

УДК 575.17+575.2:599.323.4

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ЖЕЛТОГОРЛОЙ МЫШИ (*Sylvaemus flavicollis* Melch., 1834, Muridae, Rodentia) НА ВОСТОЧНОЙ ГРАНИЦЕ АРЕАЛА

© 2018 г. Л. Э. Ялковская*, П. А. Сибиряков, С. В. Зыков

Институт экологии растений и животных Уральского отделения

Российской академии наук, Екатеринбург 620144

*e-mail: lida@ipae.uran.ru

Поступила в редакцию 03.04.2017 г.

Окончательный вариант получен 03.08.2017 г.

Впервые проведено исследование генетической изменчивости в популяциях *S. flavicollis* на восточной границе ареала. Кариотипировано семь особей из самого северо-восточного местообитания вида (Средний Урал). Не выявлено отклонений от стандартного хромосомного набора ни по числу, ни по морфологии хромосом. В результате анализа последовательностей гена цитохрома *b* мтДНК (1133 пн) у 44 особей из пяти популяций на восточной границе ареала (Средний и Южный Урал) описано 17 гаплотипов. Все гаплотипы являются новыми и не обнаружены ранее в других частях ареала. Показатели генетического разнообразия, анализ демографической и генетической структуры указывают на относительно недавнее происхождение исследуемых популяций в результате быстрого расселения. Филогенетический анализ (97 гаплотипов, включая данные GenBank) показал принадлежность всех гаплотипов, описанных на восточной границе ареала, к одной филогруппе, распространенной в Балканском регионе, Северной и Восточной Европе и России (Самарская область), а также их близкое родство с популяциями из северной части видового ареала в Восточной Европе.

Ключевые слова: генетическая дифференциация, В-хромосомы, митохондриальный геном, цитохром *b*, филогеография, периферийные популяции, внутривидовая изменчивость.

DOI: 10.7868/S001667581806005X

Желтогорлая мышь (*Sylvaemus flavicollis* Melch., 1834) – типичный представитель европейской фауны, ареал которого приурочен к зоне широколиственных лесов и занимает значительную территорию Евразии от Великобритании и Северной Испании до Урала [1–3]. Генетическим исследованиям этого вида посвящено значительное количество работ. В частности, показано существование у *S. flavicollis* хромосомного полиморфизма, обусловленного появлением в кариотипе добавочных хромосом (В-хромосом). Наличие В-хромосом было отмечено в большинстве исследованных популяций желтогорлой мыши, проведен анализ корреляции их частоты с рядом биохимических, физиологических, экологических факторов [4–14]. В результате изучения закономерностей распространения хромосомного полиморфизма в пределах видового ареала было выдвинуто как предположение о возрастании числа особей с В-хромосомами на границе ареала [5, 8, 9], так и противоположное ему – об уменьшении частоты добавочных хромосом от центра к периферии

области распространения [7, 10, 13]. Ряд генетических исследований желтогорлой мыши, посвященных вопросам таксономии, филогении и филогеографии, выполнен с использованием в качестве маркера последовательностей гена цитохрома *b* мтДНК [15–21]. Показана дифференциация *S. flavicollis* на три относительно обособленные клады: клада А включает образцы из Балканского региона и Северной Европы, клада В – из Балканского региона и юга России и клада С – из Западной, Северной и Восточной Европы; также рассмотрены возможные пути формирования филогеографической структуры вида [20, 21].

Однако в настоящее время данные по генетической изменчивости *S. flavicollis* охватывают в основном западную и центральную части ареала. Для значительной территории на востоке области распространения вида (Восточно-Европейская равнина) кариологические и молекулярно-генетические исследования немногочисленны [4–6, 20, 21], а для восточной границы ареала полностью отсутствуют.

Тем не менее представления о внутривидовой генетической изменчивости, филогеографической структуре и истории формирования ареалов широко распространенных видов, каким является желтогорлая мышь, нельзя считать полными без анализа репрезентативных данных из всех частей области распространения, включая периферийные популяции. Кроме того, изучение краевых популяций имеет важное значение при оценке устойчивости и адаптивного потенциала видов в условиях глобальных климатических изменений и возрастающего антропогенного воздействия, а также для решения проблемы биологических инвазий [22–24]. В этой связи целью нашей работы было исследование генетической изменчивости в популяциях желтогорлой мыши на восточной границе видового ареала на основании анализа хромосомных наборов и последовательностей гена цитохрома *b* мтДНК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования генетической изменчивости желтогорлой мыши на восточной границе видового ареала проведены на материале из пяти местобитаний (рис. 1). Одно из них расположено на Среднем Урале и является самым северо-восточным из известных на сегодняшний день [25], остальные

четыре локалитета находятся на территории Южного Урала. В работе использованы собственные сборы и материалы коллекции музея ИЭРиЖ УрО РАН.

Анализ хромосомных препаратов, приготовленных из костного мозга по стандартной методике и окрашенных по Романовскому–Гимза [26], выполнен для семи особей из самой северо-восточной популяции (Средний Урал, Нижнеиргинская дубрава (рис. 1)). Для каждого животного анализировали по 50 клеток, оценивая число и морфологию хромосом, наличие В-хромосом в кариотипе.

