

УДК 577.21:591.15-932.345

## АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ И ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ МАЛОЙ ЛЕСНОЙ МЫШИ *Sylvaemus uralensis* (Rodentia, Muridae) МЕТОДОМ RAPD-PCR

© 2009 г. А. С. Богданов\*, Д. М. Атопкин\*\*, Г. Н. Челомина\*\*

\*Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, 119334 Москва, ул. Вавилова, 26

\*\*Биолого-почвенный институт ДВО РАН, 690069 Владивосток, просп. 100-летия Владивостока, 159

E-mail: cytogen-idb@yandex.ru

Поступила в редакцию 24.08.2008 г.

В настоящей работе подтверждена отчетливая дифференциация малой лесной мыши *Sylvaemus uralensis* на две популяционные группы, соответствующие европейской и азиатской расам, которые, тем не менее, не могут рассматриваться в качестве самостоятельных видов из-за низких значений генетических дистанций. Разобщенность близких восточно-европейской и южно-европейской хромосомных форм, составляющих европейскую расу, не поддержана однозначно ни одним из использованных статистических методов. Однако по характеру полиморфизма все хромосомные формы/расы малой лесной мыши отличаются друг от друга, что, по-видимому, обусловлено как историей их формирования (близостью к анцестральному популяционному комплексу, изоляцией и пр.), так и неодинаковыми экологическими условиями существования в настоящее время.

Группа лесных и полевых мышей (род *Apodemus sensu lato*), состоящая в основном из морфологически близких, но репродуктивно обособленных видов, уже давно привлекает внимание генетиков-эволюционистов. Кариологические и молекулярно-генетические методы позволили успешно провести диагностику видов группы, получить данные о степени их генетической дивергенции и решить ряд таксономических проблем (Воронцов и др., 1977, 1992; Saitoh *et al.*, 1989; Межжерин, Зыков, 1991; Filippucci, 1992; Боескоров и др., 1995; Орлов и др., 1996; Orlov *et al.*, 1996; Межжерин, 1997; Mezhzherin, 1997; Челомина и др., 1998а, б, 2007; Serizawa *et al.*, 2000; Macholan *et al.*, 2001; Картавцева, 2002; Filippucci *et al.*, 2002; Michaux *et al.*, 2002; Suzuki *et al.*, 2003; Челомина, 2005 и др.). Тем не менее, по-прежнему остро ощущается недостаток работ, посвященных изучению внутривидовой дифференциации. Подобные исследования необходимы для познания особенностей эволюционного процесса на ранних стадиях видообразования. В этом плане особый интерес представляют широкоареальные виды со сложной, дискретной генетической изменчивостью. К таковым относится малая лесная мышь *Sylvaemus uralensis* (синоним — *S. microps*).

Этот вид распространен в Западной и Центральной Палеарктике от Восточной Австрии до Алтая, Тянь-Шаня, Памиро-Алая (Corbet, 1978; Musser, Carleton, 1993; Громов, Ербаева, 1995; Павлинов и др., 1995). Малая лесная мышь характеризуется достаточно сложной генетической диффе-

ренциацией, и, несмотря на ряд проведенных исследований, ее уровень и таксономическая интерпретация остаются предметом дискуссий.

Первые сведения о внутривидовой дифференциации *S. uralensis* были получены посредством аллозимного анализа (Межжерин, Михайленко, 1991; Межжерин, 1996, 1997; Mezhzherin, 1997). Было установлено, что выборки малых лесных мышей с Северного Алтая и Памиро-Алая отличаются как друг от друга, так и от особей *S. uralensis* европейской части России и Закавказья по наличию уникальных аллелей нескольких высоко изменчивых белков. Несмотря на сравнительно низкие значения генетических дистанций, Межжериным было высказано мнение о принадлежности малых лесных мышей Северного Алтая и Памиро-Алая к самостоятельным видам: *S. kastschenko* и *S. pallipes* соответственно. К сожалению, их подробное изучение в дальнейшем никем не предпринималось.

Позже, на ином материале, методом дифференциального С-окрашивания хромосом были выявлены отличия по содержанию прицентромерного гетерохроматина в кариотипах малых лесных мышей (Орлов и др., 1996; Orlov *et al.*, 1996; Челомина и др., 1998а; Богданов, 2001; Картавцева, 2002), но в отношении таксономического “веса” этого признака и количества выделяемых хромосомных форм было высказано несколько противоречивых суждений. Согласно мнению Орлова и соавт. (Орлов и др., 1996; Orlov *et al.*, 1996), группы популяций малой лесной мыши, отличающиеся по числу

хромосом с крупными прицентромерными С-блоками, целесообразно рассматривать в качестве самостоятельных видов. Позже к этому утверждению присоединились некоторые другие исследователи (Баскевич, Малыгин, 2003; Баскевич и др., 2004а, б; Окулова и др., 2005), однако в качестве дополнительных диагностических признаков “видов” *S. mosquensis* и *S. ciscaucasicus* были приведены лишь незначительные различия по ширине головок сперматозоидов (Баскевич и др., 2004а, б).

Другая точка зрения состоит в том, что изменчивость размеров С-сегментов у малой лесной мыши является отражением начального этапа дифференциации этого вида (Челомина и др., 1998а; Богданов, 2001; Картавцева, 2002). Согласно одному из мнений, с достаточной уверенностью можно выделить три хромосомные формы *S. uralensis*, которые были названы в примерном соответствии с их географическим распространением восточно-европейской, южно-европейской и азиатской (Богданов, 2001). Позже оказалось, что азиатская хромосомная форма отличается от двух других по многим генетическим признакам, и не только карiotипическим, поэтому ее было предложено рассматривать в качестве расы. В состав “альтернативной” расы – европейской – включены близкие восточно-европейская и южно-европейская хромосомные формы (Богданов, 2004; Богданов, Розанов, 2005).

Восточно-европейская хромосомная форма малой лесной мыши населяет Центрально-Черноземный и Нечерноземный регионы России, Крымский полуостров, Среднее Поволжье, Южный Урал, Зауралье и южные территории Западной Сибири до р. Иртыш. Распространение южно-европейской хромосомной формы, до которой был низведен выделенный Орловым и соавт. (Орлов и др., 1996; Orlov *et al.*, 1996) вид *S. ciscaucasicus*, охватывает Кавказ, Закавказье, Карпаты и Балканский полуостров. Азиатская раса описана по материалу из восточных областей Казахстана, из Узбекистана и Восточного Туркменистана (Богданов, 2001; Богданов и др., 2007). Границы распространения каждой из хромосомных форм/рас *S. uralensis* окончательно еще не установлены. В одном из пунктов на юге Омской области обнаружены отдаленные гибриды восточно-европейской хромосомной формы и азиатской расы (Богданов и др., 2008). Также не исключена гибридизация восточно-европейской и южно-европейской хромосомных форм.

До настоящего времени было предпринято несколько исследований изменчивости фрагментов ДНК у *S. uralensis*, но все работы, за исключением одной, выполнены на ограниченных выборках (Челомина и др., 2000, 2007; Илларионова и др., 2005;

Челомина, 2005; Балакирев и др., 2007). К тому же анализ нуклеотидной последовательности фрагмента гена цитохрома *b* митохондриальной ДНК у малых лесных мышей всех хромосомных форм/рас, проведенный Челоминой и соавт. (2007), показал очень высокое сходство восточно-европейской и южно-европейской хромосомных форм, но при этом неожиданно высокий уровень дивергенции европейской и азиатской рас *S. uralensis*, сопоставимый с межвидовым. Таким образом, уточнение масштабов дифференциации данного вида требует использования комплекса молекулярно-генетических признаков.

Цель данной работы – определение на обширном материале посредством RAPD-PCR анализа уровня дивергенции и характера филогенетических связей всех хромосомных форм/рас *S. uralensis*, а также уточнение их таксономического статуса путем сравнения с другими видами рода *Sylvaemus*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили 69 экз. пяти видов рода *Sylvaemus*, в том числе 54 малые лесные мыши. По одной особи домовая мышь *Mus musculus*, полевой мыши *Apodemus agrarius*, полевки-экономки *Microtus oeconomus* и маньчжурского цокора *Myospalax psilurus* использованы в качестве аутгрупп. Места отлова экземпляров видов *Sylvaemus* и объем выборок представлены ниже. Принадлежность всех малых лесных мышей к той или иной хромосомной форме/расе была предварительно установлена посредством С-окрашивания хромосом, за исключением одного животного из окрестностей пос. Черга Республики Алтай, которое было диагностировано только по фрагменту гена цитохрома *b*.

### *S. uralensis*. Европейская раса

*Восточно-европейская хромосомная форма:*  
1. Ивановская обл., Приволжский р-н, г. Плес (1 экз.). 2. Рязанская обл., Сараевский р-н, окрестности пос. Алексеевка (3 экз.). 3. Окрестности г. Курск, Центрально-Черноземный заповедник (1 экз.). 4. Тамбовская обл., Мордовский р-н, окрестности пос. Мордово (3 экз.). 5. Чувашия, г. Чебоксары (3 экз.). 6. Самарская обл., Ставропольский р-н, окрестности пос. Бахилова Поляна, Жигулевский заповедник (2 экз.). 7. Самарская обл., Борский р-н, окрестности пос. Герасимовка и Гостевка (2 экз.). 8. Саратовская обл., Озинский р-н, около 2 км к югу от пос. Модин (2 экз.). 9. Оренбургская обл., Кувандыкский р-н, окрестности пос. Бурангулово и Мухамедьярово (2 экз.).

