

УДК 575.174.015.3:599.323.4

## ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ РОДА *Chionomys* (Mammalia, Arvicolinae) И СРАВНИТЕЛЬНАЯ ФИЛОГЕОГРАФИЯ ТРЕХ ВИДОВ СНЕГОВЫХ ПОЛЕВОК

© 2013 г. А. А. Банникова<sup>1</sup>, А. М. Сижажева<sup>2</sup>, В. Г. Маликов<sup>3</sup>,  
Ф. Н. Голенищев<sup>3</sup>, Р. И. Дзюев<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, кафедра зоологии позвоночных, Москва 119991  
e-mail: hylomys@mail.ru

<sup>2</sup>Кабардино-Балкарский государственный университет, кафедра общей биологии,  
экологии и природопользования, Нальчик 360004

<sup>3</sup>Зоологический институт Российской академии наук, Санкт-Петербург 199034  
Поступила в редакцию 01.08.2012 г.

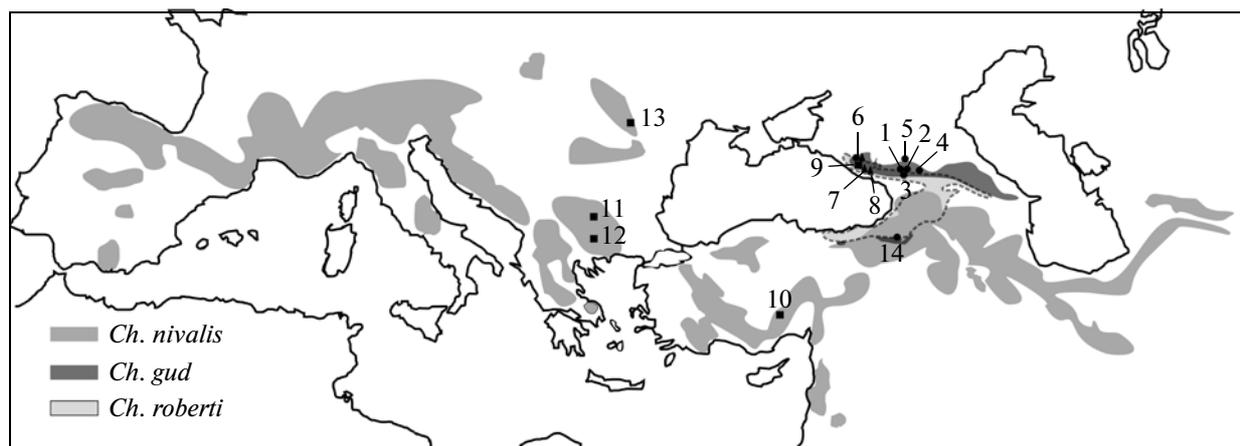
В настоящей работе генетический полиморфизм рода *Chionomys* изучен на основе секвенирования митохондриального гена *cytb* и двух ядерных экзонов — 10-го экзона *GHR* и 11-го экзона *BRCA1*. Показано четкое деление рода снеговых полевок на пять линий: *Ch. nivalis*, *Ch. gud*, *Ch. roberti*, *Ch. aff. nivalis* из Турции и *Ch. aff. gud* из Турции. Порядок дивергенции ветвей на филогенетических деревьях, полученных по разным генам, неоднозначен, что, возможно, есть следствие недавнего и быстрого отделения основных линий от предкового ствола. Однако результаты анализа митохондриального и ядерных генов с определенностью указывают на то, что генетическое и таксономическое разнообразие рода *Chionomys* выше, чем это предполагалось ранее: генетическая дивергенция некоторых популяций настолько глубока, что они, вероятно, могут заслуживать статуса самостоятельных видов. Несмотря на значительно больший по площади и более раздробленный ареал европейской снеговой полевки *Ch. nivalis*, гудаурской полевке *Ch. gud* с ее относительно небольшим ареалом, ограниченным только Кавказскими и Понтийскими горами, присуща не менее выраженная филогеографическая структура, в то время как малоазийская полевка *Ch. roberti* генетически наименее структурирована по сравнению с этими двумя видами. Полученные данные свидетельствуют в пользу ближневосточного, а не европейского происхождения рода *Chionomys*.

DOI: 10.7868/S0016675813050020

Род снеговых полевок *Chionomys* Miller, 1908 представлен в разной степени петрофильными формами, мозаично распространенными в горах Европы, Кавказа, Малой Азии, а также Среднего и Ближнего Востока. Филогенетические отношения снеговых полевок всегда оставались дискуссионными. Долгое время в литературе бытовало представление о снеговых полках как подрode *Microtus* [1–4]. В то же время другие авторы [5] рассматривали снеговых полевок как отдельный род в составе трибы *Microtini* Miller, 1886. В дальнейшем разнообразные данные подтвердили, что *Chionomys* представляет собой линию, сильно удаленную от остальных полевок трибы *Microtini* [6–15]. Определенно решить вопрос о взаимоотношении серых полевок с родом *Chionomys* на основании мтДНК не давала политомия *Microtus*, обусловленная, главным образом, нестабильным положением *M. gregalis* Pallas, 1779 на митохондриальных деревьях [16–18]. Данные по ядерным генам доказали монофилию трибы *Microtini* (*Chionomys*, *Microtus*, *Blanfordimys* Argyropulo, 1933, *Lasiopodomys* Lataste, 1887), раннее ответвление в ее границах

рода *Arvicola* и сестринские отношения *Chionomys* и *Microtus sensu lato* [19]. Таким образом, вопрос об особой близости к снежным полкам тех или иных видов *Microtini* более не стоит. Вследствие накопления морфологических и молекулярных данных по межвидовой и внутривидовой изменчивости *Chionomys* пристальное внимание стали привлекать межвидовые филогенетические отношения в роде и филогеографическая структура видов.

Обычно в составе рода признают три вида [20]: *Ch. nivalis* Martins, 1842 (европейская снеговая полевка); *Ch. gud* Satunin, 1909 (гудаурская снеговая полевка); *Ch. roberti* Thomas, 1906 (малоазийская горная полевка). Они, согласно устойчивым морфологическим представлениям, составляют две видовые группы: группу “*nivalis*”, включающую *Ch. nivalis*, и группу “*roberti*”, включающую *Ch. roberti* и *Ch. gud* [5, 11, 20–24]. *Ch. nivalis* Martins, 1842 распространен в субальпийском и альпийском поясах гор Европы и Ближнего Востока, Северо-Западного Кавказа, Закавказья, Малой Азии, Копетдага и на некоторых хребтах Иран-



**Рис. 1.** Распространение *Ch. nivalis*, *Ch. gud* и *Ch. roberti* (по [26] с изменениями) и места сбора оригинальных образцов (1–13). Квадраты обозначают *Ch. nivalis*, кружки – *Ch. gud*, треугольники – *Ch. roberti*. Показан также локалитет для взятого из ГенБанка образца *Ch. gud* из Турции (14). Номера локалитетов соответствуют табл. 1.

ского нагорья; *Ch. gud* Satunin, 1909 населяет Северный и Центральный Кавказ с реликтовыми участками ареала в Пятигорье (Ставропольский край), Закавказье и Малой Азии; *Ch. roberti* Thomas, 1906 обитает в лесной и субальпийской зонах Кавказа и Малой Азии. Помимо перечисленных видов, из Загроса (Иран) был описан новый вид снеговых полевков *Ch. layi* Zykov, 2004 – снеговая полевка Лэя, или загросская снеговая полевка, которая по морфологическим признакам относится к группе “*nivalis*” [25]. Таким образом, по современным данным центром разнообразия рода оказывается кавказско-малоазийский регион, где обитают все ныне известные формы [26]. При небольшом числе распознаваемых в составе рода видов фактически для каждого из них описано от двух–трех до 25–26 подвидов [11]. Систематическая интерпретация разнообразия всей группы в целом оказывается крайне непростой задачей. Мозаичное распространение снеговых полевков, сложный и разнонаправленный характер их морфологической изменчивости, а также отсутствие репрезентативных выборок из ряда окраинных популяций затрудняют установление таксономического статуса форм с периферии ареала рода. Вероятно, некоторые из них являются достаточно древними изолятами, представляющими интерес в свете проблемы внутривидовой дифференциации и видообразования.

Если по внутривидовой генетической изменчивости и филогеографии *Ch. nivalis* существуют обширные данные [27–29], то генетическое разнообразие *Ch. gud* и *Ch. roberti* изучено значительно слабее. Для всех трех видов исследование даже единичных образцов с малоизученных территорий Ближнего Востока может существенно изменить представление об объеме рода.

Цель нашего исследования состояла в изучении филогенетических взаимоотношений внутри рода *Chionomys* и структуры внутривидовой изменчивости на основе митохондриального гена цитохрома *b* (*cytb*) и экзонов двух ядерных генов *BRCA1* и *GHR*. В сравнительно-филогеографическом разделе работы пристальное внимание уделено расширенной географической выборке слабо изученных видов – *Ch. gud* и *Ch. roberti*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### *Характеристика материала, выделение, амплификация и секвенирование ДНК*

Оригинальная выборка составила 46 образцов снеговых полевков рода *Chionomys* из 13 локалитетов (рис. 1). Для внешней группы на филогенетических деревьях были также получены последовательности 11-го экзона *BRCA1* для *Arvicola amphibius*, *Clethrionomys glareolus*, *Eothenomys melanogaster*, *Microtus oeconomus* и последовательности *cytb* для *Microtus arvalis* и *Microtus gregalis*. Большая часть ваучерных образцов хранится в Зоологическом музее МГУ им. М.В. Ломоносова, Зоологическом Институте РАН Санкт-Петербурга и в коллекции Кабардино-Балкарского государственного университета. Список образцов, географические локалитеты, номера музейных каталогов, шифры проб в генетическом анализе и их номера в Ген-Банке приведены в табл. 1.