Выделение тотальной ДНК методом солевой экстракции [27] осуществляли из образцов мышечной ткани животных, зафиксированных в 96%-ном этаноле. ПЦР участка мтДНК, содержащего ген цитохрома *b*, провели с использованием пары праймеров L7 (5'-ACCAATGACATGAAAAATCATCGTT-3') и H6 (5'-TCTCCATTTCTGGTTTACAAGAC-3') [28] в 25 мкл реакционной смеси (dNTP's (SibEnzyme) 3 mM каждого, *Taq* Buffer 10x + KCl – MgCl₂ (Fermentas), 6.25 mM MgCl₂ (Fermentas), 7.5 пМ каждого праймера, 2.5U *Taq* DNA Polymerase (SibEnzyme), 50–100 нг матрицы ДНК) по протоколу (94 °C – 3 мин; [94 °C – 20 с; 58 °C – 15 с, 72 °C – 1 мин 20 с] – 35 циклов; 72 °C – 10 мин) на амплификаторе

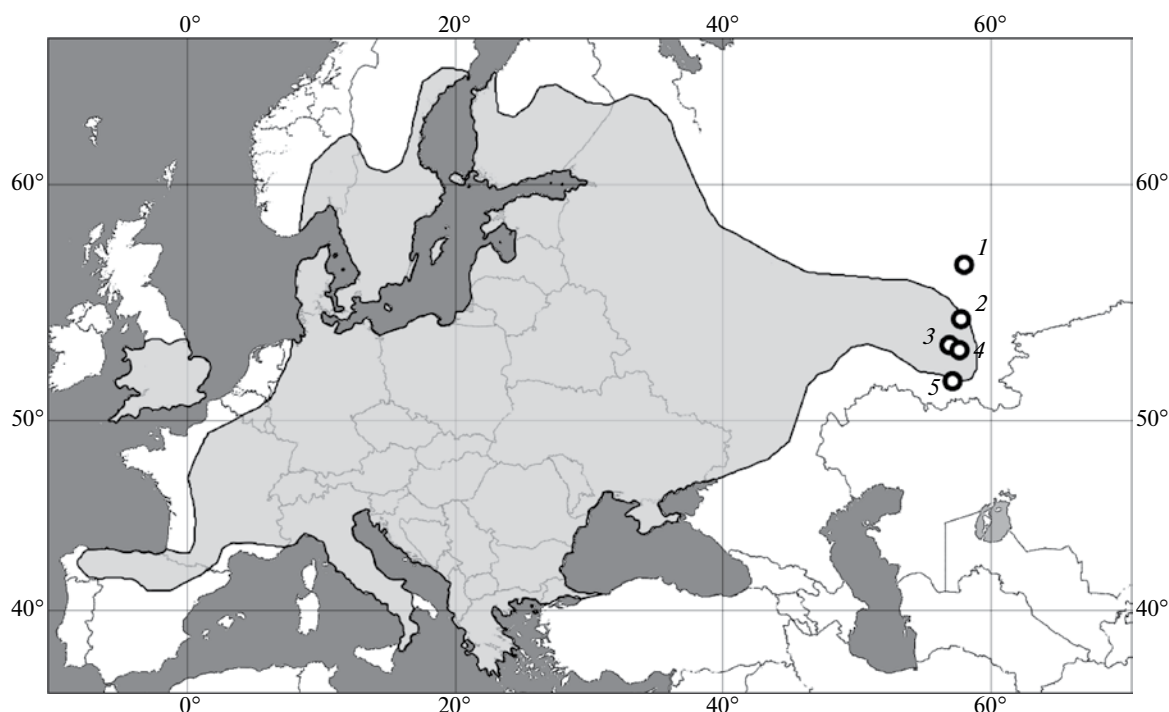


Рис. 1. Карта-схема расположения мест сбора образцов для анализа генетической изменчивости *S. flavicollis* на восточной границе ареала. 1 – Средний Урал: “Дубрава”, Нижнеиргинская дубрава (56°56' с.ш., 57°26' в.д.); Южный Урал: 2 – “Игнатъевская”, окрестности Игнатъевской пещеры (54°53' с.ш., 57°46' в.д.), 3 – “Кинзебулатово”, окрестности п. Кинзебулатово (53°25' с.ш., 56°11' в.д.), 4 – “Нугуш”, окрестности Нугушского водохранилища (53°05' с.ш., 56°26' в.д.), 5 – “Верблюжка”, окрестности горы Верблюжка (51°22' с.ш., 56°48' в.д.). Черный контур – граница ареала *S. flavicollis*.

Таблица 1. Географическая принадлежность, название и номер в базе GenBank гаплотипов гена цитохрома *b* *S. flavicollis* (838 пн), использованных в работе

