

**РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ОТДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ НАУК
ДАЛЬНЕВОСТОЧНОЕ ОТДЕЛЕНИЕ**

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ РЕСУРСЫ ДАЛЬНОГО
ВОСТОКА РОССИИ: КОМПЛЕКСНЫЙ
РЕГИОНАЛЬНЫЙ ПРОЕКТ ДВО РАН**

**BIOLOGICAL RESOURCES OF THE
RUSSIAN FAR EAST: COMPLEX REGIONAL
PROJECT OF FEB RAS**

ТОВАРИЩЕСТВО НАУЧНЫХ ИЗДАНИЙ КМК

Москва ♦ 2007

УДК 574:573.6

Биологические ресурсы Дальнего Востока России: комплексный региональный проект ДВО РАН /
под ред. Ю. Н. Журавлева. – Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2007. 262 с.

В книге представлены результаты исследований по 15 научным проектам, выполнявшимся в 2003-2006 гг. в рамках комплексного регионального проекта Дальневосточного отделения РАН "Биологические ресурсы Дальнего Востока России". Материалы отражают основные направления работ, посвященных наиболее значимым дальневосточным биоресурсам (растения, грибы, животные, лесные и охотничье-промысловые ресурсы), актуальным проблемам динамики и мониторинга, а также созданию эффективных биотехнологий расширенного воспроизводства ресурсных видов.

The book includes chapters representing results of 15 scientific projects which have been carried out in 2003-2006 in frameworks of the complex regional project of Far East Branch of the Russian Academy of Sciences "Biological resources of the Russian Far East". Materials of these chapters demonstrate the main direction of scientific researches related to the most important groups of bioresources of Russian Far East (plant, fungi, animal, forestry, hunting resources), actual problems of resource dynamics and monitoring, and development of biotechnologies of the extending reproduction of resource species.

Редакционная коллегия: Ю.Н. Журавлев (ответственный редактор), Л.П. Рысин, Б.Р. Стриганова, С.Ю. Стороженко, В.И. Малиновский, Ю.И. Манько, Л.В. Фрисман

Рецензенты: В.В. Богатов, Е.А. Макаrenchенко

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РЕСУРСНЫХ ВИДОВ НАЗЕМНЫХ ПОЗВОНОЧНЫХ РОССИЙСКОГО ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА

**А. П. Крюков, И. Н. Шереметьева, И. В. Картавцева,
М. В. Цвирка, Л. В. Фрисман, В. П. Кораблев**

Биолого-почвенный институт ДВО РАН

Приведены результаты исследования многочисленных и играющих важную роль в природных биоценозах видов позвоночных животных: длиннохвостого суслика *Spermophilus undulatus*, дальневосточной полевки *Microtus fortis* и полевки Максимовича *M. maximowiczii* и десяти видов врановых птиц (ворона *Corvus corone*, грача *C. frugilegus*, обыкновенной и даурской галок *C. monedula*, *C. dauuricus*, вороны *C. corax*, сороки *Pica pica*, двух видов голубых сорок *Cyanopica cyanus*, *C. cooki*, кукушки *Perisoreus infaustus* и кедровки *Nucifraga caryocatactes*). Использован кариологический, аллозимный, RAPD-PCR-анализ и секвенирование ДНК, а также морфометрия черепов. Определены параметры и закономерности внутривидовой генетической изменчивости, уточнено систематическое положение и филогенетические связи ряда таксонов.

Российский Дальний Восток обладает богатейшими биологическими ресурсами. Несомненно, что значимость объекта, как биологического ресурса, определяется не только его народно-хозяйственным значением, но и ролью в природных биоценозах. Так, грызуны, не являясь непосредственным объектом хозяйственного использования, в то же время представляют кормовую базу для многих хищных птиц и млекопитающих, в том числе ценных и промысловых видов. Велика роль мелких млекопитающих и птиц в качестве хранителей возбудителей особо опасных инфекций. Рациональное использование биологических ресурсов требует мультидисциплинарного подхода к их исследованию, в котором все более возрастает роль генетического анализа. Однако в Дальневосточном регионе генетическая изученность биоресурсов явно недостаточна, ведь всего 3 лаборатории в институтах ДВО РАН (БПИ, ИБМ и ИБПС) занимаются генетикой позвоночных животных. Вместе с тем, в таких знаниях нуждается биотехнология, медицина, сельское и охотничье хозяйство, охрана природы и другие виды практической деятельности.

В данной статье приведены краткие сведения о проведенных нами в последние годы исследованиях позвоночных животных российского Дальнего Востока (РДВ): длиннохвостого суслика, дальневосточной полевки и полевки Максимовича, а также десяти видов врановых птиц. Их значимость в качестве биологического ресурса определяется важной ролью в природных биоценозах. Кроме того, они являются модельными объектами исследования биологического разнообразия – его нынешнего состояния и происхождения.

Для анализа избранных видов грызунов и птиц нами использованы следующие генетические методы: кариологический или хромосомный, аллозимный, RAPD-PCR и секвенирование ДНК. Для дальневосточной полевки и полевки Максимовича проведен также морфологический анализ. Исследованные нами виды распространены не только на территории РДВ, поэтому для оценки их генетической изменчивости были привлечены данные по популяциям из других частей ареала.

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ДЛИННОХВОСТОГО СУСЛИКА

Суслики рода *Spermophilus* являются обычными обитателями степей и полупустынь, где они потребляют значительное количество травянистой растительности. Ареал длиннохвостого суслика *Spermophilus undulatus* Pallas, 1778 охватывает территорию от северо-восточных предгорий Тянь-Шаня до Приамурья и Якутии. От центрального массива, представляющего собой совокупность изолированных и полуизолированных популяций Алтая, Тувы, Саян, Прибайкалья, Забайкалья и Монголии, пространственно отделены суслики Семиречья, Приамурья и Якутии. Обширность ареала и обитание в различных ландшафтных и климатических зонах приводит к значительной географической изменчивости фенотипических характеристик длиннохвостого суслика. На основании этих различий выделено 6 современных подвидов этого вида: *S. u. stramineus* Obolensky, 1927; *S. u. evermanni* Brandt, 1841; *S. u. undulatus* Pallas, 1778; *S. u. intercedens* Ognev, 1937; *S. u. jacutensis* Brandt, 1843; *S. u. menzbieri* Ognev, 1937 (Громов, Ербаева, 1995).

Географическая изменчивость морфометрических и морфотипических признаков демонстрирует заметное отличие восточных подвидов *S. u. menzbieri*, *S. u. jacutensis* и *S. u. intercedens* от западных *S. u. stramineus* и *S. u. evermanni* (Попков, 1978; Линецкая, Линецкий, 1989). *S. u. undulatus* занимает промежуточное положение между группами западных и восточных подвидов. Электрофоретическое исследование белков сыворотки крови позволило нам обнаружить между западными и восточными группами подвидов гибридную зону, локализованную в юго-западном Прибайкалье и южном Забайкалье (Vorontsov et al., 1980). Проведенное позже (Фрисман, Воронцов, 1989) исследование геногеографии показало полное отличие аллельного состава по трем локусам (трансферрин, альбумин и постальбумин) у представителей западных (*S. u. stramineus* и *S. u. evermanni*) и восточных (*S. u. intercedens*, *S. u. jacutensis* и *S. u. menzbieri*) подвидов длиннохвостого суслика. Гибридные фенотипы были обнаружены в юго-западном Прибайкалье и южном Забайкалье. Настоящая работа является продолжением исследования географической изменчивости и внутривидовой дифференциации *S. undulatus* с привлечением характеристик ядерного генома, выявляемых с помощью электрофоретического анализа водорастворимых ферментов и других белков и метода RAPD-PCR анализа ДНК.

Материал

Для белкового электрофореза использованы образцы тканей от 73 сусликов – представителей западной (*S. u. evermanni*, Алтай – 8 экз.) и восточной (*S. u. jacutensis*, Якутия – 16 экз., *S. u. intercedens*, юг Читинской области – 31 экз. и *S. u. menzbieri*, Приамурье – 18 экз.) форм. Для RAPD-PCR анализа использованы представители 4 подвидов из тех же локалитетов – *S. u. intercedens* (5 экз.), *S. u. jacutensis* (6 экз.), *S. u. menzbieri* (6 экз.) и *S. u. evermanni* (2 экз.).

Методики

Аллозимный анализ. Разделение белков методом электрофореза в крахмальном геле с последующим гистохимическим окрашиванием произведено в соответствии с общепринятыми методиками (Pasteur, 1988). Подсчет генетических коэффициентов проводился с помощью пакета компьютерных программ Biosys-1 (Swofford, Selander, 1981).