Помимо оригинального материала, 42 последовательности *cytb* (AY513845–AY513849; GQ150786–GQ150788; GQ150791–GQ150802, HQ901791, HQ901792, HQ901794–HQ901807) и одна последовательность *GHR* (AM392378) снеговых полевков взяты из ГенБанка. Из ГенБанка также взяты последовательности *cytb*, *BRCA1* и *GHR* девяти ви-

Таблица 1. Характеристика оригинального материала, использованного в исследовании

Вид	Географический локалитет (в скобках – его номер по рис. 1)	Код образца (по рис. 2–4)	Музей, № по каталогу или шифр пробы	№ в ГенБанке			
				<i>cytb</i>	<i>BRCA1</i>	<i>GHR</i>	
<i>Chionomys gud</i>	Кабардино-Балкария, Приэльбрусье, Поляна Нарзанов 43°15'39" N, 42°35'31" E (1)	Ch gud 1-09	КБГУ S-3164	JN244677	JN244726	JN244708	
		Ch gud 2-09	КБГУ S-3165	JN244678	JN244721	JN244709	
		Ch gud 3-09	КБГУ S-3163	JN244679	–	–	
		Ch gud 4-09	КБГУ S-3166	JN244680	–	–	
		Ch gud 5-09	КБГУ S-3159	JN244681	–	–	
		Ch gud 6-09	КБГУ S-3160	JN244682	–	–	
	Кабардино-Балкария, Приэльбрусье, Тегенекли 43°09'41" N, 42°35'57" E (2)	Ch gud 2-06	ЗММУ S-179565	GQ352458	–	–	
		Ch gud 3-06	ЗММУ S-179566	JN244683	–	–	
		Ch gud 4-06KB	ЗММУ S-179567	JN244684	–	–	
		Ch gud 1/8-06	КБГУ S-2426	JN244687	–	–	
		Ch gud 1/27-06	КБГУ S-2427	JN244686	–	–	
		Ch gud 18-10	КБГУ S-3300	JN244695	JN244724	JN244713	
	Кабардино-Балкария, Приэльбрусье, Шхельда 43°14'57" N, 42°37'43" E (3)	Ch gud 32-99	ЗММУ S-179565	GQ352457	–	–	
		Ch gud 42-99	ЗММУ S-180660	JN244685	–	–	
	Кабардино-Балкария, Безенги 43°11'57" N, 43°14'59" E (4)	Ch gud 14-10	КБГУ S-453	JN244692			
		Ch gud 15-10	КБГУ S-2243	JN244693	JN244723	JN244712	
		Ch gud 16-10	КБГУ S-465	JN244694			
	Ставропольский край, Железноводск, гора Развалка 44°05'57" N, 43°01'04" E (5)	Ch gud M-07	ЗИН 100239	GQ352460	JN244727	JN244714	
		Ch gud 5-10	КБГУ S-3308	JN244689	JN244722	JN244711	
		Ch gud 6-10	КБГУ S-3269	JN244690	–	–	
		Ch gud 7-10	КБГУ S-3351	JN244691	–	–	
	Адыгея, Лаганки 44°00'06" N, 40°14'59" E (6)	Ch gud 4-06Ad	ЗИН 100358	GQ352463	–	–	
		Ch gud 1-06	ЗИН 100359	GQ352461	–	–	
		Ch gud A	ЗИН 100237	JN244688	–	–	
	<i>Chionomys roberti</i>	Адыгея, Лаганки 44°00'06" N, 40°14'59" E (6)	Ch rob M-07	ЗИН 100234	GQ352459	–	–
		Адыгея, Гузерибль 43°50'00" N, 40°12'06" E (7)	Ch rob 3-06	ЗИН 100236	GQ352462	–	–
Ch rob 1-10			КБГУ S-3303	JX440343	–	–	
Ch rob 2-10			КБГУ S-3304	JN244697	JN244728	JN244716	
Ch rob 3-10			КБГУ S-3211	JN244698	–	–	
Ch rob 4-10			КБГУ S-3893	JN244699	–	–	
Абхазия, оз. Рица 43°33'17" N, 40°06'45" E (8)		Ch rob 8-10	КБГУ S-3307	JN244700	JN244729	JN244717	
		Ch rob 9-10	КБГУ S-3305	JN244701	–	–	
		Ch rob 10-10	КБГУ S-3306	JN244702	–	–	
		Ch rob 11-10	КБГУ S-3206	JN244703	–	–	
		Ch rob 12-10	КБГУ S-3207	JN244704	–	–	
		Ch rob 13-10	КБГУ S-3392	JN244705	–	–	

Таблица 1. Окончание

Вид	Географический локалитет (в скобках — его номер по рис. 1)	Код образца (по рис. 2–4)	Музей, № по каталогу или шифр пробы	№ в ГенБанке		
				<i>cytb</i>	<i>BRCA1</i>	<i>GHR</i>
<i>Chionomys nivalis</i>	Адыгея, Кавказский заповедник, гора Абаго 43°54' N, 40°08' E (9)	Ch niv 11-1	ЗИН 100617	JX440341	JX440344	JX440339
		Ch niv 11-2	ЗИН 10618	JX440342	—	JX440340
		Ch niv 11-3	ЗИН 10619	JX440342	JX440344	JX440340
	Турция, Центральный Тавр 37°43'17" N, 35°10'53" E (10)	ZIN98639	ЗИН 98639	JN244707	JN244731	JN244718
	Болгария, г. Витоша 42°37'10" N, 23°22'59" E (11)	ZIN73190	ЗИН 73190	GQ352464	—	JN244719
		ZIN73189	ЗИН 73189	JN244734	—	—
	Болгария, Пирин 41°49'43" N, 23°32'23" E (12)	ZIN78540	ЗИН 78540	JN244706	—	—
Вост. Карпаты, г. Бряцкул, 45°46'53" N, 26°45'31" E (13)	ZIN73183	ЗИН 73183	GQ352465	—	—	
<i>Arvicola amphibius</i>	Тверская обл., Колчеватики		ЗММУ S-182598	—	JX440345	—
<i>Clethrionomys glareolus</i>	Чувашия		20/11_15	—	JX440346	—
<i>Eothenomys melano-gaster</i>	Сев. Вьетнам, Шапа 22°21' N, 103°46' E		ЗИН 96316	—	JX440348	—
<i>Microtus oeconomus</i>	Монголия 48°17'15" N, 99°47'50" E		ЗММУ S-189125	—	JX440347	—
<i>Microtus arvalis</i>	Азербайджан, Талыш, Лерик		Ma_Leric2004	GQ352469	—	—
<i>Microtus gregalis</i>	Бурятия		ЗММУ S-182598	GQ352466	—	—

Примечание. ЗММУ — Зоологический музей МГУ им. М.В. Ломоносова; ЗИН — Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург; КБГУ — Кабардино-Балкарский государственный университет.

дов других полевоочьих, использованных как внешняя группа (см. Приложение).

Геномную ДНК выделяли из фиксированных этанолом мышц и печени стандартным методом

**Таблица 2.** Праймеры, разработанные для амплификации и секвенирования *cytb* и 11-го экзона *BRCA1* видов рода *Chionomys*

Название праймера	Последовательность (5'-3')
<i>cytb</i>	
Chi_H604_gud	gtc-cag-ttg-ggt-tgt-tag-atc-ctg-ttt-c
Chi_L426_gud	ggc-aac-agt-aat-tac-aaa-tct-tct-atc-agg
Chi_L455_rob	cca-tcc-cct-aca-tcg-gca-caa-c
Chi_H604_rob	gtc-cag-ttg-gat-tat-tgg-atc-ctg-ttt-c
Chi_H604_niv	gtc-cgg-ttg-ggt-tat-tgg-atc-ctg-ttt-c
Chi_L444_niv	cct-ctt-atc-agg-cat-ccc-ata-cat-cg
<i>BRCA1</i>	
F180_arv	cgg-aac-aga-tgg-gct-gaa-agt-aaa-g
R1240_arv	ggc-atc-tgc-tgc-agg-ttc-tgt-gt

фенол-хлороформной депротеинизации после обработки гомогената тканей протеиназой К [30].

Полную последовательность митохондриального гена цитохрома *b* (1140 пн) амплифицировали с комбинацией праймеров L14729/H15906arvic [31]. В случае деградированной ДНК и для контроля возможной амплификации псевдогенов проводили две реакции ПЦР, которые позволяли получить перекрывающиеся фрагменты. Для этого были разработаны следующие оригинальные праймеры: Chi\_L426\_gud, Chi\_H604\_gud, Chi\_L455\_rob, Chi\_H604\_rob, Chi\_L444\_niv, Chi\_H604\_niv, последовательности которых приведены в табл. 2. Реакция амплификации *cytb* включала 35 циклов и осуществлялась при следующих условиях: денатурация при температуре 94°C в течение 30 с; отжиг при температуре 60–62°C 1 мин; синтез при температуре 72°C 1 мин. Предварительная денатурация продолжалась 3 мин при 94°C, конечный синтез — 6 мин при 72°C.

10-й экзон *GHR* амплифицировали с праймерами Ghr\_arv\_F/Ghr\_arvic\_R [19], для амплификации 11-го экзона *BRCA1* использовали комбинацию

оригинальных праймеров F180\_arv/R1240\_arv (табл. 2). Условия амплификации для обоих ядерных генов – те же, что для *cytb*, за исключением температуры отжига (65°C).

