

ОБЩАЯ
БИОЛОГИЯ

УДК 599.323.4

ТАКСОНОМИЧЕСКАЯ ИНТЕРПРЕТАЦИЯ АЛЛОПАТРИЧЕСКИХ ФОРМ
МЛЕКОПИТАЮЩИХ НА ПРИМЕРЕ ДВУХ КАРИОФОРМ
ПОДЗЕМНОЙ ПОЛЁВКИ *Microtus (Terricola) Subterraneus*
(Rodentia, Arvicolinae) ИЗ ВОСТОЧНОЙ ЕВРОПЫ

© 2018 г. М. И. Баскевич^{1,*}, А. С. Богданов², Л. А. Хляп¹, Е. А. Шварц³, Е. М. Литвинова⁴

Представлено академиком РАН В.В. Рожновым 24.08.2017 г.

Поступило 24.08.2017 г.

Посредством секвенирования гена *cytb* (1143 п.н.) мтДНК и кариотипического анализа (рутинная G-окраска хромосом) исследовали новые находки подземной полёвки из Новгородской, Калужской, Воронежской и Белгородской областей и обобщили данные о хромосомной изменчивости вида на территории Восточной Европы. В изученной выборке выявлены две географически замещающие хромосомные формы: северная, $2n = 54$ (Новгородская и Калужская обл.) и южная, $2n = 52$ (Воронежская и, предположительно, Белгородская обл.). Полученные результаты уточняют границы распространения двух кариоформ подземной полёвки в Восточной Европе и указывают на внутривидовой уровень их таксономической дифференциации.

DOI: 10.7868/S0869565218180251

Решение вопроса о таксономическом статусе аллопатрических форм млекопитающих (виды или подвиды политипического вида) в значительной степени зависит от принимаемой исследователем концепции вида. Наиболее широко используемой в териологии является биологическая концепция, согласно которой виды – это “группы действительно или потенциально скрещивающихся естественных популяций, репродуктивно изолированных от других таких же групп” [1]. Очевидно, что применимость биологической концепции вида ограничена субъективностью решений при аллопатрическом распространении популяций. На практике эту концепцию зачастую используют в случае обнаружения у аллопатрических форм существенных хромосомных отличий, характерных для “хороших” симпатрических видов данной группы [2]. В последние годы в систематике млекопитающих широкое распространение получила

впервые сформулированная в 1909 г. генетическая концепция вида, согласно которой видовая обособленность определяется не репродуктивной, а генетической изоляцией [3]. Развитие представлений о генетической концепции вида за почти вековой период обобщено в работе [4], в которой наряду с обсуждением проблем вида и видообразования рассмотрен вопрос практического использования генетической концепции вида, основанной на поиске корреляций между генетическими расстояниями и уровнем таксономической дифференциации у млекопитающих. Так, для уточнения таксономического статуса аллопатрических популяций в рамках генетической концепции вида был предложен тест, основанный на анализе изменчивости нуклеотидных последовательностей гена цитохрома *b* (*cytb*) мтДНК у ряда представителей четырёх отрядов млекопитающих. Этот тест устанавливает соответствие генетических расстояний разным уровням таксономической дифференциации, при этом авторы цитируемой работы подчёркивают необходимость одновременного использования различий и по другим генетическим маркерам. Применение выше упомянутых концепций к таксономически сложным группам и, в частности, к генетически высоко полиморфным видовым комплексам и видам, представляет безусловный интерес.

Подземная полёвка *Microtus (Terricola) subterraneus* s. lato – прежний политипический вид

¹ Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова
Российской Академии наук, Москва

² Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова
Российской Академии наук, Москва

³ Российское отделение Всемирного фонда дикой природы
(WWF), Москва

⁴ Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова

*E-mail: mbaskevich@mail.ru

с мозаичным евразийским ареалом, с юга на север простирающимся от Малой Азии и Балкан до Прионежья и Эстонии, а с запада на восток – от стран Западной и Юго-Западной Европы до Левобережной Украины, правобережья Дона, Среднего и Верхнего Поволжья. В его составе выделяли до 25 подвидов [5], многие из которых (*majori*, *daghestanicus*, *multiplex*, *likhtensteini* и др.) впоследствии были признаны самостоятельными кариологически дискретными видами (Niethammer, Krapp, 1982, цит. по [12]). Кроме того, у собственно подземной полёвки *M. (T.) subterraneus* s. str. кариологический подход выявил и внутривидовую, в том числе географическую, изменчивость кариотипа.

