

УДК 575.22:599.323.45

ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ КОНТИНЕНТАЛЬНЫХ ИЗОЛЯТОВ ПОЛЕВОЙ МЫШИ (*APODEMUS AGRARIUS* PALLAS, 1771) ПО МИКРОСАТЕЛЛИТНЫМ ЛОКУСАМ

© 2019 г. Л. В. Фрисман^{1, *}, А. С. Богданов^{2, **}, И. В. Картавцева^{3, ***},
И. Н. Шереметьева^{3, ****}, М. В. Павленко^{3, *****},
К. В. Шлюфман^{1, *****}, Ю. М. Ковальская^{4, *****}

¹Институт комплексного анализа региональных проблем ДВО РАН
679016 Биробиджан, ул. Шолом Алейхема, 4, Россия

²Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН
119334 Москва, ул. Вавилова, 26, Россия

³ФНЦ Биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН
690022 Владивосток, просп. 100-летия Владивостока, 159, Россия

⁴Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН
119071 Москва, Ленинский просп., 33, Россия

*E-mail: l.frisman@mail.ru

**E-mail: bogdalst@yahoo.com

***E-mail: irina-kar52@rambler.ru

****E-mail: sheremet76@yandex.ru

*****E-mail: mv_pavlenko@mail.ru

*****E-mail: shlufman@mail.ru

*****E-mail: sicistam@yandex.ru

Поступила в редакцию 06.09.2018 г.

После доработки 03.03.2019 г.

Принята к публикации 29.04.2019 г.

На основе микросателлитного анализа проведена оценка полиморфизма у двух обширных континентальных изолятов полевой мыши (*Apodemus agrarius* Pallas, 1771), разделенных байкальской дизъюнкцией ареала. Протестированы полевые мыши западного изолята из европейской и казахстанско-сибирской частей ареала и восточного изолята с территории Среднего Приамурья и Приморья. Собраны 180 образцов из 33 локалитетов и использованы пять микросателлитных локусов, разработанных ранее для р. *Apodemus*. Работа проведена на основе сборных региональных выборок. Показано, что аллельное разнообразие и число специфичных аллелей выше в восточном изоляте, что может быть результатом более длительного обитания полевой мыши в восточной части ареала. Ограниченное количество специфичных аллелей в западном изоляте по сравнению с восточным может определяться эффектом основателя и отражать направление исторической миграции вида с востока на запад. Результаты демонстрируют популяционный уровень дифференциации внутри материковых изолятов полевой мыши и не более чем подвидовой уровень различий изолированных форм, т.е. относительно недавнее проникновение полевой мыши на запад Евразии.

DOI: 10.1134/S0044459619040055

Полевая мышь (*Apodemus agrarius* Pallas, 1771) населяет обширную территорию от Центральной Европы до Тихоокеанского побережья Азии. Обитает она и на некоторых островах Тихого океана. Материковая часть ареала *A. agrarius* подразделяется на два крупных изолированных массива. Разрыв ареала приходится на засушливое Забайкалье, что неудивительно для вида, экологически связанного с влажными лесолуговыми ландшафтами и лесостепью, пронизанной водотоками

(Карасёва и др., 1992; Громов, Ербаева, 1995). Западный изолят полевой мыши включает европейские, казахстанские и сибирские популяции, а восточный — популяции юга Дальнего Востока России, Корейского полуострова и Восточного Китая. Большая протяженность ареала *A. agrarius* и его дизъюнкция в Забайкалье постоянно привлекали внимание исследователей к изучению этого вида в плане оценки уровня его генетической дифференциации и таксономического статуса изолированных

популяционных группировок, анализа направления их расселения и времени разделения. Проведенные молекулярно-генетические исследования — аллозимный и RAPD-PCR (Random Amplified Polymorphic DNA-Polymerase Chain Reaction) анализы, секвенирование митохондриальной и ядерной ДНК — указывают на принадлежность изолированных популяционных группировок *A. agrarius* к единому виду (Павленко, Воронцов, 1990; Межжерин, Зыков, 1991; Атопкин и др., 2007; Suzuki et al., 2008; Sakka et al., 2010) либо даже единому подвиду (Koh et al., 2014). Более высокий полиморфизм популяций в пределах восточного изолята позволил предполагать его близость к центру происхождения вида, а также то, что миграции полевых мышей происходили в прошлом в направлении с востока на запад. Сузуки с соавт. (Suzuki et al., 2008) на основе молекулярных часов оценили время проникновения полевой мыши из Восточной Палеарктики в Западную в 200 000 лет. По предположениям Д.М. Атопкина с соавт. (2007) это событие могло произойти в температурный оптимум голоцена, т.е. 4500–7000 лет тому назад. На основе палеонтологических данных предполагается как появление полевой мыши в Европе в раннем голоцене (Kowalski, 2001), так и несколько экспансий из Азии в Европу в течение плейстоцена (Роров, 2017). Некоторые авторы указывают на наличие массовых остатков полевых мышей на территории Молдавии и Зауралья лишь в голоценовых отложениях (Давид, Чемыртан, 1976; Ивакина и др., 1997). Даже если принять минимальную оценку времени распространения полевой мыши по территории Палеарктики и произошедшей вслед за ним дизъюнкции ареала, можно ожидать, что период изоляции мог привести к возникновению различий в популяционной структуре на западе и на востоке Палеарктики.

Одним из наиболее чувствительных методов популяционного исследования является анализ полиморфизма микросателлитов — кодоминантно наследуемых и нейтральных маркеров. Они отличаются высокой скоростью мутирования, неравномерной амплификацией и быстрым распространением по геному, что приводит к гомогенизации тех или иных семейств повторов (Банникова, 2004). Перечисленные особенности определяют перспективность использования микросателлитов в исследовании внутривидовой изменчивости. Для полевой мыши есть данные по полиморфизму микросателлитных локусов в популяциях отдельных регионов как западного (Makova et al., 1998; Gortat et al., 2013), так и восточного (Jo et al., 2016) изолятов. Степень дифференциации микросателлитов между западным и восточным изолятами и популяциями этих изолятов пока не ясна.