Опыты выполнены на приборах Bio-Rad и Eppendorf. Контроль продуктов амплификации проводили в 1%-ном агарозном геле, очистку – осаждением смесью ацетата аммония с 70%-ным этанолом. Автоматическое секвенирование проведено на секвенаторе ABI 3100-Avant с использованием ABI PRISM®BigDye™ Terminator v. 3.1 в лаборатории ЦКП “Геном”.

#### Последовательности, филогенетический и филогеографический анализ

Выравнивание последовательностей проводили при помощи модуля SeqManII в программном пакете DNASTAR Lasergene9 и ClustalW в программном пакете BioEdit 7.0 с доводкой вручную. Конечное выравнивание составило 910 пн для *GHR*, 974 пн для *BRCA1* и 1140 пн для *cytb*. В анализе *cytb* помимо полных последовательностей также использованы частичные последовательности длиной от 1000 пн (в основном из ГенБанка) и три коротких фрагмента (426, 821 и 573 пн). Максимальная выборка *Chionomys*, использованная в анализе *cytb*, составила 88 образцов (46 оригинальных последовательностей и 42 из ГенБанка) из 33 локалитетов ареала рода.

Тестирование гипотезы гомогенности нуклеотидного состава выполнено в программе MEGA4 [32].

Филогенетический анализ по методу максимального правдоподобия (maximum likelihood, ML) выполнен в программе Treefinder, v. October 2008 [33]; по методу максимальной экономии (maximum parsimony, MP) и ближайшего связывания (neighbor-joining, NJ) – в программе RAUP\* v.4.0b10 [34]. Для проверки устойчивости клад использовалась процедура бутстрэп с 1000 псевдо-репликами.

Реконструкции на основе метода ML предварялись определением оптимальной модели эволюции последовательности для каждой позиции кодона с помощью программы Modeltest версия 3.7 [35] на основе Байесовского информационного критерия (BIC). Для каждой из партиций, соответствующих трем позициям кодона, использовались отдельные модели эволюции. Для *cytb* применяли следующие варианты моделей: TN + G для 1-й и 3-й позиций и НКУ + G для 2-й позиции кодона. Для 1-й и 2-й позиций *BRCA1* и *GHR* была определена модель НКУ, для 3-й позиции обоих ядерных генов – модель НКУ + G. Данные по ядерным генам анализировались индивидуально для каждого гена и для конкатенированной последовательности из двух генов.

При проведении МР-анализа всем вариантам замен придавали равные веса и использовался следующий набор основных опций: heuristic search, start = stepwise, addseq = random, nreps = 20, swap = tbr, multrees = yes. NJ-деревья реконструировали на основе некорректированной р-дистанции.

Взаимоотношения между гаплотипами *cytb* были проанализированы также с применением метода медианной сети гаплотипов в программе NETWORK, v.4.5.0.0 [36]. Для выборок, включающих более пяти экземпляров, по результатам секвенирования *cytb* рассчитаны показатели гаплотипного ( $H$ ) и нуклеотидного ( $\pi$ ) разнообразия и выполнены Tajima's D и Fu's  $F_s$  тесты на нейтральность в программе Arlequin 3.11 [37].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### Последовательности и нуклеотидный состав *cytb*

Оригинальные последовательности, использованные в работе, представляют собой митохондриальный ген *cytb* и не являются псевдогенами, так как получены в результате повторной амплификации с разными системами праймеров и не содержат аномалий, типичных для ядерных копий мтДНК [38, 39].

Изучение нуклеотидного состава *cytb* *Chionomys* показало, что *Ch. gud* отличается от *Ch. roberti* и *Ch. nivalis* по частотам нуклеотидов 3-го положения кодона. На это указывают парные тесты для сравнений гаплотипов *Ch. gud/Ch. roberti/Ch. nivalis*, которые отвергают 0-гипотезу ( $p < 0.05$ ) о постоянстве нуклеотидного состава в группе. Соотношение нуклеотидных оснований 3-го положения кодонов у *Ch. gud* по сравнению с *Ch. nivalis* и *Ch. roberti* и другими видами подсемейства Arvicolinae сдвинуто в сторону недостатка цитозина (C: 30/36/37% у *Ch. gud/Ch. nivalis/Ch. roberti*, соответственно) и избытка тимидина (T 24/18.6/18.4% у *Ch. gud/Ch. nivalis/Ch. roberti*, соответственно), в то время как гуанин и аденин более сбалансированы. Образцы *Ch. gud* EU700087 и *Ch. nivalis* ZIN98639 из Турции отличаются еще и увеличением содержания гуанина (5.3% и 4.6% соответственно) по сравнению с другими *Chionomys* и Arvicolinae в целом.

### Филогенетический анализ *cytb*

Топологии деревьев, реконструированных с использованием трех разных филогенетических алгоритмов (NJ, MP, ML), принципиально сходны. Альтернативные ветвления, касающиеся порядка дивергенции трех основных видов рода и некоторых внутривидовых группировок, не имеют значимых поддержек. Максимально-правдоподобное (ML) дерево, полученное по результа-



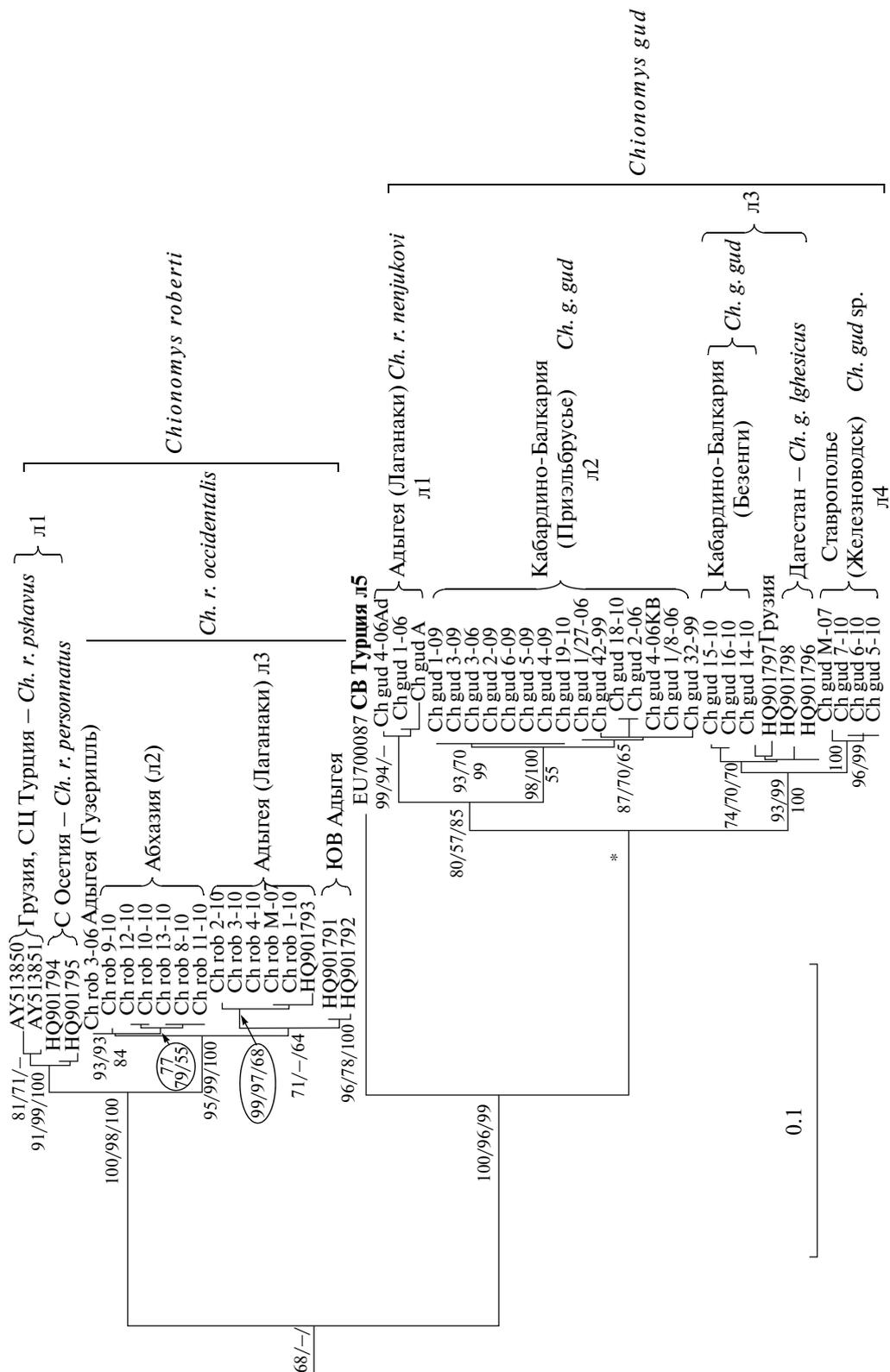


Рис. 2. (Окончание).

там секвенирования *cytb* видов рода *Chionomys*, показано на рис. 2.