Так, в Европейской части ареала этого вида были обнаружены две хромосомные формы: $2n = 52$ (южная) и $2n = 54$ (северная), тогда как на территории Малой Азии была найдена особая, географически изолированная, 54-хромосомная форма, отличающаяся по некоторым особенностям кариотипа от 54-хромосомной формы с севера Европы [6]. Форму вида с 52 хромосомами, которая обитает в широколиственных лесах юга Восточной Европы, предлагалось рассматривать в качестве отдельного вида *M. (T.) dacius* Miller, 1912, тогда как в соответствии с данной гипотезой за 54-хромосомной формой с севера Восточной Европы сохранялась принадлежность к *M. (T.) subterraneus* s. str. [7].

Таблица 1. Диплоидные наборы хромосом у подземных полёвок из Восточной Европы

Номер выборки	Страна, область	Пункт отлова	Координаты		2n	Источник
			с.ш.	в.д.		
1	Россия, Ленинградская обл.	Окрестности г. Бокситогорск	59,473	33,836	54	Sablina et al., 1989, цит. по [12]
2	Польша, северо-восточная часть	Беловежа	52,698	23,846	54	Jordan et al., 1971, цит. по [12]
3	Россия, Тверская обл.	Окрестности оз. Селигер	56,70	33,83	54	[13]
4	Тверская обл.	Окрестности с. Бубоницы, Торопецкий р-н	56,73	31,512	54	[12]
5	Брянская обл.	Окрестности с. Савички, Новозыбковский р-н	52,43	31,86	54	[12]
6*	Новгородская обл.	Валдайский Нац. парк, окрестности оз. Крень	57,977	33,367	54	Наши данные
7*	Калужская обл.	“Калужские засеки”, окрестности с. Нагое	53,567	35,742	54	Наши данные
8	Украина, Киевская обл.	Окрестности г. Киева	50,39	30,39	52	[11]
9	Черкасская обл.	Каневский заповедник	49,723	31,530	52	[11]
10	Закарпатская обл.	Гора Петрос (Вост. Карпаты)	48,173	24,420	52	[11]
11	Закарпатская обл.	Подножье горы Пожижевская (Вост. Карпаты)	48,14	24,49	52	[11]
12	Ивано-Франковская обл.	Метеостанция у горы Пожижевская (Вост. Карпаты)	48,15	24,50	52	Баскевич, 1997, цит. по [12]
13	Черновицкая обл.	Окрестности с. Чернавка	48,418	26,010	52	[12]
14	Польша, юго-восточная часть	Горы Бешады (Вост. Карпаты)	49,283	22,483	52	Jordan et al., 1971, цит. по [12]
15	Россия, Воронежская обл.	“Фаленбергово поле”	51,878	39,664	52	[12] и наши данные
16*	Воронежская обл.	Правобережье р. Усманка	51,937	39,684	52	[12] и наши данные
17	Рязанская обл.	Шацк	53,83	41,5	52	[13]
18	Пензенская обл.	Заметчино	53,33	40,67	52	[13]

*отмечены выборки, использованные в молекулярно-генетическом анализе.

Задачей настоящего сообщения было уточнение распространения и оценка уровней кариологической и молекулярно-генетической дифференциации двух хромосомных форм подземной полёвки *M. (T.) subterraneus* s. str. из Восточной Европы с целью определения их таксономического статуса на основе использования биологической и генетической концепций вида. Дополнительной задачей работы был анализ молекулярно-генетических различий между популяциями данного вида из Восточной Европы, с одной стороны, и из Юго-Западной Европы и Малой Азии – с другой.

Используемый в настоящем исследовании собственный материал по подземной полёвке из Восточной Европы включал 13 экземпляров, добытых в четырёх пунктах на территории Новгородской обл. (Валдайский Национальный парк, окрестности оз. Крень: № 11–56, 11–57, 11–59, 13–70), Калужской обл. (“Калужские засеки”, окрестности с. Нагое: № 13–146, 13–179, 13–180, MS-1, MS-2), Воронежской обл. (правобережье р. Усманка: 03–67, 03–192) и Белгородской обл. (Белогорье, Ямская степь – № 694, 696). У всех особей определили полную нуклеотидную последовательность (1143 п.н.) гена *cytb* мтДНК, а 11 из них были кариотипированы (кроме полёвок из Белгородской обл.). Помимо собственного материала в молекулярно-генетический анализ мы включили ранее опубликованные и доступные в базе GenBank [8] нуклеотидные последовательности гена *cytb* подземных полёвок из Австрии (AY513833, Glocknerhaus), Греции (AY513832, Seli) и Турции (AY513834, AY513835, Çiğlikara). В качестве аутгруппы использовали последовательности *cytb* кустарниковой *M. (T.) majori* (AY513814, Damar) и дагестанской *M. (T.) daghestanicus* (AY513792, Handere) полёвок из Турции.