RAPD-PCR анализ. Выделение ДНК проводили с использованием протеиназы К стандартным методом фенольной депротеинизации (Sambrook et al., 1989). Полимеразную цепную реакцию (RAPD-PCR) проводили в амплификаторе UNO II ("Biometra", Германия), используя реакционную смесь и температурный режим, описанные ранее (Цвирка и др., 2006). Продукты амплификации анализировали в 1,5% агарозном геле в трис-боратном буфере. В качестве маркера молекулярного веса использовали *Pst* I-гидролизат ДНК фага лямбда. В качестве негативного контроля использовали пробу, содержащую полную амплифицированную смесь, но без добавления ДНК. При построении бинарных матриц "1 - 0" (наличие – отсутствие полос) учитывали все визуально детектируемые фрагменты. Обсчет данных произведен с помощью компьютерных программ POPGENE (Yeh, Boyle, 1997), TFGA-ver. 1.3 (Miller, 1997) и TREECON-ver. 1.3 (Van de Peer, De Wachter, 1994).

Результаты и обсуждение

Нами проведен электрофоретический анализ семи ферментных систем из почек (LDH, MOR, PGD, SOD, IDH, AAT, SDH), двух ферментных систем крови (LAP, EST) и общего белка крови, включая гемоглобины и пять белков плазмы (суммарно 26 интерпретационных локусов). Аллозимный анализ показал, что суслики восточной формы (*S. u. intercedens*, *S. u. jacutensis* и *S. u. menzbieri*) обнаруживают намного более тесные родственные связи между собой, чем с представителями западной формы (*S. u. evermanni*). Полученные значения генетических дистанции D (Nei, 1978) между выборками из популяций восточных подвидов лежат в интервале 0-0,021, а значения дистанций между выборками западной и восточной форм – в интервале 0,187-0,192. Генетическая дифференциация западной и восточной форм длиннохвостого суслика превышает таковую между парами видов *S. suslicus* – *S. odessanus*; *S. pygmaeus* – *S. musicus* и близка к наблюдаемой в надвидовой группе *major* (Фрисман и др., 1999; Кораблев и др., 2003).

При RAPD-PCR анализе использовали десять декамерных олигонуклеотидных праймеров: OPA-02, OPC-02, OPC-05, OPC-09, OPC-10, OPC-12, OPC-16, OPC-20, OPD-05, OPE-20 (“Operon Technologies Inc.”, США). Идентифицировано 173 признака, число амплифицированных фрагментов в спектрах варьировало от 13 до 21, а молекулярный вес фрагментов – от 250 пар нуклеотидов (пн) до 2150 пн. В целом, особи *S. undulatus* обладали сходными спектрами продуктов амплификации. *S. u. evermanni* наиболее отличался от других подвидов набором фрагментов (рис. 1). Выявлены молекулярные маркёры двух типов: уникальные, характерные для отдельных подвидов, например, для *S. u. evermanni* - OPC-20₆₇₀, OPE-20₁₂₆₀, OPE-20₁₇₀₀ и для *S. u. menzbieri* – OPE-20₆₆₀, и полиморфные, присутствующие у трёх восточных подвидов длиннохвостого суслика *S. u. intercedens*, *S. u. jacutensis* и *S. u. menzbieri* (OPC-05₇₉₀, OPC-20₉₂₀, OPC-09₁₇₀₀, OPC-09₁₂₃₀, OPD-05₁₇₀₀ и OPD-05₁₀₃₀) и, соответственно, отсутствующие у западного подвида *S. u. evermanni*. Кроме того, обнаружены количественные различия между отдельными выборками длиннохвостого суслика по яркости окрашивания на фореграммах некоторых фрагментов. Так, особи *S. u. menzbieri* имеют один «мажорный» фрагмент OPE-20₆₆₀, а *S. u. evermanni* два – OPE-20₁₂₆₀ и OPE-20₁₇₀₀. По параметрам генетической дифференциации *S. u. menzbieri*, *S. u. jacutensis* и *S. u. intercedens* из южного Забайкалья близки между собой ($D=0.06-0.26$, $p=1$). Данные подвиды на дендрограммах генетического сходства (UPGMA) и филогенетической реконструкции (NJ) образуют единую хорошо поддерживаемую группу (с бутстреп поддержкой 100%), что можно рассматривать как результат общности их происхождения. Подвид *S. u. evermanni* генетически от них удален, и с высокой достоверностью (бутстреп поддержка 100%) образует самостоятельный подкластер. По параметрам генетической дифференциации наибольшие различия наблюдаются между *S. u. intercedens* – *S. u. evermanni* ($D=0.41$, $G_{st}=0.76$, $p=1$), *S. u. menzbieri* – *S. u. evermanni* ($D=0.39$, $G_{st}=0.77$, $p<0.001$) и *S. u. jacutensis* – *S. u. evermanni* ($D=0.39$, $G_{st}=0.71$, $p<0.001$). Несмотря на высокую генетическую дифференциацию данных пар, генетические дистанции между ними все же ниже значений, обнаруженных при сравнении *S. undulatus* и *S. parryi* ($D=0.53$). По совместным данным аллозимного и RAPD-PCR анализа характер генетической дифференциации длиннохвостого суслика хорошо согласуется с результатами морфологического и морфометрического исследований о значительной степени отличий восточной (*S. u. intercedens*, *S. u. jacutensis* и *S. u. menzbieri*) и западной (*S. u. evermanni*) форм.

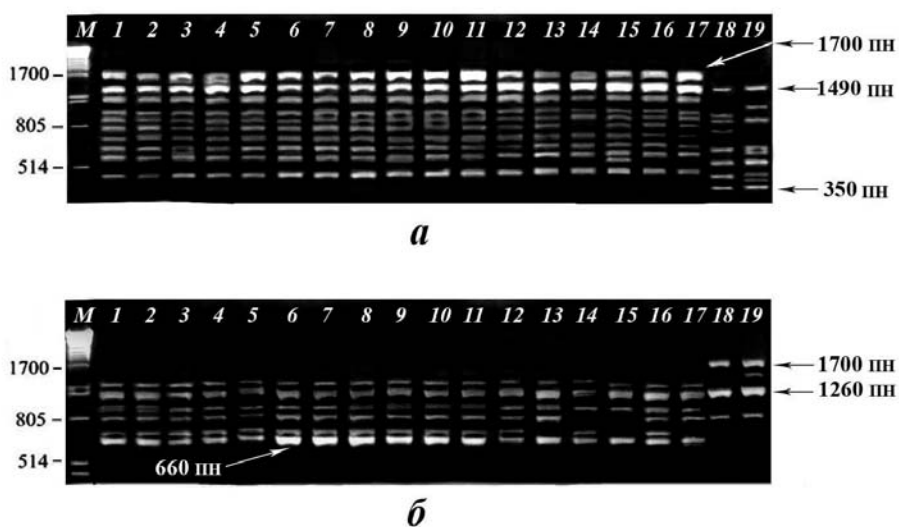


Рис. 1. RAPD-PCR-спектры сусликов: *Spermophilus undulatus intercedens* (дорожки 1-5), *S. u. menzbieri* (дорожки 6-11), *S. u. jacutensis* (дорожки 12-17) и *S. u. evermanni* (дорожки 18-19), инициированные праймерами OPD-05 (а) и OPE-20 (б). М – маркер молекулярного веса (*PstI*).