Географическая локализация	Название гаплотипа (№ в базе GenBank)
Австрия	Mich61 (AJ605600)
Белоруссия	Mich08 (AJ605601), Mich09 (AJ605603)
Бельгия	Mich58 (AJ605604)
Босния и Герцеговина	F14 (JF819968), F15 (JF819969), F16 (JF819970), F11 (JF819965), F12 (JF819966)
Англия	AF5 (JX457731)
Венгрия	Mich41 (AJ605634)
Германия	Mich39 (AJ605616)
Греция	Mich24 (AJ605624), Mich66 (AJ605628), Mich71 (AJ605626), Mich72 (AJ605627), Mich77 (AJ605625), Mich21 (AJ605629), Mich29 (AJ605631), Mich35 (AJ605633), Mich20 (AJ605619), Mich26 (AJ605617), Mich34 (AJ605618), Mich75 (AJ605622), Mich79 (AJ605620), JRM-706 (AJ605621)
Испания	Mich53 (AJ605661), Mich62 (AJ605660)
Италия	Mich47 (AJ605637), Mich49 (AJ605640), JRM-19 (AJ311150)
Литва	Mich10 (AJ605641)
Македония	Mich32 (AJ605644), Mich55 (AJ605643), Mich68 (AJ605642), F1 (JF819955), F2 (JF819956), F4 (JF819958), F5 (JF819959), F6 (JF819960), F7 (JF819961), F8 (JF819962), F9 (JF819963), F10 (JF819964)
Нидерланды	Mich52 (AB032853)
Польша	AF4 (JX457730)
Россия	Mich12 (AJ605652), Mich15 (AJ605653), Mich05 (AJ605650), Mich06 (AJ605651)
Румыния	Mich13 (AJ605646) Mich17 (AJ605647)
Сербия	Mich19 (AJ605691)
Словения	Mich70 (AJ605657), Mich22 (AJ605656)
Турция	Mich48 (AJ605672), Mich69 (AJ605673)
Украина	TK67530 (AY158443), TK67707 (AY158444), TK67715 (AY158445), TK67970 (AY158450), TK84424 (AY158451), TK96182 (AY158452), TK96183 (AY158453), TK96207 (AY158454)
Франция	T666 (AJ311151), Mich25 (AJ605614), AF6 (JX457732)
Чехия	Mich33 (AJ605605), Mich40 (AJ605608), Mich51 (AJ605606), Mich63 (AJ605609)
Швейцария	Mich78 (AF159392)
Швеция	Mich04 (AJ605663), Mich43 (AJ605664)
Эстония	Mich07 (AJ605611), Mich11 (AJ605610)
Англия, Испания, Польша, Финляндия	AF1 (JX457727)
Испания, Польша	AF2 (JX457728)
Польша, Франция	AF3 (JX457729)

Примечание. Гаплотипы из базы GenBank, имеющие в номерах аббревиатуры АВ – [18], AF – [15], AJ – [19, 20], JF – [16], JX – [36], AY – неопубликованные данные.

MyCycler (BioRad). Для очистки ПЦР-продукта от примесей проводили электрофорез в 1%-ном агарозном геле, после чего участок геля, содержащий необходимый фрагмент, вырезали и пересаждали ПЦР-продукт с использованием Silica (Sigma-Aldrich S-S5631). Реакцию секвенирования проводили с использованием набора реактивов Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit V.3.1 (Applied Biosystems, США) согласно рекомендациям производителя в двух направлениях с праймерами L7 и H6, с последующим определением последовательностей на автоматическом анализаторе ABI Prism 3130 (Applied Biosystems).

Первичную обработку полученных последовательностей проводили с использованием программы Bio-Edit v. 7.2.0 [29]. Все результаты автоматического анализа были перепроверены вручную. В случае наличия спорных участков и/или нуклеотидов в образце для устранения возникших разночтений выполняли его повторное секвенирование.

Выравнивание последовательностей, расчет генетических дистанций и построение филогенетических деревьев методами ближайшего соседа (NJ) и максимального правдоподобия (ML) проведено в программе MEGA v. 6 [30], поиск оптимальных моделей эволюции нуклеотидных последовательностей – в программе MrModeltest 2.3 [31]. Построение филогенетических деревьев с использованием Байесова анализа выполнено с помощью MrBayes v. 3.2.2 [32], построение медианных сетей (Median-Joining Networks) – с помощью Network v. 5.0.0.0 [33]. Данные о генетическом разнообразии нуклеотидных последовательностей получены с использованием программ Arlequin v. 3.1 [34] и DnaSP [35].

Изучение генетического разнообразия популяций *S. flavicollis* на восточной границе ареала выполнено на основании данных о 44 последовательностях гена цитохрома *b* длиной 1133 пн, секвенированных для образцов из пяти локалитетов Среднего и Южного Урала (рис. 1). Для сравнительного анализа и построения филогенетических реконструкций использован фрагмент длиной 838 пн: 17 гаплотипов – собственные данные из пяти периферийных популяций, 80 гаплотипов – данные, представленные в базе GenBank (табл. 1). В качестве внешней группы были взяты шесть гаплотипов *S. ponticus* (AJ605667, AJ605668, AJ6056676, AJ605677, AJ605688, AJ605690 [20]).

Для исключения из анализа ошибочно полученных последовательностей либо последовательностей ядерных псевдогенов, способных привести к неверным результатам при построении филогенетических реконструкций, в базе GenBank были отобраны последовательности максимальной длины, которые не содержали неоднозначно прочи-

танных нуклеотидов и инсерций\делений, приводящих к сдвигу рамки считывания.

Анализ парных различий (mismatch distribution) между частичными последовательностями гена цитохрома *b* *S. flavicollis* (838 пн) в филогруппе, включающей образцы с восточной границы ареала, выполнен на основании данных о 61 последовательности: 44 – собственные данные; 17 – данные базы GenBank (по одной последовательности гаплотипы Mich05 – Mich08, Mich10, Mich11, Mich21, F2, F8, F10, F12, TK67707, TK96207 и по две последовательности – Mich25 и Mich48 (табл. 1)).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Цитогенетический анализ показал, что хромосомные характеристики семи желтогорлых мышей с территории Среднего Урала (Нижнеиргинская дубрава, рис. 1) соответствуют стандартному хромосомному набору *S. flavicollis* ($2n = 48$, $NF = 48$). Кариотипы всех исследованных особей (проанализировано 350 метафазных клеток) состоят из 48 хромосом: аутосомы – 23 пары плавно убывающих по размеру акроцентрических хромосом, половые хромосомы также акроцентрические. В-хромосомы не выявлены ни у одного из семи изученных животных.