Хромосомные препараты, приготовленные по стандартному методу воздушного высушивания, получали из клеток костного мозга. Анализ G-исчерченности хромосом был проведён по методу Сибрайт [9]. Методы выделения ДНК, амплификации и секвенирования гена *cytb* соответствовали описанным ранее [8]. При статистической обработке молекулярно-генетических данных использовали компьютерную программу Mega 6.06 [10]. Выбор модели нуклеотидных замен производили по показателю BIC (Bayesian Information Criterion). При построении дендрограммы по методу максимального правдоподобия (maximum likelihood, ML) и расчёте генетических расстояний (Genetic distance, D) использовали модель TN93+G (Tamura–Nei model with gamma distributed). Значения бутстреп-поддержки определяли по тысяче репликаций.

Кариотипированные экземпляры из Новгородской и Калужской областей относились к 54-хро-

мосомной форме, а особи из Воронежской обл. – к 52-хромосомной форме подземной полёвки. В табл. 1 и на рис. 1 представлены суммарные сведения, включающие собственные и литературные [11–13] данные о цитогенетической диагностике двух хромосомных форм подземной полёвки в Восточной Европе. Полученные результаты дополняют информацию об их аллопатрических ареалах, уточняя южную границу северной ($2n = 54$) и северную границу южной ($2n = 52$) форм. В целом наша работа подтвердила гипотетическую схему обособленности ареалов двух хромосомных форм вида в Восточной Европе [11], для которых впоследствии постулировался видовой статус [7]. Одним из использованных И.В. Загороднюком [7] аргументов в пользу предположения о видовой самостоятельности двух хромосомных форм подземной полёвки из Восточной Европы послужили различия в особенностях их экологии (приуроченность к разным стадиям, отличия в уровнях численности, плодовитости и других демографических параметрах). Между тем в настоящей работе мы показали, что цитогенетические различия между двумя кариоформами подземной полёвки из Восточной Европы сводятся к одной хромосомной перестройке – робертсоновской транслокации (рис. 2),

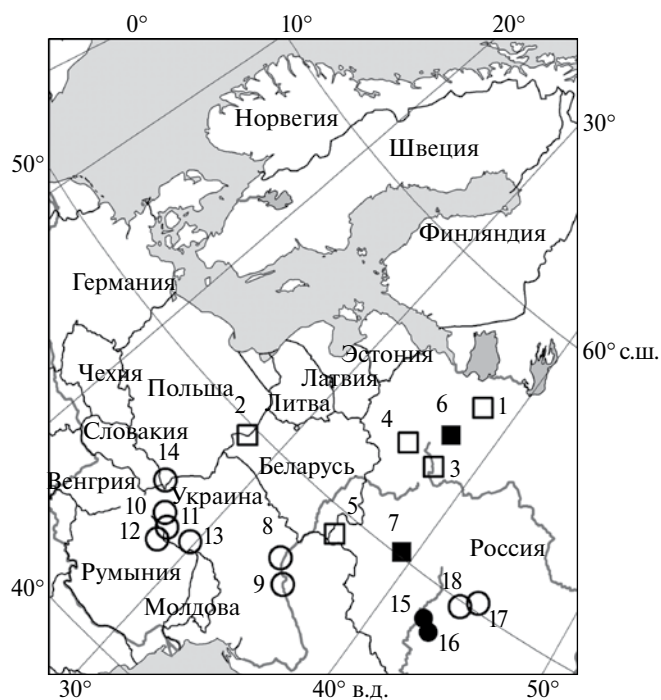


Рис. 1. Места находок двух географически замещающих хромосомных форм подземной полёвки в Восточной Европе: с $2n = 54$ (квадрат), с $2n = 52$ (круг). Цифры около значков нанесены на карту с помощью компьютерных программ ArcGis и соответствуют нумерации в таблице. Чёрным цветом выделены собственные находки.