Гибридная зона между западной и восточной формами длиннохвостого суслика узка по сравнению с протяженностью ареала вида с запада на восток и с севера на юг, но, тем не менее, захватывает большую часть ареала *S. u. undulatus* в Забайкалье. Вследствие указанной гибридизации, отличительной чертой популяций на данной территории является неоднородность их таксономического положения, определяемого при привлечении нескольких характеристик: морфологических, морфотипических, иммунологических, генетических, которые хорошо "работают" в популяциях западной и восточной частей ареала. Как показано ранее (Фрисман, Воронцов, 1989), суслики из окрестностей г. Ангарска по составу вариантов трансферринов, постальбуминов и по генетическим дистанциям, посчитанным на основе 14 локусов, близки к западным популяциям; по морфологическим, морфометрическим и иммунологическим данным они составляют группу, отличную от *S. u. evermanni* и близкую к *S. u. jacutensis*. Суслики Усть-Ордынских степей по эколого-физиологическим показателям стоят ближе к *S. u. jacutensis* и *S. u. menzbieri*, чем к алтайским *S. u.*

eversmanni, тогда как по ряду особенностей строения морфотипов зубов (Попков, 1978) они входят в группу западных подвидов. Такое смешение признаков в данной гибридной зоне может свидетельствовать о том, что она возникла при вторичном соприкосновении ареалов двух изолированных длительное время форм. Высокий уровень дифференциации западной и восточной форм длиннохвостого суслика по аллозимным и RAPD-маркерам позволяет с равной долей обоснованности рассматривать их либо в рамках надвида *S. undulatus*, либо в рамках единого вида, обладающего большой внутривидовой географической изменчивостью. Для решения данного вопроса необходимо провести комплексное исследование гибридной зоны этих форм в Забайкалье.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ДАЛЬНЕВОСТОЧНОЙ ПОЛЕВКИ

Дальневосточная полевка *Microtus fortis* Buchner, 1889 распространена на обширной территории в Монголии, Корее, Китае и России. В нашей стране расположена северо-восточная периферия ареала, охватившая Западное и Восточное Забайкалье, южные районы Амурской области и Хабаровского края и Приморский край. Этот вид населяет практически все даже очень мелкие острова залива Петра Великого, за исключением о. Аскольда (Шереметьева и др., 2006). Принято считать, что на территории России встречается дальневосточная полевка двух морфологически слабо обособленных подвидов: *M. fortis michnoi* Kastschenko, 1905 и *M. fortis pelliceus* Thomas, 1911. Границы распространения подвидов до сих пор четко не определены.

Материал

Исследование морфологической и генетической дифференциации подвидов дальневосточной полевки выполнено на основе оригинального материала, собранного в течение 1995-2003 гг. на островной и материковой территории Дальнего Востока России. Исследованы коллекции из 637 экземпляров дальневосточной полевки (подвиды *M. f. pelliceus* и *M. f. michnoi*), отловленных в Бурятии, Читинской и Амурской областях, Приморском и Хабаровском краях, Еврейской АО, Монголии и Северной Кореи. Кариологический анализ проведен на 138 экземплярах из 8 островных и 10 материковых популяций Амурской обл., Хабаровского и Приморского краев. Для RAPD-PCR-анализа ДНК использовали 47 особей, а для секвенирования D-петли мтДНК 31 особь.

Методики

Морфологический анализ. В изучении сравнительной морфологии из общепринятых были выбраны следующие промеры: длина тела, длина хвоста, длина стоп, кондилобазальная длина, длина верхней диастемы, скуловая ширина, ширина межглазничного промежутка, ширина черепа в области слуховых капсул, высота черепа в области слуховых капсул, длина верхнего ряда коренных зубов. Математическая обработка материала произведена общепринятыми методами. В оценке значимости различий по отдельным параметрам использован коэффициент Стьюдента. Многомерные методы сравнения включали в себя кластерный, множественный дискриминантный анализ и многомерное шкалирование (Пузаченко, 2004). **Кариологический анализ.** Препараты хромосом готовили по стандартной методике (Ford, Hamerton, 1956). Для повышения числа делящихся клеток в костном мозге прибегали к стимуляции митозов (Lee, Elder, 1980). Для рутинного анализа хромосомы окрашивали красителем Гимза. Для выявления G-сегментов на хромосомах использовался трипсин (Seabright, 1971), для выявления гетерохроматина использовали щелочную обработку препаратов (Sumner, 1972), а для обнаружения ядрышкообразующих районов – азотнокислое серебро (Munke, Schmiady, 1979).

Аллозимный анализ и RAPD-PCR проведены по методикам, описанным выше.

Секвенирование мтДНК. Стандартная полимеразная цепная реакция (PCR) проводилась в объеме 25 мкл реакционной смеси, содержащей 10 mM Tris-HCl (pH=8,3), 50 mM KCl, 2,0 mM MgCl₂, 0,001% желатина, 1 мкл 20 mM смеси dNTPs, 0,5 мкл каждого праймера, 3 ед. Taq-полимеразы, 30-50 нг суммарной клеточной ДНК. Амплификацию проводили в термоциклере EPENDORF при следующих температурных условиях: начальная денатурация ДНК – 2 мин при 94°C; 40 циклов: денатурация – 10 сек при 94°C, отжиг – 1 мин при 45°C, элонгация – 1 мин 72°C; последний цикл элонгации – 5-10 мин при 72°C. Перед отправлением проб на автоматическое секвенирование амплифицированные фрагменты были очищены при помощи набора реагентов “QIAquick Gel Extraction Kit” (QIAGEN, Hilden, Германия). Секвенирование ДНК выполнялось на базе лаборатории хемосистематики Музея естественной истории г. Вена (Австрия) под руководством доктора Элизабет Харинг. Первичные данные обрабатывались с помощью компьютерных программ BioEdit 5.0.9 и CLUSTALX 1.83. Для филогенетического анализа данных использовали пакет компьютерных программ PAUP.

Результаты и обсуждение

Отсутствие диморфизма в размерах черепа позволило объединить особей разного пола. Многомерный анализ изменчивости черепа особей, обитающих как на материковой части России и сопредельных стран, так и на

островах залива Петра Великого, продемонстрировал высокий уровень изменчивости краниометрических параметров (Шереметьева, 2003; Шереметьева, в печати). Основные различия между особями и их группами проявляются в размерных характеристиках черепа и в величине отношения размеров заднего (мозгового) отдела черепа к его кондилобазальной длине. Формальная классификация особей позволила достоверно выделить три морфологически обособленные группы особей, различающиеся по размерам черепа (Шереметьева, в печати). Обнаружены достоверные различия между выборками из Забайкалья, Монголии, Маньчжурии, окрестностей г. Благовещенск и Комсомольск-на-Амуре, с одной стороны, и Приморья – с другой. Кроме того оказалось, что полевки самой южной выборки Хасанского района (на границе с Кореей, где по некоторым данным обитает подвид *M. f. uliginosus* James et Jonson, 1955) достоверно отличаются от остальных особей Приморского края. Это наблюдение подтверждает обнаруженные ранее кариологические различия полевок крайнего юга Приморья (Kartavtseva, Kryukov, 1998; Kartavtseva, Sheremetyeva, 1998; Картавцева, Шереметьева, 1999), что дает основание предполагать, что на крайнем юге Приморья распространен подвид *M. f. uliginosus*, а на остальной части Приморья – *M. f. pelliceus*. Однако, для окончательного решения этого вопроса необходим более значительный краниометрический материал по *M. f. uliginosus*.

Таким образом, мы выделяем три географические группировки дальневосточной полевки, которые, вероятно, соответствуют подвидам: *M. f. michnoi*, *M. f. pelliceus* и *M. f. uliginosus*. Первая группа включает особей из Забайкалья, Монголии, Маньчжурии, Амурской обл. и левобережья Амура Хабаровского края. На этой территории преобладают полевки, характеризующиеся меньшими значениями параметров черепа. Вторая – полевки северо-западных, центральных, восточных и юго-восточных районов Приморского края, где преобладают особи с более крупным черепом. Третья – особи юга Приморского края (Хасанский р-н) и центральной Кореи, где преобладают особи с крупным черепом, но с относительно небольшой высотой и шириной черепа в области слуховых барабанов. Следует отметить, что разбиение выборки дальневосточной полевки на морфологические кластеры по черепным параметрам и подвидам, хотя и не является случайным ($\chi^2=387$, $p<0.001$), все же не соответствует строгому разделению на подвиды.

Сравнение отдельных выборок островных популяций дальневосточной полевки с объединенной выборкой популяций материка показало достоверные различия по ряду признаков (Шереметьева, 2003). Наибольший уровень различий выявлен для выборки популяции о-ва Матвеева залива Петра Великого, что может являться следствием ряда причин: длительность изоляции, небольшая площадь территории обитания (малочисленная популяция) и случайность закрепления определенного морфотипа в период возникновения популяции – “эффект основателя”.