Последовательности гена цитохрома *b* мтДНК длиной 1133 п.н. были получены для 44 особей *S. flavicollis* из пяти популяций Среднего и Южного Урала. Выявлено 20 полиморфных сайтов, 11 из которых являются парсимонично информативными, 5 транзиций и 15 трансверсий. Содержание цитозина и гуанина в последовательности 0.393.

Среди 44 секвенированных последовательностей описано 17 гаплотипов – Ur1–Ur17, все они являются новыми (депонированы в базе данных GenBank (NCBI) под № MF621854–MF621870). Большая часть гаплотипов (13 из 17) встречается только в каком-либо одном из исследуемых локалитетов (табл. 2), при этом уникальные для выборки последовательности не обнаружены только в одном местообитании (окрестности Нугушского водохранилища – Нугуш (рис. 1)).

При сравнении индексов генетического разнообразия в выборках *S. flavicollis* из исследуемых краевых популяций прослеживается тенденция их увеличения в градиенте север–юг (табл. 2, рис. 1). Анализ молекулярной изменчивости AMOVA показал достаточно высокий уровень межпопуляционных различий ($\Phi_{ST} = 0.173$, $P < 0.001$), на которые приходится 17.26% изменчивости, а 82.74% изменчивости – на внутривидовые различия. Сравнение пар популяций по показателю Φ_{ST} показало, что наиболее дифференцированной является выборка *S. flavicollis* из Нижнеиргинской ду-

Таблица 2. Распределение гаплотипов гена цитохрома *b* и показатели генетического разнообразия в популяциях *S. flavicollis* на восточной границе ареала на Урале

Гаплотип	Дубрава	Игнатьевская	Кинзебулатово	Нугуш	Верблюжка	Средний и Южный Урал
Ur1	6					6
Ur2	4		1	2		7
Ur3	1					1
Ur4		2	4	2	1	9
Ur5					3	3
Ur6					1	1
Ur7					1	1
Ur8			2			2
Ur9			1			1
Ur10			1			1
Ur11			2			2
Ur12		1	2	1		4
Ur13			1			1
Ur14			1	1		2
Ur15		1				1
Ur16		1				1
Ur17		1				1
Показатели генетического разнообразия						
<i>N</i>	11	6	15	6	6	44
<i>Nh</i>	3	5	9	4	4	17
<i>h</i> ±SD	0.618 ±0.104	0.933 ±0.122	0.914 ±0.052	0.867 ±0.129	0.800 ±0.172	0.911 ±0.023
$\pi^{\times 100}$ ±SD $\times 100$	0.106 ±0.02	0.206 ±0.057	0.207 ±0.03	0.135 ±0.038	0.306 ±0.085	0.214 ±0.023
<i>k</i>	1.20	2.33	2.34	1.53	3.47	2.43

Примечание. *N* – число особей, *Nh* – число гаплотипов, *h* – гаплотипическое разнообразие, π – нуклеотидное разнообразие; *k* – среднее число парных различий между гаплотипами, SD – стандартное отклонение.

бравы – самая северо-восточная точка на видовом ареале (рис. 1). Сопоставление ее с другими выборками показывает наличие значимых межпопуляционных различий, в то время как межпопуляционная дифференциация остальных четырех выборок незначима (табл. 3).

В целом для *S. flavicollis* с восточной границы ареала (Средний и Южный Урал) значения индексов генетического разнообразия (табл. 2) ниже обнаруженных ранее в западных и центральных частях области распространения вида [21]: Балка-

но-Итальянский регион – $h = 0.988$, $\pi^{\times 100} = 1.5$; Пиренейский п-ов и Южная Франция – $h = 0.986$, $\pi^{\times 100} = 0.54$; Западная, Северная и Центральная Европа – $h = 0.992$, $\pi^{\times 100} = 0.75$; Украина и Россия (Волгоградская, Воронежская, Самарская области) – $h = 0.952$, $\pi^{\times 100} = 0.92$. При этом наблюдается существенно меньшее нуклеотидное разнообразие при относительно небольших отличиях гаплотипического разнообразия.

Для филогенетической реконструкции с использованием как собственных, так и литератур-