На всех деревьях в составе рода *Chionomys* являются три основные группы гаплотипов, которые имеют высокие поддержки бутстрэпа и отстоят друг от друга на существенные генетические дистанции. Эти группировки соответствуют трем признаваемым сегодня видам: *Ch. gud*, *Ch. roberti* и *Ch. nivalis*. Кроме того, обращают на себя внимание две дополнительные, хорошо дифференцированные ветви, представленные одиночными образцами. Одна ветвь – это образец из Ардахана на северо-западе Турции, присутствующий в Ген-Банке (EU700087) под названием *Ch. gud*, который, хотя и является сестринским по отношению к выборке *Ch. gud* Кавказа (bv: ML/MP/NJ = 98/97/87%), тем не менее существенно отстоит от нее ( $p$ -дист. =  $10.80 \pm 0.84$ ). Другая ветвь – это образец с горного хребта Центральный Тавр на юге Турции, морфологически диагностированный как *Ch. nivalis* (ZIN98639). На дереве он занимает явное базальное положение относительно всех других выборок *Ch. nivalis* (ML/MP/NJ = 95/100/68%). Генетическая дистанция, отделяющая его от остальных образцов *Ch. nivalis*, в среднем составляет  $9.70 \pm 0.79\%$ , что в два раза выше максимальной генетической дистанции внутри вида ( $4.70 \pm 0.63\%$ ). Генетическое расстояние особи с Центрального Тавра до максимально удаленной выборки Копетдага еще больше –  $10.4 \pm 0.94\%$ , что сопоставимо с  $p$ -дистанцией между *Ch. roberti* и *Ch. nivalis* Западной Европы и Ближнего Востока ( $10.45 \pm 0.80\%$ ). Для общего сравнения, дистанции между тремя известными видами *Chionomys* составляют 10–12%, в то время как средние внутривидовые митохондриальные дистанции (без учета отклоняющихся турецких образцов ZIN98639 и EU700087) составляют  $3.60 \pm 0.50\%$  (*Ch. gud*) и  $1.78 \pm 0.34\%$  (*Ch. roberti*). Вследствие обособленного положения на деревьях и значительных генетических дистанций, намного превышающих средний внутривидовой уровень дифференциации снеговых полевков, мы далее анализируем образцы с Центрального Тавра и из Ардахана (ZIN98639 и EU700087) вне каких-либо видов *Chionomys*.

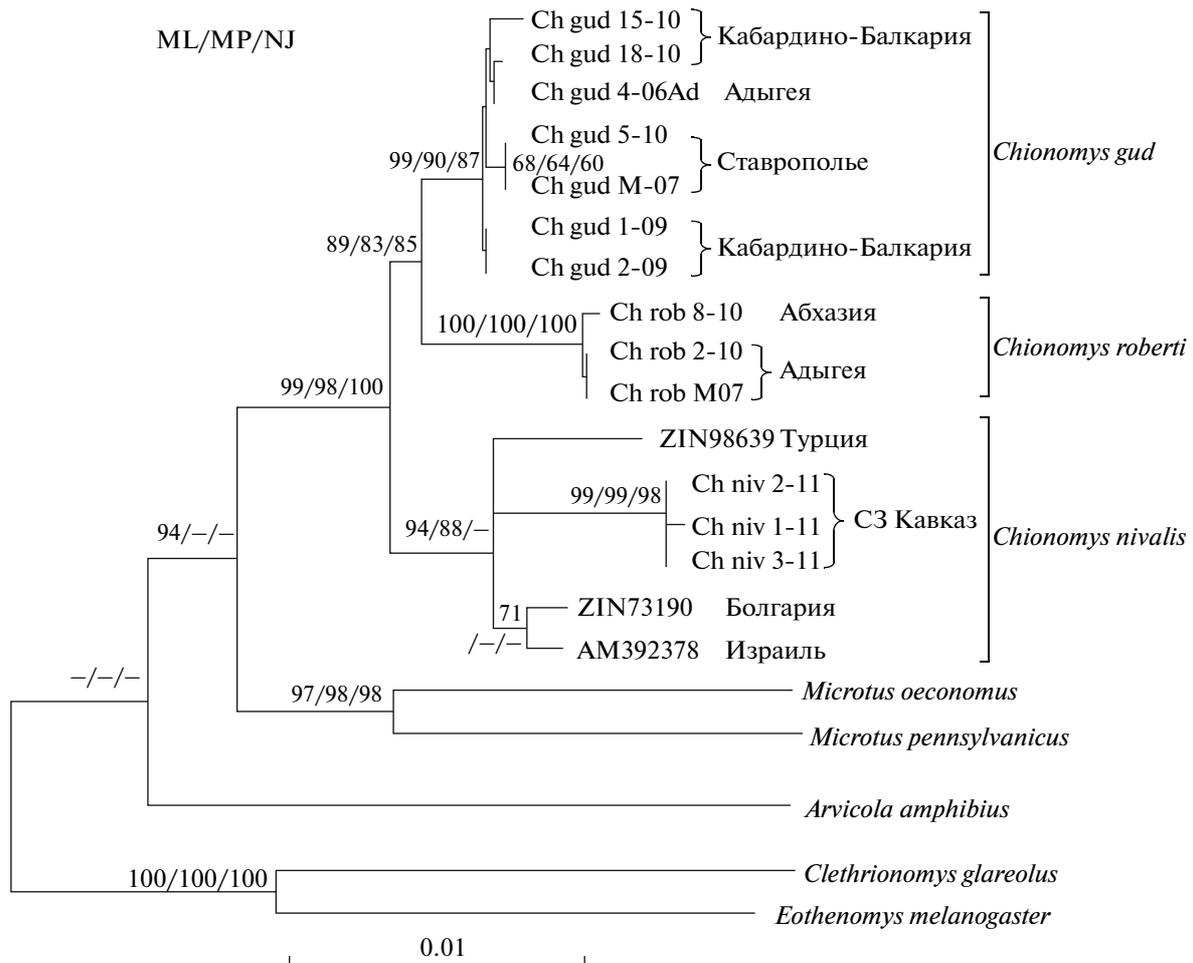
Однозначно установить порядок дивергенции клад, соответствующих *Ch. gud*, *Ch. roberti* и *Ch. nivalis*, не удастся. *Ch. gud* и *Ch. roberti* группируются вместе только в анализе максимального правдоподобия (рис. 2), но с низкой бутстрэп-поддержкой (bv = 68%). В дистанционном анализе NJ тенденцию к объединению обнаруживают *Ch. nivalis* и *Ch. roberti* (хотя и практически без поддержки: bv = 45%). Парсимониальный анализ не поддерживает ни одну из топологий.

#### 10-й экзон GHR и 11-й экзон BRCA1

Топологии обоих ядерных деревьев, реконструированных с использованием трех разных филогенетических алгоритмов (NJ, MP, ML), принципиально сходны. На рис. 3 приведено суммарное дерево по конкатенированной последовательности из двух ядерных генов, построенное методом максимального правдоподобия (ML); на ветвях указаны также поддержки, полученные в парсимониальном (MP) и дистанционном (NJ) анализах. На дереве обнаруживаются три клады, соответствующие видам *Ch. gud*, *Ch. roberti* и *Ch. nivalis*. *Ch. gud* образует сестринскую группу с *Ch. roberti* с умеренной бутстрэп-поддержкой. Клады, соответствующие *Ch. gud* и *Ch. roberti*, гомогенны внутри себя, в то время как образцы *Ch. nivalis* с Кавказа, из Западной Европы, с Ближнего Востока и из Турции с Центрального Тавра (ZIN98639) значительно отстоят друг от друга.

#### Внутривидовая изменчивость мтДНК

*Ch. gud*. В проанализированной выборке *Ch. gud* ( $n = 29$ ) обнаружено 17 гаплотипов *cytb*, образующих пять гаплогрупп, которые поддерживаются высокими бутстрэпами. Без учета образца из Ардахана Турции хорошо выделяются три группы, которые четко соответствуют различным географическим локалитетам Северного Кавказа (рис. 2): “Адыгея” (л1, локалитет 6 на рис. 1), “Приэльбрусье” (л2, локалитеты 1–3) и “Железноводск” (л3, лок. 5). Гаплотипы из урочища Безенги (лок. 3) Центрального Кавказа перемешиваются с гаплотипами из Грузии и Дагестана, образуя вместе еще одну умеренно поддерживаемую группировку л4. Как видно из ML-дерева, эта группировка оказывается сестринской к Железноводской при высокой бутстрэп-поддержке (93/99/100%). Наибольшая по размеру выборка из Приэльбрусья гетерогенна внутри себя и состоит из двух подгрупп гаплотипов, которые, однако, не коррелируют с их географической привязанностью. В табл. 3 показаны генетические дистанции между географическими популяциями *Ch. gud* Кавказа и внутривидовые генетические дистанции. Выборка “Адыгея” отделена наиболее высокими генетическими дистанциями от остальных выборок. “Адыгея” как и “Безенги” оказываются наиболее разнородными внутри себя, в то время как выборка “Железноводск” – наиболее гомогенна. Выборка “Приэльбрусье” характеризуется нормальным гаплотипным и нуклеотидным разнообразием ( $H = 0.75$ ,  $\pi = 0.0045 \pm 0.0033$ ). Tajima's  $D$  и Fu's  $F_s$  тесты нейтральности не позволяют отвергнуть для нее 0-гипотезы стабильности популяции. Медианная сеть гаплотипов (рис. 4,а) подтверждает результаты филогенетического анализа с использованием различных алгоритмов построе-



**Рис. 3.** Филогенетическое ML-дерево полевок рода *Chionomys*, построенное по результатам анализа конкатенированной последовательности из 910 пн 10-го экзона *GHR* и 974 пн 11-го экзона *BRCAL*. Бутстрэп-поддержки ( $\geq 50\%$ , 1000 повторов) в максимально-правдоподобном (ML), парсимониальном (MP) и дистанционном (NJ) анализах показаны вблизи узлов в соответствующем порядке. *Arvicola amphibius*, *Eothenomys melanogaster*, *Clethrionomys glareolus*, *Microtus pennsylvanicus* и *M. oeconomus* использованы как внешняя группа.