Цель исследования — оценка аллельного разнообразия и уровня дифференциации по микросателлитным локусам внутри материковых изолятов полевой мыши и между ними. Микросателлитные

локусы, как правило, характеризуются большим числом аллелей, что предполагает использование локальных репрезентативных выборок, а при недостатке материала из отдельных популяций — объединение сборов из отдельных географических районов. Последний подход был использован в настоящей работе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Было исследовано 180 экз. *A. agrarius*, отловленных в 33 пунктах материковой части ареала. Имеющийся объем материала с территории западного изолята позволил сформировать две сборные выборки по 30 экз.: в первую (“Восточная Европа”) были включены полевые мыши из европейской части ареала, во вторую (“Сибирь + Казахстан”) — из азиатской части к западу от Байкала. Сборы с территории восточного изолята, которые представляют популяции двух регионов, разделенные изолирующим барьером (р. Амур), позволили сформировать четыре сборные выборки того же объема (по 30 экз.): две на территории Среднего Приамурья (“Среднее Приамурье-запад” и “Среднее Приамурье-центр”) и две на территории Приморья (“Западное Приморье” и “Южное Приморье”). В табл. 1 и на рис. 1 приведены точки сбора материала и их группировка в сборные выборки.

ДНК выделяли стандартным солевым методом (Aldjianabi, Martinez, 1997) из тканей, фиксированных в 96%-ном этаноле. Последовательности праймеров и режимы амплификации взяты из ранее опубликованной работы (Makova et al., 1998). Праймеры синтезированы фирмой BioBeagle (Санкт-Петербург). Использована флуоресцентная метка 6-FAM (флуоресцеин). Анализ длин фрагментов проводили на восьмиканальном генетическом анализаторе AB-3500 (Applied Biosystems, США) в гель-полимере POP 7 в присутствии маркера молекулярного веса LIZ 600. Для каждого образца ДНК был проведен анализ пяти локусов — GTTDS8, GATAE10A, CAA2A, GTTF9A и GSADT7S, различающихся как длиной повторяющегося мотива, так и количеством известных аллелей (Makova et al., 1998). Их идентификацию проводили с помощью программы Gene Mapper, версия 4.1 (Applied Biosystems, США). При работе с каждым локусом учитывали аллели, различающиеся только числом повторов мотива.

Оценка результатов изучения полиморфизма микросателлитов была проведена на основе анализа генотипических и аллельных частот. Оценки частот аллелей в суммарных географических выборках вычислялись по формуле (Кузнецов, 2014)

$$\hat{p}_i = \left(n_{i,i} + 0.5 \sum_{j=1}^r n_{i,j} \right) / N,$$

Таблица 1. Точки сбора материала по полевой мыши и структура объединенных выборок

№	Географические точки сбора материала	Количество животных
	“Южное Приморье”	
1	Россия, Приморский край, Хасанский р-н, окр. р. Карасик	15
2	Россия, Приморский край, Уссурийский р-н, с. Кневичи	15
	“Западное Приморье”	
3	Россия, Приморский край, Ханкайский р-н, восточный берег оз. Ханка, кордон “Восточный”, участок “Речной”, Государственный природный биосферный заповедник “Ханкайский”	22
4	Россия, Хабаровский край, окр. с. Оренбургское, правый берег р. Бикин	8
	“Среднее Приамурье-центр”	
5	Россия, Еврейская автономная обл., Биробиджанский р-н, 54-й км дороги Дубовое–Надеждинское	3
6	Россия, Еврейская автономная обл., Биробиджанский р-н, окр. с. Казанка	4
7	Россия, Еврейская автономная обл., Облучинский р-н, окр. пос. Известковый	23
	“Среднее Приамурье-запад”	
8	Россия, Еврейская автономная обл., Облучинский р-н, окр. г. Облучье	4
9	Россия, Амурская обл., 2 км на юг от г. Зея, близ пос. Сосновый	26
	“Сибирь + Казахстан”	
10	Россия, г. Новосибирск, Академгородок	4
11	Россия, Алтайский край, Солтонский р-н, 9–10 км к северо-западу от с. Нижняя Ненинка	4
12	Россия, Республика Алтай, северо-западная окраина г. Горно-Алтайск	4
13	Россия, Республика Алтай, Шебалинский р-н, пос. Черга, пойма р. Сема	1
14	Казахстан, Восточно-Казахстанская обл., Жарминский р-н, 6 км к востоку от пос. Каратубе, Калбинский хребет	5
15	Казахстан, Алматинская обл., Алакольский р-н, 1.5–2 км к северу от пос. Бибакан (Успенровка), пойма р. Орта-Тентек	4
16	Россия, Омская обл., Нововаршавский р-н, 1 км по ж. д. от станции 136-й км в сторону г. Омска (134–135-й км ж. д. Омск–Иртышское–Карасук)	2
17	Россия, Омская обл., Нововаршавский р-н, 6 км по ж. д. от станции Иртышское в сторону г. Омска	1
18	Россия, Омская обл., Нововаршавский р-н, 8.5 км к востоку от пос. Богдановка, заросли поймы р. Иртыш и близлежащие степные участки	2
19	Россия, Омская обл., Оконешниковский р-н, окр. пос. Ленинск	2
20	Россия, Омская обл., Таврический р-н, около 1 км от ж/д станции Амре в сторону г. Омска (73-й км ж. д. Омск–Иртышское–Карасук)	2
21	Россия, Омская обл., Любинский р-н, окр. д. Степановка	1
	“Восточная Европа”	
22	Россия, Самарская обл., Ставропольский р-н, Самарская Лука, территория Жигулевского заповедника, “Разоренная Поляна”	3
23	Россия, Рязанская обл., Сараевский р-н, окр. д. Романовка	2
24	Россия, Рязанская обл., Сараевский р-н, 1.8 км восточнее д. Алексеевка	2
25	Россия, Курская обл., территория Центрально-Черноземного заповедника, Стрелецкий участок, урочище Дуброшина	2
26	Россия, Белгородская обл., Борисовский р-н, окр. пос. Борисовка, заповедник “Белогорье”	1
27	Россия, Белгородская обл., Борисовский р-н, окр. пос. Борисовка, Острасьевы яры	1

Таблица 1. Окончание

№	Географические точки сбора материала	Количество животных
28	Россия, Белгородская обл., окр. пос. Коньшино, в 30 км к юго-западу от Ямской степи	2
29	Россия, Белгородская обл., Ямская степь, балка Суры	2
30	Украина, Харьковская обл., Великобурлукский р-н, окр. х. Нестеровка	1
31	Россия, Краснодарский край, территория, подчинённая г. Сочи, окраина г. Хоста	4
32	Россия, Краснодарский край, территория, подчинённая г. Сочи, окр. пос. Монастырь	3
33	Россия, Респ. Кабардино-Балкария, северо-западная окраина г. Нальчик	7

где \hat{p}_i – искомая частота i -ого аллеля, r – количество аллелей в полиморфном локусе, $n_{i,j}$ – число особей с генотипом, соответствующим комбинации i, j -аллелей в локусе, N – объем выборки;