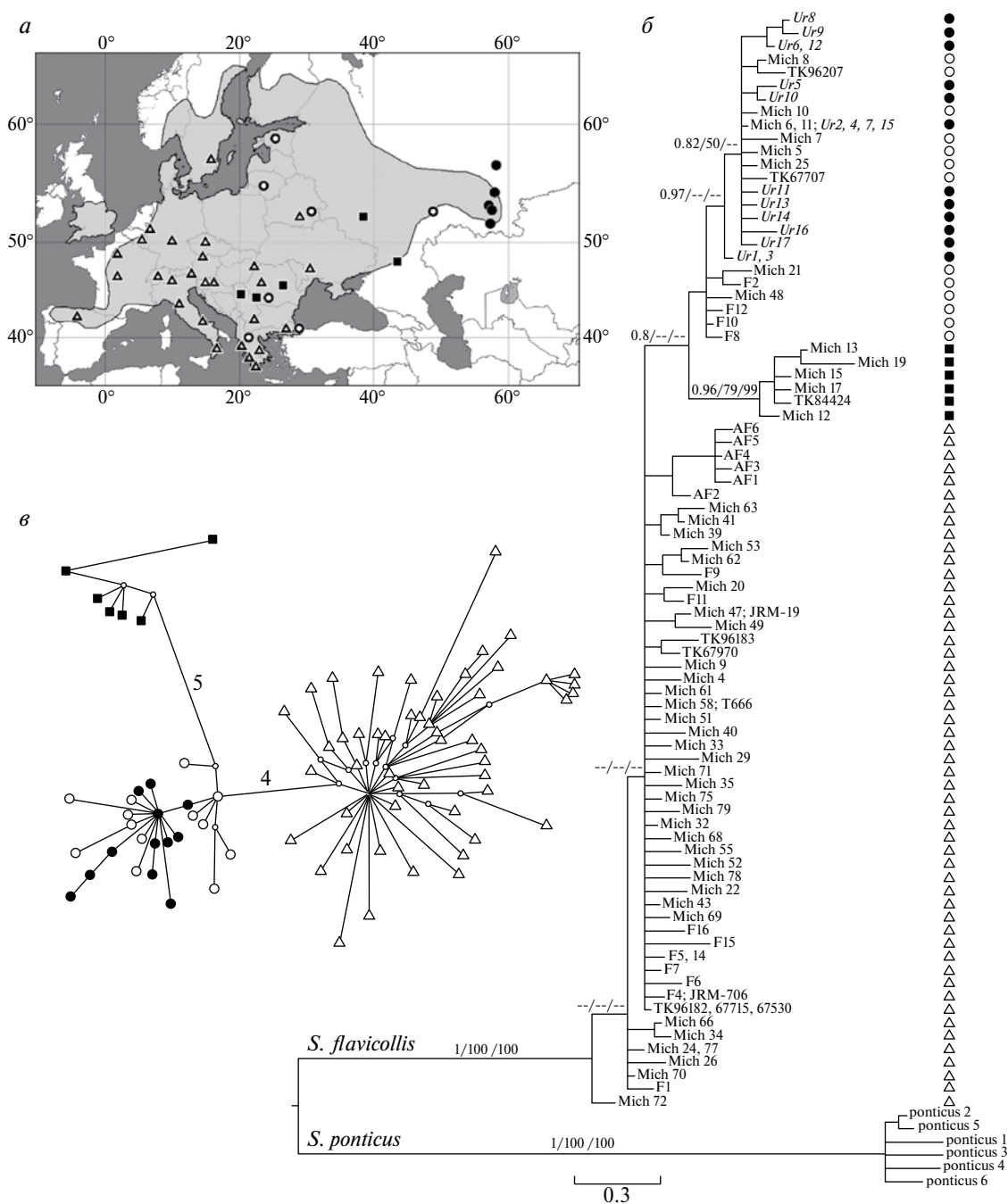


Рис. 2. Распределение филогенетических линий *S. flavicollis* по ареалу вида (а); филогенетическое дерево (б), реконструированное методом Байесова анализа на основании 97 гаплотипов гена цитохрома *b* (838 пн), над ветвями даны вероятности $VI > 75 / ML > 50 / NJ > 50$; медианная сеть этих гаплотипов (в), цифры над ветвями – число замен. Геометрическими фигурами обозначено распределение гаплотипов по филогруппам: круг – Северо-Восточная, квадрат – Юго-Восточная, треугольник – Западная. Черными кружками обозначены гаплотипы, описанные нами для восточной границы ареала.

ных данных был использован фрагмент гена цитохрома *b* длиной 838 пн. На рис. 2, б приведено филогенетическое дерево, полученное по результатам Байесова анализа; топология деревьев, построенных с использованием других методов, ML и NJ, принципиально не отличается. Все анализи-

руемые последовательности *S. flavicollis* кластеризуются в три филогруппы, имеющие относительно четкую географическую локализацию (рис. 2). Так, Юго-Восточная филогруппа включает гаплотипы из Южной (Сербия, Румыния) и Восточной (Украина) Европы и России (Волгоградская область).

Таблица 3. Значения Φ_{ST} (под диагональю) и уровень значимости наблюдаемых различий (над диагональю) при межпопуляционном анализе генетической изменчивости *S. flavicollis* вблизи восточной границы ареала

Выборки	Дубрава	Игнатьевская	Кинзебулатово	Нугуш	Верблюжка
Дубрава		<0.002	<0.001	>0.05	<0.001
Игнатьевская	0.254		>0.05	>0.05	>0.05
Кинзебулатово	0.260	0.003		>0.05	<0.05
Нугуш	0.200	0.000	0.000		>0.05
Верблюжка	0.371	0.144	0.168	0.182	

Северо-Восточная группа – гаплотипы с территории Балканского п-ова (Греция, Босния и Герцеговина, Восточная Турция, Македония), Северной (Эстония, Литва) и Восточной (Белоруссия, Украина) Европы, России (Самарская область). Именно к этой группе относятся и все гаплотипы *S. flavicollis*, описанные нами для пяти локалитетов на восточной границе ареала вида. Западную филогруппу составляют гаплотипы из Западной (Франция, Германия, Австрия, Швейцария, Нидерланды), Северной (Швеция), Восточной (Чехия, Венгрия, Румыния, Белоруссия, Украина) и Южной (Испания, Италия, Греция, Македония, Словения, Турция) Европы.

Наличие в филогенетической структуре *S. flavicollis* трех вышеописанных филогрупп, а также включение гаплотипов из рассматриваемых нами краевых популяций с территории Урала в Северо-Восточную филогруппу подтверждаются как результатами филогенетических реконструкций с использованием различных методов построения, так и результатами анализа медианной сети (рис. 2, в). Различия между тремя филогруппами составляют от четырех (Западная и Северо-Восточная) до

пяти (Северо-Восточная и Юго-Восточная) мутационных шагов. Внутри Западной и Северо-Восточной групп выявлены звездчатые структуры.