**Таблица 1.** Праймеры, использованные при проведении RAPD-PCR анализа

Праймер	Нуклеотидная последовательность (5'...3')
OPC-02	GTGAGGCGTC
OPC-05	GATGACCGCC
OPC-08	TGGACCGGTG
OPC-12	TGTCATCCCC
OPF-05	CCGAATTCCC
OPF-07	CCGATATCCC
OPF-08	GGGATATCGG
OPF-10	GGAAGCTTGG
OPF-12	ACGGTACCAG
OPA-07	GAAACGGGTG
OPA-10	GTGATCGCAG
OPD-5	TGAGCGGACA

*Южно-европейская хромосомная форма:*  
10. Молдова, окрестности г. Кишинев (1 экз.).  
11. Краснодарский край, территория, подчиненная г. Сочи, окраина г. Хоста (1 экз.).  
12. Краснодарский край, территория, подчиненная г. Сочи, 5 км к северо-востоку от пос. Красная Поляна, Кавказский заповедник (3 экз.).  
13. Кабардино-Балкария, окраина г. Нальчик (4 экз.).

*S. uralensis. Азиатская раса*

14. Казахстан, Павлодарская обл., Павлодарский р-н, окрестности пос. Розовка (1 экз.).  
15. Республика Алтай, Шебалинский р-н, окрестности пос. Черга (1 экз.).  
16. Казахстан, Семипалатинская обл., Жарминский р-н, окрестности пос. Каратубе, Калбинский хребет (2 экз.).  
17. Казахстан, Восточноказахстанская обл., Курчумский р-н, отроги Нарымского хребта (2 экз.).  
18. Казахстан, Семипалатинская обл., Аксуатский р-н, 25 км к юго-западу от пос. Аксуат, хребет Тарбагатай (2 экз.).  
19. Казахстан, Талдыкурганская обл., Каратальский р-н, 28 км к северо-западу от г. Уштобе, пойма р. Каратал (1 экз.).  
20. Казахстан, Талдыкурганская обл., Борлитобинский р-н, 33 км к западу от пос. Матай, пойма р. Аксу (1 экз.).  
21. Казахстан, Талдыкурганская обл., Уйгентасский р-н, окрестности пос. Бибакан, Джунгарский Алатау (2 экз.).  
22. Казахстан, Талдыкурганская обл., Гвардейский

р-н, 10 км к северо-востоку от пос. Рудничный, Джунгарский Алатау (3 экз.).  
23. Казахстан, Талдыкурганская обл., Кербулакский р-н, хребет Алтынэмель, перевал Алтынэмель, Джунгарский Алатау (1 экз.).  
24. Казахстан, Алма-Атинская обл., Каскеленский р-н, 20 км к югу от г. Каскелен, Заилийский Алатау (2 экз.).  
25. Казахстан, Южноказахстанская (Чимкентская) обл., около 30 км к северу от г. Чимкент, окрестности пос. Кызыл Октябрь, пойма р. Арыс (1 экз.).  
26. Узбекистан, Ташкентская обл., Кураминский хребет: перевал Чапанкуйды и долина р. Ангрэн в 35 км от г. Ангрэн (2 экз.).  
27. Туркменистан, Лебапский велаят. Хребет Кугитанг, гора Айрыбаба и прилегающие территории: ущелье Дарай-Дара, окрестности пос. Свинцовый Рудник; ущелье Кырккыз, окрестности пос. Ходжайпиль (5 экз.).

*S. ponticus*

28. Краснодарский край, территория, подчиненная г. Сочи, окраина г. Хоста (4 экз.).  
29. Грузия, окрестности г. Тбилиси (2 экз.).

*S. fulvipectus*

30. Туркменистан, Балканский велаят, Сюнт-Хасардагский заповедник. Хребет Копетдаг: подножие горы Исак и ущелье Йолдере (4 экз.).  
31. Армения, окрестности пос. Мегри (2 экз.).

*S. flavicollis*

32. Украина, окрестности г. Киев (1 экз.).

*S. sylvaticus*

33. Украина, окрестности г. Киев (2 экз.).

Для RAPD-анализа использовали 12 десяти-нуклеотидных праймеров с 60–70%-ным содержанием G и C оснований (Operon Technologies Inc., США и СибЭнзим, Россия) (табл. 1). Подготовка образцов, ПЦР и электрофорез продуктов амплификации выполнялись в соответствии с методиками, описанными ранее (Атопкин и др., 2007). По картинам электрофореза составляли бинарные матрицы; наличие полос обозначалось “1”, отсутствие – “0”. Учитывались все полосы, визуально выявляемые в гелях. В статистическую обработку были включены результаты, полученные при использовании всех 12 праймеров, независимо от гетерогенности паттернов.

Изменчивость RAPD-спектров оценивалась тестом на нейтральность Ивенса–Уоттерсона (Ewens, 1972; Watterson, 1978), выявляющим локусы, которые были подвержены влиянию главным

образом нейтральных факторов эволюции (дрейфа генов и т.п.).

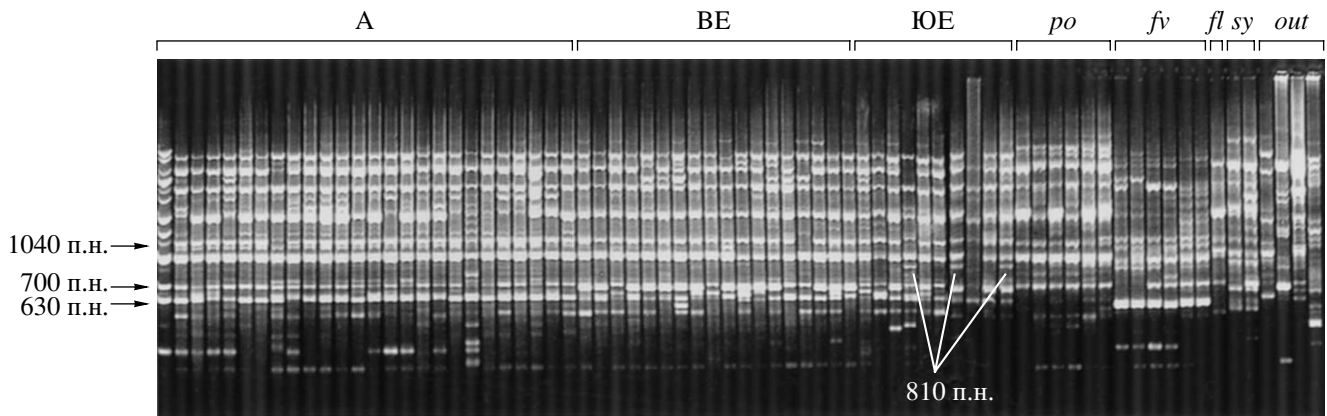
С целью повышения достоверности определения популяционной генетической изменчивости малые лесные мыши из нескольких пунктов были объединены в более крупные выборки. Для вида *S. uralensis* в целом, а также для его отдельных и сборных выборок, в том числе хромосомных форм и рас, были рассчитаны параметры внутривыборочной генетической изменчивости (доля полиморфных локусов  $P$ , среднее ожидаемое ( $n_a$ ) и эффективное ( $n_e$ ) число аллелей на локус, коэффициент гетерогенности Шеннона–Вивера  $I$ , теоретически ожидаемая несмещенная гетерозиготность с поправкой на величину выборки  $H_{umb}$ , средняя внутривыборочная генетическая дистанция  $D$ , рассчитанная при попарном сравнении особей) и показатели межпопуляционной генетической дифференциации (общее генное разнообразие  $H_s$ , внутривыборочное генное разнообразие  $H_v$ , межпопуляционное генное разнообразие  $D_{st}$ , коэффициент генной фиксации  $G_{st}$ , коэффициент генных потоков, выраженный через количество мигрантов на поколение,  $N_m$ , межпопуляционная несмещенная генетическая дистанция с поправкой на величину выборки  $D_{umb}$ ) (Shannon, Weaver, 1949; Nei, 1972, 1978, 1987; Slatkin, 1987; Hartl, Clark, 1989). Для оценки уровня дифференциации популяций малой лесной мыши с помощью точного теста (Exact test) определена вероятность ( $p$ ) генетической однородности отдельно взятых или объединения сравниваемых попарно выборок (Raymond, Rousset, 1995; Sokal, Rohlf, 1995), а также использованы методы многомерной статистики – многомерное шкалирование и дискриминантный анализ (Боровиков, 1998).

Первичную обработку электрофоретических спектров и получение бинарных матриц проводили с использованием программы RFLPScan 3.12. Расчет параметров внутри- и межпопуляционной изменчивости осуществлен с помощью программ PopGene 32 (Yeh *et al.*, 1999), NTSys (Rohlf, 1993) и TFGA 1.3 (Miller, 1997), а дискриминантный анализ и многомерное шкалирование – с использованием программы Statistica 6.0 (Боровиков, 1998). Реконструкции, отражающие генетическое сходство и филогенетические связи, выполнены посредством кластерного анализа невзвешенным парно-групповым методом с арифметическим усреднением (UPGMA), методом ближайшего связывания (NJ) и построением минимального спенинг-древа (MST) на основе попарных генетических дистанций Нея с использованием программ TREECONw (Van de Peer, De Wachter, 1994, 1997), TFGA 1.3 (Miller, 1997) и NTSys (Rohlf, 1993).