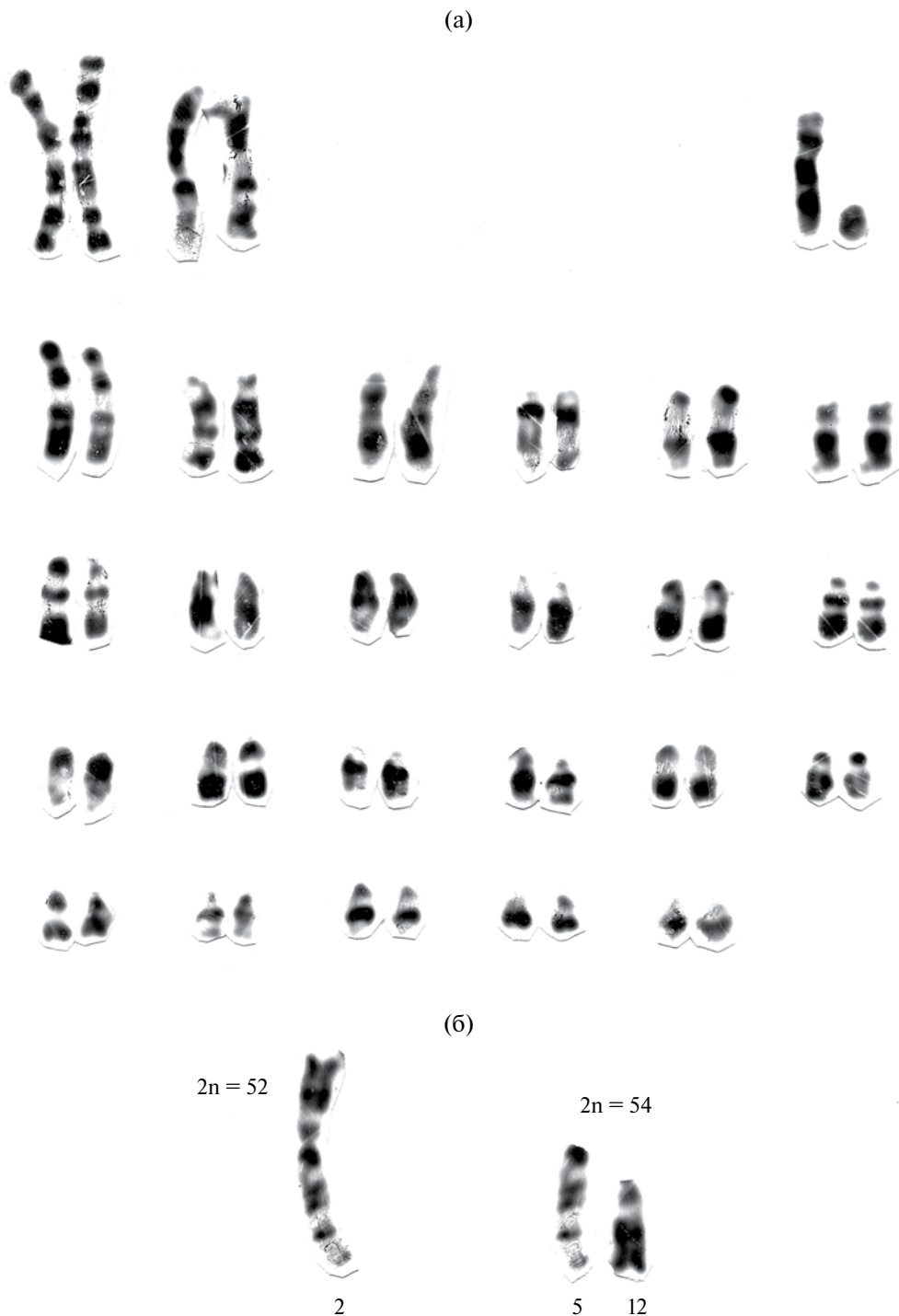


Рис. 2. (а) – Кариотип 52-хромосомного самца с правобережья р. Усманка Воронежской обл. (G-окраска); (б) – робертсоновская транслокация, дифференцирующая кариотипы 52-хромосомной (слева) и 54-хромосомной (справа) форм подземной полёвки из Восточной Европы.

недостаточной для их репродуктивной изоляции. Подтверждением этому могут служить результаты экспериментальной гибридизации [14] и данные по робертсоновскому полиморфизму (робертсоновский веер) у близкого вида – дагестанской полёвки [15].

Мы также попытались оценить таксономический статус двух аллопатричных хромосомных форм подземной полёвки из Восточной Европы в рамках генетической концепции вида, сравнивая у них нуклеотидные последовательности гена *cytb* (рис. 3).