Результаты анализа парных различий между частичными (838 пн) последовательностями гена цитохрома *b* *S. flavicollis* Северо-Восточной группы (рис. 3), к которой принадлежат гаплотипы из исследуемых популяций на восточной границе ареала вида, и тестов Таджимы (Tajima's $D = -2.172$; $P < 0.05$) и Фу (Fu's $F_s = -19.786$; $P < 0.01$) указывают на прохождение данной филогруппы через стадию увеличения эффективного размера популяции.

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного анализа кариотипов и последовательностей гена цитохрома *b* мт ДНК желтогорлой мыши с территории Южного и Среднего Урала впервые получены данные о генетической изменчивости в популяциях этого вида на восточной границе ареала.

Кариотипы семи исследованных особей из самого северо-восточного из известных на сегодняш-

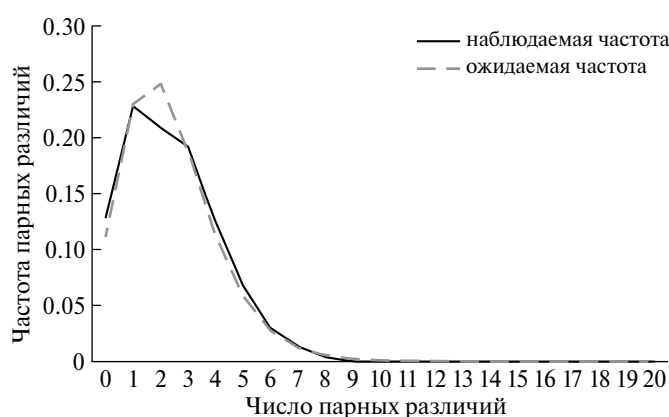


Рис. 3. Соотношение парных различий между последовательностями фрагмента гена цитохрома *b* (838 пн) *S. flavicollis* в Северо-Восточной филогруппе. Наблюдаемые значения – частоты парных различий между всеми последовательностями, относящимися к данной филогруппе. Ожидаемые значения – теоретическое распределение частот парных различий между последовательностями при использовании модели изменения эффективного размера популяции.

ний день местообитаний *S. flavicollis* (Нижнеиргинская дубрава, Средний Урал) были представлены 48 плавно убывающими по размеру акроцентрическими хромосомами, включая половые. Добавочных хромосом не обнаружено. Тем не менее, учитывая значительную вариабельность встречаемости В-хромосом у *S. flavicollis* [7, 10, 14], на основании однократного анализа небольшой выборки нельзя однозначно исключить возможность их присутствия с низкой частотой в изучаемой краевой популяции. Таким образом, у желтогорлой мыши на восточной границе видового ареала не выявлено отклонений от стандартного хромосомного набора ни по числу, ни по морфологии хромосом. Данные кариологического анализа согласуются с мнением ряда авторов об уменьшении частоты встречаемости добавочных хромосом у желтогорлой мыши в периферийных популяциях [7, 10].

На основании анализа последовательности гена цитохрома *b* мтДНК длиной 1133 пн у 44 особей из пяти популяций желтогорлой мыши с территории Среднего и Южного Урала описано 17 гаплотипов, ни один из которых не был обнаружен ранее в других частях ареала. Сопоставление показателей генетического разнообразия в исследуемых выборках показало, что вблизи восточной границы ареала прослеживается тенденция увеличения нуклеотидного разнообразия в направлении с севера на юг, при этом наименьшее разнообразие наблюдается в самом северном из местообитаний желтогорлой мыши (Нижнеиргинская дубрава, Средний Урал). Согласно результатам анализа генетической структуры (ANOVA, Φ_{ST}), эта популяция также наиболее дифференцирована от остальных четырех. По-видимому, наблюдаемые межпопуляционные различия *S. flavicollis* в восточной части области распространения вида связаны как с относительной обособленностью местообитания на Среднем Урале (самое северо-восточное из известных на сегодня [25]), так и с особенностями истории расселения вида по территории Уральского региона и восточной границе ареала в целом.

Согласно представлениям о формировании внутривидовой генетической структуры [37] относительно высокое гаплотипическое разнообразие при низких значениях нуклеотидного разнообразия, наблюдаемое у желтогорлой мыши на восточной границе ареала (табл. 2), может свидетельствовать об относительно недавнем происхождении исследуемых краевых популяций в результате быстрого расселения. Результаты анализа демографической истории Северо-Восточной филогруппы, к которой принадлежат гаплотипы, описанные нами на востоке ареала *S. flavicollis*, также подтверждают

это предположение. Анализ парных различий показал, что данная филогруппа прошла через стадию увеличения эффективного размера популяции, что может быть проинтерпретировано как активное расселение в недавнем прошлом по занимаемой в настоящее время территории.

Результаты филогенетического анализа секвенированных нами последовательностей гена цитохрома *b* желтогорлой мыши с восточной границы ареала и последовательностей, представленных в базе данных GenBank, демонстрируют принадлежность всех гаплотипов, описанных на Урале, к Северо-Восточной филогруппе. Анализ распространения и филогенетических взаимоотношений внутри и между митохондриальными линиями желтогорлой мыши показывает близкое родство между восточными и северными краевыми популяциями (Урал и Прибалтика).