их стандартная ошибка вычислялась по формуле $SE(\hat{p}_i) = \sqrt{\text{Var}(\hat{p}_i)}$, где $\text{Var}(\hat{p}_i)$ – выборочная биномиальная дисперсия (σ^2) в состоянии равновесия популяции по Харди–Вайнбергу:

$$\text{Var}(\hat{p}_i) = \hat{p}_i(1 - \hat{p}_i)/2N.$$

Если в выборке состояние равновесия нарушено, то

$$\text{Var}(\hat{p}_i) = (\hat{p}_i + n_{i,i}/N - 2\hat{p}_i^2)/2N.$$

Определение частоты встречаемости нуль-аллеля и его влияния на частоты остальных микросателлитных аллелей выполнено в программе Microchecker 2.2.3 (Oosterhout et al., 2004). Оценки неравновесного сцепления генов, наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности, соответствия распределению Харди–Вайнберга и F-статистик проводили в программе Aplequin (Excoffier et al., 2005). Построение UPGMA-дендрограммы (методом попарного внутригруппового невзвешенного среднего, Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) на основе парных значений Fst проведено в программе PHYLIP версии 3.6 (Felsenstein, 2004).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В табл. 2 приведены сведения по размеру фрагментов и количеству аллелей, обнаруженных в материковых популяциях полевой мыши, а также характеристики анализируемых локусов по данным Маковой с соавт. (Makova et al., 1998) в локальной челябинской выборке из восьми животных.

Генетические характеристики рассматриваемых шести сборных выборок по каждому из локусов, а именно: количество аллелей (n), наблюдаемая (H_o) и ожидаемая (H_e) гетерозиготность, оценка равновесия по Харди–Вайнбергу (вероятность $HWE < 0.05$) – приведены в табл. 3. Распределение частот обнаруженных аллелей представлено на рис. 2.

Локус GTTDS8, мономорфный согласно Маковой с соавт. в малочисленной челябинской выборке, оказался практически мономорфным по всей изученной части ареала полевой мыши. Во всех сборных выборках, за исключением “Южное Приморье”, был обнаружен один и тот же аллель GTTDS8-99. В Хасанской локальной выборке, входящей в “Южное Приморье”, был выявлен еще один аллель GTTDS8-93 (с частотой 0.03 в сборной выборке). Остальные четыре локуса оказались высоко полиморфными и были представлены 11–21 аллелем. Полиморфизм по этим локусам выражен как в западном, так и в восточном изолятах, более того, общими для них оказались половина и более аллелей каждого локуса.

Проявление неравновесного сцепления обнаруживается между локусами CAA2A и GTTF9A в сборной выборке “Восточная Европа”. Эта же пара локусов показывает неравновесное сцепление в группе “Западное Приморье”, где, кроме того, определяются как сцепленные пары локусов GSADT7S–GTTF9A и CAA2A–GSADT7S. Явление неравновесного сцепления может быть обусловлено несколькими причинами. Одна из них – локализация сцепленных локусов в одной хромосоме. В этом случае логично предположить, что сцепление должно быть представлено у вида в целом, т.е. по всему ареалу, однако мы наблюдали его только в двух регионах. Причиной неравновесного сцепления также может быть нарушение панмиксии. Как видно из табл. 3, соотношение наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности в рассматриваемых сборных выборках полевой мыши в большинстве случаев указывает на недостаток гетерозигот, т.е. на нарушение панмиксии. На значительный недостаток гетерозигот (21–44% особей в сборных выборках) указывают и полученные значения индивидуального индекса фиксации Райта (F_{is}) (табл. 4). Это может быть следствием внутренней гетерогенности сборных выборок за счет пространственной подразделенности входящих в них локальных популяций. Однако возможны и другие причины нарушения панмиксии, среди них – нуль-аллели, т.е. отсутствие амплификации при ПЦР из-за мутаций во фланкирующих микросателлит последовательностях ДНК, с которыми