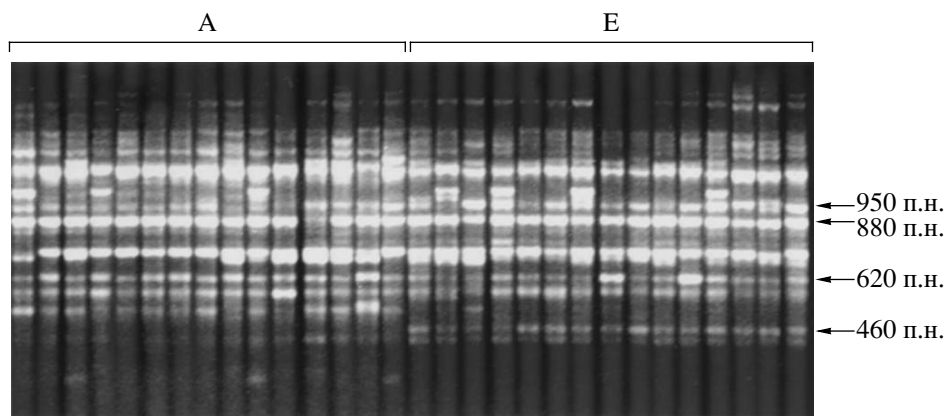
## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

*Описание RAPD-спектров и характеристика генетической изменчивости и дифференциации малой лесной мыши.* Количество полос ДНК в электрофоретических спектрах в зависимости от праймера варьировало от 12 до 25, а длина фрагментов – от 125 до 3500 п.н. В общей сложности у всех исследованных видов грызунов зарегистрировано 476 RAPD-локусов, а у *S. uralensis* – 255, из которых 89.4% были полиморфными. Праймеры OPF-10 и OPF-12 выявили наибольшее число неизменных локусов у исследованных видов *Sylvaemus*, являясь, таким образом, наименее эффективными и при анализе дифференциации *S. uralensis*. RAPD-спектры, полученные при использовании остальных десяти праймеров, в целом продемонстрировали высокий уровень изменчивости среди видов *Sylvaemus* и хромосомных форм/рас малой лесной мыши. *S. uralensis* имеет больше общих признаков с азиатскими видами *S. ponticus* и *S. fulvipectus* (20 и 28 соответственно), чем с европейскими *S. sylvaticus* и *S. flavicollis* (14 и 15). Видоспецифичные для малой лесной мыши маркерные зоны выявлены при использовании праймеров OPC-05 (950, 880, 620 п.н.), OPF-05 (560 п.н.) и OPA-07 (1040, 630 п.н.) (рис. 1).

Около 17% RAPD-фрагментов оказались специфичными для европейской или азиатской расы малой лесной мыши. Наиболее эффективными для диагностики особей *S. uralensis* на предмет их принадлежности к той или иной хромосомной форме/расе оказались праймеры OPC-05 и OPF-07. При использовании праймера OPC-05 был выявлен признак, “фиксированный” у европейской расы и отсутствующий у азиатской – 460 п.н. (рис. 2), а с праймером OPF-07 – фрагмент 490 п.н., характерный только для малых лесных мышей азиатской расы, за исключением одной особи из Талдыкурганской обл. Один из локусов, выявленный с помощью праймера OPA-07 (810 п.н.), оказался специфичным для некоторых экземпляров южно-европейской хромосомной формы (рис. 1). При использовании праймера OPC-02 обнаружен фрагмент 410 п.н., имеющийся лишь у части малых лесных мышей восточно-европейской хромосомной формы. В некоторых случаях различия между хромосомными формами/расами *S. uralensis* наблюдались не только по размеру фрагментов, но и по выраженности полос: так, с помощью праймера OPA-07 выявлена полоса 700 п.н., имеющая высокую интенсивность у большинства экземпляров восточно-европейской хромосомной формы и слабую – почти у всех особей южно-европейской хромосомной формы и азиатской расы (рис. 1). Остальные праймеры дают только “частотные” различия по наличию-отсутствию фрагментов



**Рис. 1.** RAPD-спектры ДНК лесных мышей и других видов грызунов, полученные при использовании праймера ОРА-07. А – азиатская раса *S. uralensis*; BE – восточно-европейская, ЮЕ – южно-европейская хромосомные формы европейской расы *S. uralensis*; po – *S. ponticus*, fv – *S. fulvipectus*, fl – *S. flavicollis*, sy – *S. sylvaticus*, out – особи других родов грызунов (слева направо – *Apodemus agrarius*, *Mus musculus*, *Microtus oeconomus*, *Myospalax psilurus*).



**Рис. 2.** RAPD-спектры ДНК малых лесных мышей, полученные при использовании праймера ОРС-05. А – азиатская, Е – европейская расы *S. uralensis*.

ДНК между хромосомными формами и расами малой лесной мыши. С помощью теста Ивенса–Уоттерсона установлено, что основная часть полиморфных локусов (79.5% у азиатской расы и 77% у европейской) является селективно нейтральной.

У рас *S. uralensis* большинство полиморфных RAPD-локусов встречаются со средней частотой (0.2–0.7): их доля составила 59% у азиатской расы и примерно столько же у европейской (56.5%). По высокочастотным и низкочастотным локусам (обнаруженным в выборках с частотой выше 0.7 и ниже 0.2 соответственно) между двумя расами обнаружены более существенные различия. У азиатской расы выявлено больше высокочастотных локусов (15%), чем у европейской (9%). По низкочастотным локусам картина противоположна: их доля составляет 26% у азиатской расы и 34.5% – у европейской. Возможно, что утрата части редких локусов в популяциях азиатской расы обусловлена

эффектами основателя или “бутылочного горлышка”.

Величины параметров генетической изменчивости в нескольких отдельных и объединенных выборках, а также у хромосомных форм и рас *S. uralensis* представлены в табл. 2. Европейская и азиатская расы в целом характеризуются близкими значениями всех показателей. Восточно-европейская хромосомная форма превосходит южно-европейскую почти по всем параметрам изменчивости (что, вероятно, связано с неодинаковым размером выборок), но уступает азиатской и европейской расам в целом. Южно-европейская хромосомная форма выделяется лишь высоким значением внутривыборочной генетической дистанции, превышающим таковое даже у *S. uralensis*. Однако сравнение локальных выборок дает иную картину: выборки с Кавказа существенно отличаются от прочих, примерно равных им по размеру и со-

**Таблица 2.** Основные параметры генетического разнообразия выборок, хромосомных форм, рас *S. uralensis* и средние внутривыборочные величины генетических дистанций

Выборка		$N$	$N_p$	$n_a$	$n_e$	$I$	$P$	$P_{95}$	$P_{99}$	$H_{unb}$	$D$	
Е	ВЕ	2 ( $n = 3$ )	161	78	1.39	1.28	0.23	38.61			0.19	0.22
		4 ( $n = 3$ )	153	58	1.29	1.19	0.16	28.71			0.13	0.16
		5 ( $n = 3$ )	156	72	1.36	1.25	0.21	35.64			0.17	0.22
		ВЕ, все выборки (1–9, $n = 19$ )	207	157	1.62	1.33	0.3	61.6	55.3	64.31	0.2	0.24
	ЮЕ	11, 12 ( $n = 4$ )	174	103	1.49	1.3	0.26	48.82			0.2	0.21
		13 ( $n = 4$ )	177	109	1.52	1.32	0.28	51.66			0.21	0.26
		ЮЕ, все выборки (10–13, $n = 9$ )	213	141	1.55	1.31	0.28	55.3	55.3	55.3	0.19	0.28
	Е, все выборки (1–13, $n = 28$ )	230	183	1.72	1.34	0.31	71.7	56.1	71.77	0.21	0.25	
А	22 ( $n = 3$ )	167	69	1.27	1.18	0.15	27.06			0.11	0.2	
		19–23 ( $n = 8$ )	197	117	1.52	1.29	0.26	51.54			0.18	0.19
		25, 26 ( $n = 3$ )	163	74	1.33	1.22	0.19	32.6			0.15	0.25
		27 ( $n = 5$ )	170	87	1.38	1.24	0.21	38.33			0.15	0.19
		А, все выборки (14–27, $n = 26$ )	235	186	1.73	1.36	0.33	72.94	60	72.94	0.22	0.24
Вид <i>S. uralensis</i> в целом (1–27, $n = 54$ )		255	228	1.89	1.4	0.37	89.41	68.63	81.57	0.25	0.27	

Примечание. Е – европейская, А – азиатская расы *S. uralensis*; ВЕ – восточно-европейская, ЮЕ – южно-европейская хромосомные формы европейской расы *S. uralensis* (для табл. 2–5).  $n$  – объем выборки,  $N$  – количество зарегистрированных RAPD-локусов,  $N_p$  – количество полиморфных локусов.  $P_{95}$ ,  $P_{99}$  – доли полиморфных локусов с учетом 95 и 99%-ных критериев полиморфизма. Выделены номера пунктов отлова (см. раздел “Материалы и методы”) (для табл. 2, 3).

стоящих из 3–5 особей, большими величинами показателей генетического разнообразия. Самым высоким уровнем полиморфизма характеризуется выборка из окрестностей Нальчика, а наименьшими значениями данных параметров – выборка из Тамбовской обл. Таким образом, возможно, что южно-европейская хромосомная форма *S. uralensis* является наиболее генетически гетерогенной. Однако это предположение нуждается в проверке на более репрезентативном материале, принимая во внимание противоречивые оценки степени полиморфизма, полученные для южно-европейской хромосомной формы при разных способах расчетов.

Параметры генетической дифференциации выборок малой лесной мыши и вида в целом представлены в табл. 3. При попарном сравнении выборок внутри каждой расы показатели среднего межвыборочного генного разнообразия  $D_{st}$  оказались в 1.7–3.6 раза ниже среднего внутривыборочного генного разнообразия  $H_s$  и в 2.7–4.6 раза ниже

среднего общего генного разнообразия  $H_t$ . Судя по соотношению величин  $H_s/D_{st}$ , основная доля гетерогенности у той и другой расы представлена внутривыборочной компонентой. Азиатская и европейская расы в целом характеризуются сходным уровнем дифференциации ( $D_{st} = 0.08$  и  $0.09$  соответственно). При попарном сравнении популяций азиатской расы, восточно-европейской и южно-европейской хромосомных форм выяснилось, что менее всего обособлены две последние ( $D_{st} = 0.04–0.06$ ).

Самый низкий уровень генных фиксаций был установлен при сопоставлении восточно-европейской и южно-европейской хромосомных форм в целом ( $G_{st} = 0.07$ ,  $N_m = 7.16$ ), а самый высокий – для южно-европейской хромосомной формы и азиатской расы ( $G_{st} = 0.17$ ,  $N_m = 2.38$ ).

