

## ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ДОМОВОЙ МЫШИ *Mus musculus* И ГЕОГРАФИЧЕСКОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЕЕ ПОДВИДОСПЕЦИФИЧНЫХ RAPD-МАРКЕРОВ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ

© 2008 г. Л. Н. Спиридонова<sup>1</sup>, К. В. Коробицына<sup>1</sup>, Л. В. Якименко<sup>2</sup>, А. С. Богданов<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Биолого-почвенный институт Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток 690022; e-mail: spiridonova@biosoil.ru

<sup>2</sup>Владивостокский государственный университет экономики и сервиса, Владивосток 690022

<sup>3</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук, Москва 119334

Поступила в редакцию 31.01.2007 г.

Окончательный вариант получен 08.08.2007 г.

Для домашней мыши *Mus musculus* ( $n = 42$ ) из 10 локальных популяций проведен анализ генетического разнообразия и географического распределения таксон-специфичных RAPD-маркеров. В целом домашние мыши характеризовались умеренной генетической изменчивостью: полиморфизм  $P_{99} = 60\%$ ,  $P_{95} = 32.57\%$ , гетерозиготность  $H = 0.12$ , наблюдаемое число аллелей  $n_a = 1.6$ , эффективное число аллелей  $n_e = 1.18$ , внутривидовая дифференциация  $\theta_s = 0.388$ , индекс Шеннона  $I = 0.19$ . Степень генетической изоляции отдельных локальных популяций сильно варьировала: показатель генетической подразделенности  $G_{st}$  изменялся от 0.162 до 0.770 при генном потоке  $Nm$  2.58–0.149, а межвидовые генетические дистанции  $D_N$  имели значения от 0.026 до 0.178. Большая часть генетического разнообразия приходилась на межвидовую составляющую ( $H_T = 0.125$ ), в то время как внутривидовое разнообразие было в 2 раза ниже ( $H_S = 0.06$ ). Исследованные выборки по набору RAPD-маркеров хорошо дискриминированы. Характер распределения признаков позволил нам условно разделить мышей на “западную” и “восточную” группы с предполагаемой границей по Байкалу. Для первых характерна высокая представленность маркеров *M. m. musculus* и *M. m. domesticus*, для вторых – *M. m. musculus*, *M. m. gansuensis*, *M. m. castaneus*, *M. m. domesticus* и *M. m. wagneri*. Фоновым во всех популяциях является генотип номинативного подвида *M. m. musculus*. В исследованных выборках обычно присутствовали с различной частотой встречаемости несколько подвидоспецифичных молекулярных маркеров, обнаруженных нами ранее, что явно указывало на участие в процессах гибридизации сразу нескольких подвидов *M. musculus*.

Анализ распространения таксон-специфичных гаплотипов мтДНК в популяциях домашней мыши (*Mus musculus* Linnaeus, 1758) на территории России и прилегающих стран подробно проведен и представлен в работах Х. Йонекавы с соавт. [1, 2]. Исследование распространения RAPD-признаков выявило иное распределение ядерных маркеров [3–5], хотя объектом исследования служили одни и те же экземпляры мышей. Несовпадение распределения ядерных и митохондриальных маркеров известно для некоторых видов насекомых, птиц и грызунов [4–7]. Подобное явление подчеркивает необходимость параллельного анализа мтДНК и ядерных генов при филогенетических построениях [6]. Именно это обстоятельство послужило обоснованием исследования географии таксон-специфичных RAPD-маркеров *M. musculus* после того, как исследование распределения гаплотипов мтДНК было уже проведено.

В целом ряде случаев у гибридов таксон-специфичный гаплотип мтДНК одного из родительских видов (подвидов) доминирует над гаплотипом вто-

рого родительского таксона. Например, для гибридов сусликов *Spermophilus major* × *S. e. brevicauda* более предпочтительным оказался гаплотип последнего (100%-ное доминирование) [5, 7], а у гибридов домашней мыши – гаплотип *M. m. musculus* [1, 5]. На большей части Евразии в популяциях домашней мыши представлены митохондриальные маркеры формы *musculus* (74% исследованных особей), и лишь на севере Дальнего Востока обнаруживается присутствие мтДНК формы *castaneus* (15% особей). Митохондриальный гаплотип формы *domesticus* на Дальнем Востоке встречен только в Приморском крае (11% особей) [1, 2].

Цель данной работы – анализ географического распределения подвидоспецифичных RAPD-маркеров домашней мыши, оценка ее генетического и таксономического разнообразия, а также распространения гибридизационных процессов в популяциях на территории России. Предполагается: 1) на основании анализа пяти подвидов из десяти выборок *M. musculus* исследовать географическое распределение RAPD-маркеров, обнару-

женных в ходе нашего предыдущего исследования; 2) дать количественную оценку генетической изменчивости локальных популяций и степени их дифференциации; 3) попытаться выявить закономерности интрогрессии генов пяти подвидов *M. musculus* в исследованных популяциях; 4) реконструировать фено- и филогенетические связи домовых мышей.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материал для исследования представлен в табл. 1. В качестве подвидового стандарта ранее выявленных таксон-специфичных маркеров использовано по одной генетически типированной особи следующих подвидов *M. musculus*: *musculus*, *gansuensis*, *castaneus*, *domesticus*, *wagneri*.