При исследовании кариотипа *M. fortis* установлено, что диплоидный набор стабилен ($2n=52$), в то время как число плеч аутосом (NFa) может варьировать от 62 до 64 (рис. 2). Кариотип (NFa=64) имеет 4 пары средних размеров мета-субметацентрических хромосом (M-MS), 3 пары крупных субтелоцентрических (ST) и 18 пар акроцентрических (A) хромосом. На длинном плече самой мелкой пары акроцентрических хромосом всегда имеется вторичная перетяжка. X-хромосома – самый крупный метацентрик, Y-хромосома – мелкий акроцентрик. Из 138 кариологически изученных особей у четырех была выявлена изменчивость морфологии седьмой пары хромосом: число плеч аутосом у этих животных равно 62. Хромосомы данной пары были представлены акроцентрическими элементами (A/A), а не субтелоцентрическими (ST/ST). Полученные нами данные вновь поднимают вопрос об изменчивости морфологии хромосом в популяциях дальневосточной полевки, описанной ранее (Kartavtseva, Kryukov, 1998). По-видимому, обнаруженный полиморфизм морфологии седьмой пары является редким для этого вида, однако может быть встречен в популяциях из различных частей ареала. Таким образом, наши данные подтвердили мнение о стабильности числа хромосом на протяжении всего дальневосточного ареала *M. fortis* и впервые позволили выявить внутри- и межпопуляционный полиморфизм седьмой пары аутосом (Шереметьева и др., 2006).

Дифференциальное G-окрашивание хромосом показало, что все они имеют четкие G-полосы и хорошо дифференцируются по парам. Сравнительный анализ рисунка G-полос кариотипа исследованных нами полевок из различных популяций Амурской области, Хабаровского и Приморского краев не обнаружил каких-либо различий. Характер исчерченности G-полос хромосом сходен с таковым, полученным ранее для полевок Западного и Восточного Забайкалья, Северной Монголии и Приморья (Ковальская и др., 1991). Впервые для дальневосточной полевки было проведено NOR-окрашивание хромосом. Ядрышкообразующие районы у всех исследованных нами особей находятся на трех парах аутосом: на теломерном участке крупной метацентрической пары хромосом, в прицентромерной области крупной акроцентрической пары и на самой мелкой акроцентрической паре хромосом в районе вторичной перетяжки (Шереметьева и др., 2006). Результаты C-окрашивания хромосом полевок показали, что в кариотипах полевок с территории юга Дальнего Востока структурный гетерохроматин представлен двумя типами C-блоков: прицентромерными и теломерными. Большинство аутосом (19 пар) имеют небольшие, не всегда выраженные прицентромерные блоки. Обнаружена изменчивость по числу положительных теломерных гетерохроматиновых блоков. Наименьшим числом теломерных C-блоков характеризуются полевки нижнего течения реки Амур, у которых крупные теломерные гетерохроматиновые блоки локализованы на двух парах акроцентрических хромосом среднего размера. У полевок Приморского края, как материковых, так и островных популяций, а также у полевок бассейна р. Амур – окрестностей г. Комсомольск-на-Амуре и Благовещенск – обнаружено наибольшее число хромосом (7 пар) с теломерными гетерохроматиновыми блоками. Таким образом, гетерохроматин у дальневосточной полевки, согласно нашим и литературным данным, на территории

России и Монголии по характеру локализации С-блоков представлен четырьмя цитотипами (Шереметьева и др., 2006), а не тремя, как считалось ранее.

Электрофоретический анализ 10 ферментных систем и трех неферментных белков у дальневосточной полевки островных и материковых популяций позволил идентифицировать 25 интерпретационных локусов: LDH (-1, -5), MDH (-1, -2), MOD (-1, -2), IDH (-1, -2), SOD (-1, -2), GOT (-1, -2), PGD, G6PD, ESTплазмы (-1, -2, -3, -4), ESTпочки (-1, -2, -3, -4), Alb, Tf и Hb (Шереметьева и др., 2006). У исследованных животных все локусы оказались мономорфны, и только 1 локус - EST_{плазма} (-3) - был изменчив как на популяционном, так и на внутривидовом уровнях. Так, в популяции острова Рейнеке кроме основного варианта EST_{плазма}-3-а у одной особи из двух исследованных был зафиксирован второй аллельный вариант по данному локусу – EST_{плазма}-3-b. В популяции дальневосточной полевки с острова Матвеева аллель EST_{плазма}-3-b был обнаружен у всех особей. Поскольку аллель EST_{плазма}-3-b зафиксирован в двух изолированных популяциях, вероятно, он может быть обнаружен при увеличении объема выборок и в других, не исследованных популяциях островов залива Петра Великого, а также материковых популяциях. Факт полной замены аллеля EST_{плазма}-3-а на аллель EST_{плазма}-3-b в популяции небольшого острова Матвеева является, вероятно, следствием эффекта основателя и/или прохождения популяции этого острова через "бутылочное горлышко".

Для оценки генетической изменчивости и выявления дифференциации в дальневосточной части ареала *M. fortis*, проведен RAPD-PCR-анализ ДНК с использованием девяти произвольных 10-членных олигонуклеотидных праймеров (Шереметьева, Челомина, 2003; Chelomina, Sheremetyeva, 2007). Результаты RAPD-PCR-анализа продемонстрировали высокий уровень генетического сходства популяций на фоне относительно высокой индивидуальной изменчивости. Из 157 RAPD-локусов, выявленных у дальневосточной полевки, у особей островных популяций есть только 152. Маркерные фрагменты ДНК конкретных популяций дальневосточной полевки не найдены, однако были обнаружены отличия выборок по аллельным частотам сравниваемых локусов.

Генетическая изменчивость самцов популяций островов залива Петра Великого меньше, чем популяций материка, а изменчивость самок – наоборот. В целом по виду показатели изменчивости практически не имеют межполовых различий (Chelomina, Sheremetyeva, 2007). Выборки популяций островов залива Петра Великого имеют существенное (до 1,5-2 раз) снижение значения генетических параметров по сравнению с таковым материка, но объединенная выборка островов по всем генетическим показателям практически не отличается от объединенной материковой. При сравнении отдельных островных популяций между собой достоверный уровень дифференциации обнаружен только между популяциями островов Путятина и Матвеева. При сравнении объединенной выборки материка и отдельных островных выборок достоверные различия выявлены только для популяции острова Матвеева. Выборки всех исследованных материковых популяций достоверно не различаются.