При оценке генетической общности пар выборок или гетерогенности какой-либо из них исполь-

Таблица 3. Параметры генетической дифференциации хромосомных форм, рас и вида *S. uralensis* в целом

Выборка		$H_t$	$H_s$	$D_{st}$	$G_{st}$	$N_m$	$P$ (Exact test)		
							$\chi^2$	$df$	$p$
BE/BE	2/4	0.16	0.1	0.05	0.33	1.01	62.6	338	1
	2/5	0.19	0.12	0.07	0.38	0.81	113.1	358	1
	4/5	0.15	0.1	0.05	0.32	1.07	55	352	1
BE, все выборки (1–9)		0.23	0.14	0.1	0.41	0.73	299.8	404	1
ЮЕ/ЮЕ	11, 12/13	0.23	0.18	0.05	0.21	1.93	88.7	422	1
ЮЕ, все выборки (10–13)		0.18	0.12	0.06	0.67	0.25	88.7	422	1
E, все выборки (1–13)		0.23	0.14	0.09	0.41	0.73	531.9	510	0.24
A/A	19–23/25, 26	0.18	0.14	0.04	0.21	1.9	195.9	422	1
	19–23/27	0.18	0.14	0.05	0.25	1.53	388.5	422	0.88
	25, 26/27	0.17	0.13	0.04	0.23	1.64	171.1	454	1
A, все выборки (14–27)		0.23	0.15	0.08	0.34	0.96	621.4	510	0
BE/ЮЕ	2/11, 12	0.19	0.12	0.06	0.34	0.96	225.7	366	1
	2/13	0.19	0.13	0.05	0.28	1.28	187.5	386	1
	4/11, 12	0.15	0.11	0.05	0.32	1.05	182	368	1
	4/13	0.16	0.12	0.04	0.28	1.3	151.7	380	1
	5/11, 12	0.17	0.12	0.05	0.31	1.09	202.7	372	1
	5/13	0.17	0.13	0.04	0.25	1.51	164.6	396	1
	1–9/10–13 (BE/ЮЕ, все выборки)	0.23	0.21	0.02	0.07	7.16	336.6	460	1
BE/A	2/19–23	0.21	0.14	0.07	0.34	0.98	399.2	422	0.78
	4/19–23	0.19	0.12	0.07	0.37	0.86	370.1	416	0.95
	5/19–23	0.2	0.13	0.07	0.33	1	371.6	420	0.96
	2/25, 26	0.21	0.12	0.09	0.42	0.7	144	412	1
	4/25, 26	0.19	0.11	0.09	0.45	0.62	145.1	402	1
	5/25, 26	0.2	0.12	0.08	0.39	0.77	112.6	402	1
	2/27	0.21	0.12	0.09	0.41	0.72	368.8	400	0.87
	4/27	0.19	0.11	0.08	0.45	0.62	356.2	394	0.91
	5/27	0.21	0.12	0.09	0.42	0.69	373.2	398	0.81
	1–9/14–27 (BE/A, все выборки)	0.24	0.21	0.03	0.14	3.15	1287.8	502	0
ЮЕ/A	11, 12/19–23	0.21	0.14	0.07	0.34	0.97	502.2	428	0.01
	13/19–23	0.22	0.15	0.07	0.31	1.14	485.4	434	0.04
	11, 12/25, 26	0.2	0.13	0.08	0.38	0.81	312.9	418	1
	13/25, 26	0.22	0.14	0.09	0.38	0.8	315.2	426	1
	11, 12/27	0.21	0.13	0.08	0.4	0.75	468.1	408	0.02
	13/27	0.22	0.14	0.08	0.38	0.83	481.2	422	0.02
	10–13/14–27 (ЮЕ/A, все выборки)	0.24	0.2	0.04	0.17	2.38	990	508	0
E/A	1–13/14–27 (E/A, все выборки)	0.24	0.21	0.03	0.13	3.26	1490.5	510	0

Примечание. Сравнимые группы выборок разделены наклонной чертой.

**Таблица 4.** Значения межпопуляционных генетических дистанций Нея ( $D_{umb}$ )

	BE (0.24)	ЮЕ (0.28)	Е (0.26)	А (0.25)	<i>S. uralensis</i> (0.29)	<i>S. ponticus</i> (0.17)	<i>S. flavicollis</i>	<i>S. fulvipectus</i> (0.21)	<i>S. sylvaticus</i>
BE	–								
ЮЕ	0.27	–							
Е	–	–	–						
А	0.33	0.37	0.33	–					
<i>S. uralensis</i>	–	–	–	–	–				
<i>S. ponticus</i>	0.93	0.97	0.94	1.02	0.98	–			
<i>S. flavicollis</i>	1.08	1.09	1.08	1.09	1.09	0.83	–		
<i>S. fulvipectus</i>	1.09	1.1	1.09	1.12	1.11	0.88	0.87	–	
<i>S. sylvaticus</i>	1.19	1.16	1.17	1.14	1.16	1.1	0.8	1.12	–

Примечание. В скобках указаны средние значения межпопуляционных дистанций, рассчитанные в пределах некоторых видов *Sylvaemus*, а также хромосомных форм/рас *S. uralensis*.

звался “точный тест” на дифференциацию (Exact test). При попарном сравнении всех выборок генетически наиболее разобщенными оказались среднеазиатские и кавказские по отношению друг к другу. Так, при сопоставлении сборной выборки из Талдыкурганской обл. с таковыми из Кабардино-Балкарии и Краснодарского края вероятность их объединения в единую популяцию составила всего лишь 0.04 и 0.01 соответственно; вероятность генетического единства выборки из Восточного Туркменистана с теми же кавказскими также оказалась незначительной (0.02 в обоих случаях). Результаты сравнения остальных пар выборок, в том числе и разных хромосомных форм/рас *S. uralensis*, статистически не подтвердили разобщенности популяций ( $p = 0.78-1$ ).

При сопоставлении хромосомных форм и рас в целом с помощью “точного теста” показана общность восточно-европейской и южно-европейской хромосомных форм ( $p = 1$ ). Положение азиатской расы оценено как высоко обособленное по отношению и к европейской расе, и к составляющим ее хромосомным формам ( $p = 0$  во всех случаях). Интересно, что высоко гетерогенными признаны не только вид *S. uralensis* в целом ( $p = 0$ ), но и европейская, и азиатская расы, причем последняя в большей степени ( $p = 0.24$  и 0 соответственно).

Межпопуляционные генетические дистанции Нея ( $D_{umb}$ ) в пределах вида *S. uralensis* составили в среднем 0.29 (табл. 4). Европейская и азиатская расы характеризовались близкими средними величинами дистанций (0.26 и 0.25 соответственно). Как и в случае с внутривыборочными дистанциями,

следует отметить неожиданно высокое среднее значение  $D_{umb}$  у южно-европейской хромосомной формы (0.28), превосходящее соответствующие показатели не только у восточно-европейской хромосомной формы, но и у обеих рас. Средняя величина дистанции, полученная при сопоставлении популяций разных рас, оказалась несколько выше (0.33), чем для каждой из них в отдельности. Тем не менее, значения  $D_{umb}$ , полученные при сравнении особей *S. uralensis* и других видов *Sylvaemus*, изменялись от 0.8 (*S. flavicollis/S. sylvaticus*) до 1.16 (*S. uralensis/S. sylvaticus*), в среднем составив в общей выборке мышей рода *Sylvaemus* 0.99. Эти величины более чем в два раза превышают таковые между популяциями рас малой лесной мыши, отчетливо показывая значительно более слабый уровень их дивергенции не только в сравнении с “хорошими” видами *Sylvaemus*, но даже с близкими *S. flavicollis* и *S. ponticus*.

Межвыборочные генетические дистанции, рассчитанные в пределах вида *S. uralensis* в целом, хорошо коррелируют с географическими расстояниями между популяциями: коэффициент корреляции  $r$  составляет 0.83 (табл. 5). Однако при анализе этой зависимости у каждой из рас и хромосомных форм в отдельности и в том или ином их сочетании оказалось, что характер связи в каждом случае особый, и в частности, весьма отличны значения коэффициентов корреляции. Самые низкие величины  $r$  были получены для восточно-европейской хромосомной формы и европейской расы (0.29 и 0.06 соответственно), т.е. в пределах данных популяционных групп практически не прослеживается



**Таблица 5.** Значения коэффициента корреляции ( $r$ ), показывающие зависимость межвыборочных генетических дистанций Нея ( $D_{umb}$ ) от географических расстояний между популяциями малых лесных мышей

	BE	ЮЕ	Е	А	BE + А	ЮЕ + А	Вид <i>S. uralensis</i> в целом
$r$	0.29	0.99	0.06	0.87	0.86	0.63	0.83

зависимость генетических различий популяций от их удаленности. Вероятно, это обусловлено высоким генетическим сходством выборок и относительно равномерным распределением полиморфизма в пределах восточно-европейской хромосомной формы и европейской расы малой лесной мыши. Значения коэффициента корреляции, напротив, оказались весьма высоки у южно-европейской хромосомной формы и азиатской расы (0.99 и 0.87 соответственно), что может указывать на их существенную гетерогенность.

Для уточнения уровня дифференциации хромосомных форм/рас *S. uralensis* нами дополнительно использованы методы многомерной статистики: дискриминантный анализ и многомерное шкалирование. При дискриминантном анализе в модель распределения выборок восточно-европейской, южно-европейской хромосомных форм и азиатской расы были включены следующие параметры: количество полиморфных локусов  $N_p$  ( $\lambda = 0.25$ ), среднее ожидаемое число аллелей на локус  $n_a$  ( $\lambda = 0.23$ ) и внутривыборочные генетические дистанции Нея  $D$  ( $\lambda = 0.0099$ ). На графике распределения азиатская раса оказалась высоко обособленной от восточно-европейской и южно-европейской форм на 90%-ном уровне значимости. Различия между двумя последними были менее выражены. Анализ распределения выборок европейской и азиатской рас с введением в модель числа полиморфных локусов  $N_p$  ( $\lambda = 0.175$ ), доли полиморфных локусов  $P$  ( $\lambda = 0.05$ ), индекса гетерогенности Шеннона–Вивера  $I$  ( $\lambda = 0.0097$ ) и несмещенной гетерозиготности  $H_{umb}$  ( $\lambda = 0.0084$ ) позволил дискриминировать указанные популяционные группы с вероятностью 95%.