ДНК получали из печени, фиксированной в 70%-ном этаноле по [8]. Использовано девять десятинуклеотидных случайных праймеров (НПФ "Литех" и "Operon Technologies Inc.", США), дифференцирующих те или иные подвиды (табл. 2). PCR-реакцию и электрофорез амплифицированных последовательностей проводили по описанной нами ранее методике [4]. В качестве маркера молекулярной массы использовали M25 (Сибэнзим). По электрофореграммам составляли бинарные матрицы, в которых присутствие полосы обозначалось "1", отсутствие – "0".

С помощью программ POPGENE [9] и TFGPA ver. 1.3 [10] рассчитывали параметры генетической изменчивости и дифференциации популяций. Генетическая изменчивость популяций оценивалась по доле полиморфных локусов при 95%-ном критерии значимости ( $P_{95}$ ) для общей выборки, среднему ( $n_a$ ) и эффективному ( $n_e$ ) числу аллелей на локус, средней ожидаемой гетерозиготности ( $H_e$ ) [11], индексу гетерогенности выборки Шеннона ( $I$ ) [12], индексу внутривидовой дифференциации ( $\theta_S$ ), а также генетическим дистанциям ( $D_N$ ) [11].

Для оценки генетических различий между популяциями вычисляли межпопуляционные генетические дистанции  $D_N$ , показатель межпопуляционной дифференциации ( $G_{ST}$ ), число мигрантов между локальными популяциями на генерацию ( $Nm$ ), а также общее генетическое разнообразие между выборками ( $D_{ST}$ ), которое рассчитывали из общей генетической изменчивости ( $H_T$ ) и средневыворочного генетического разнообразия ( $H_S$ ), как описано в работе Грегориуса [13]. Для построения фило- и фенограмм использовали пакеты программ TFGPA [10] и TREECON ver. 1.3 [14].

**Таблица 1.** Точки сбора и количество исследованных домовых мышей

Номер локалитета	Место сбора материала	Количество экземпляров, <i>n</i>
1	Хабаровский край, пос. Лазарев	5
2	Хабаровский край, пос. Аян	2
3	Хабаровский край, пос. Солнечный	1
4	Хабаровский край, г. Хабаровск	4
5	Иркутская обл., пос. Хужир (о. Ольхон)	5
6	Амурская область, г. Тында	6
7	Новосибирская обл., г. Карасук	9
8	Томская область, г. Томск	6
9	Кабардино-Балкария, г. Нальчик	2
10	Тюменская обл., Ямало-Ненецкий АО, г. Лабытнанги	2

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### *Разнообразие RAPD-спектров и распределение подвидоспецифичных маркеров в популяциях M. musculus*

Получены специфические наборы фрагментов ДНК, отличающиеся по молекулярному весу и выраженности (рис. 1). Всего идентифицировано 168 признаков. RAPD-спектры домовых мышей из разных локалитетов имели высокое сходство. Однако наряду с характерными для большей части особей фрагментами отмечены также и уникальные.

Выявленные подвидоспецифичные RAPD-маркеры неравномерно распределяются по ареалу, а их присутствие не совпадает с границами распространения подвидов, описанными по морфологическим критериям. Животные исследованных локальностей характеризуются, как правило, наличием нескольких подвидоспецифичных молекулярных маркеров с разной частотой встречаемости. Однако во всех выборках наблюдается преобладание какого-либо одного подвидового признака.

В табл. 3 для каждого экземпляра приведены подвидоспецифичные RAPD-маркеры. Количество маркерных фрагментов, характеризующих один и тот же подвид, варьирует, косвенно указывая на преобладание соответствующих подвидов.

**Таблица 2.** Праймеры, использованные в работе

Праймер	Нуклеотидная последовательность (5'→3')
OPA-10	GTGATCGCAG
OPA-12	TCGGCGATAG
OPA-16	AGCCAGCGAA
OPC-02	GTGAGGCGTC
OPC-05	GATGACCGCC
OPC-07	GTCCCGACGA
OPC-08	TGGACCGGTG
OPD-05	TGAGCGGACA
OPD-06	ACCTGAACGG

вых генетических признаков (см. табл. 3). Исследованные выборки по распространению RAPD-маркеров хорошо дискриминированы. Характер распределения признаков позволил нам условно разделить все популяции на “западную” и “восточную” группы с условной границей по Байкалу. Для первых характерно преобладание маркеров *musculus* и *domesticus*. Во второй, помимо этих, присутствуют маркеры *gansuensis*, *castaneus* и *wagneri*, почти не встречающиеся в “западной” группе (рис. 2, см. табл. 3). Фоновым во всех популяциях является генотип номинативного подвида *musculus*. Исключением оказалась популяция Тынды, где его маркеры выявлены только у одного животного.