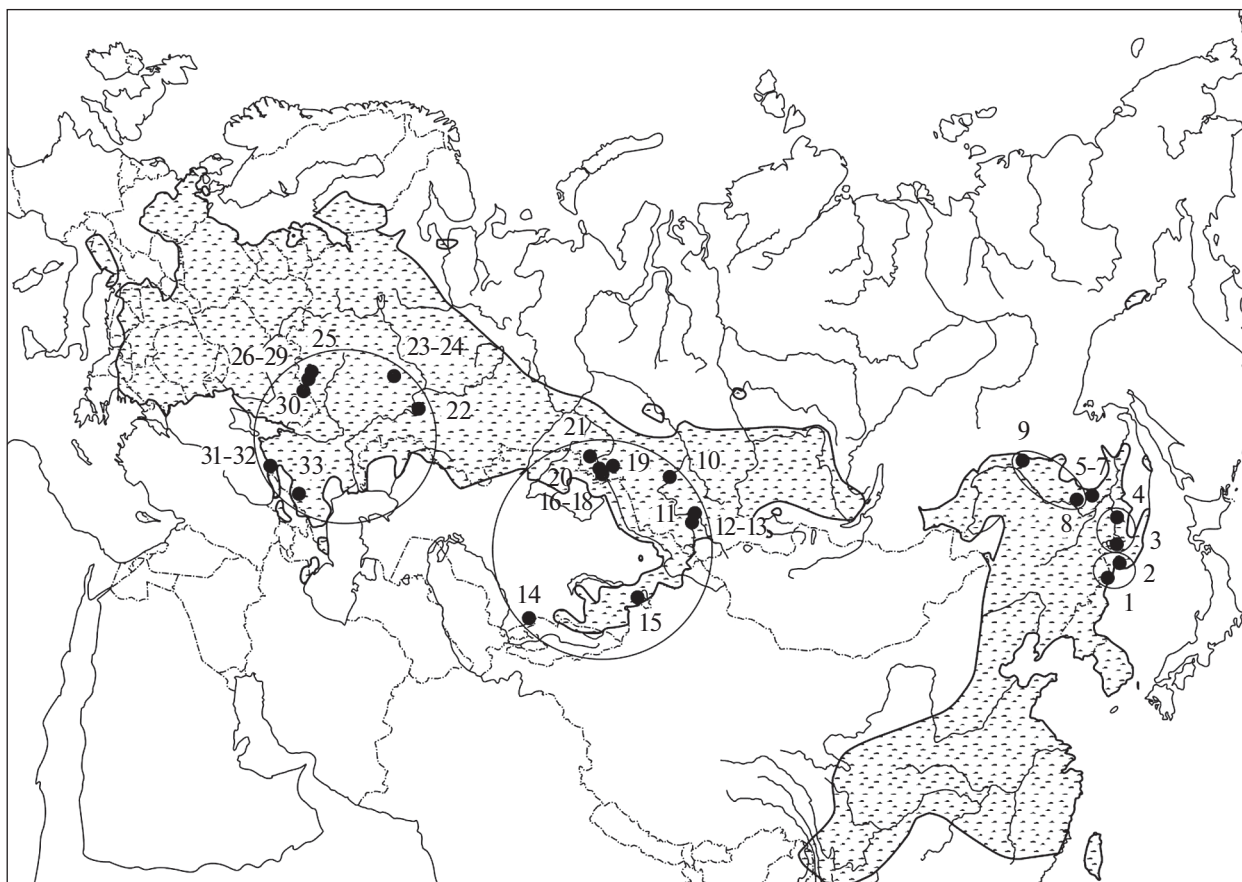


Рис. 1. Географические точки сбора материала по полевой мыши и структура сборных выборок. Построение проведено на основе карты ареала полевой мыши с Web-портала Топ-100 (2016 г.). Сборные выборки: “Южное Приморье” – пункты 1, 2; “Западное Приморье” – 3, 4; “Среднее Приамурье-центр” – 5–7; “Среднее Приамурье-запад” – 8–9; “Сибирь + Казахстан” – 10–21; “Восточная Европа” – 22–33.

происходит гибридизация праймеров. Микросателлитный аллель, сцепленный с такой мутацией, не амплифицируется у гомозиготной по нуль-аллелю особи, а у гетерозиготных по нему экземпляров амплифицируется лишь один микросателлит; в последнем случае гомозиготность является ложной (Кордичева и др., 2010). Она влечет за собой смещение популяционно-генетических оценок, в том числе определяет избыток гомозигот. Среди исследованных 180 животных только у одной особи (с Горного Алтая) и по одному локусу (САА2А) не было получено ПЦР-продукта, что указывает на гомозиготность этого животного по нуль-аллелю данного микросателлита. Оценка частоты встречаемости нуль-аллелей у гетерозиготных особей предполагает знание доли наблюдаемого недостатка гетерозигот, обусловленного присутствием нуль-аллеля. Однако даже если рассматривать весь наблюдаемый в каждой из сборных выборок недостаток гетерозигот как результат влияния только нуль-аллелей, корректировка частот микросателлитных аллелей оказывается в пределах статистической ошибки значений, опре-

деленных без учета влияния нуль-аллеля и представленных на рис. 2. Полученный результат позволяет провести оценку изменчивости и дифференциации популяций полевой мыши в материковой части ареала на основании выявленного аллельного разнообразия.

Аллельное разнообразие. В общем пуле из 180 особей и по пяти локусам было обнаружено 63 аллельных варианта, из которых 58 встречены в восточном изоляте и 42 – в западном. Преобладание числа аллелей в восточном изоляте могло бы быть результатом несовпадения количества животных в каждом из изолятов (60 в западном и 120 в восточном). Однако сравнение сборных выборок одинакового объема показывает, что наблюдаемое более высокое аллельное разнообразие в восточном изоляте является реальным: в западном изоляте обнаружено всего 42 аллеля, в то время как в Приамурье (суммарно 60 экз.) – 45 аллелей, в Приморье (60 экз.) – 51 аллель. Общее число аллелей в сборных выборках уменьшается в направлении с востока на запад, а в восточном изоляте – еще и по направлению с юга на север. В выборке

Таблица 2. Характеристика исследованных микросателлитных локусов полевой мыши

По: Маковой с соавт. (Makova et al., 1998)				Наши данные для <i>A. agrarius</i>		
локус	клонированный повтор	размер фрагмента	число аллелей	размер фрагмента	число аллелей	число общих аллелей для изолятов
CAA2A	(CA) ₂₁	94–118	6	84–116	17	11
GTTDS8	(GTT) ₉	99	1	93–99	2	1
GTTF9A	(GTT) ₁₄	95–120	3	86–120	12	8
GATAE10A	GATA) ₉	212–242	4	214–254	11	7
GSADT7S	(CA) _{6...} (GCAT) ₃ (GCAC) ₃	199–296	2	186–234	21	10

Примечание. Для GSADT7S клонированный повтор – (CA)_{6...}GCAT₃(GCAC)₃.

Таблица 3. Генетические характеристики сборных выборок полевой мыши

Локус	Характеристики	“Южное Приморье”	“Западное Приморье”	“Среднее Приамурье-центр”	“Среднее Приамурье-запад”	“Сибирь + Казахстан”	“Восточная Европа”
CAA2A	<i>n</i>	13	12	11	8	11	9
	<i>Ho</i>	0.567	0.467	0.567	0.333	0.5	0.433
	<i>He</i>	0.904	0.859	0.811	0.859	0.903	0.853
	HWE	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
GSADT7S	<i>n</i>	13	13	10	10	7	11
	<i>Ho</i>	0.533	0.5	0.633	0.567	0.3	0.333
	<i>He</i>	0.827	0.667	0.853	0.825	0.432	0.604
	HWE	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
GTTF9A	<i>n</i>	12	7	8	8	7	8
	<i>Ho</i>	0.633	0.633	0.6	0.667	0.6	0.533
	<i>He</i>	0.827	0.808	0.802	0.856	0.669	0.657
	HWE	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
GATAE10A	<i>n</i>	9	8	8	8	7	6
	<i>Ho</i>	0.367	0.467	0.7	0.667	0.567	0.8
	<i>He</i>	0.825	0.818	0.842	0.825	0.74	0.78
	HWE	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

Примечание. *n* – количество аллелей; *Ho* – наблюдаемая гетерозиготность; *He* – ожидаемая гетерозиготность; HWE < 0.05 – несоответствие равновесию по распределению Харди–Вайнберга.

“Южное Приморье” общее число аллелей равно 48, в выборке “Западное Приморье” – 40, в “Среднее Приамурье-центр” – 39, в “Среднее Приамурье-запад” и в сборных выборках из западного изолята (“Сибирь + Казахстан” и “Восточная Европа”) обнаружено по 33 аллеля. Таким образом, на отдельную сборную выборку в Приморье в среднем приходится 44 аллеля, в Приамурье – 36, во всем восточном изоляте – 40 аллелей, а в западном – 33. Интересно, что самая западная выборка восточного изолята (“Среднее Приамурье-запад”) по

аллельному разнообразию сопоставима со сборными выборками западного изолята. Более половины обнаруженных аллелей (37 из 63) представлены в популяциях как западного, так и восточного изолятов. Специфичными, т.е. присутствующими в популяциях только одного из изолятов, оказались 26 аллелей: 21 из них маркировали восточный изолят и 5 – западный. Распределение внутри изолятов специфичных аллелей также неравномерно. Девять аллелей (CAA2A-84, CAA2A-112, GSADT7S-198, GTTDS8-93, GTTF9A-87,