Методом многомерного шкалирования с использованием значений межвыборочных попарных генетических дистанций Нея также выявлена отчетливая обособленность рас малой лесной мыши (рис. 3). В трехмерном пространстве наблюдается строгое разделение общей выборки *S. uralensis* на две группы, представляющие собой европейскую и азиатскую расы. Примечательно, что одна особь, отловленная в окрестностях пос. Черга (Республика Алтай), заняла промежуточное положение между

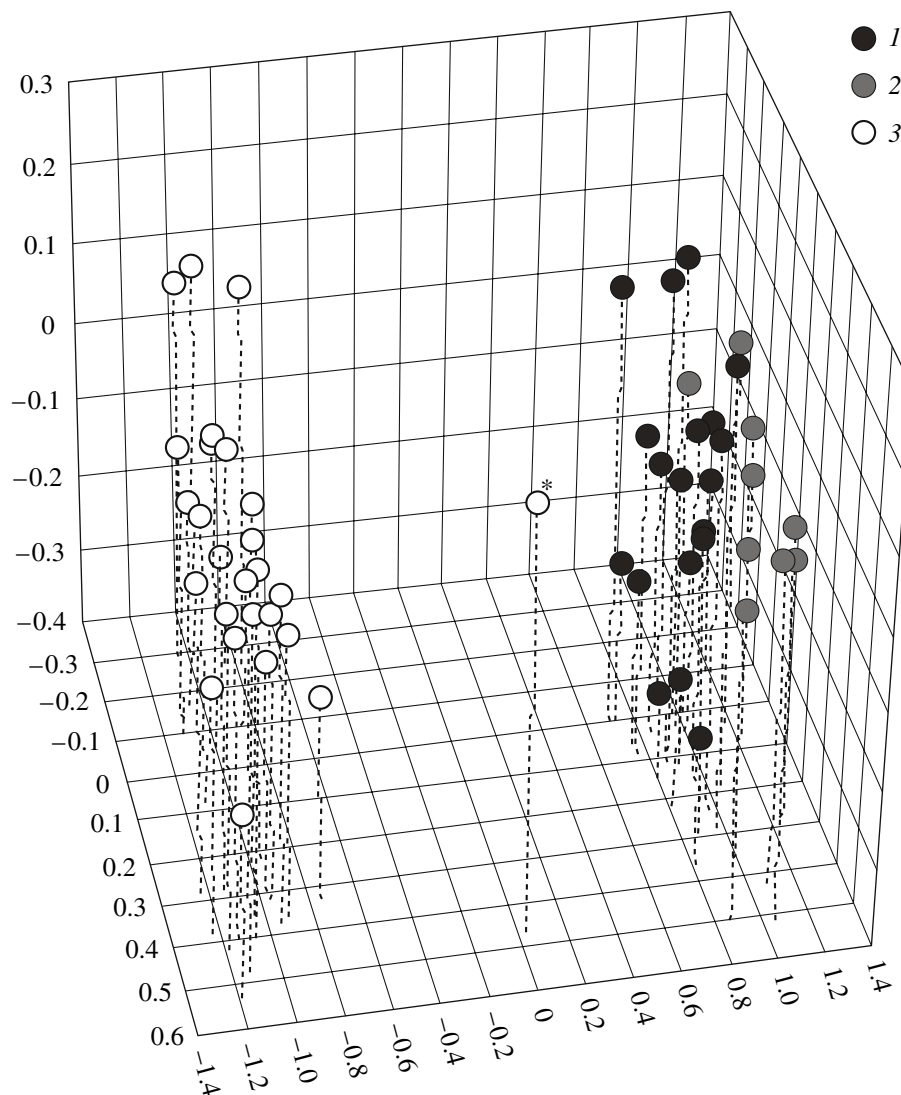
этим группами. Сколь-либо существенного разединения восточно-европейской и южно-европейской хромосомных форм не наблюдается.

Обобщая результаты анализа генетической изменчивости вида *S. uralensis* и его хромосомных форм/рас, с достаточной уверенностью можно говорить лишь о высокой обособленности азиатской расы и ее большей дифференциации в сравнении с европейской расой – этот вывод поддерживается несколькими использованными тестами.

**Филогенетические реконструкции.** На UPGMA- и NJ-дендрограммах, построенных на основе попарных генетических дистанций между отдельными особями *S. uralensis* и прочих видов *Sylvaemus*, малые лесные мыши группируются без высокой статистической поддержки (бутстреп-индекс не превышает 68%) в два основных кластера: в один входят особи азиатской расы, в другой – особи европейской расы; на NJ-древе четыре особи южно-европейской хромосомной формы из Краснодарского края и Молдовы образуют дополнительный небольшой кластер (рис. 4, 5). Отчетливой дифференциации по популяциям или по принадлежности к восточно-европейской и южно-европейской хромосомным формам среди малых лесных мышей не наблюдается, за исключением того, что животные из Узбекистана и Восточного Туркменистана объединяются в компактную группу.

Экземпляры разных видов *Sylvaemus* кластеризуются строго в соответствии со своей таксономической принадлежностью. Все виды *Sylvaemus* высоко и примерно в равной степени обособлены друг от друга. Обращает на себя внимание существенно больший масштаб межвидовых генетических дистанций в сравнении с внутривидовыми (в том числе и с полученными при сопоставлении хромосомных форм/рас малой лесной мыши).

Аналогичное распределение особей *S. uralensis* демонстрирует MST-дерево (рис. 6). На нем также выделяются две группы особей, представляющие азиатскую и европейскую расы; связь между ними осуществляется через малых лесных мышей из окрестностей пос. Черга и из Саратовской обл. В группе, соответствующей азиатской расе, отчетливо выделяются линии из Северо-Восточного Казахстана (с Юго-Западного Алтая), а также из Узбекистана–Туркменистана, как и на UPGMA- и NJ-дендрограммах. В группе, соответствующей европейской расе, имеется основная линия, включающая особей из Самарской, Тамбовской и Саратовской областей. Экземпляры южно-европейской хромосомной формы, как и на предыдущих реконструкциях, не составляют единого комплекса и распределяются мозаично.

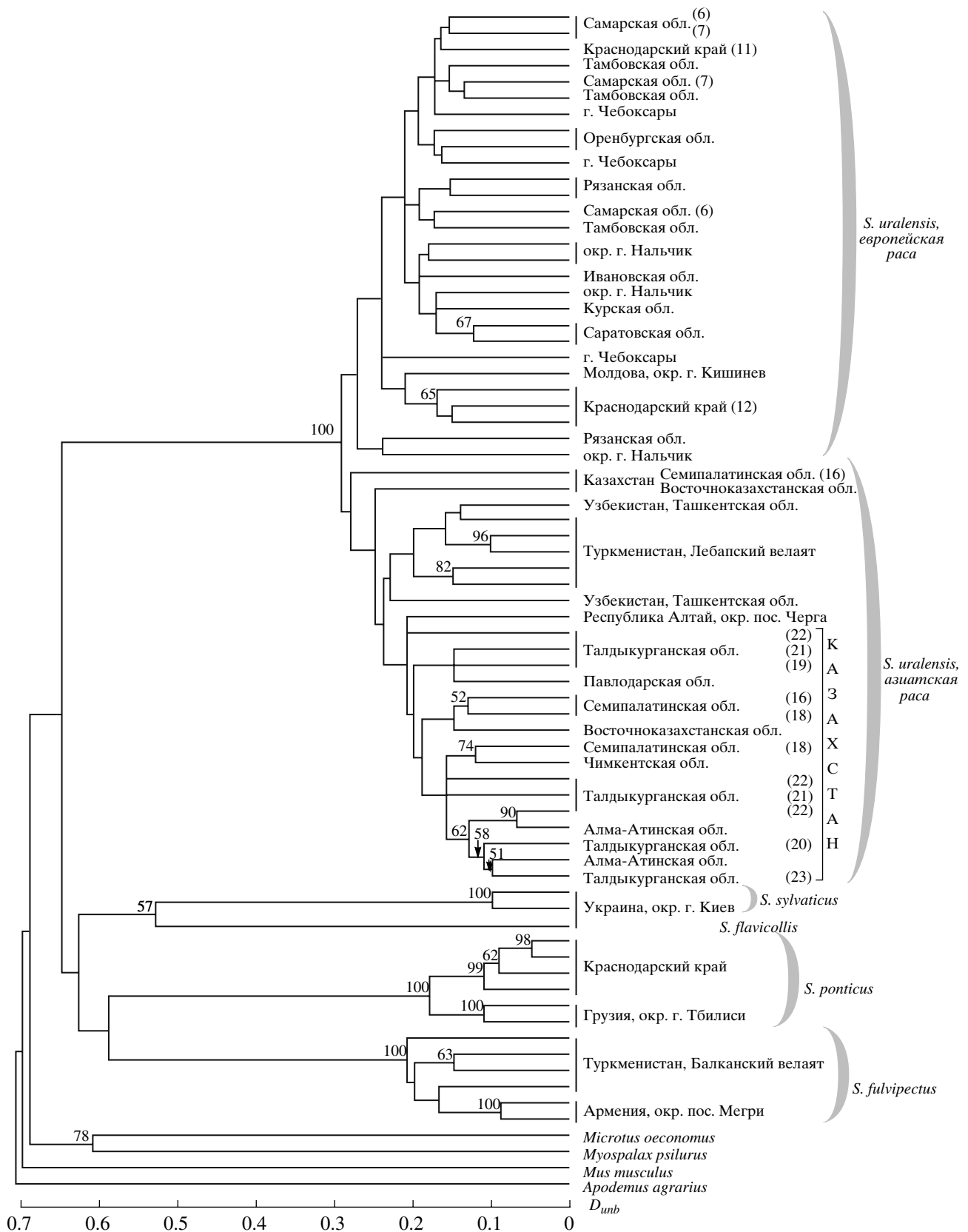


**Рис. 3.** Распределение малых лесных мышей восточно-европейской, южно-европейской хромосомных форм и азиатской расы при многомерном шкалировании. 1 – особи восточно-европейской хромосомной формы, 2 – южно-европейской хромосомной формы, 3 – азиатской расы (для рис. 3, 6); \*экземпляр из окрестностей пос. Черга.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты RAPD-анализа подтвердили существенную генетическую гетерогенность малой лесной мыши и дифференциацию этого вида на две популяционные группы, соответствующие европейской и азиатской расам (Богданов, 2001, 2004; Богданов, Розанов, 2005). Обособленность рас, наиболее ярко проявляющаяся в наличии “фиксированных” различий в RAPD-спектрах и статистически строго подтвержденная “точным тестом” на дифференциацию, дискриминантным, кластерным анализами и методом многомерного шкалирования, не вызывает сомнений и оправды-