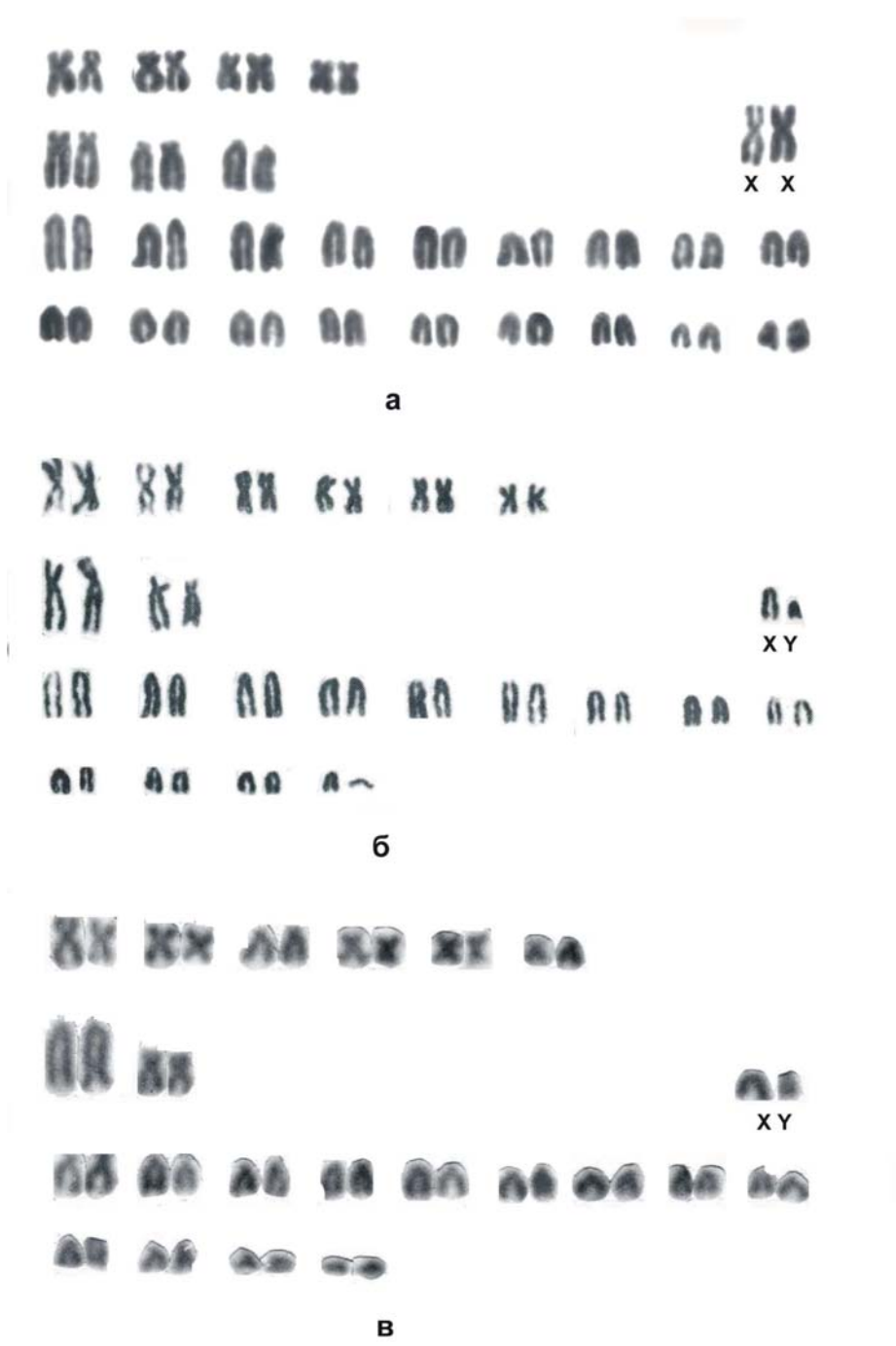


Рис. 2. Хромосомные наборы серых полевок: а – *Microtus fortis* (2n=52) (из: Шереметьева и др., 2003); б – *Microtus maximowiczii unguensis* (2n=44) (из: Мейер и др. 1996); в – *Microtus gromovi* (2n=44) (из Шереметьева и др., в печати).

В результате анализа нуклеотидной последовательности D-петли мтДНК (927 пн) *M. fortis* с дальневосточной части ареала обнаружено 22 гаплотипа. Все гаплотипы объединены в две группы с высокой статистической достоверностью (Haring et al., 2005). Первая группа объединяет гаплотипы полевок всех исследованных островных и материковых популяций, за исключением о-ва Матвеева, где в свою очередь происходит фиксация редкой группы гаплотипов. Отсутствие строгой географической структурированности на территории Дальнего Востока, вероятно, является следствием недавнего заселения полевок этой части ареала.

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ ПОЛЕВКИ МАКСИМОВИЧА

Полевка Максимовича *Microtus maximowiczii* Schrenck, 1858 заселяет пойменные участки лесной зоны в Забайкалье, северной и северо-восточной Монголии, северо-восточном Китае, Приамурья и севере Хабаровского края.

Материал

Нами исследованы морфологические признаки 124 особей, отловленных в 11 популяциях, относящихся к трем подвидам: *M. t. unguensis* Kastchenko, 1913 (Бурятия, Читинская область), *M. t. maximowiczii* Schrenck, 1858 (Амурская область) и *M. t. gromovi* Vorontsov, Boeskorov, Ljapunova et Revin, 1988 (Хабаровский край). Исследованы хромосомные характеристики 27 особей полевки Максимовича из двух популяций двух подвидов, распространенных на территории Дальнего Востока: *M. t. gromovi* – окрестностей пос. Аян, Хабаровского края и *M. t. maximowiczii* – популяции Норского заповедника Амурской области.

Методики

Методики морфологического, кариологического и молекулярно-генетического анализов приведены выше.

Результаты и обсуждение

Исследование краниометрической изменчивости *M. t. maximowiczii* трех подвидов позволило выделить три кластера, достоверно различающиеся по кандилобазальной длине, высоте черепа в области слуховых капсул и длине верхнего зубного ряда.

Распределение особей разных кластеров в каждой из выборок не случайно. Так, выборка Сохондинского заповедника (юг Читинской области) четко отличается от выборок центрального и северного Забайкалья (Бурятия) и Амурской области, тогда как между выборками оз. Арахлей Зейского заповедника (Амурская область) и окрестностей пос. Романовка (Бурятия) статистически значимых различий не выявлено. Выборка из окрестностей пос. Аян (север Хабаровского края) с высоким уровнем достоверности отличается от всех остальных выборок. Таким образом, нами выделено три морфологические группы полевки Максимовича, которые соответствуют описанным подвидам: *M. t. unguensis*, *M. t. maximowiczii* и *M. t. gromovi*.

Достоверные различия между *M. t. unguensis* и *M. t. maximowiczii*, с одной стороны, и *M. t. gromovi*, с другой, обнаружены по всем параметрам, за исключением межглазничной ширины. В среднем *M. t. gromovi* значительно мельче, чем остальные подвиды полевки Максимовича. Следует отметить, что разбиение выборки полевки Максимовича на морфологические кластеры по черепным параметрам и подвидам, хотя и не является случайным ($\chi^2=85.5132$, $p<0.001$), все же не соответствует строгому распределению на подвиды. Подчеркнем, что только особи окрестностей пос. Аян были отнесены нами к отдельному кластеру. Эти данные подтверждают правомерность выделения полевок аянской популяции не только в подвид *M. t. gromovi*, но и позволяют поднять их до ранга самостоятельного вида.

Полевка *M. t. maximowiczii* характеризуется широким спектром внутривидовой хромосомной изменчивости. Так, диплоидные числа хромосом варьируют от 36 до 44, а числа плеч хромосом – от 54 до 58. По данным дифференциального окрашивания было показано, что хромосомный полиморфизм обусловлен различными типами хромосомных перестроек, таких как робертсоновские транслокации, перичентрические инверсии и изменения положения центромеры. Предположительно для каждого подвида *M. t. maximowiczii* характерны определенные типы хромосомных перестроек (Ковальская, 1977; Мейер и др., 1996).

Кариотипы трех исследованных особей *M. t. gromovi* из аянской популяции были стабильны по числу и морфологии хромосом: $2n=44$, $NF=60$ (См. рис. 2) (Шереметьева и др., 2003). Ранее для двух полевок *M. t. unguensis* из Бурятии (окр. п. Романовка) были описаны две кариоморфы с таким же числом хромосом (44), имеющие близкие характеристики чисел плеч хромосом: $NF=58$ (Ковальская, 1977) и $NF=60$ (Мейер и др., 1996). Особи с различным числом плеч хромосом различались морфологией одной пары хромосом: в первом случае пара хромосом средних размеров была акроцентрической, во втором – метацентрической.

G-окрашивание хромосом полевок *M. t. gromovi* позволило идентифицировать каждую пару и провести сравнение с таковыми 44-хромосомной формы полевки Максимовича из Бурятии (по Мейер и др., 1996). Сравнение хромосом показало, что, несмотря на одинаковую формулу хромосомного набора ($2n=44$, $NF=60$), кариотипы полевок из аянской популяции имеют иную морфологию хромосом, чем полевки из Бурятии. Так, при сходстве рисунка G-полос многих пар хромосом, различия выявлены по трем парам аутосом. Различия в первой и четвертой парах хромосом обусловлены перичентрическими инверсиями, а по десятой паре хромосом связаны с добавлением эухроматинового материала и образованием короткого плеча. Такие структурные хромосомные перестройки не были ранее зарегистрированы для *M. t. maximowiczii*.

Окрашивание хромосом *M. t. gromovi* на структурный гетерохроматин не выявило значительных отличий от распределения гетерохроматинового материала в кариотипе *M. t. unguensis*. Впервые нами исследовано окрашивание ядрышкообразующих районов *M. t. gromovi* и показано, что ЯО-районы расположены на четырех парах хромосом: на коротких плечах двух субтелоцентрических пар хромосом, а также в прицентромерных участках самой крупной и средней пар акроцентрических хромосом (Шереметьева и др., 2003).

Таким образом, полевки из аянской популяции резко отличаются от полевок из других ранее исследованных популяций по характеру хромосомных перестроек и отсутствию внутривидового полиморфизма. Хромосомные наборы 24 исследованных полевок *M. t. maximowiczii*, отловленных в одной популяции Норского заповедника Амурской области в течение двух лет (2002 г. – $n=14$ и 2006 г. – $n=10$), имели 40 или 41 хромосому (Картавцева и др., 2007). Дифференциальное окрашивание хромосом позволило показать, что изменчивость числа хромосом обусловлена слиянием метацентриков двух пар с образованием одного или двух крупных метацентриков. Поэтому кариотип, содержащий 40 хромосом, имел 18 двуплечих хромосом и 22 акроцентрические, включая половые, хромосомы. Кариотип, имеющий 41 хромосому – 19 двуплечих и 22

акроцентрические, включая половые хромосомы. Другие типы хромосомных перестроек обнаружены не были. Таким образом, полевка Максимовича Норского заповедника отличается от ранее исследованных популяций наличием всего одного типа перестроек – слиянием метацентриков, с образованием самой крупной метацентрической пары, которая может находиться как в гомозиготном, так и гетерозиготном состоянии.