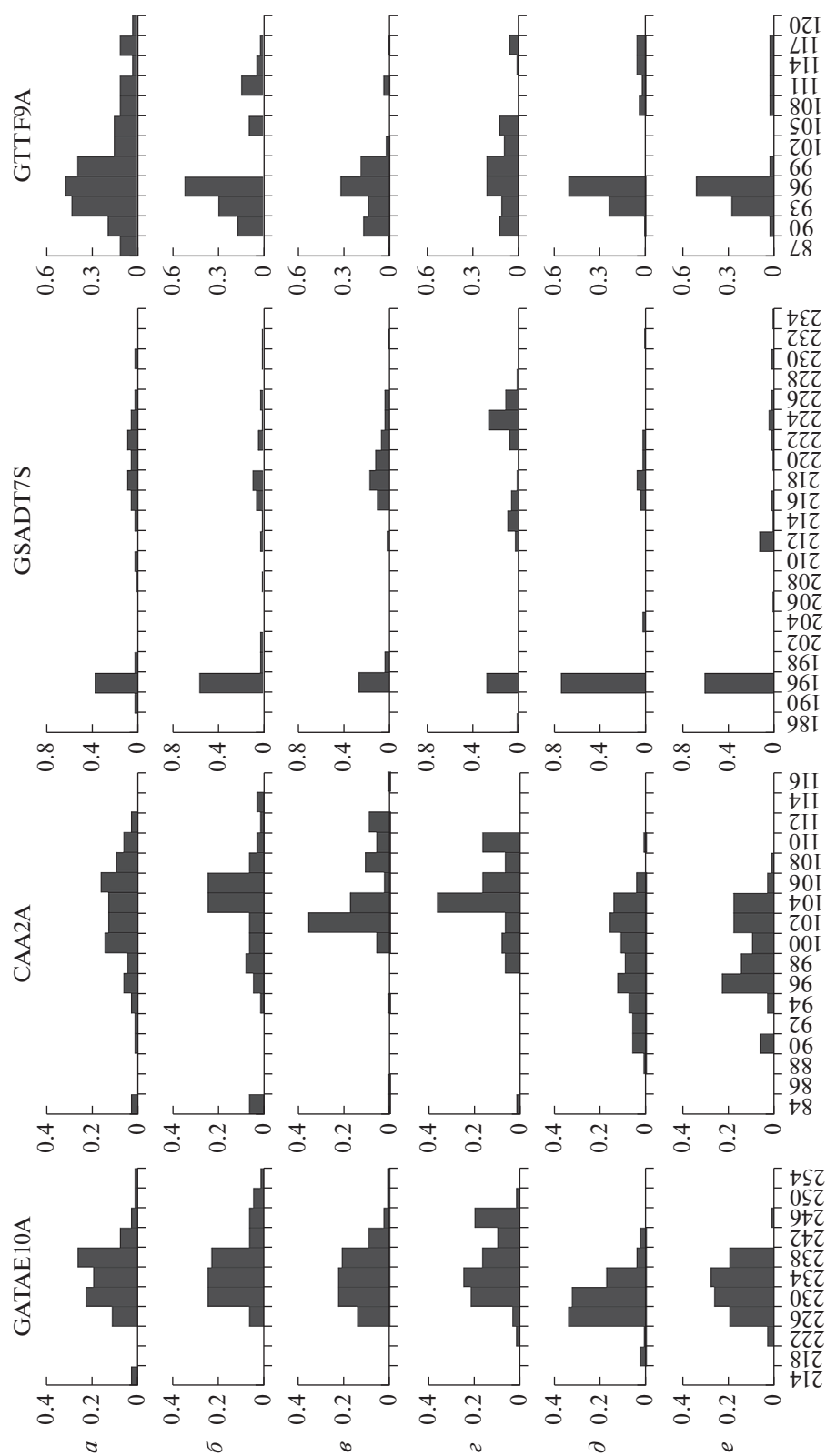


Рис. 2. Гистограммы распределения частот аллелей в исследованных сборных выборках полевой мыши. По осям ординат – частота встречаемости в долях. Обозначения: *a* – “Южное Приморье”, *б* – “Западное Приморье”, *в* – “Среднее Приморье-центр”, *г* – “Среднее Приморье-запад”, *д* – “Сибирь + Казахстан”, *е* – “Восточная Европа”.

Таблица 4. Значение показателей F-статистики Райта для четырех микросателлитных локусов полевой мыши

Локус	Fis	Fit	Fst
CAA2A	0.4425	0.4590	0.0313
GSADT7S	0.3217	0.3558	0.0543
GTTF9A	0.2112	0.2383	0.0281
GATAE10A	0.2560	0.2688	0.0140
В среднем	0.3078	0.3305	0.0320

GTTF9A-102, GTTF9A-105, GATAE10A-250 и GATAE10A-254) из 21, маркирующих восточный изолят, распространены и в приморских, и в приамурских популяциях. Остальные встречаются у полевых мышей в каком-либо одном из рассматриваемых дальневосточных регионов. Аллель GSADT7S-208 обнаружен в обеих выборках Приморья. Шесть аллелей – CAA2A-114, GSADT7S-190, GSADT7S-210, GTTF9A-120, GATAE10A-214 и GTTDS8-93 – обнаружены только в объединенной выборке “Южное Приморье”. По два специфичных аллеля выявлено в выборках “Западное Приморье” (CAA2A-114 и GSADT7S-202), “Среднее Приамурье-центр” (CAA2A-86 и CAA2-116) и “Среднее Приамурье-запад” (GSADT7S-186 и GSADT7S-228). Из пяти специфичных аллелей западного изолята три (CAA2A-88, GSADT7S-204, GATAE10A-218) представлены в выборке “Сибирь + Казахстан” и два (GSADT7S-206, GSADT7S-234) – в выборке “Восточная Европа”. На рис. 3 изображена суммарная картина соотношения встречаемости общих и специфичных аллелей в рассматриваемых сборных выборках. Несмотря на высокую долю общих аллелей, прослеживается генетическое своеобразие изолятов. Аллельное разнообразие и число специфических аллелей выше в восточном изоляте, что может быть ре-

зультатом более длительного обитания полевой мыши в дальневосточной части ареала. Ограниченное количество специфических аллелей в западном изоляте по сравнению с восточным может определяться эффектом основателя и отражать направление исторической миграции вида с востока на запад. Данные результаты в целом совпадают с итогами предварительных исследований, проводившихся нами ранее (Frisman, Bogdanov, 2014; Фрисман и др., 2015).

Генетическая дифференциация. Для определения уровня дифференциации изученных популяционных группировок внутри изолятов и между ними использованы коэффициенты F-статистики, предложенные Райтом (Wright, 1978). Значения рассчитанных для каждого из полиморфных локусов коэффициентов инбридинга особи относительно популяции (Fis), относительно вида (Fit) и степени подразделенности популяций (Fst) представлены в табл. 4.

