear P.H., Pollack J.L. et al. Multiplex amplification of the mammoth mitochondrial genome and the evolution of Elephantidae // *Nature*. 2005. V. 439. P. 724–727.
<https://doi.org/10.1038/nature04432>
21. Poinar H.N., Schwarz C., Qi J. et al. Metagenomics to paleogenomics: Large-scale sequencing of mammoth DNA // *Science*. 2006. V. 311. P. 392–394.
<https://doi.org/10.1126/science.1123360>
22. Rogaev E.I., Moliaka Y.K., Malyarchuk B.A. et al. Complete mitochondrial genome and phylogeny of Pleistocene mammoth *Mammuthus primigenius* // *PLoS Biol.* 2006. V. 4. P. 0403–0410.
<https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040073>
23. Lan T., Gill S., Bellemain E. et al. Evolutionary history of enigmatic bears in the Tibetan Plateau–Himalaya region and the identity of the yeti // *Proc. of the Royal Soc. B: Biol. Sci.* 2017. V. 284. P. 20171804.
<https://doi.org/10.1098/rspb.2017.1804>

24. *Min-Shan Ko A., Zhang Y., Yang M. A. et al.* Mitochondrial genome of a 22000-year-old giant panda from southern China reveals a new panda lineage // *Curr. Biol.* V. 28. P. 679–694.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.05.008>
25. *Haring E., Voyta L.L., Däubel B., Tiunov M.P.* Comparison of genetic and morphological characters in fossil teeth of grey voles from the Russian Far East (Rodentia: Cricetidae: *Alexandromys*) // *Mammalian Biol.* 2015. V. 80. P. 496–504.
<https://doi.org/10.1016/j.mambio.2015.08.001>
26. *Tiunov M.P., Golenishchev F.N., Voyta L.L.* The first finding of *Mimomys* in the Russian Far East // *Acta Palaeontologica Polonica.* 2016. V. 61. P. 205–210.
<https://doi.org/10.4202/app.00082.2014>
27. *Haring E., Sheremetyeva I., Kryukov A.* Phylogeny of Palearctic vole species (genus *Microtus*, Rodentia) based on mitochondrial sequences // *Mammalian Biol.* 2011. V. 76. P. 258–267.
<https://doi.org/10.1016/j.mambio.2010.04.006>
28. *Gao J., Yue L., Jiang X. et al.* Phylogeographic Patterns of *Microtus fortis* (Arvicolinae: Rodentia) in China Based on Mitochondrial DNA Sequences // *Pakistan J. Zool.* 2017. V. 49. P. 1185–1195.
<https://doi.org/10.17582/journal.pjz/2017.49.4.1185.1195>
29. *Hall T.A.* BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT // *Nucleic Acids Symp. Series.* 1999. № 41. P. 95–98.
<https://doi.org/10.1021/bk-1999-0734.ch008>
30. *Bandelt H.J., Forster P., Röhl A.* Median-Joining networks for inferring intraspecific phylogenies // *Mol. Biol. and Evol.* 1999. V. 16. № 1. P. 37–48.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036>

Comparison of Ancient Haplotypes with Modern Island Populations of the Reed Vole

I. N. Sheremetyeva*

*Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Far Eastern Branch,
Russian Academy of Science, Vladivostok, 690022 Russia*

*e-mail: sheremet76@yandex.ru

Ancient (Medvezhyi Klyk Cave, Primorskyi Krai, Russia) and modern (island and coastal populations of Peter the Great Bay) mtDNA haplotypes of the reed vole were compared. Both ancient and modern vole haplotypes are divided into two groups. The first group includes three ancient haplotypes dated >30,000 years BP and modern vole haplotypes from the islands of Rimsky-Korsakov archipelago. The second group involved ancient haplotypes dated 2000–5000 years BP and modern vole haplotypes of young island populations and mainland populations. Two widely distributed haplotypes H1 and H7 were found in the second group, the latter identical to one of the ancient haplotypes. The voles of Matveyev and Bolshoi Pelis islands retained the most ancient haplotypes. The main haplogroup changed on the coastal territory after the isolation of Rimsky-Korsakov archipelago islands.

Keywords: evolution, island populations, *Alexandromys*, ancient haplotypes, mtDNA control region.