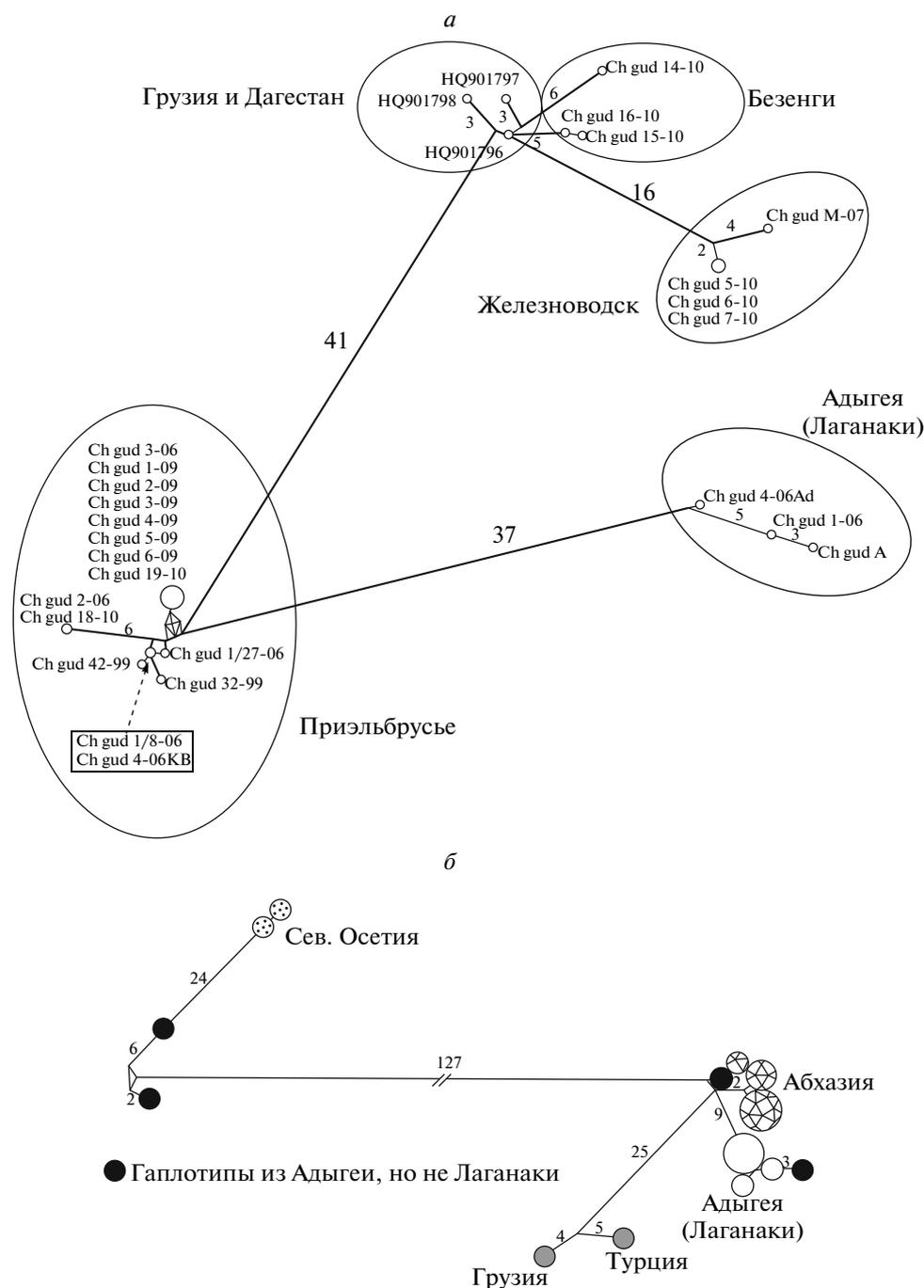
ния деревьев и указывает на общее происхождение дагестанско-грузинских и безенгийских гаплотипов, а также на близость этой гаплогруппы к Железноводской. Адыгейская и Приэльбрусская

гаплогруппы, наоборот, обособлены как от вышеупомянутых, так и друг от друга.

*Ch. roberti*. Среди 12 оригинальных и 6 генбанковских последовательностей *cytb* *Ch. roberti* най-

**Таблица 3.** Генетическое расстояние ( $\% \pm S.E.$ ) между географическими популяциями *Ch. gud* Кавказа и средние значения внутрипопуляционных генетических дистанций (под диагональю – некорректированная *p*-дистанция; над диагональю – *net*-дистанция; на диагонали жирным шрифтом выделены средние значения внутрипопуляционных генетических дистанций)

Популяции	Приэльбрусье ( <i>n</i> = 15)	С. Кавказ (Безенги) ( <i>n</i> = 4)	Ставрополье ( <i>n</i> = 4)	Адыгея (Лаганаки) ( <i>n</i> = 3)	Дагестан и Грузия ( <i>n</i> = 3)
Приэльбрусье	<b>0.39 ± 0.11</b>	3.93 ± 0.52	4.12 ± 0.54	3.59 ± 0.60	3.80 ± 0.60
С. Кавказ (Безенги)	4.50 ± 0.57	<b>0.76 ± 0.20</b>	1.54 ± 0.35	3.88 ± 0.60	3.80 ± 0.60
Ставрополье	4.45 ± 0.57	2.05 ± 0.38	<b>0.27 ± 0.10</b>	4.27 ± 0.62	1.7 ± 0.42
Адыгея (Лаганаки)	4.20 ± 0.61	4.63 ± 0.64	4.78 ± 0.63	<b>0.76 ± 0.30</b>	4.50 ± 0.68
Дагестан и Грузия	4.20 ± 0.61	4.20 ± 0.61	2.0 ± 0.42	4.80 ± 0.68	<b>0.42 ± 0.20</b>



**Рис. 4.** Медианная сеть гаплотипов: *a* – *Ch. gud*, *б* – *Ch. roberti*. Коды образцов соответствуют табл. 1. Размер кружков пропорционален числу образцов с данным гаплотипом. На соединяющих гаплотипы линиях указано абсолютное число нуклеотидных замен.

дено 14 гаплотипов, которые в основном группируются по следующим географическим регионам: Сев. Осетия, Грузия и СЦ Турция (север Центральной Турции) (л1), Абхазия (л2), Адыгея-Лаганак (л3) и Адыгея-Кавказский заповедник (рис. 2). Первые две гаплогруппы монофилетичны, их взаимоотношения воспроизводятся при использовании всех трех алгоритмов филогенети-

ческого анализа и высоко поддерживаются в бутстрэп-анализе. Выборка из Адыгеи своеобразна, так как в ней четко выделяется гаплогруппа из урочища Лаганак (юго-запад Адыгеи), в то время как гаплотипы из других адыгейских локалитетов не образуют монофилетической группировки, демонстрируя очевидную неполную сортировку линий (рис. 2; 4,б). Генетические дистанции между

**Таблица 4.** Генетическое расстояние (%  $\pm$  S.E.) между географическими популяциями *Ch. roberti* и средние значения внутривидовых генетических дистанций (обозначения как в табл. 3)

Популяции	Адыгея ( $n = 9$ )	Сев. Осетия, Грузия и СЦ Турция ( $n = 4$ )	Абхазия ( $n = 6$ )
Адыгея	<b>0.62 <math>\pm</math> 0.14</b>	2.47 $\pm$ 0.44	0.58 $\pm$ 0.15
Сев. Осетия, Грузия и СЦ Турция	3.18 $\pm$ 0.48	<b>0.80 <math>\pm</math> 0.21</b>	2.28 $\pm$ 0.43
Абхазия	0.98 $\pm$ 0.21	2.77 $\pm$ 0.46	<b>0.16 <math>\pm</math> 0.08</b>

географическими выборками *Ch. roberti* приведены в табл. 4. Гаплотипическое и нуклеотидное разнообразие общей выборки из Адыгеи ( $n = 9$ ) составляют соответственно  $H = 1.0 \pm 0.050$ ,  $\pi = 0.0050 \pm 0.0030$ , что выше этих показателей для репрезентативной выборки из абхазской популяции:  $H = 0.93 \pm 0.12$ ,  $\pi = 0.0016 \pm 0.0012$ .

*Ch. nivalis*. В отличие от двух других видов филогеография *Ch. nivalis* довольно полно изучена [28, 29]. В настоящий момент, без учета выпадающего из общей группы образца из Турции (ZIN98639), по генбанковским и оригинальным данным можно различить не менее 10 митохондриальных линий (рис. 2), относящихся к различным горным системам: Татры (л1), Альпы и Апеннины (две клады – л2 и л3), Пиренеи (л4), Карпаты (л5), Балканы (л6), горные хребты Ближнего Востока (л7 и л8), Северный Кавказ и Закавказье (л9), Копетдаг (л10). Расширение общей выборки (по сравнению с материалом [28]) показало, что ближневосточные гаплотипы объединяются в одной кладе, но поддержка этой группировки невысокая. Вместе с тем внутри нее образцы из Южной Турции, с одной стороны, и Сирии и Израиля, с другой, образуют четкие монофилетические линии (л7 и л8). Кавказская ветвь (л9), наоборот, строго монофилетична, но менее структурирована внутри себя, поскольку ни грузинские, ни адыгейские гаплотипы не формируют монофилетических групп. В нашем исследовании генетические данные по европейской снеговой полевке пополнились гаплотипами из Болгарии (*Ch. n. aleco*), Восточных Карпат (*Ch. n. ulpius*) и Северо-Западного Кавказа (*Ch. n. loginovi*). Генетическое расстояние (net-дистанция) между образцами, относящимися к разным горным системам (Пиренеи, Альпы, Апеннины, Карпаты, Кавказ, Понтийские горы, Копетдаг), изменяется от  $1.22 \pm 0.33\%$  (Испания/Зап. Альпы и Апеннины) до  $2.81 \pm 0.47\%$  (Карпаты/Ближний Восток) и  $4.70 \pm 0.63\%$  (Копетдаг/Кавказ).