Коэффициенты F-статистики указывают на значительный недостаток гетерозигот, доходящий до 44.2% на уровне отдельных популяций (Fis) и до 45.9% на уровне вида в целом (Fit). Fst-субпопуляционный индекс фиксации отражает слабый уровень дифференциации по каждому из локусов. Судя по среднему значению этого показателя, только 3.2% изменчивости локализовано между сборными выборками, а 96.8% локализовано внутри них.

Количественная оценка дифференциации проведена на основании коэффициента Fst, который при попарном сравнении выборок служит мерой генетических дистанций. Из четырех предложенных Райтом внутривидовых уровней дифференциации (слабая, но заслуживающая внимания при $Fst < 0.05$; промежуточная – $0.05 < Fst < 0.15$; большая – $0.15 < Fst < 0.25$ и очень большая – $Fst > 0.25$) на материковой части ареала полевой мыши обнаружены только два нижних уровня (табл. 5). Уровень раз-

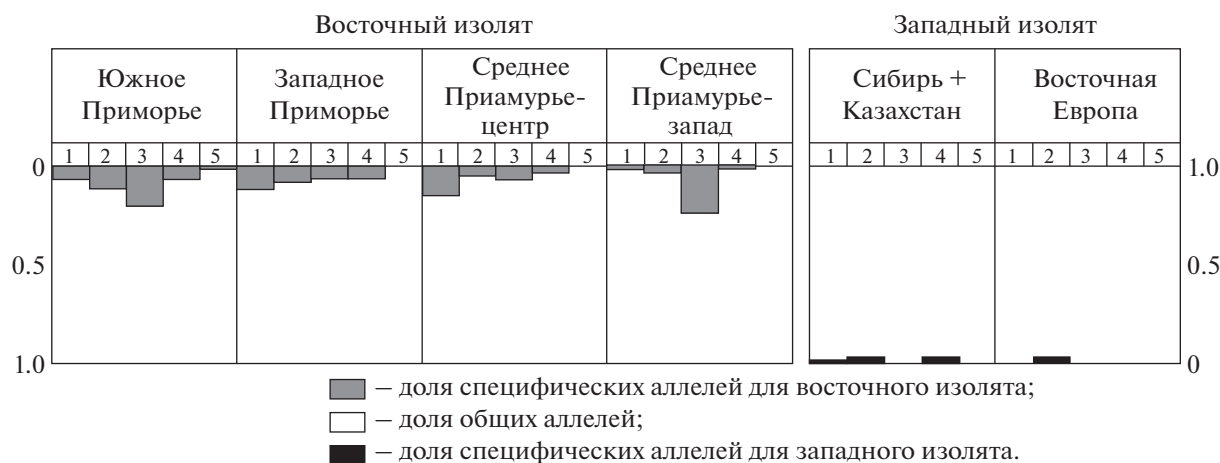
**Рис. 3.** Распределение общих и специфических аллелей в изолятах полевой мыши. Обозначения: 1 – CAA2A, 2 – GSADT7S, 3 – GTTF9A, 4 – GATAE10A, 5 – GTTDS8.

Таблица 5. Матрица значений F_{st} при попарном сравнении сборных выборок из западного и восточного изолятов полевой мыши

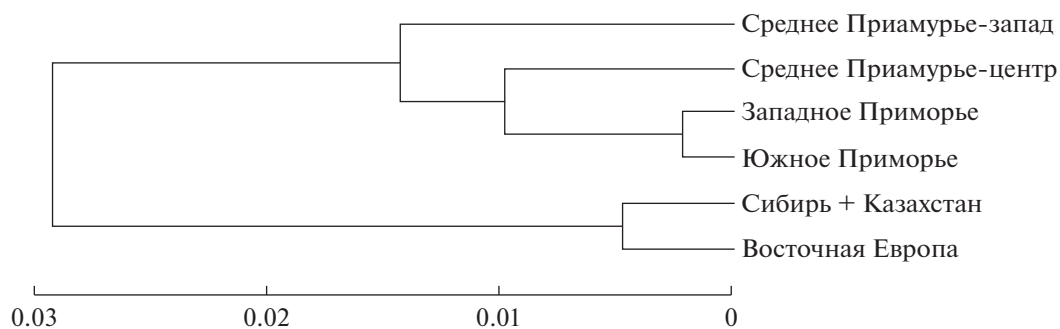
Сборные выборки	1	2	3	4	5
1. Южное Приморье	0				
2. Западное Приморье	0.004	0			
3. Среднее Приамурье-центр	0.031	0.009	0		
4. Среднее Приамурье-запад	0.029	0.018	0.038	0	
5. Сибирь + Казахстан	0.04	0.056	0.073	0.109	0
6. Восточная Европа	0.022	0.037	0.053	0.077	0.008

личия выборок оказался слабым ($F_{st} < 0.05$) либо промежуточным ($0.05 < F_{st} \leq 0.109$). Наименьшие значения F_{st} получены при сравнении пар выборок “Восточная Европа”/“Сибирь + Казахстан” ($F_{st} = 0.008$), приморских выборок ($F_{st} = 0.004$) и при сравнении “Западное Приморье”/“Среднее Приамурье-центр”, разделенных рекой Амур ($F_{st} = 0.009$). В целом, сборные выборки внутри изолятов характеризуются слабым уровнем дифференциации ($F_{st} = 0.004–0.031$). Сравнение сборных выборок разных изолятов показывает несколько большие значения F_{st} (от 0.022 до 0.109), отражающие слабый либо промежуточный уровень дифференциации. Тем не менее, UPGMA-дендрограмма демонстрирует отчетливое разделение кластеров, включающих сборные выборки из западного изолята, с одной стороны, и восточного – с другой (рис. 4).