Выявленная в ходе сравнительного анализа дифференциация *S. flavicollis* не противоречит имеющимся на сегодняшний момент представлениям о филогеографической структуре вида. Все проанализированные нами последовательности кластеризуются на три филогруппы – Западную, Юго-Восточную и Северо-Восточную (рис. 2), соответствующие кладам А, В и С, описанным ранее [21]. Включение в анализ данных с восточной границы ареала *S. flavicollis* также подтверждает высказанное ранее предположение о быстром расселении Северо-Восточной группы (клада В [21]) по занимаемой в настоящее время территории в недавнем прошлом [20], о чем свидетельствуют топология медианной сети (рис. 2), анализ парных различий между частичными последовательностями гена цитохрома *b* (838 пн) внутри этой группы (рис. 3), а также результаты тестов Таджимы (Tajima's *D*) и Фу (Fu's *F_s*).

Таким образом, проведенное нами исследование генетической изменчивости желтогорлой мыши на восточной периферии области распространения дополняет имеющиеся представления о внутривидовой генетической структуре вида и позволяет верифицировать предположения, сделанные ранее без включения в анализ данных из этой части видового ареала. Полученные результаты свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения *S. flavicollis* на территории Восточно-Европейской равнины, в частности, для решения вопросов о закономерностях распространения хромосомного полиморфизма и о возможном расселении на восток других филогрупп в ходе формирования современного видового ареала.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 16-04-01625.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Громов И.М., Ербаева М.А. Млекопитающие фауны России и сопредельных территорий. Зайцеобразные и грызуны. СПб.: ЗИН РАН, 1995. 522 с.
2. Corbet G., Ovenden D. The mammals of Britain and Europe. UK, London: William Collins Sons, 1980. 253 p.
3. Wilson D.E., Reeder D.M. Mammal Species of the World, a Taxonomic and Geographic Reference, Third Ed. Baltimore: Johns Hopkins Univ. Press, 2005. 2142 p.
4. Саблина О.В., Раджабли С.И., Голенищев Ф.И. Добавочные хромосомы в кариотипе желтогорлой мыши (*Apodemus flavicollis*) из Ленинградской области // Зоол. журн. 1985. Т. 64. № 12. С. 1901–1903.
5. Боескоров Г.Г., Картавцева И.В., Загороднюк И.В. и др. Ядрышкообразующие районы и В-хромосомы лесных мышей (Mammalia, Rodentia, *Apodemus*) // Генетика. 1995. Т. 31. № 2. С. 185–192.
6. Наджафова Р.С. Уникальные перестройки хромосом в кариотипах желтогорлых мышей (*Apodemus flavicollis*) разных популяций // Генетика. 1997. Т. 33. № 1. С. 126–129.
7. Картавцева И.В. Кариосистематика лесных и полевых мышей (Rodentia: Muridae). Владивосток: Дальнаука, 2002. 142 с.
8. Vujošević M., Blagojević J., Radosavljević J., Bejaković D. B-chromosome polymorphism in populations of *Apodemus flavicollis* in Yugoslavia // Genetica. 1991. V. 83. P. 167–170.
9. Vujošević M., Blagojević J. Does environment affect polymorphism of B-chromosomes in the yellow-necked mouse *Apodemus flavicollis*? // Z. Säugetierk. 2000. V. 65. P. 313–317.
10. Zima J., Macholán M. B-chromosomes in the wood mice (genus *Apodemus*) // Acta Theriol. 1995. V. 40. P. 75–86.
11. Zima J., Piálek J., Macholán M. Possible heterotic effects of B-chromosomes on body mass in a population of *Apodemus flavicollis* // Can. J. Zool. V. 2003. V. 81. P. 1312–1317. doi: 10.1139/z03–128
12. Wójcik A.M. Genetic variation in a fluctuating population of the yellow-necked mouse *Apodemus flavicollis* // Acta Theriol. 1993. V. 38. P. 273–290.
13. Wójcik J.M., Wójcik A.M., Macholán M. et al. The mammalian model for population studies of B-chromosomes: the wood mouse (*Apodemus*) // Cytogenet. Genome Res. 2004. V. 106. P. 264–270. doi: 10.1159/000079297
14. Bugarski-Stanojević V., Stamenković G., Blagojević J. et al. Exploring supernumeraries – a new marker for screening of B-chromosomes presence in the yellow necked mouse *Apodemus flavicollis* // PLoS One. 2016. V. 11. P. 1–18. doi:10.1371/journal.pone.0160946
15. Martin Y., Gerlach G., Schlötterer C., Meyer A. Molecular phylogeny of European murid rodents based on complete cytochrome b sequences // Mol. Phylogenet. Evol. 2000. V. 16. P. 37–47. doi: 10.1006/mpev.1999.0760
16. Kryštufek B., Lužnik M., Buzan E.V. Mitochondrial cytochrome b sequences resolve the taxonomy of field mice (*Apodemus*) in the western Balkan refugium // Acta Theriol. 2012. V. 57. P. 1–7. doi: 10.1007/s13364–011–0045–x
17. Hooper S.R., Gaschak S., Dunina-Barkovskaya Y. et al. New information for systematics, taxonomy, and phylogeography of the rodent genus *Apodemus* (*Sylvaemus*) in Ukraine // J. Mammalogy. 2007. V. 88. P. 330–342. doi: 10.1644/06-MAMM-A-218R1.1
18. Serizawa K., Suzuki H., Tsuchiya K. A phylogenetic view on species radiation in *Apodemus* inferred from variation of nuclear and mitochondrial genes // Biochem. Genet. 2000. V. 38. P. 27–41. doi: 10.1023/A:1001828203201
19. Michaux J.R., Chevret P., Filippucci M.-G., Macholan M. Phylogeny of the genus *Apodemus* with a special emphasis on the subgenus *Sylvaemus* using the nuclear IRBP gene and two mitochondrial markers: cytochrome b and 12S rRNA // Mol. Phylogenet. Evol. 2002. V. 23. P. 123–136. doi: 10.1016/S1055–7903(02)00007–6
20. Michaux J.R., Libois R., Paradis E., Filippucci M.-G. Phylogeographic history of the yellow-necked field mouse (*Apodemus flavicollis*) in Europe and in the Near and Middle East // Mol. Phylogenet. Evol. 2004. V. 32. P. 788–798. doi: 10.1016/j.ympev.2004.02.018
21. Michaux J.R., Libois R., Filippucci M.-G. So close and so different: comparative phylogeography of two small mammal species, the yellow-necked fieldmouse (*Apodemus flavicollis*) and the Woodmouse (*Apodemus sylvaticus*) in the Western Palearctic region // Heredity. 2005. V. 94. P. 52–63. doi: 10.1038/sj.hdy.6800561
22. Eckert C.G., Samis K.E., Lougheed S.C. Genetic variation across species' geographical ranges: the central-marginal hypothesis and beyond // Mol. Ecol. 2008. V. 17. P. 1170–1188. doi: 10.1111/j.1365–294X.2007.03659.x
23. Gaston K.J. Geographic range limits: achieving synthesis // Proc. Royal Soc. 2009. V. 276. P. 1395–1406. doi:10.1098/rspb.2008.1480
24. Sexton J.P., McIntyre P.J., Angert A.L., Rice K.J. Evolution and ecology of species range limits // Ann. Rev. Ecol. Evol. Systemat. 2009. V. 40. P. 415–436. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.110308.120317
25. Изварин Е.П., Зыков С.В., Фоминых М.А. Желтогорлая мышь (*Sylvaemus flavicollis*, Muridae) – новый вид в фауне млекопитающих Свердловской области // Зоол. журн. 2013. Т. 92. № 3. С. 371–374. doi: 10.7868/S0044513413010066
26. Макгрегор Г., Варли Дж. Методы работы с хромосомами животных. М.: Мир, 1986. 272 с.
27. 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.
28. Tougaard C., Brunet-Lecomte P., Fabre M., Montuire S. Evolutionary history of two allopatric Terricola species (Arvicolinae, Rodentia) from molecular, morphological,