Таким образом, в составе каждого из трех признаваемых видов *Chionomys* обнаруживается от трех до 10 гаплогрупп. Эти гаплогруппы в большинстве случаев соответствуют определенным географическим локалитетам и определяют наличие у всех видов рода *Chionomys* четкой филогеографической структуры.

## ОБСУЖДЕНИЕ

### Межвидовая изменчивость и систематика

Филогенетический анализ митохондриального гена *cytb* и двух ядерных экзонов выявил в изученной выборке снеговых полевков пять четких филетических линий, однако последовательность их дивергенции установить не удастся. МтДНК и комбинация *BRCA1* и *GHR* поддерживают группировку *Ch. gud* + *Ch. roberti* и более раннее отделение *Ch. nivalis* от общего ствола. Надо отметить, что указанные взаимоотношения имеют характер тенденции, поскольку ни один из генов не позволил получить высокой поддержки для той или иной топологии. Это, видимо, указывает на быструю и почти одновременную радиацию трех видов. Выявленный сдвиг нуклеотидного состава *Ch. gud* (в сторону большего содержания Т и меньшего содержания С по сравнению с другими видами), возможно, тоже объясняет политомию видов вследствие эффекта притяжения ветвей *Ch. nivalis* и *Ch. roberti*.

Помимо клад, относящихся к трем известным видам *Ch. gud*, *Ch. roberti* и *Ch. nivalis*, в нашей выборке обнаружилось еще две филогенетические ветви. Одна из них – это “*Ch. nivalis*” с хребта Центральный Тавр в Турции (ZIN98639), сильно отличающаяся от западно-европейских снеговых полевков. Вторая ветвь присутствует только на митохондриальном дереве, поскольку представлена последовательностью EU700087 из ГенБанка от образца из Ардахана и описана под названием *Ch. gud* [17]. Вследствие своеобразного положения на молекулярно-филогенетических деревьях и значительных генетических различий, намного превышающих средний внутривидовой уровень дифференциации снеговых полевков, мы полагаем, что обсуждаемые образцы могут относиться к самостоятельным видам *Chionomys* sp.1 (ZIN98639) и *Chionomys* sp.2 (EU700087). Находка генетически отдаленных форм снеговых полевков на территории Турции указывает на то, что генетическое и таксономическое разнообразие рода, по всей видимости, гораздо выше, чем это предполагалось до сих пор. Ранее считалось, что центром происхождения и разнообразия *Ch. gud* и *Ch. roberti* является Кавказ и прилегающие горные территории [5, 11, 40], в то время как происхождение *Ch. nivalis* связано с западно-европейскими горными си-

стемами, включающими Альпы, Карпаты и Пиренеи [11, 28]. Появление на филогенетическом дереве снеговых полевков восточно-турецких ветвей, представляющих собой базальные формы, родственные не только *Ch. gud*, но и *Ch. nivalis*, укрепляет недавно высказанную точку зрения [29] на ближневосточное происхождение всего рода *Chionomys*.

*Внутривидовая изменчивость,  
филогеография и подвиды*

*Ch. nivalis*. У европейской снеговой полевки по морфологическим признакам описано 25 подвидов [11, 41], распространенных по всем горным системам Европы и Малой Азии. Для географических форм с территории Ирана подвидовая принадлежность не установлена, но для многих других подвидов теперь имеются молекулярно-генетические данные. Большинство митохондриальных линий европейской снеговой полевки связаны с определенными географическими регионами и в значительной мере соответствуют ранее выделенным подвидам (рис. 2). Так, подвид *Ch. n. mirhanreini*, распространенный в Татрах, представлен отдельной митохондриальной линией из Словакии, гаплотипы двух итальянских линий Альп и Апеннин относятся к номинативному подвиду *Ch. n. nivalis*, балканская группа гаплотипов – к подвидам *Ch. n. aleco* Paspalev, Martino, Peshev, 1952, *Ch. n. malyi* Bolkay, 1925 и *Ch. n. wagneri* V. et E. Martino, 1940 (из Болгарии, Македонии и Словении, соответственно), испанская гаплогруппа – к подвиду *Ch. n. abulensis* Morales Agacino, 1936, а гаплотип из Закарпатья представляет подвид *Ch. n. ulpius* Miller, 1908. Одна из линий с Ближнего Востока включает полевков из Израиля и Сирии, которых относят к подвиду *Ch. n. hermonis*, а другая линия из Цигликера в Турции соответствует *Ch. n. cedrorum* Spitzenberger, 1973. Сильно обособленная линия с Копетдага относится к таксону *Ch. n. dementievi* Miller, 1908. *Ch. nivalis* с Кавказа представлен в нашем исследовании выборкой с г. Абаго из Адыгеи, которая соответствует *Ch. n. loginovi* Ognev, 1950. Два найденных там гаплотипа от трех особей близки к закавказским, характеризующим другой подвид – *Ch. n. trialeticus* Shidlovsky, 1919. Считается, что популяция Центрального Тавра в Турции соответствует *Ch. n. spitzenbergerae* Nadachowski, 1990. Эта форма характеризуется тенденцией к усложнению верхнего третьего коренного зуба ( $M^3$ ) и удлинненным хвостом. Ее морфологическое своеобразие столь велико, что первоначально она была описана как *Ch. gud spitzenbergerae* Spitzenberger, 1971 [11]. С Таврского хребта описана также *Ch. n. cedrorum*, которая характеризуется упрощенным, типичным для вида  $M^3$  (форма “typica”)

и относительно коротким хвостом. Однако из-за отсутствия внешних промеров нашего экземпляра с Таврского хребта его подвидовая принадлежность остается неясной. Но если образец ZIN98639 относится к форме *spitzenbergerae*, то его молекулярно-генетическая обособленность от всех остальных *Ch. nivalis* даже превышает его морфологическое своеобразие. Не только быстро эволюционирующая мтДНК, но и консервативные экзоны ядерных генов указали на глубокую диверсификацию *Ch. nivalis*. Доступные нам образцы балканской, кавказской и израильской митохондриальных линий на уровне яДНК оказались дивергированы друг от друга меньше, чем от образца из Центрального Тавра (0.3–0.8% по сравнению с 1.1–1.2%), в то время как уровень дивергенции последнего фактически соответствует дистанции между *Ch. nivalis/Ch. roberti/Ch. gud/Ch. nivalis* (1.4/1.2/0.8/1.0%).

*Ch. gud*. Соотношение подвидов и митохондриальных линий у *Ch. gud* сложнее, чем у *Ch. nivalis*. При попытке провести сравнение распространения подвидов и митохондриальных гаплотипов обнаруживается, что номинативный подвид (*Ch. g. gud*), занимающий центральные части Главного Кавказского хребта, включает две гаплогруппы – “Приэльбрусье” и “Безенги”, причем они довольно далеки друг от друга, поскольку “Безенги” группируется с образцами из Дагестана (*Ch. g. lghesicus*) и при высокой поддержке образует сестринскую группу с гаплотипами реликтовой популяции горы Развалка из окрестностей Железноводска (подвид для этой части ареала не описан). К подвиду из западной части Главного Кавказского хребта, *Ch. g. nenjukovi* Formosov, 1931, относится адыгейская гаплогруппа из урочища Лаганакки.

Безенгийская и Железноводская популяции в наибольшей степени отстоят от других проанализированных выборок. При этом “Безенги” оказывается наиболее разнородной внутри себя, а “Железноводск” – наиболее гомогенной. Популяция горы Развалка гудаурской полевки – это изолированная периферическая группировка с невысокой численностью. Возможно, эта популяция нередко проходит через периоды очень низкой численности, что и объясняет снижение генетического разнообразия. По сравнению с ней Приэльбрусская популяция, наоборот, находится в географическом центре и экологическом оптимуме ареала вида, сообщается с другими популяциями, вследствие чего показатели гаплотипического и нуклеотидного разнообразия и тесты нейтральности указывают на длительное и устойчивое существование этой группировки на соответствующей территории.

*Ch. roberti*. В настоящее время считается, что на большей части Кавказа и Закавказья обитает номинативный подвид малоазийской снеговой полевки *Ch. roberti roberti*, а морфологические признаки, послужившие основанием для выделения подвидов *Ch. r. pshavus* Schidlovski, 1919 (р. Иори, Сев. Грузия), *Ch. r. personnatus* Ognev, 1924 (Северная Осетия) и *Ch. r. occidentalis* Turov, 1928 (р. Мзымта, Краснодарский край), — не более чем индивидуальная изменчивость [41]. По сравнению с такого рода морфологической изменчивостью внутривидовая генетическая структура — несколько более четкая. Подвид *Ch. r. occidentalis*, представленный у нас выборкой из Лаганаки, Гужерипля и других локалитетов Адыгеи, генетически — очень полиморфный и включает в себя более одной митохондриальной линии. Подвиды *Ch. r. pshavus* и *Ch. r. personnatus* по нашим данным — наиболее дивергированные внутривидовые формы малоазийской полевки. Гаплотипы с севера Центральной Турции, из Грузии и Северной Осетии, вероятно относящиеся к этим таксонам, заметно отстоят от гаплотипов северо-кавказских популяций, что может свидетельствовать в пользу недавнего происхождения последних. Интересно, что как и в случае с *Ch. gud* митохондриальные гаплотипы *Ch. roberti* из урочища Лаганаки в Адыгее сильно отличаются от центрально-кавказских и закавказских.