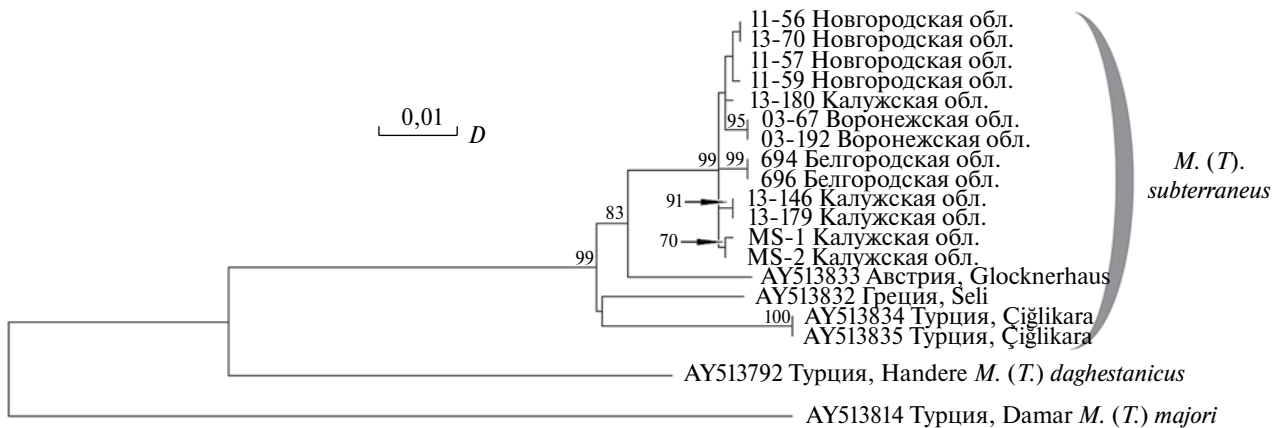


Рис. 3. ML-дендрограмма, построенная при сравнении полных нуклеотидных последовательностей гена *cyt b* (1143 п.н.) экземпляров *M. (T.) subterraneus* из Восточной Европы, Юго-Западной Европы и Анатолии, а также *M. (T.) daghestanicus* и *M. (T.) majori*. В узлах ветвления дендрограммы приведены значения бутстреп-поддержки, превышающие 70%.

Молекулярно-генетические данные подтвердили результаты хромосомных исследований, выявив соответствующий внутривидовому уровень дифференциации между двумя кариоформами подземной полёвки ($D = 0,005$) без отчётливого разделения их на дендрограмме. При этом единая гаплогруппа, включающая восточно-европейских подземных полёвок обеих хромосомных форм, заметно отличалась от особей этого же вида из Анатолии ($D = 0,037$), Австрии ($D = 0,026$) и Греции ($D = 0,030$).

Таким образом, исследованные нами по двум генетическим признакам аллопатрические формы подземной полёвки из Восточной Европы соответствуют внутривидовым формам. Высказанная ранее гипотеза о видовом уровне их дифференциации [7] не подтвердилась как в рамках биологической, так и генетической концепции вида.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 16-04-00032 а и в рамках Государственных заданий 0108-2018-0007 и 0109-2018-0073.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Майр Э. Зоологический вид и эволюция. М.: Мир, 1968. 597 с.
2. Соколов В.Е., Баскевич М.И., Ковальская Ю.М. // Зоол. журн. 1986. Т. 65. В. 6. С. 949-952.
3. Bateson W. Darwin and Modern Science. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1909. P. 65-101.
4. Baker R.J., Bradley R.D. // J. Mammal. 2006. V. 87. № 4. P. 643-662.
5. Ellerman J.R., Morrison-Scott T.C. Checklist of the Palearctic and Indian Mammals from 1758 to 1946. L.: British museum, 1951. 810 p.
6. Macholan M., Filippucci M.G., Zima J. // J. Zool. 2001. V. 255. P. 31-42.
7. Загороднюк И.В. // Зоол. журн. 1992. Т. 71. В. 2. С. 86-97.
8. Jaarola M., Martinkova N., Gunduz I., et al. // Mol. Phylogenet. Evol. 2004. V. 33. P. 647-663.
9. Seabright M. // Lancet. 1971. V. 11. P. 971-972.
10. Tamura K., Stecher G., Peterson D., et al. // Mol. Biol. Evol. 2013. V. 30. № 12. P. 2725-2729.
11. Загороднюк И.В. // Вестн. зоологии. 1989. № 5. С. 3-14.
12. Баскевич М.И., Крысанов Е.Ю., Малыгин В.М. и др. // Зоол. журн. 2007. Т. 86. В. 3. С. 369-376.
13. Bulatova N., Sh., Golenischev F., Bystrakova N. // Hystrix. It. J. Mammal. 2007. V. 18. P. 99-109.
14. Meylan A. // Experientia. 1972. V. 28. P. 1507-1510.
15. Ахвердян М.Р., Ляпунова Е.А., Воронцов Н.Н. // Зоол. журн. 1992. Т. 71. В. 3. С. 96-110.