вает выделение данных популяционных групп в особую категорию. Однако в противоположность данным, которые были получены при исследовании изменчивости фрагмента гена цитохрома *b* (Челомина и др., 2007), в настоящей работе показан резкий разрыв между значениями генетических дистанций, рассчитанных при сравнении видов *Sylvaemus*, с одной стороны, и рас малой лесной мыши – с другой, что не дает основания рассматривать последних как самостоятельные виды. Восточно-европейская и южно-европейская хромосомные формы, составляющие европейскую расу *S. uralensis*, несмотря на некоторую специфику RAPD-паттернов и характера полиморфизма у



**Рис. 4.** UPGMA-дендрограмма, построенная при сравнении отдельных особей *S. uralensis* и других видов грызунов. Цифры в узлах ветвления дендрограммы показывают значения бутстреп-индекса (%), полученные при 1000 репликаций; в скобках указаны номера выборок (см. раздел “Материалы и методы”) (для рис. 4, 5).

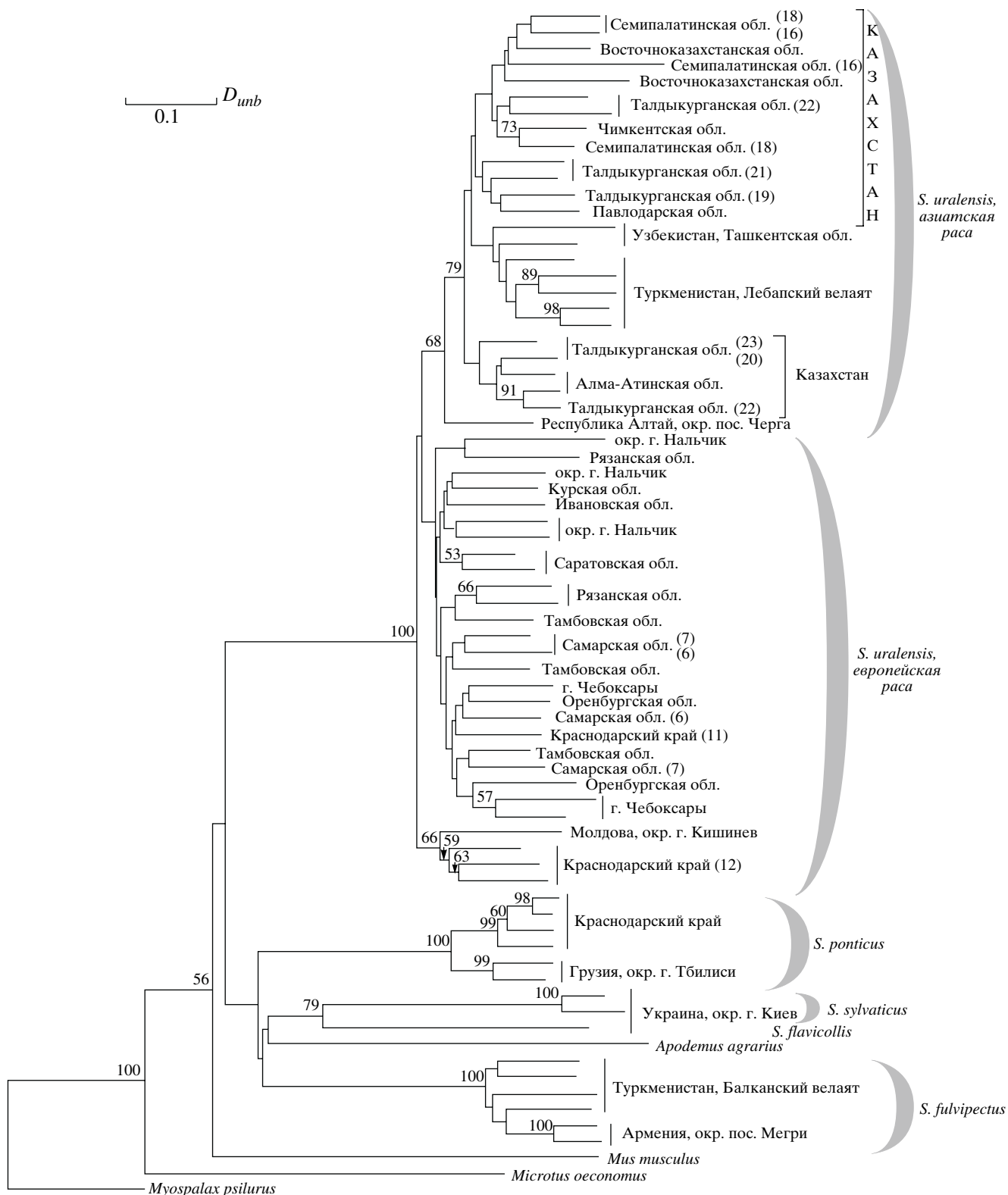
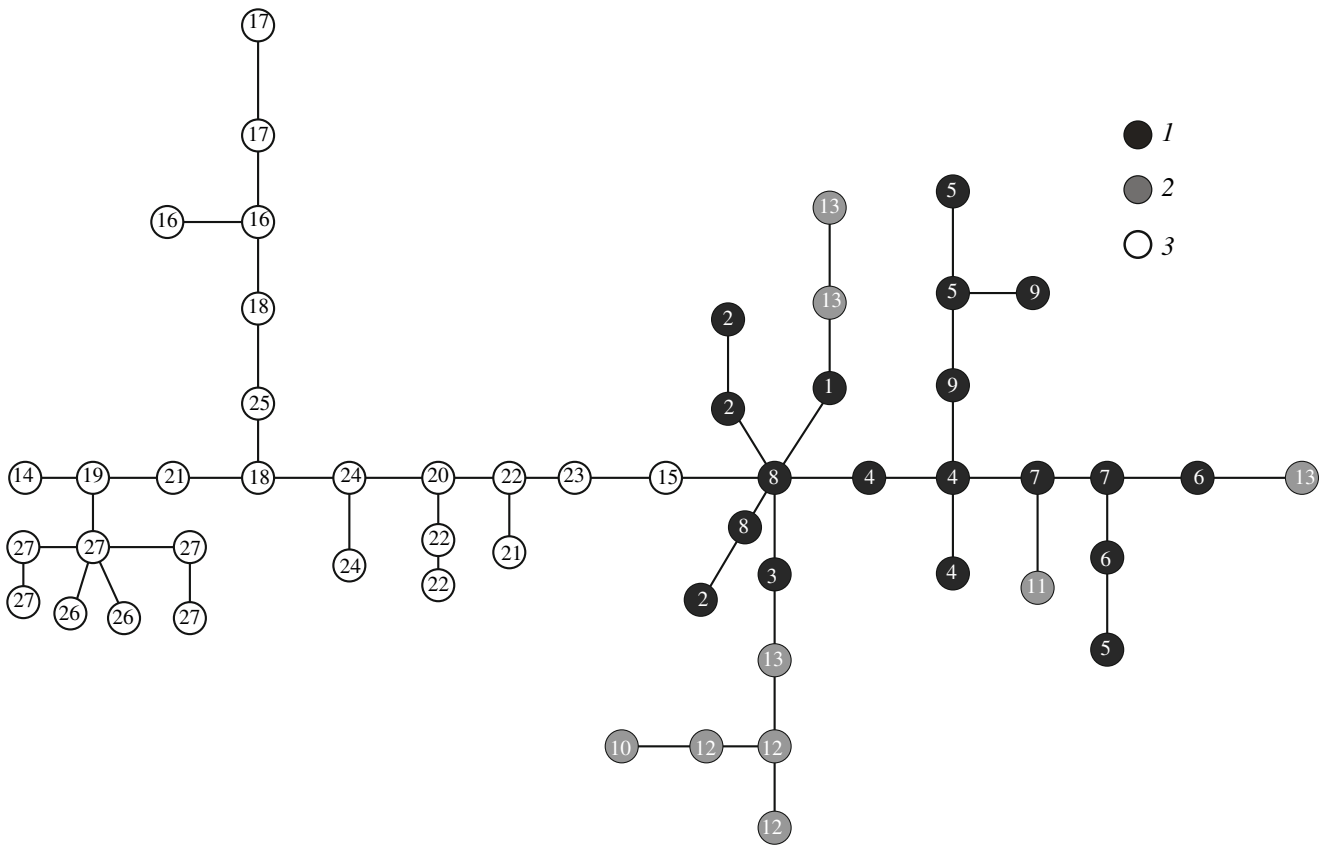


Рис. 5. NJ-дендрограмма, построенная при сравнении отдельных особей *S. uralensis* и других видов грызунов.



**Рис. 6.** MST-дерево, построенное при сравнении особей *S. uralensis*. Цифры в кружках – номера выборок (см. раздел “Материалы и методы”).

каждой из них, оказались близкими: их генетическая разобщенность не поддержана строго ни одним из использованных методов статистического анализа; аналогичные результаты были получены при исследовании изменчивости фрагмента гена цитохрома *b* (Балакирев и др., 2007; Челомина и др., 2007). Таким образом, выделение Орловым и соавт. (Орлов и др., 1996; Orlov *et al.*, 1996) хромосомных форм малой лесной мыши в отдельные виды *S. ciscaucasicus* и *S. mosquensis* не нашло веских подтверждений.