Секвенирование D-петли мтДНК показало, что на филогенетическом древе четко выделяется кластер, соответствующий *M. t. gromovi*. Он оказался близок к основанию древа, что может свидетельствовать о предковом состоянии некоторых признаков этого подвида. Далее, кластеры *M. t. maximowiczii* и *M. t. unguensis* хорошо дифференцированы, с высокой бутстреп-поддержкой (Haring et al, 2005). Внутри каждого кластера различия между гаплотипами незначительны. Уровень различий гаплотипов *M. t. gromovi* по нуклеотидным заменам в анализируемом участке мтДНК настолько велик, что достигает межвидовых различий в этом же роде. Это еще раз свидетельствует о правомерности выделения *M. t. gromovi* в качестве самостоятельного вида.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ФИЛОГЕНИЯ ШИРОКОРАСПРОСТРАНЕННЫХ ВИДОВ ВРАНОВЫХ ПТИЦ

Врановые птицы семейства Corvidae из-за крупных размеров и высокой активности, а также приспособляемости по причине высокого уровня их высшей нервной деятельности, оказывают значительное воздействие на мелких позвоночных и сельскохозяйственные культуры. Во многих областях до сих пор практикуется поощрение охотников за отстрел ворон и сорок, проводится их отпугивание с аэродромов, виноградников и охотничьих угодий. Как и другие широкораспространенные виды, многие врановые оказываются удобной моделью для микроэволюционных исследований.

Материал

Материалом для анализа послужили образцы тканей птиц, фиксированные в этаноле. Всего проанализировано 168 образцов от 10 видов врановых птиц: вороны *Corvus corone* Linnaeus, 1758, грача *Corvus frugilegus* Linnaeus, 1758, галки *Corvus monedula* Linnaeus, 1758, даурской галки *Corvus dauuricus* Pallas, 1776, ворона *Corvus corax* Linnaeus, 1758, сороки *Pica pica* (Linnaeus, 1758), голубой сороки *Cyanopica cyanus* (Pallas, 1776) и *Cyanopica cooki* Bonaparte, 1850, кукши *Perisoreus infaustus* (Linnaeus, 1758) и кедровки *Nucifraga caryocatactes* (Linnaeus, 1758).

Методика

Для анализа был выбран молекулярный маркер D-петля митохондриального генома. Он зарекомендовал себя как один из наиболее быстро мутирующих элементов генома и вследствие этого лучше подходит для выявления различий между популяциями, закономерностей географической изменчивости и филогеографии. ДНК выделяли по общепринятым методикам, детали условий амплификации и секвенирования описаны ранее (Кругов et al., 2004; Крюков и др., 2005; Haring et al., в печати). Секвенирование проведено в Музее естественной истории Вены под руководством д-ра Э. Харинг. Выравнивание последовательностей и последующий филогенетический анализ путем построения деревьев проведены по известным канонам.

Результаты и обсуждение

Результаты молекулярно-филогенетического анализа приведены на рис. 3. Обнаружено два типа географического распределения гаплотипов мтДНК внутри видов: с подразделением на западные и восточные группы и без такого разделения. К первой группе относятся ворона, грач, оба вида галок, сорока и голубая сорока; ко второй – ворон, кукша и кедровка.

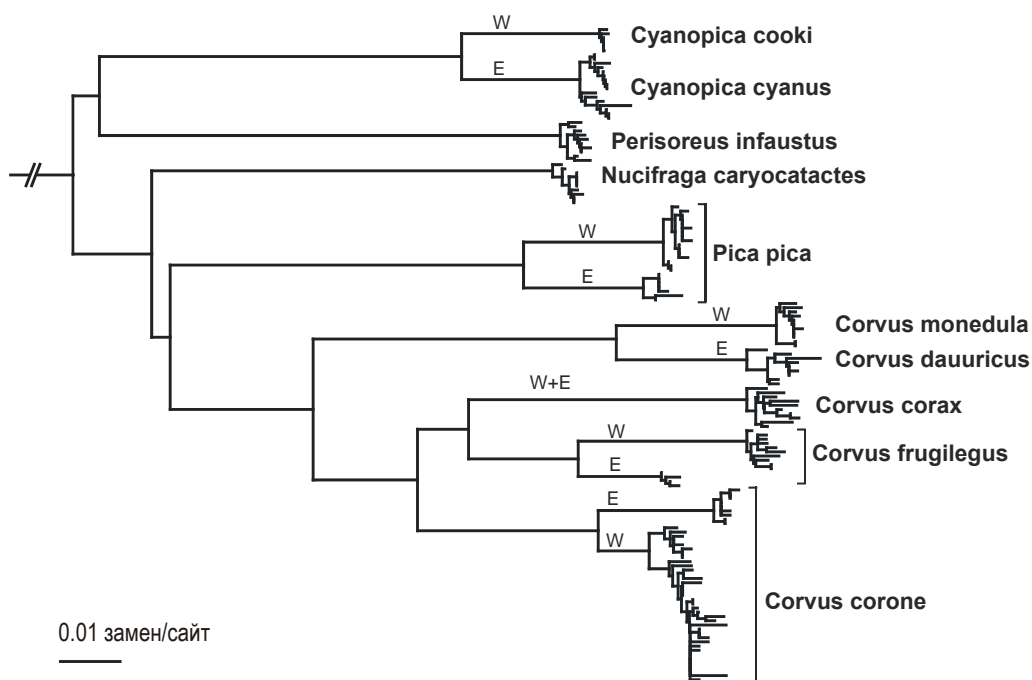


Рис. 3. Филогенетическое древо врановых птиц Евразии, построенное по методу ближайшего связывания (NJ) на основании 168 последовательностей участка D-петли мтДНК. W – западные популяции/виды, E – восточные популяции/виды.

Политипический вид *Corvus corone* включает западную и восточную формы черной вороны, соответственно, *C. c. corone* и *C. c. orientalis*, и распространенную между их ареалами серую ворону *C. c. cornix*. Эта группа форм со спорным статусом (по мнению разных авторов, в зависимости от принимаемой концепции вида, они рассматриваются либо как виды, либо как подвиды) замечательна наличием гибридных зон между ними. В выявленной нами кластеризации обнаружено 2 группы гаплотипов. Западная группа представлена образцами из популяций *C. c. corone*, *C. c. cornix* и *C. c. orientalis*, населяющих пространства от западной Европы вплоть до восточной Сибири и северного Сахалина. Меньший кластер относится к популяциям из крайнего юго-востока ареала – из Приморья и южного Сахалина. Гаплотипы особей из европейской гибридной зоны относятся к первому кластеру, из сибирской – к обоим. Интересно, что морфологических различий между особями из двух отличающихся по мтДНК частей ареала *C. c. orientalis* не выявлено. Таким образом, продемонстрировано полное отсутствие корреляции особенностей митохондриального генома с окрасочными признаками ворон, а также с географическим распространением подвидов. Важно отметить также, что именно гаплотип из юго-восточной Азии расположен на древе ближе к его основанию. Это косвенно подтверждает высказанное ранее предположение об австралийском происхождении врановых, распространившихся через Юго-Восточную Азию по всему свету.

Аналогичное подразделение на западную и восточную группы гаплотипов обнаружено для грача *C. frugilegus*. Он обладает широким транспалеарктическим ареалом, населенным двумя подвидами: *C. f. frugilegus* и *C. f. pastinator*. Наличие двух отличных групп гаплотипов целиком соответствует этой классификации.

Галки обыкновенная и даурская еще недавно рассматривались в качестве единого вида *C. monedula*, но даурская галка из-за своеобразной окраски была выделена в отдельный вид – *C. dauuricus*, а несколько сходных подвидов остались в составе *C. monedula*. Кластеризация митохондриальных гаплотипов полностью подтверждает правомерность такого решения. Группа подвидов *C. monedula*, представленная в нашем анализе тремя западными подвидами, попадает в один кластер, восточный вид *C. dauuricus* – в другой.

Еще один вид с транспалеарктическим распространением – обыкновенная сорока *Pica pica*.