- and palaeontological data // *Biol. J. Linn. Soc.* 2008. V. 93. P. 309–323.
29. Hall T.A. Bio-Edit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT // *Nucl. Acids Symp. Series.* 1999. V. 41. P. 95–98.
 30. Tamura K., Peterson D., Peterson N. et al. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. // *Mol. Biol. Evol.* 2013. V. 30. № 12. P. 2725–2729. doi: 10.1093/molbev/mst197
 31. Nylander J.A.A. MrModeltest v2. Program distributed by the author // *Evol. Biol. Centre, Uppsala Univ.* 2004. V. 2.
 32. Ronquist F., Teslenko M., Van Der Mark P. et al. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space // *System. Biol.* 2012. V. 61. № 3. P. 539–542. doi: 10.1093/sysbio/sys029
 33. Bandelt H.-J., Forster P., Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // *Mol. Biol. Evol.* 1999. V. 16. № 1. P. 37–48.
 34. Excoffier L., Laval G., Schneider S. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis // *Evol. Bioinform. Online.* 2005. V. 1. P. 47–50.
 35. Librado P., Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data // *Bioinformatics.* 2009. V. 25. № 11. P. 1451–1452.
 36. Barboza S., Pauperio J., Searle J.B., Alves P.C. Genetic identification of Iberian rodent species using both mitochondrial and nuclear loci: application to noninvasive sampling // *Mol. Ecol. Res.* 2013. V. 13. P. 43–56. doi: 10.1111/1755-0998.12024
 37. Avise J.C. *Phylogeography: The History and Formation of Species.* Harvard Univ. Press, 2000. 447 p.

Genetic Variability in the Yellow-Necked Field Mouse (*Sylviaemus Flavicollis* Melch., 1834, Muridae, Rodentia) at The Eastern Boundary of the Range

L. E. Yalkovskaya*, P. A. Sibiryakov, S. V. Zykov

*Institute of Plant and Animal Ecology, Ural Branch of Russian Academy of Sciences,
Ekaterinburg, 620144 Russia*

*e-mail: lida@ipae.uran.ru

The study of genetic variability in populations of *S. flavicollis* along the eastern boundary of the range is carried out for the first time. Seven individuals from the most northeastern limit of the species distribution (Middle Urals) are karyotyped. No deviations from the standard chromosome set are revealed. Analysis of mtDNA cytochrome *b* gene sequences (1133 bp) in 44 individuals from five populations along the eastern boundary of the range (Middle and Southern Urals) reveals 17 haplotypes. All 17 haplotypes are new and are not known in other parts of the range. Indices of genetic diversity and analysis of the demographic and genetic structure indicate a relatively recent origin of the studied populations and rapid expansion. Phylogenetic analysis (97 haplotypes, including GenBank data) shows that all the haplotypes described along the eastern boundary of the range belong to a single phylogroup, which also inhabits the Balkan region, Northern and Eastern Europe and European Russia (Samara region). The close relation between the easternmost populations in the Urals and northern populations in the Eastern Europe is shown.

Keywords: genetic differentiation, B-chromosomes, mitochondrial genome, cytochrome *b* gene, phylogeography, peripheral populations, intraspecies variability.