Все малые лесные мыши были однозначно диагностированы по спектру RAPD-фрагментов ДНК на предмет принадлежности к азиатской или европейской расе, за исключением единственной особи из окрестностей пос. Черга Республики Алтай. На NJ-, MST-дендрограммах и на полигоне распределения, полученном методом многомерного шкалирования, этот экземпляр занял промежуточное положение между расами. К сожалению, из-за отсутствия необходимого материала мы не имели возможности уточнить диагноз малой лесной мыши из Черги с помощью цитогенетических мето-

дов, хотя ее принадлежность к азиатской расе по нуклеотидной последовательности гена цитохрома *b* не вызывает сомнений (Челомина и др., 2007). Судя по месту отлова, данная особь принадлежит к подвиду *S. uralensis kastschenkoi*, который рассматривается Межжериным (Межжерин, 1997; Mezzhzherin, 1997) как самостоятельный вид. Однако выявленные в настоящей работе особенности малой лесной мыши из Черги вряд ли являются таксон-специфичными. Экземпляры *S. uralensis* из окрестностей г. Горно-Алтайск, принадлежащие к этому же подвиду, по характеру С-окрашивания хромосом, размеру генома и последовательности гена цитохрома *b*, несомненно, являются типичными представителями азиатской расы (Богданов и др., 2007; Челомина и др., 2007). Маловероятным представляется и гибридное происхождение особи из Черги, поскольку зона контакта европейской и азиатской рас малой лесной мыши находится довольно далеко от Северного Алтая – на территории Омской области (Богданов и др., 2007, 2008). Скорее всего, сложности при идентификации в этом случае обусловлены недостаточно высокой диагностической “мощностью” RAPD-PCR анали-

за. Таким образом, необходимо исследование экземпляра из Черги и дополнительного материала с Северного Алтая с использованием ряда других молекулярно-генетических маркеров.

Некоторые данные, полученные нами, позволяют прояснить события, происходившие при формировании азиатской и европейской рас *S. uralensis*. Вероятно, они возникли в результате изоляции крупных популяционных группировок малых лесных мышей в продолжение последнего ледникового периода, 70–10 тыс. лет назад (Богданов, 2002, 2004). По-видимому, разделению ареала вида предшествовало широкое распространение единой предковой формы по Западной Палеарктике (высокий полиморфизм, промежуточное положение в ареале и близость к закавказскому и средиземноморскому рефугиумам, свойственные южно-европейской хромосомной форме, указывают на ее возможное наибольшее генетическое родство с анцестральным популяционным комплексом); после периода изоляции, в голоцене, контакт рас мог на время восстановиться и несколько сгладить накопленные ими различия. Миграции малых лесных мышей в Среднюю Азию (и в обратном направлении) до начала ледникового периода и после его окончания теоретически могли происходить двумя путями – по северному побережью Каспийского моря и далее через Южное Зауралье, южные территории Западной Сибири, либо по южному побережью Каспийского моря и далее на восток через горные территории Северо-Восточного Ирана. “Южный” путь рассматривался как менее вероятный (Богданов, 2002), поскольку в настоящее время на Копетдаге и к востоку от него до хребта Кугитанг малая лесная мышь пока не обнаружена, однако нельзя исключить того, что вид мог проникать на эту территорию раньше. Тем не менее, строгая дискриминация “точным тестом” выборки южно-европейской хромосомной формы и азиатской расы, а также их наибольшая удаленность друг от друга на MST-реконструкции и на полигоне, полученном при многомерном шкалировании, указывают на то, что по крайней мере, за время, прошедшее после окончания ледникового периода, “южный” путь имел меньшее значение в распространении *S. uralensis* и в поддержании связи между образовавшимися расами, чем “северный” путь.

Дифференциация азиатской расы, прослеживаемая по итогам использования “точного теста”, кластерного анализа и по оценкам корреляции между генетическими дистанциями и географической удаленностью популяций, возможно, обусловлена некоторой обособленностью особи из окрестностей пос. Черга, а также экземпляров из Узбекистана и Восточного Туркменистана. Но не

исключено, что неоднородность азиатской расы отчасти может определяться неравномерным распределением полиморфизма, которое в свою очередь связано с экологическими условиями существования ее популяций. После завершения периода “голоценового оптимума” около 4.5 тыс. лет назад и усиления с тех пор аридизации обитание *S. uralensis* в Средней Азии оказалось приуроченным, в основном, к лесным и кустарниковым биотомам горных хребтов, а расположенные между ними равнинные степные, полупустынные и пустынные территории стали играть роль барьера в распространении малых лесных мышей. Длительная изоляция (или полуизоляция) популяций могла способствовать накоплению различий между ними за счет генного дрейфа. Примерно к такому же заключению приводят и расчеты частот редких RAPD-локусов у европейской и азиатской рас.

Результаты, полученные при сравнении видов *Sylvaemus*, свидетельствуют об их высокой генетической обособленности. Это следует особо отметить для кавказской мыши *S. ponticus*, видовая самостоятельность которой в последнее время подвергается сомнению со стороны некоторых исследователей (Балакирев и др., 2007) – по их мнению, кавказская мышь является формой желтогорлой мыши *S. flavicollis*. По данным RAPD-анализа, выполненного нами, *S. ponticus* и *S. flavicollis* оказались более близкими к другим видам *Sylvaemus*, нежели друг к другу. Таким образом, кавказская и желтогорлая мыши вряд ли могут рассматриваться как конспецифичные.

Авторы признательны А.А. Власову (Центрально-Черноземный заповедник), В.П. Вехнику (Жигулевский заповедник), Е.И. Жолнеровской (Институт систематики и экологии животных СО РАН), В.И. Ермолаеву (Институт цитологии и генетики СО РАН), С.Б. Поле (Казахский научный центр карантинных и зоонозных инфекций), О.В. Митропольскому (Узбекская противочумная станция), В.В. Марочкиной (Амударьинский заповедник), П.А. Тильбе, Б.С. Туниеву (Сочинский национальный парк) и Р.И. Дзюеву (Кабардино-Балкарский государственный университет) за содействие, оказанное при отлове животных и лабораторной обработке материала; О.В. Брандлеру (Институт биологии развития РАН) и А.Ю. Пузаченко (Институт географии РАН) за непосредственное участие в подготовке и проведении экспедиций. Мыши из Сюнт-Хасардагского заповедника переданы нам В.С. Лукаревским и В.Г. Потанским.

Работа частично выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проекты №№ 05-04-49118, 08-04-00937) и Программы Президиума РАН “Динамика генофондов”.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Атопкин Д.М., Богданов А.С., Челомина Г.Н. Генетическая изменчивость и дифференциация полевой мыши *Apodemus agrarius*: результаты RAPD-PCR-анализа // Генетика. 2007. Т. 43. № 6. С. 804–817.
- Балакирев А.Е., Баскевич М.И., Гмыль А.П. и др. К вопросу о таксономическом статусе формы *ciscaucasicus* и ее родственных отношениях с малой лесной мышью *Sylvaemus uralensis* по данным секвенирования гена цитохрома *b* мтДНК // Генетика. 2007. Т. 43. № 12. С. 1651–1666.
- Баскевич М.И., Малыгин В.М. Кариотип как маркер видовой и внутривидовой изменчивости грызунов-носителей возбудителей природно-очаговых инфекций в Кавказском регионе // Териолог. исследование. 2003. Вып. 4. С. 5–12.
- Баскевич М.И., Потапов С.Г., Окулова Н.М., Балакирев А.Е. Диагностика мышей рода *Apodemus* (Rodentia, Muridae) из западной части Большого Кавказа в условиях симбиотопии // Зоол. журн. 2004а. Т. 83. № 10. С. 1261–1269.
- Баскевич М.И., Потапов С.Г., Окулова Н.М. и др. Сравнительный анализ сперматозоидов шести видов мышей рода *Apodemus* (Rodentia, Muridae) из Восточной Европы и Закавказья // Зоол. журн. 2004б. Т. 83. № 6. С. 725–732.
- Богданов А.С. Хромосомная дифференциация популяций малой лесной мыши *Sylvaemus uralensis* в восточной части ареала вида // Зоол. журн. 2001. Т. 80. № 3. С. 331–342.
- Богданов А.С. Изучение ранних стадий дивергенции в группе лесных и полевых мышей с помощью молекулярно-генетических методов: Автореф. дис. канд. биол. наук. М.: МАКС Пресс, 2002. 25 с.
- Богданов А.С. Аллозимная изменчивость малой лесной мыши *Sylvaemus uralensis* (Rodentia, Muridae) и оценка уровня дивергенции хромосомных форм этого вида // Генетика. 2004. Т. 40. № 8. С. 1099–1112.
- Богданов А.С., Розанов Ю.М. Изменчивость размера ядерного генома у малой лесной мыши *Sylvaemus uralensis* (Rodentia, Muridae) // Генетика. 2005. Т. 41. № 10. С. 1369–1376.
- Богданов А.С., Розанов Ю.М., Якименко В.В., Малькова М.Г. Сведения о распространении рас малой лесной мыши *Sylvaemus uralensis* на территории Зауралья и Западной Сибири // Матер. конф. “Современные проблемы биологической эволюции”. Москва, 17–20 сентября 2007 г. М.: Изд-во Государственного Дарвиновского музея, 2007. С. 164–165.
- Богданов А.С., Розанов Ю.М., Якименко В.В., Малькова М.Г. Первые сведения о зоне контакта европейской и азиатской рас малой лесной мыши *Sylvaemus uralensis* и их гибридизации в природе // Матер. всерос. конф. “Фауна, зоогеография и экология животных”. Оренбург, 9 сентября 2008 г. Оренбург: Изд-во ОГПУ, 2008. С. 24–28.
- Боескоров Г.Г., Картавец 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.
- Боровиков В.П. Популярное введение в программу Statistica. М.: Компьютер Пресс, 1998. 266 с.
- Воронцов Н.Н., Бекасова Т.С., Крал Б. и др. О видовой принадлежности азиатских лесных мышей рода *Apodemus* Сибири и Дальнего Востока // Зоол. журн. 1977. Т. 56. Вып. 3. С. 437–449.
- Воронцов Н.Н., Боескоров Г.Г., Межжерин С.В. и др. Систематика лесных мышей подрода *Sylvaemus* Кавказа (Mammalia, Rodentia, *Apodemus*) // Зоол. журн. 1992. Т. 71. Вып. 3. С. 119–131.
- Громов И.М., Ербаева М.А. Млекопитающие фауны России и сопредельных территорий. Зайцеобразные и грызуны. СПб.: ЗИН РАН, 1995. 522 с.
- Илларионова Н.А., Потапов С.Г., Орлов В.Н. ДНК-полиморфизм популяций малых лесных мышей (*Apodemus uralensis*), выявляемый методом РАПД ПЦР // Бюл. МОИП. Отд. биол. 2005. Т. 110. Вып. 4. С. 78–79.
- Картавец И.В. Кариосистематика лесных и полевых мышей (Rodentia: Muridae). Владивосток: Дальнаука, 2002. 141 с.
- Межжерин С.В. Генетические связи и видовая принадлежность лесной мыши (Rodentia, Muridae, *Sylvaemus*) Памиро-Алая // Изв. РАН. Сер. биол. 1996. № 1. С. 30–38.
- Межжерин С.В. Ревизия мышей рода *Apodemus* (Rodentia, Muridae) Северной Евразии // Вестн. зоологии. 1997. Т. 31. № 4. С. 29–41.
- Межжерин С.В., Зыков А.Е. Генетическая дивергенция и аллозимная изменчивость мышей рода *Apodemus* s. lato (Muridae, Rodentia) // Цитология и генетика. 1991. Т. 25. № 4. С. 51–59.
- Межжерин С.В., Михайленко А.Г. О видовой принадлежности *Apodemus sylvaticus tscherga* (Rodentia, Muridae) Алтая // Вестн. зоологии. 1991. № 3. С. 35–44.
- Окулова Н.М., Юничева Ю.В., Баскевич М.И. и др. Видовое разнообразие, размещение и численность мелких млекопитающих южных территорий Краснодарского Края и Республики Адыгея // Матер. междунар. конф. “Млекопитающие горных территорий”. Нальчик, 4–9 сентября 2005 г. М.: КМК, 2005. С. 122–130.
- Орлов В.Н., Козловский А.И., Наджафова Р.С., Булатова Н.Ш. Хромосомные диагнозы и место генетических таксонов в эволюционной классификации лесных мышей подрода *Sylvaemus* Европы (*Apodemus*, Muridae, Rodentia) // Зоол. журн. 1996. Т. 75. Вып. 1. С. 88–102.
- Павлинов И.Я., Яхонтов Е.Л., Агаджанян А.К. Млекопитающие Евразии (систематико-географический справочник). Т. 1. Rodentia. М.: Изд-во МГУ, 1995. 240 с.
- Челомина Г.Н. Лесные и полевые мыши: молекулярно-генетические аспекты эволюции и систематики. Владивосток: Дальнаука, 2005. 204 с.
- Челомина Г.Н., Атопкин Д.М., Богданов А.С. Филогенетические связи видов и внутривидовых форм лесных мышей рода *Sylvaemus* по данным частич-