Многочисленные подвиды сороки разбиваются по митохондриальным гаплотипам на две очень удаленные группы – западную и восточную. Западная соответствует большей части ареала – от западной Европы до восточной Сибири и включает популяцию Камчатки, а восточная ограничена юго-восточной частью – Приморьем, Хабаровским краем и Кореей. Близкое родство камчатского подвида с западными было показано ранее (Lee et al., 2003). В пределах каждого кластера подразделение на подвиды не выявляется. Голубая сорока до недавнего времени рассматривалась как классический пример вида с разорванным ареалом. Одна его часть локализована на Пиренеях, другая, более обширная, простирается от Байкала до Японии. Несмотря на некоторые различия в окраске, представителей этих изолятов некоторые орнитологи до сих пор причисляют к единому виду *Cyanopica cyanus*. Однако молекулярно-генетические исследования последних лет свидетельствуют о необходимости разделения голубой сороки на два самостоятельных вида – западный и восточный (Fok et al., 2002; Kryukov et al., 2004). В данном исследовании на расширенном объеме

материала мы подтверждаем и детализируем последнее положение. Обнаружено подразделение на две глубоко дивергировавшие группы гаплотипов – западную и восточную, причем в пределах восточной группы нами не отмечено различий гаплотипов у особей из разных популяций. Таким образом, наши данные не только подтверждают видовую самостоятельность западной и восточной форм, но и свидетельствуют против разделения восточноазиатского изолята голубой сороки на 5-6 подвидов.

Во всех перечисленных случаях нами отмечено подразделение на восточные и западные группы гаплотипов. Изменчивость гаплотипов в пределах каждого из кластеров незначительна (не превышает 1%), тогда как дистанции между кластерами составляют 4-5.8%, что достигает описанного уровня различий между "хорошими" видами. Для таксономических решений обычно недостаточно одних молекулярно-генетических данных, поэтому мы воздерживаемся от предложения разделить далеко дивергировавшие формы на разные виды. В то же время мы подтверждаем видовую самостоятельность галок *C. monedula* и *C. dauuricus*, а также выделение голубой сороки *Cyanopica cooki* из *C. cyanus*, предложенное ранее на основании именно молекулярно-генетических исследований по другому митохондриальному гену (Fok et al., 2002).

Другая группа видов врановых радикально отличается от рассмотренной выше. Их митохондриальные геномы оказались гомогенными на протяжении столь же обширных ареалов. Ворон *Corvus corax* с его голарктическим распространением имеет почти гомогенную картину изменчивости гаплотипов, характеризующих особей с распространением от Западной Европы до Северной Америки и представляющих 5 подвидов. Кукша *Perisoreus infaustus* имеет транспалеарктическое распространение и представлена в анализе образцами из пяти подвидов (от Скандинавии до Чукотки). Они характеризуются близкими последовательностями в анализируемом участке мтДНК и поэтому кластеризуются вместе. Аналогичная картина характеризует гаплотипическое разнообразие кедровки *Nucifraga caryocatactes*. В анализе представлены образцы из двух подвидов, охватывающих распространением почти всю Палеарктику.

Таким образом, выявлены две принципиально разные картины географического распределения митохондриальных гаплотипов, то есть филогеографии: с разделением на восточную и западную группу и без такого разделения. Различия между западными и восточными кластерами достигают межвидового уровня (4-6%), тогда как различия между гаплотипами внутри каждого кластера малы и одинакового порядка (менее 1%). Поиски причины различий между этими двумя картинами заставляют обращаться к истории формирования ареалов видов в связи с их экологическими предпочтениями. При этом приходится прибегать к принципу актуализма. Оказывается, что птицы из первой группы обитают на открытых или полуоткрытых пространствах и собирают пищу на земле. В отличие от них, кукша и кедровка относятся к типично лесным птицам и собирают корм – семена и животных – в кронах деревьев. Ворон не вписывается в эту простую схему. Он обладает наиболее универсальным типом питания и высокой приспособляемостью. Но все три вида последней группы относятся к одиночным, а не социальным, как все виды первой группы. Объяснение различий между двумя выявленными филогеографическими структурами требует рассмотрение истории формирования ареалов и предполагает общность процесса в пределах каждой из выявленных групп. Более того, можно предположить и одинаковые сроки произошедших событий. Виды с гомогенной картиной филогеографии могли заселить их обширные ареалы уже в послеледниковое время, достаточно быстро. Для кукши и кедровки предполагаемым источником расселения мог служить Алтайский "субцентр" (Назаренко, 1982). В отличие от них, ворону не требуется наличие лесов для гнездования и он мог пережить период ледниковья на месте, не отступая в рефугиумы. Поэтому его филогеографическая структура достаточно гомогенна, хотя и не столь, как у предыдущих двух видов. С другой стороны, для группы видов с подразделением на западные и восточные гаплотипы можно предположить наличие в прошлом изолятов, в каждом из которых за счет случайных процессов формировался особенный гаплотип. В качестве таких рефугиумов обычно предполагаются бассейн Средиземного моря и юго-восточный Китай. Последствия этой изоляции оказались различными – парапатрия у черной вороны, грача и сороки, ограниченная гибридизация в области контакта ареалов у галки и сохранившаяся до настоящего времени изоляция со значительным разрывом у голубой сороки. Дальнейшее изучение картин и закономерностей филогеографии может пролить свет на историю формирования ареалов изучаемых видов и, с другой стороны, уточнить таксономическое положение близкородственных форм.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучены представители фауны наземных позвоночных РДВ, обладающие биоресурсным потенциалом, либо представляющие интерес как модели эволюционно-генетических исследований. Особенностью использованного подхода явилось применение ряда методов генетики в форме кариологического, аллозимного и ДНК-анализов в комплексе с классическими зоологическими методами, обогащенными современной статистической обработкой традиционных параметров. Такой подход позволил в ряде случаев уточнить таксономическое положение и выяснить родственные связи изученных форм, что необходимо для дальнейшего их использования в качестве биологических ресурсов.

Работа выполнена в рамках Программы ОБН РАН "Биологические ресурсы России; фундаментальные основы рационального использования" и программы ДВО РАН "Амурская комплексная экспедиция" при финансовой поддержке грантов ДВО РАН № 06-I-ОБН-095, № 06-III-A-06-474, № 06-III-A-06-473, РФФИ-ГФЕН № 06-04-39015 и РФФИ № 06-04-48969.