Надо сказать, что четкое соответствие митохондриальных линий подвидам, выделенным по морфологическим признакам, не так часто отмечается в филогеографии животных. Например, пять митохондриальных гаплогрупп тундрной бурозубки *Sorex tundrensis* неоднозначно перекликаются с подвидовой таксономической структурой [42]. Четыре линии *cytb* в составе *Microtus oeconomus* [43] включают от двух до семи подвидов, общее число которых более 15 [41]. Генетическая изменчивость *Microtus fortis* настолько низкая, что не дает возможности дифференцировать распознаваемые морфологами подвиды *M. f. michnoi* из Бурятии и *M. f. uliginosus* из Кореи [18]. По сравнению с этими примерами структура внутривидовой морфологической изменчивости видов *Chionomys* в значительной степени совпадает с их филогеографической структурой, что указывает в данном случае на сопряженность морфологической и молекулярной эволюции и позволяет считать найденные митохондриальные гаплогруппы филогруппами.

В целом, если сравнивать уровень внутривидовой генетической дифференциации в роде *Chionomys* с таковым для других близкородственных полевочьих из рода *Microtus*, то оказывается, что некоторые межпопуляционные дистанции у сне-

говых полевок (например, порядка 4.7% у *Ch. gud* и *Ch. nivalis*) приближаются к тем, которые характеризуют у серых полевок группы криптических видов: *Microtus longicaudus* [44], *M. savii* [45], *Microtus subterraneus* и *M. agrestis* [16].

#### Филогеография и экология

Сравнение внутривидовой генетической изменчивости *Ch. nivalis*, *Ch. gud* и *Ch. roberti* показывает, что, несмотря на значительно больший по площади и более раздробленный ареал европейской снеговой полевки, гудаурской полевке с ее относительно небольшим ареалом, ограниченным Кавказскими и Понтийскими горами, присуща не менее четкая филогеографическая структура. Из трех видов у *Ch. roberti* филогеографическая структура наиболее размытая.

*Ch. gud* и особенно *Ch. nivalis* приспособлены к условиям крайней сухости и повышенной инсоляции открытых биотопов. Вероятно, по этой причине европейская снеговая полевка смогла заселить сухие бесснежные горы Копетдага и/или даже исходно сформироваться в подобных условиях. По сравнению с жесткой стенобионтностью *Ch. nivalis* и *Ch. gud* как петрофильных форм малоазийская снеговая полевка более пластична. *Ch. roberti* характеризуется максимальным для рода диапазоном вертикального размещения — от пояса широколиственных лесов до верхней границы субальпика [5]. *Ch. roberti*, будучи в целом явно петрофильным видом, занимает наиболее увлажненные станции и может обитать в условиях высокой затененности кавказских хвойно-широколиственных лесов и высокотравий, использовать для укрытия стволы поваленных деревьев и рыть несложные норы в мягком грунте. Из трех видов малоазийская полевка наиболее тесно связана с горными речками и ручьями, вдоль русел которых и происходит ее расселение. Известно, что как околородная форма она хорошо плавает [46]. Вероятно, именно вследствие биотопических особенностей распространения ареал *Ch. roberti* менее фрагментирован, генный поток между отдельными популяциями *Ch. roberti* сильнее, а филогеографическая структура слабее, чем у других видов снеговых полевок.

В целом для всех снеговых полевок в становлении современной филогеографической структуры и генетической дифференциации популяций ведущую роль играли островной эффект обособленности горных регионов, к которым они приурочены, и стенобионтность. Широкое распространение *Ch. nivalis* в горах Западной Европы и Ближнего Востока, но спорадичность присутствия на Кавказе, вероятно, объясняется тяготе-

нием к условиям повышенной сухости и инсоляции, чего недостает на Кавказе. Наоборот, распространение *Ch. roberti* только на Кавказе и на прилежащих к Черноморскому побережью горах Турции связано, по-видимому, с невозможностью преодолевать безводные территории. Распространению *Ch. gud* в Западную Европу помешал, вероятно, успех *Ch. nivalis*.

Итак, обширная генетическая диверсификация снеговых полевков ярко проявляется на всех таксономических уровнях. Как показывают наши данные, вследствие широкой внутривидовой географической изменчивости генотипа в составе рода *Chionomys* имеется больше криптических форм (возможно, видового ранга), чем сейчас принимается в систематике группы.

Вместе с тем митохондриальная дистанция и/или реципрокная монофилия линий мтДНК вряд ли могут быть абсолютным критерием распознавания видов в силу ограниченности информации, получаемой от единственного генного локуса. Сведения по немногим консервативным ядерным генам тоже могут оказаться неинформативны или противоречивы. Это определяет необходимость накопления данных по многим ядерным локусам и осторожность в таксономической интерпретации молекулярно-генетических результатов применительно к истории недавно дивергировавших форм [47].

Мы выражаем благодарность М. Хуламхановой за энергичное участие в сборе материала, А.В. Абрамову за пробы *E. melanogaster* и В.С. Лебедеву за консультации при обсуждении результатов.

Работа поддержана грантами РФФИ (№ 11-04-00020а, № 09-04-00851а), Программой “Биоразнообразие” и Министерством образования и науки РФ.

## ПРИЛОЖЕНИЕ

Последовательности из ГенБанка, использованные в филогенетическом анализе для внешней группы:

*Arvicola amphibius* AF119269 (*cytb*), AM392380 (*GHR*); *Eothenomys melanogaster* AY426682 (*cytb*), AM392399 (*GHR*); *Clethrionomys glareolus* AM392368 (*cytb*), AM392384 (*GHR*); *Microtus pennsylvanicus* AF119279 (*cytb*), AM392376 (*GHR*), AY295009 (*BRCA1*); *M. agrestis* AF119271 (*cytb*); *M. oeconomus* FJ986325 (*cytb*), AM392388 (*GHR*); *M. fortis* AF163894 (*cytb*); *Lasiopodomys brandti* GQ352472 (*cytb*); *Blanfordimys buharensis* AM392369 (*cytb*).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Neuhäuser G.* Die Muriden von Kleinasien // Zeitschrift für Säugetierkunde. 1936. V. 11. P. 161–236.
2. *Corbet G.B.* The Mammals of the Palaearctic Region. A Taxonomic Review. London: British Museum of Natural History, 1978.
3. *Krapp F.* *Microtus nivalis* (Martins, 1842)-Schneemaus // Handbuch der Säugetiere Europas / Eds Niethammer J., Krapp F. Wiesbaden: Akad. Verlagsgesellschaft, 1982. P. 261–283.
4. *Chaline J., Brunet-Lecomte P., Montuire S. et al.* Anatomy of the arvicoline radiation (Rodentia): palaeogeographical, palaeoecological history and evolutionary data // Ann. Zool. Fenn. 1999. V. 36. P. 239–267.
5. *Громов И.М., Поляков И.Я.* Полевки (Microtinae) // Фауна СССР: Млекопитающие. М.; Л.: Наука, 1977. Т. 3. Вып. 8. 504 с.
6. *Graf J.-D.* Génétique biochimique, zoogéographie et taxonomie des Arvicolidae (Mammalia, Rodentia) // Rev. Suisse Zool. 1982. V. 89. P. 749–787.
7. *Агаджанян А.К., Яценко В.Н.* Филогенетические связи полевков северной Евразии // Проблемы изменчивости и филогении млекопитающих. М.: Изд-во МГУ, 1984. Т. 22. С. 135–190.
8. *Павлинов И.Я.* Эволюция слуховых косточек в подсемействе полевков Microtinae // Сб. трудов Зоологического музея МГУ. М., 1984. Т. 22. С. 191–212.
9. *Chaline J., Graf J.-D.* Phylogeny of the Arvicolidae (Rodentia): biochemical and paleontological evidence // J. Mammalogy. 1988. V. 69. P. 22–33.
10. *Загороднюк И.В.* Кариотипическая изменчивость и систематика серых полевков (Rodentia, Arvicolini). Сообщ. 1. Видовой состав и хромосомные числа // Вестник зоологии. 1990. Т. 2. С. 26–37.
11. *Nadachowski A.* Systematics, geographic variation, and evolution of snow voles (*Chionomys*) based on dental characters // Acta Theriologica. 1991. V. 36. P. 1–45.
12. *Межжерин С.В., Зыков А.Е., Морозов-Леонов С.Ю.* Биохимическая изменчивость и генетическая дивергенция полевков Arvicolidae Палеарктики. Серые полевки *Microtus* Schrank, 1798, водяные полевки *Arvicola* Lacedepede, 1799, снеговые полевки *Chionomys* Miller, 1908 // Генетика. 1993. Т. 29. № 1. С. 28–41.
13. *Межжерин С.В., Морозов-Леонов С.Ю., Кузнецова И.А.* Биохимическая изменчивость и генетическая дивергенция полевков Arvicolidae Палеарктики. Подземные полевки подрода *Terricola*, настоящие лемминги *Lemmus* Link, 1795, копытные лемминги *Dicrostonyx* Gloger, 1841, степные пеструшки *Lagurus* Gloger, 1842, слепушонки *Ellobius* Fischer von Waldheim, 1814 // Генетика. 1995. Т. 31. № 6. С. 788–797.
14. *Павлинов И.Я., Яхонтов Е.Л., Агаджанян А.К.* Млекопитающие Евразии. I. Rodentia // Сб. трудов Зоологического музея МГУ. М.: Изд-во МГУ, 1995. Ч. I. 239 с.
15. *Kryš tufek B.* Snow voles, genus *Chionomys*, of Turkey // Mammalia. 1999. V. 63. P. 323–339.