- ного секвенирования гена цитохрома *b* митохондриальной ДНК // Докл. РАН. 2007. Т. 416. № 2. С. 282–285.
- Челомина Г.Н., Богданов А.С., Сузуки Х. Молекулярно-генетическое типирование и таксономическая диагностика восточных популяций малой лесной мыши *Sylvaemus uralensis* Pallas, 1811: данные RAPD-PCR анализа // Систематика и филогения грызунов и зайцеобразных: Сб. статей. М., 2000. С. 179–181.
- Челомина Г.Н., Павленко М.В., Картавецва И.В. и др. Генетическая дифференциация лесных мышей Кавказа: сравнение изозимной, хромосомной и молекулярной дивергенции // Генетика. 1998а. Т. 34. № 2. С. 213–225.
- Челомина Г.Н., Сузуки Х., Сучия К. и др. Секвенирование гена цитохрома *b* мтДНК и реконструкция матриархальных связей лесных и полевых мышей рода *Apodemus* (Muridae, Rodentia) // Генетика. 1998б. Т. 34. № 5. С. 650–661.
- Corbet G.B. The mammals of the Palaearctic Region: a taxonomic review. L.; Ithaca: Cornell Univ. Press, 1978. 314 p.
- Ewens W.J. The sampling theory of selectively neutral alleles // Theor. Popul. Biol. 1972. V. 3. № 1. P. 87–112.
- Filippucci M.G. Allozyme variation and divergence among European, Middle Eastern, and North African species of the genus *Apodemus* (Rodentia, Muridae) // Israel J. Zool. 1992. V. 38. P. 193–218.
- Filippucci M.G., Macholán M., Michaux J.R. Genetic variation and evolution in the genus *Apodemus* (Muridae: Rodentia) // Biol. J. Linnean Soc. 2002. V. 75. № 3. P. 395–419.
- Hartl D.L., Clark A.G. Principles of population genetics. Sunderland: Sinauer Assoc., 1989. 682 p.
- Macholán M., Filippucci M.G., Benda P. et al. Allozyme variation and systematics of the genus *Apodemus* (Rodentia: Muridae) in Asia Minor and Iran // J. Mammalogy. 2001. V. 82. № 3. P. 799–813.
- Mezhzherin S.V. Biochemical systematics of the Wood mouse, *Sylvaemus sylvaticus* (L., 1758) sensu lato (Rodentia, Muridae) from Eastern Europe and Asia // Z. Säugetierkunde. 1997. B. 62. S. 303–311.
- Michaux J.R., Chevret P., Filippucci M.-G., Macholán 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. Phylogen. Evolution. 2002. V. 23. P. 123–136.
- Miller M.P. Tools for Population Genetics Analyses (TFPGA). A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data, version 1.3. Manual of computer software distributed by author. 1997.
- Musser G.G., Carleton M.D. Family Muridae // Mammal species of the World: a taxonomic and geographic reference. 2nd ed. / Eds Wilson D.E., Reeder D.M. W.: Smithsonian Institution, 1993. P. 501–755.
- Nei M. Genetic distance between populations // American Naturalist. 1972. V. 106. № 949. P. 283–292.
- Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals // Genetics. 1978. V. 89. № 3. P. 583–590.
- Nei M. Molecular evolutionary genetics. N.Y.: Columbia Univ. Press, 1987. 512 p.
- Orlov V.N., Bulatova N.Sh., Nadjafova R.S., Kozlovsky A.I. Evolutionary classification of European wood mice of the subgenus *Sylvaemus* based on allozyme and chromosome data // Bonner zool. Beiträge. 1996. B. 46. H. 1–4. S. 191–202.
- Raymond M.L., Rousset F. An exact test for population differentiation // Evolution. 1995. V. 49. P. 1280–1283.
- Rohlf F.J. NTSys-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system. N.Y.: Applied Biostatistics, 1993. 191 p.
- Saitoh M., Matsuoka N., Obara Y. Biochemical systematics of three species of the Japanese long-tailed field mice; *Apodemus speciosus*, *A. giliacus* and *A. argenteus* // Zool. Sci. 1989. V. 6. № 5. P. 1005–1018.
- Serizawa K., Suzuki H., Tsuchiya K. A phylogenetic view on species radiation in *Apodemus* inferred from variation of nuclear and mitochondrial genes // Biochem. Genetics. 2000. V. 38. № 1/2. P. 27–40.
- Shannon C.E., Weaver W. The mathematical theory of communication. Urbana: Univ. Illinois Press, 1949. P. 379–423.
- Slatkin M. Gene flow and the geographic structure of natural populations // Science. 1987. V. 236. P. 787–792.
- Sokal R.R., Rohlf F.J. Biometry. 3d ed. S. Francisco: W.H. Freeman, 1995. 887 p.
- Suzuki H., Sato J.J., Tsuchiya K. et al. Molecular phylogeny of wood mice (*Apodemus*, Muridae) in East Asia // Biol. J. Linnean Soc. 2003. V. 80. P. 469–481.
- Van de Peer Y., De Wachter R. TREECON for Windows: a software package for the constructions and drawing of evolutionary trees for the Microsoft Windows environment // Comput. Applic. Biosci. 1994. V. 10. P. 569–570.
- Van de Peer Y., De Wachter R. Construction of evolutionary distance trees with TREECON for Windows: accounting for variation in nucleotide substitution rate among sites // Comput. Applic. Biosci. 1997. V. 13. P. 227–230.
- Watterson G.A. The homozygosity test of neutrality // Genetics. 1978. V. 88. № 2. P. 405–417.
- Yeh F.C., Yang R.C., Boyle T.B.J. et al. POPGENE v. 3.2. The user-friendly shareware for population genetics analysis. Edmonton: Univ. Alberta, 1999. 157 p.



## **Analysis of Genetic Variation and Differentiation in the Pygmy Wood Mouse *Sylvaemus uralensis* (Rodentia, Muridae) Aided by Rapd-Pcr Method**

**A. S. Bogdanov\*, D. M. Atopkin\*\*, G. N. Chelomina\*\***

*\*Koltzov Institute of Developmental Biology RAS, 26, Vavilova st., Moscow, 119334*

*\*\*Institute of Biology and Soil Science FEB RAS, 159, Vladivostok's Centenary avenue, Vladivostok, 690069*

*E-mail: cytogen-idb@yandex.ru*

**Abstract**—The present work ascertains distinct differentiation of the pygmy wood mouse into two groups of populations, which correspond to the European and Asian races, but can not, however, be considered valid species due to the low values of genetic distances between them. Neither of the used statistical methods explicitly verifies genetic isolation of the East-European and South-European chromosomal forms, which are close to one another and together constitute the European race. However, polymorphism of these chromosomal forms/races of the pygmy wood mouse differs each of them from the others, that can be explained both by the history of their formation (the degree of proximity to the ancestral population complex, isolation, etc.) and by unequal current environmental conditions.