ЛИТЕРАТУРА

- Громов И.М., Ербаева М.А. 1995. Млекопитающие фауны России и сопредельных территорий. Зайцеобразные и грызуны. СПб. С. 104-136.
- Картавцева И.В., Шереметьева И.Н. 1999. Кариологическое исследование двух видов полевков Дальнего Востока России *Microtus oeconomus* и *Microtus fortis* (Rodentia, Cricetidae) // VI Съезд ВТО. Москва. С. 111.
- Картавцева И.В., Шереметьева И.Н., Немкова Г.Е., Лазурченко Е.В. 2007. Хромосомные исследования полевки Максимовича *Microtus maximowiczii* Schrenk, 1858 в Норском заповеднике Амурской области и эворонской полевки *Microtus evoronensis* Kovalskaya et Sokolov, 1980 окрестностей озера Эворон Хабаровского края // Териофауна России и сопредельных территорий. М. С. 188.
- Ковальская Ю.М., Анискин В.М., Картавцева И.В. 1991. Географическая изменчивость по С-гетерохроматину восточной полевки *Microtus fortis* (Rodentia, Cricetidae) // Зоол. журн. Т. 70, № 12. С. 97-103.
- Ковальская Ю.М. 1977. Хромосомный полиморфизм *Microtus maximowiczii* Schrenk, 1858 (Rodentia, Cricetidae) // Бюлл. МОИП. Т. 82, № 2. С. 38-48.
- Кораблев В.П., Фрисман Л.В., Цвирка М.В., Ляпунова Е.А., Брандлер О.В., Воронцов Н.Н. 2003. Цитологическое и аллозимное исследование сусликов группы «тајог» (*Spermophilus*, Sciuridae, Rodentia) // Проблемы эволюции. Т. 5. Владивосток: Дальнаука, С. 151-166.
- Крюков А.П., Иваса М., Харинг Э. 2005. Молекулярная и морфологическая дивергенция между изолятами голубой сороки *Cyanopica cyanus sensu lato* // Русский орнитологический журнал. Экспресс-выпуск 302, XIV. С. 943-958.
- Линецкая О.Н., Линецкий А.И. 1989. Видовые различия в характере краниометрической изменчивости у сусликов Восточной Палеарктики (подрод *Urocitellus*) // Современные подходы к изучению изменчивости. Владивосток: ДВО АН СССР. С. 99-105.
- Мейер М.Н., Голенищев Ф.Н., Раджабли С. И., Саблина О.Л. 1996. Серые полевки фауны России и сопредельных территорий. СПб. 320 с.
- Назаренко А.А. 1982. О фаунистических циклах (вымирание-расселение-вымирание...) на примере дендрофильной олритофауны Восточной Палеарктики // Ж. общей биологии. Т. 43, № 6. С. 823-835.
- Попков А.Ф. 1978. Внутривидовая изменчивость эколого-физиологических признаков сибирского длиннохвостого суслика *Citellus undulatus* Pallas. Дис. ... канд. биол. наук. Владивосток: БПИ ДВНЦ АН СССР. 159 с.
- Пузаченко Ю.Г. 2004. Математические методы в экологических и географических исследованиях. М.: Изд. центр "Академия". 416 с.
- Фрисман Л.В., Воронцов Н.Н. 1989. Геногеографическая изменчивость длиннохвостого суслика *Citellus undulatus* Pallas. // Современные подходы к изучению изменчивости. Владивосток: ДВО АН СССР. С. 43-60.
- Фрисман Л.В., Кораблев В.П., Ляпунова Е.А., Воронцов Н.Н., Брандлер О.В. 1999. Аллозимная дифференциация разнохромосомных форм крапчатого суслика (*Spermophilus suslicus* Guld. 1770, Rodentia) // Генетика. Т. 35, № 3. С. 378-384.
- Цвирка М.В., Челомина Г.Н., Кораблев В.П. 2006. Генетические свидетельства гибридизации между бледнохвостым *Spermophilus pallidicauda* Satunin, 1903 и алашанским *S. alashanicus* Büchner, 1888 сусликами в Монголии // Генетика. Т. 42, № 4. С. 530-537.
- Шереметьева И.Н. 2003. Морфологическая изменчивость дальневосточной полевки *Microtus fortis* (Rodentia, Cricetidae) с четырех островов залива Петра Великого (Японское море) // Зоол. журн. Т. 82, № 9. С. 1138-1143.
- Шереметьева И.Н. Географическая изменчивость краниометрических параметров дальневосточной полевки *Microtus fortis* (Rodentia, Cricetidae) // Зоол. журн. (в печати).
- Шереметьева И.Н., Картавцева И.В., Крюков А.П. 2003. Хромосомная и морфологическая характеристика полевки Максимовича *Microtus maximowiczii gromovi* Vorontsov et al., 1988 // Систематика, филогения и палеонтология мелких млекопитающих. СПб.: Зоол. ин-т РАН. С. 236-238.
- Шереметьева И.Н., Картавцева И.В., Фрисман Л.В. 2006. Кариологическая и аллозимная изменчивость дальневосточной полевки (*Microtus fortis* Buchner, 1889, Cricetidae, Rodentia) Дальнего Востока России // Генетика Т. 42, № 6. С. 833-843.
- Шереметьева И.Н., Челомина Г.Н. 2003. Оценка генетического разнообразия островных и материковых популяций дальневосточной полевки *Microtus fortis* (Rodentia, Cricetidae): данные RAPD-PCR анализа // Биологические исследования на островах северной части Тихого океана. Владивосток. № 9. С. 1-18.
- Chelomina G.N., Sheremetyeva I.N. 2007. Intraspecific genetic variation of *Microtus fortis pelliceus* from mainland and island populations of the Russian Far East evaluated by random amplified polymorphic DNA markers // Mammal study. Vol. 32. P. 63-74.
- Fok K.W., Wade C.M., Parkin D.T. 2002. Inferring the phylogeny of disjunct populations of the azure-winged magpie *Cyanopica cyanus* from mitochondrial control region sequences // Proc. R. Soc. Lond. B 269. P. 1671-1679.
- Ford C.E., Hamerton J.L. 1956. A colchicines, hypotonic citrate, squash sequence for mammalian chromosomes // Stain Technology. Vol. 31. P. 247-251.
- Haring E., Gamauf A., Kryukov A. Phylogeographic patterns in widespread corvid birds // Mol. Phyl. Evol. (In press).

- Haring E., Sheremetyeva I.N., Kryukov A.P. 2005. Molecular phylogeny and phylogeography of some palearctic vole species (genus *Microtus*) based on mitochondrial sequences // IX International Mammalogical Congress. Sapporo, Japan. P. 163-164.
- Kartavtseva I.V., Kryukov A.P. 1998. Karyotype of *Microtus fortis* (Rodentia, Cricetidae) from extreme south of Far East Russia // Chromosome Science. Vol. 2. P. 31-34.
- Kartavtseva I.V., Sheremetyeva I.N. 1998. Variation of C- and NOR-bands of *Microtus fortis* (Rodentia, Cricetidae) from Russian Far East // Modern achievements in population, evolutionary and ecological genetics (MAPEG-1998). Vladivostok. P. 9-10.
- Kryukov A., Iwasa M.A., Kakizawa R., Suzuki H., Pinsker W., Haring E. 2004. Synchronic east-west divergence in azure-winged magpies (*Cyanopica cyanus*) and magpies (*Pica pica*) // J. Zool. Syst. Evol. Research. Vol. 42. P. 342-351.
- Lee M.R., Elder F.F. 1980. Yeast stimulation of bone marrow mitosis for cytogenetic investigation // Cytogenet. Cell Genet. Vol. 26. P. 36-40.
- Lee S., Parr C.S., Hwang Y., Mindell D.P., Choe J.C. 2003. Phylogeny of magpies (genus *Pica*) inferred from mtDNA data. // Mol. Phyl. Evol. Vol. 29. P. 250-257.
- Miller M.P. 1997. Tools for population genetic analysis (TFPGA) 1.3: A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Computer software distributed by author.
- Munke M., Schmiady H. 1979. A simple one-step for staining the nucleolus organizer region // Experientia. Vol. 35. P. 602-603.
- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals // Genetics. Vol. 89. P. 583-590.
- Pasteur N., Pasteur G., Bonchomme F., Catalan J., Britton-Davidian J. 1988. Practical isosyme genetics. Hebdsted Pr. New York, Chichester, Brisbane, Toronto. 215 p.
- Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. 1989. Molecular cloning: A Laboratory Manual. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 509 p.
- Seabright M. 1971. A rapid banding technique for human chromosomes // Lancet. Vol. 11, N 7731. P. 971-972.
- Sumner A.T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin // Exptl. Cell Res. Vol. 75. P. 304-306.
- Swafford D.L., Selander R.B. 1981. BIOSYS-1: a Fortran program for comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics // J. Hered. Vol. 72. P. 281-283.
- Van de Peer Y., De Wachter R. 1994. TREECON for Windows: a software package for the construction and drawing of evolutionary trees for the Microsoft Windows environment // Comput. Applic. Biosci. Vol. 10. P. 569-570.
- Vorontsov N.N., Frisman L.V., Lyapunova E.A., Mezkhova O.N., Serdyuk V.A., Fomicheva I.I. 1980. The effect of isolation on the morphological and genetical divergence of populations // Genetica (Neth). Vol. 52-53. P. 339-359.
- Yeh F.C., Boyle T.J.B. 1997. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits // Belgian J. Botany. Vol. 129. 157 p.

GENETIC INVESTIGATION OF THE RESOURCE SPECIES OF TERRESTRIAL VERTEBRATES IN THE RUSSIAN FAR EAST

A. P. Kryukov, I. N. Sheremetyeva, I. V. Kartavtseva,
M. V. Tsvirka, L. V. Frisman, V. P. Korablev

Institute of Biology and Soil Science FEB RAS

Results of investigation on some vertebrate species, abundant and playing important role in the natural ecosystems are presented. Such examples as ground squirrel (*Spermophilus undulatus* Pallas, 1778), voles (*Microtus fortis* Buchner, 1889, *M. maximowiczii* Schrenck, 1858), and 10 species of corvid birds (*Corvus corone* Linnaeus, 1758, *C. frugilegus* Linnaeus, 1758, *C. monedula* Linnaeus, 1758, *C. dauuricus* Pallas, 1776, *C. corax* Linnaeus, 1758, *Pica pica* (Linnaeus, 1758), *Cyanopica cyanus* (Pallas, 1776), *Cy. cooki* Bonaparte, 1850, *Perisoreus infaustus* (Linnaeus, 1758) and *Nucifraga caryocatactes* (Linnaeus, 1758)) are considered. Chromosome analysis, allozyme and RAPD-PCR-analyses and DNA sequencing were used, as well as skull morphometry. Intraspecies genetic variation was estimated, systematic positions and phylogenetic relationships of several taxa revealed.