16. Jaarola M., Martínková N., Gündüz I. et al. Molecular phylogeny of the speciose vole genus *Microtus* (Arvicolinae, Rodentia) inferred from mitochondrial DNA sequences // Mol. Phylogenetics and Evolution. 2004. V. 33. P. 647–663.
17. Bužan E.V., Kryštufek B. Phylogenetic position of *Chionomys gud* assessed from a complete cytochrome *b* gene // Folia Zoologica. 2008. V. 57. P. 274–282.
18. Bannikova A.A., Lebedev V.S., Lissovsky A.A. et al. Molecular phylogeny and evolution of the Asian lineage of vole genus *Microtus* (Arvicolinae, Rodentia) inferred from mitochondrial *cytb* sequence // Biological J. Linnean Society. 2010. V. 99. P. 595–613.
19. Абрамсон Н.И., Лебедев В.С., Тесаков А.С., Банникова А.А. Надвидовые родственные связи в подсемействе полевоковых (Rodentia, Cricetidae, Arvicolinae): неожиданный результат анализа ядерных генов // Молекуляр. биология. 2009. Т. 43. № 5. С. 897–909.
20. Musser G.G., Carleton M.D. Superfamily Muroidea // Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference. Third ed. / Eds Wilson D.E., Reeder D.-A.M. Baltimore: John Hopkins Univ. Press, 2005. V. 2. P. 894–1531.
21. Ellerman J., Morrison-Scott T. Checklist of Palaearctic and Indian Mammals 1758–1946. Second ed. British Museum (Natural History). London: United Kingdom, 1966. P. 1–810.
22. Саблина О.В., Раджабли С.И, Маликов В.Г. и др. О систематическом положении полевок рода *Chionomys* по кариологическим данным // Зоол. журн. 1988. Т. 67. В. 3. С. 472–475.
23. Павлинов И.Я., Россолимо О.Л. Систематика млекопитающих СССР: дополнения. (Исследования по фауне). М.: Изд-во МГУ, 1998. 190 с.
24. Kryštufek B., Vohralik V. Mammals of Turkey and Cyprus. Rodentia. I. Sciuridae, Dipodidae, Gliridae, Arvicolinae. Koper: Univ. Primorska, Slovenia, 2005.
25. Зыков А.Е. Обзор снеговых полевок (Rodentia, Arvicolinae, *Chionomys*) Ирана с описанием нового вида из Загроса (Центральный Иран) // Праці Зоол. музею Київ ун-ту, 2004. Т. 2. С. 116–127.
26. Shenbrot G.I., Krasnov B.R. An atlas of the geographic distribution of the Arvicolinae rodents of the World (Rodentia, Muridae: Arvicolinae). Sofia: Pensoft Publ., 2005. 336 p.
27. Filippucci M.G., Fadda V., Kryštufek B. et al. Allozyme variation and differentiation in *Chionomys nivalis* (Martins, 1842) // Acta Theriologica. 1991. V. 36. P. 47–62.
28. Castiglia R., Annesi F., Kryštufek B. et al. The evolutionary history of a mammal species with a highly fragmented range: the phylogeography of the European snow vole // J. Zoology. 2009. V. 279. P. 243–250.
29. Yannic G., Burri R., Malikov V.G., Vogel P. Systematics of snow voles (*Chionomys*, Arvicolinae) revisited // Mol. Phylogenetics and Evolution. 2012. V. 62 P. 806–815.
30. Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. N.Y.: Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989. 398 p.
31. Lebedev V.S., Bannikova A.A., Tesakov A.S. & Abramson N.I. Molecular phylogeny of the genus *Alticola* (Cricetidae, Rodentia) as inferred from the sequence of the cytochrome *b* gene // Zoologica Scripta. 2007. V. 36. P. 547–563.
32. Tamura K., Dudley J., Nei M., Kumar S. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0 // Mol. Biology and Evolution. 2007. V. 24. P. 1596–1599.
33. Jobb G. TREEFINDER version of June 2008. Munich, Germany, 2008. Distributed by the author at www.treefinder.de.
34. Swofford D.L. PAUP\*: Phylogenetic analysis using parsimony (\*and Other Methods). Version 4.0b2. Sunderland MA: Sinauer Associates, 2000.
35. Posada D., Crandall K.A. Modeltest: testing the model of DNA substitution // Bioinformatics. 1998. V. 14. P. 817–818.
36. Bandelt H.-J., Forster P., Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // Mol. Biology and Evolution. 1999. V. 16. P. 37–48.
37. Schneider S., Roessli D., Excoffier L. Arlequin: A Software for Population Genetics Data Analysis. Version 2.000. Geneva: Univ. Geneva, 2000.
38. Bensasson D., Zhang D.-X., Hartl D.L., Hewitt G.M. Mitochondrial pseudogenes: evolution's misplaced witnesses // Trends in Ecology and Evolution. 2001. V. 16. P. 314–321.
39. Mirol P.M., Mascheretti S., Searle J.B. Multiple nuclear pseudogenes of mitochondrial cytochrome *b* in *Ctenomys* (Caviomorpha, Rodentia) with either great similarity to or high divergence from the true mitochondrial sequence // Heredity. 2000. V. 84. P. 538–547.
40. Steiner H.M. Systematik und Ökologie von Wühlmausen (Microtinae, Mammalia) der vorderasiatischen Gebirge Ostpontus, Talysch und Elburus. S.B.ostorr. Akad. Wiss., mathem., naturw. Kl., 1972. V. 180. P. 99–193.
41. Громов И.М., Ербаева М.А. Млекопитающие фауны России и сопредельных территорий. Зайцеобразные и грызуны. (Определители по фауне России.) СПб.: ЗИН РАН, 1995. Вып. 167. 522 с.
42. Bannikova A.A., Dokuchaev E.N., Yudina E.V. et al. Holarctic phylogeography of the tundra shrew (*Sorex tundrensis*) based on mitochondrial genes // Biol. J. Linnean Society. 2010. V. 101. P. 721–746.
43. Brunhoff C., Galbreath K.E., Fedorov V.B. et al. Holarctic phylogeography of the root vole (*Microtus oeconomus*): implications for Late Quaternary biogeography of high latitudes // Mol. Ecology. 2003. V. 12. P. 957–968.
44. Conroy C.J., Cook J.A. Phylogeography of a post-glacial colonizer: *Microtus longicaudus* (Rodentia: Muridae) // Mol. Ecology. 2000. V. 9. P. 165–175.

45. *Castiglia R., Annesi F., Aloise G., Amori G.* Systematics of the *Microtus savii* complex (Rodentia, Cricetidae) via mitochondrial DNA analyses: Paraphyly and pattern of sex chromosome evolution // *Mol. Phylogenetics and Evolution*. 2008. V. 46. P. 1157–1164.
46. *Огнев С.И.* Грызуны Северного Кавказа. Управление уполномоченного Народного Комиссариата Земледелия на Юго-Востоке России. п/Отд. Защиты растений. Ростов-на-Дону, 1924. 61 с.
47. *Маликов В.Г., Голенищев Ф.Н.* Системная концепция формообразования и проблема вида // Вид и видообразование. Анализ новых взглядов и тенденций: Труды ЗИН РАН. Приложение 1 / Под ред. Алимова А.Ф., Степаньянца С.Д. Санкт-Петербург: КМК, 2009. Т. 313. С. 117–140.

## Genetic Diversity of *Chionomys* Genus (Mammalia, Arvicolinae) and Comparative Phylogeography of Snow Voles

A. A. Bannikova<sup>a</sup>, A. M. Sighazeva<sup>b</sup>, V. G. Malikov<sup>c</sup>,  
F. N. Golenishchev<sup>c</sup>, and R. I. Dzuev<sup>b</sup>

<sup>a</sup> *Department of Vertebrate Zoology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia*  
*e-mail: hylomys@mail.ru*

<sup>b</sup> *Kabardino-Balkarian State University, Department of General Biology, Ecology, and Nature Management, Nalchik, Kabardino-Balkaria, 360004 Russia*

<sup>c</sup> *Zoological Institute, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 199034 Russia*

In the present study, the genetic polymorphism of the *Chionomys* genus was examined based on the sequencing of the mitochondrial *cytb* gene and two nuclear exons, including *CHR* exon 10 and *BRCA1* exon 11. The distinct subdivision of the genus of snow voles into five lineages, including *Ch. nivalis*, *Ch. gud*, *Ch. roberti*, and *Ch. aff. nivalis* from Turkey, as well as *Ch. aff. gud* from Turkey, was demonstrated. The branching order in the trees constructed based on the data for different genes was ambiguous, which was probably the consequence of recent and rapid radiation of the major lineages from a common ancestor. However, the data of the mitochondrial and nuclear gene analyses definitely indicated that the genetic and taxonomic diversity of the *Chionomys* genus was higher than it was expected before. The genetic divergence of some populations was so deep that they probably deserved the statuses of independent species. Despite that the range of the European snow vole *Ch. nivalis* is larger and more fragmented than the Gudaur vole *Ch. gud*, the latter species with its relatively small range, which is limited to the Caucasian and Pontic Mountains, was characterized by a similarly expressed phylogenetic structure. At the same time, Robert's vole *Ch. roberti* was less structured genetically than the first two species. The data obtained supported the Near Eastern, rather than the European origin of the *Chionomys* genus.