ОБСУЖДЕНИЕ

Дизъюнкция ареалов, разделяющая европейско-сибирские и дальневосточные комплексы популяций, известна у разных групп животных, прослеживается на нескольких таксономических уровнях (от родового до внутривидового, вплоть до отсутствия выраженных подвидов) и издавна привлекает внимание исследователей (Матюшкин, 1976). Полевая мышь относится к видам, накопившим слабые различия в результате дизъюнкции

ареала. Проведенное нами исследование пяти микросателлитных локусов хотя и показало некоторое своеобразие аллельного состава в западном и восточном изолятах, уровень их генетической дифференциации следует определить лишь как умеренный. Этот результат согласуется с данными, полученными на основе других генетических и классических морфологических методов (Павленко, Воронцов, 1990; Межжерин, Зыков, 1991; Koh, 1991; Koh et al., 1998; Атопкин и др., 2007; Suzuki et al., 2008; Sakka et al., 2010). Аллельное разнообразие и число специфических аллелей выше в восточном изоляте, что может быть результатом более длительного обитания полевой мыши в дальневосточной части ареала. Ограниченное количество специфических аллелей в западном изоляте по сравнению с восточным может определяться эффектом основателя и отражать направление исторической миграции вида с востока на запад, что также соответствует выводам предыдущих исследований. Наши данные, как и итоги ранее проведенного аллозимного анализа (Межжерин, Зыков, 1991), указывают на относительно недавнее проникновение полевой мыши на запад Евразии. Однако могли иметь место неоднократные контакты западного и восточного изолятов, т.е. периодическое возникновение “моста” между ними в благоприятные периоды и его последующее исчезновение. Известно, что расширение восточного

**Рис. 4.** UPGMA-дендрограмма генетических отношений сборных выборок полевой мыши, построенная на основе попарных значений F_{st} .

изолята на запад происходит и в настоящее время (Баженов и др., 2014).

Наши результаты демонстрируют не более чем популяционный уровень дифференциации внутри материковых изолятов полевой мыши (*Fst* от 0.004 до 0.031). Аналогичные значения этого показателя (*Fst* от 0.008 до 0.046) были получены при анализе пяти микросателлитных локусов у полевых мышей Корейского полуострова, относящихся к единому подвиду (Jo et al., 2016). Несколько большие значения *Fst* (от 0.015 до 0.080) были получены этими авторами при сравнении материкового (Корейский полуостров) и островного (о-в Чеджу) подвидов. Определенные нами значения *Fst* (от 0.022 до 0.109) показывают, что дифференциация континентальных западного и восточного изолятов также достигла лишь умеренного уровня и соответствует не более чем подвидовым различиям.

Итак, в результате проведенного исследования нами получены оценки уровня генетического разнообразия и дифференциации полевой мыши, ареал которой подразделен на два огромных материковых изолята. Исследование лишь пяти микросателлитных локусов и использование объединенных выборок — это только начало работы по изучению влияния изоляций на генетическую структуру популяций. Более реалистичное воссоздание эволюционной истории и определение таксономического статуса изолированных популяционных группировок полевой мыши требует детального исследования. На следующем этапе работы мы предполагаем провести анализ генетической дифференциации *A. agrarius* в материковой и островной частях ареала на основе репрезентативных выборок. Исследование репрезентативных локальных выборок позволит описать как внутривидовую дифференциацию, так и внутривидовую популяционную генетическую гетерогенность.

Выражаем искреннюю признательность О.В. Брандлеру (Институт биологии развития РАН), А.Ю. Пузаченко (Институт географии РАН), С.Б. Поле (Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций), П.А. Тильбе и Б.С. Туниеву (Сочинский национальный парк), Р.И. Дзуеву (Кабардино-Балкарский государственный университет), А.А. Власову (Центрально-Черноземный заповедник), В.П. Вехнику (Жигулевский заповедник), В.В. Якименко (Омский научно-исследовательский институт природно-очаговых инфекций), Е.И. Жолнеровской (Институт систематики и экологии животных СО РАН), В.И. Ермолаеву (Институт цитологии и генетики СО РАН) и Л.Н. Капитоновой (Институт комплексного анализа региональных проблем ДВО РАН) за содействие, оказанное при отлове мышей и лабораторной обработке материала. Авторы выражают глубокую благодарность Е.А. Ерофеевой за оформление карты сбора материала.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке РФФИ, грант № 15-04-03871 и программы ДВО РАН “Дальний восток”, грант № 18-4-031.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Атопкин Д.М., Богданов А.С., Челомина Г.Н., 2007. Генетическая изменчивость и дифференциация полевой мыши *Apodemus agrarius*. Результаты RAPD-PCR-анализа // Генетика. Т. 43. № 6. С. 804–817.
- Баженов Ю.А., Павленко М.В., Кораблев В.П., Кардаш А.И., 2014. Современное распространение полевой мыши *Apodemus agrarius* Pallas, 1771 в восточном Забайкалье: находки в зоне дизъюнкции ареала // Росс. журн. биол. инвазий. № 4. С. 2–8.
- Банникова А.А., 2004. Молекулярные маркеры и современная филогенетика млекопитающих // Журн. общ. биологии. Т. 65. № 4. С. 278–305.
- Громов И.М., Ербаева М.А., 1995. Млекопитающие фауны России и сопредельных территорий. Зайцеобразные и грызуны. СПб.: ЗИН РАН. 522 с.
- Давид А.И., Чемыртан Г.Д., 1976. История развития териофауны Молдавии в голоцене // История биогеоценозов СССР в голоцене. М.: Наука. С. 207–213.
- Ивакина Н.В., Струкова Т.В., Бородин А.В., Стефановский В.В., 1997. Некоторые материалы по становлению современных экосистем Среднего и Южного Зауралья // Палеонтол. журн. № 3. С. 25–29.
- Карасёва Е.В., Тихонова Г.Н., Богомолов П.Л., 1992. Ареал полевой мыши (*Apodemus agrarius*) в СССР и особенности обитания вида в его разных частях // Зоол. журн. Т. 71. № 6. С. 106–115.
- Кордичева С.Ю., Рубцова Г.А., Шитова М.В. и др., 2010. Выявление нуль-аллелей в микросателлитном локусе кеты (*Oncorhynchus keta* Walbaum) // Генетика. Т. 46. № 8. С. 1143–1147.
- Кузнецов В.М., 2014. F-статистика Райта: оценка и интерпретация // Проблемы биологии продуктивных животных. № 4. С. 80–104.
- Матюшкин Е.А., 1976. Европейско-восточноазиатский разрыв ареалов наземных позвоночных // Зоол. журн. Т. 55. № 9. С. 1277–1291.
- Межжерин С.В., Зыков А.Е., 1991. Генетическая дивергенция и аллозимная изменчивость мышей рода *Apodemus* s. lato (Muridae, Rodentia) // Цитология и генетика. Т. 25. № 4. С. 51–58.
- Павленко М.В., Воронцов Н.Н., 1990. Электрофорез белков подтверждает конспецифичность западно- и восточнопалеарктических изолятов полевой мыши // V Съезд Всесоюзного териологического общества АН СССР. Москва. Т. 1. С. 90–91.
- Фрисман Л.В., Богданов А.С., Шереметьева И.Н., Картавецва И.В., Павленко М.В., 2015. Западный и восточный изоляты полевой мыши: сравнительный анализ пяти микросателлитных локусов // Структура вида у млекопитающих. Материалы конференции. М.: Т-во науч. изд. КМК. С. 82.
- Web-портал Top 100 — приоритетные мишени для контроля инвазий на территории России. Млекопитающие. 2016. Полевая мышь (*Apodemus agrarius* Pallas, 1771). <http://www.sevin.ru/top100worst/priortargets/mammals/agrarius.html>.

- Aldjianabi S.M., Martinez I.*, 1997. Universal and rapid salt extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques // *Nucleic Acid Res.* V. 25. № 22. P. 4692–4693.
- Excoffier L.G., Laval C., Schneider S.*, 2005. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis // *Evol. Bioinform. Online.* V. 1. P. 47–50.
- Felsenstein J.*, 2004. PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6. Distributed by author. Seattle: Department of Genome Sciences, Univ. of Washington.
- Frisman L.V., Bogdanov A.S.*, 2014. Western and Eastern allopatric lines of striped field mouse (*Apodemus agrarius*): Comparative study based on fragment analysis of 5 microsatellite loci // 14th Rodens et Spatium, International conference of Rodent Biology. Lisbon, Portugal. P. 117.
- Gortat T., Rutkowski R., Gryszynska-Siemiatkowska A., Kozakiewicz A., Kozakiewicz M.*, 2013. Genetic structure in urban and rural populations of *Apodemus agrarius* in Poland // *Mammal. Biol.* V. 78. № 3. P. 71–77.
- Jo Y.S., Kim H.N., Baccus J.T., Jung J.*, 2016. Genetic differentiation of the Korean striped field mouse, *Apodemus agrarius* (Muridae, Rodentia), based on microsatellite polymorphism // *Mammalia.* V. 81. № 3. P. 1–11.
- Koh H.S.*, 1991. Morphometric analyses with eight subspecies of striped field mice, *Apodemus agrarius* Pallas (Rodentia, Mammalia), in Asia: The taxonomic status of subspecies *Chejuensis* at Cheju Island, Korea // *Kor. J. Syst. Zool.* V. 7. P. 179–188.
- Koh H.S., Csorba G., Tiunov M.P., Tikhonova G.*, 1998. Morphometric analyses of the three subspecies of striped field mouse, *Apodemus agrarius* Pallas (Mammalia: Rodentia) from Far Eastern Asia: Taxonomic status of North Korean striped field mice // *Kor. J. Syst. Zool.* V. 14. P. 327–334.
- Koh H.S., Shaner P.J., Csorba G., Wang Y., Jang K.H., Lee J.H.*, 2014. Comparative genetics of *Apodemus agrarius* (Rodentia: Mammalia) from insular and continental Eurasian populations: Cytochrome b sequence analyses // *Acta Zool. Acad. Sci. Hung.* V. 60. P. 73–84.
- Kowalski K.*, 2001. Pleistocene rodents of Europe // *Folia Quaternaria.* V. 72. P. 3–389.
- Makova K.D., Patton J.C., Krysanov E.Yu., Chessery R.K., Baker R.J.*, 1998. Microsatellite markers in wood mouse and striped field mouse (genus *Apodemus*) // *Mol. Ecol.* V. 7. P. 247–255.
- Oosterhout C., van, Hutchinson W.F., Wills D.P., Shipley P.*, 2004. Micro-checker: Software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data // *Mol. Ecol. Notes.* V. 4. № 3. P. 535–538.
- Popov V.*, 2017. Pleistocene record of *Apodemus agrarius* (Pallas, 1771) (Mammalia: Rodentia) in the Magura Cave, Bulgaria // *Acta Zool. Bulg.* V. 69. № 1. P. 121–124.
- Sakka H., Quere J.P., Kartavtseva I. et al.*, 2010. Comparative phylogeography of four *Apodemus* species (Mammalia: Rodentia) in the Asian Far East: Evidence of Quaternary climatic changes in their genetic structure // *Biol. J. Linn. Soc.* V. 100. № 4. P. 797–821.
- Suzuki H., Filippucci M., Chelomina G., Sato J., Serizawa K., Nevo E.A.*, 2008. Biogeographic view of *Apodemus* in Asia and Europe inferred from nuclear and mitochondrial gene sequence // *Biochem. Genet.* V. 46. № 5–6. P. 329–346.
- Wright S.*, 1978. *Evolution and Genetics of Population. V. 4. Variability Within and Among Natural Populations.* Chicago: Univ. Chicago Press. 590 p.

Differentiation of continental isolates of the striped field mouse (*Apodemus agrarius* Pallas, 1771) by microsatellite loci

L.V. Frisman^{a, *}, A. S. Bogdanov^{b, **}, I. V. Kartavtseva^{c, *}, I. N. Sheremetyeva^{c, ****},
M. V. Pavlenko^{c, *****}, K. V. Shlufman^{a, *****}, Yu. M. Kovalskaya^{d, *****}**

^a*Institute for Complex Analysis of Regional Problems, Far East Branch of RAS
679016 Birobidzhan, Sholom-Aleikhem, 4, Russia*

^b*Koltzov Institute of Developmental Biology, RAS
119334 Moscow, Vavilova, 26, Russia*

^c*Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Far East Branch of RAS
690022 Vladivostok, Pr. 100-let Vladivostoka, 159, Russia*

^d*Severtsov Institute of Ecology and Evolution, RAS
119071 Moscow, Leninsky Pr., 33, Russia*

*e-mail: l.frisman@mail.ru

**e-mail: bogdalst@yahoo.com

***e-mail: irina-kar52@rambler.ru

****e-mail: sheremet76@yandex.ru

*****e-mail: mv_pavlenko@mail.ru

*****e-mail: shlufman@mail.ru

*****e-mail: sicistam@yandex.ru

Based on microsatellite analysis, intraspecific polymorphism has been examined in two extensive continental isolates of the striped field mouse (*Apodemus agrarius* Pallas, 1771) which were separated by the Baikal disjunction. Striped field mice from the western isolate (both from the European and Kazakh-Siberian parts of the range) and from the eastern isolate (both from the territory of the Middle Amur Region and Primorye)

were tested. We collected 180 samples from 33 localities and used five microsatellite loci developed earlier by K. Makova with co-authors for the genus *Apodemus*. The work is carried out on the basis of the summation of local samples in each of the above-mentioned geographical regions. It is shown that allelic diversity and the number of specific alleles are higher in the eastern isolate, that may be the result of longer habitation of the striped field mouse in the eastern part of the range. The limited number of specific alleles in the western isolate as compared to the eastern one might be determined by the founder effect and reflect the direction of the historical migration of the species from east to west. Our results demonstrate no more than a population level of differentiation within the continental isolates of the striped field mouse and indicate no more than a subspecies level of differences between these isolated forms, i.e., the relatively recent penetration of *A. agrarius* to the west of Eurasia.