Большинство животных характеризовались наборами фрагментов яДНК, сходными с таковыми для одного из подвигов: *musculus*, *domesticus*, *gansuensis*. Подвидоспецифичный признак последнего (OPC-02<sub>1161</sub>) встречен реже, чем признаки первых двух, однако геогеография его значительна: он обнаружен в 6 из 10 исследованных локальностей. Интересно, что даже на Северном Кавказе (г. Нальчик) у одного из двух животных обнаружен признак *gansuensis*. Об участии неких *wagneri*-подобных короткохвостых мышей (к которым мы относим и *gansuensis*) в формировании популяций Северного Кавказа мы уже писали ранее [15].

Необходимо отметить, что фрагмент OPC-07<sub>1488</sub>, характерный для *M. m. wagneri* – таксона, значительно дифференцированного от остальных подвидов, – выявлен в популяциях домовых мышей из пос. Лазарев (80%) и г. Хабаровск (25%). Однако тождественность этого маркера с таковым настоящих, типичных *wagneri* (типированных нами из Семипалатинской обл., выборка из природной популяции), необходимо установить дополнительными исследованиями. По остальным праймерам маркерные фрагменты *wagneri* в анализируемых популяциях домовых мышей не обнаружены.

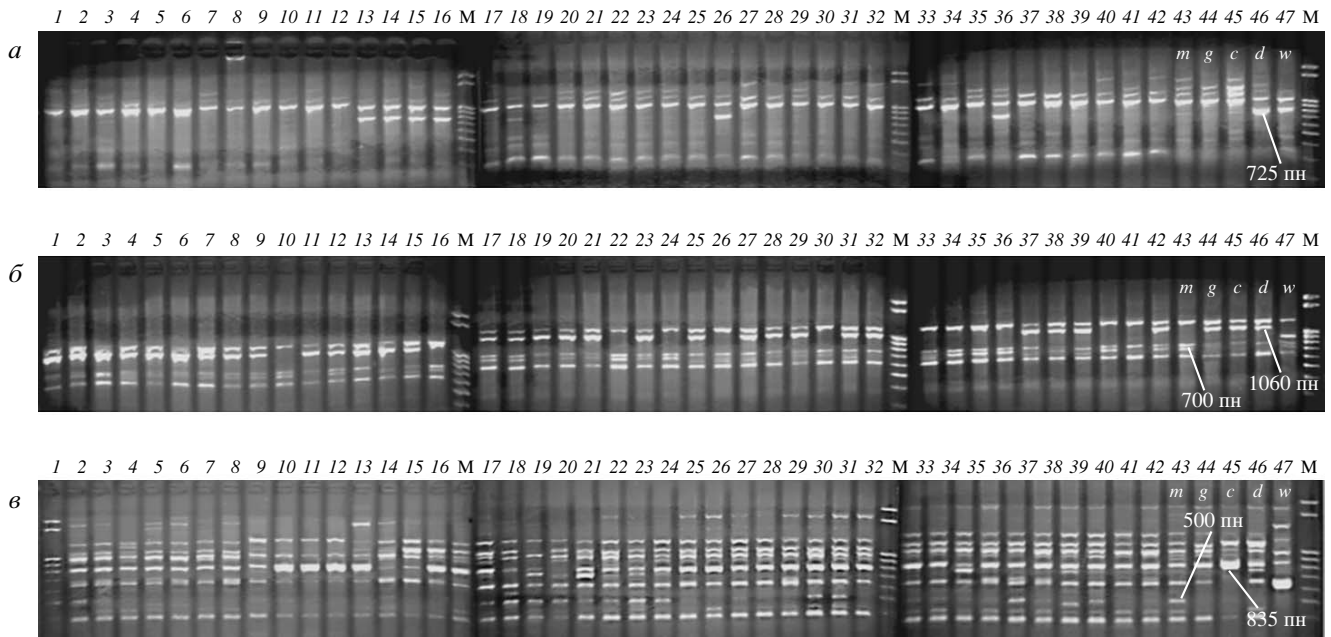
Получено подтверждение интрогрессии значительной части ядерных генов *domesticus* далеко за пределы его европейского ареала. С большой частотой у животных всех исследованных “западных” популяций, за исключением выборки из пос. Хужир (о. Ольхон), представлены различные, маркирующие *domesticus*, последовательности, выявляемые тремя разными праймерами. Большинство “восточных” популяций (исключая малочисленные выборки 2 и 3) также содержат характерные для данного подвида маркеры, а у мышей Тынды они даже доминируют.

Более редкими, нежели маркеры *domesticus*, оказались молекулярные признаки *castaneus*. Так, маркирующий этот подвид мажорный фрагмент OPC-07<sub>835</sub> обнаружен только в выборках из Хабаровска (25%), Лазарева (100%) и Хужира (40%). Интересно, что маркеры *castaneus* не обнаружены западнее Байкала. Мыши о. Ольхон, фактически расположенного на проведенной нами по Байкалу условной границе, несмотря на присутствие у них маркеров этого азиатского подвида, по сумме признаков генетически оказались ближе к “западным”, чем к “восточным” популяциям.

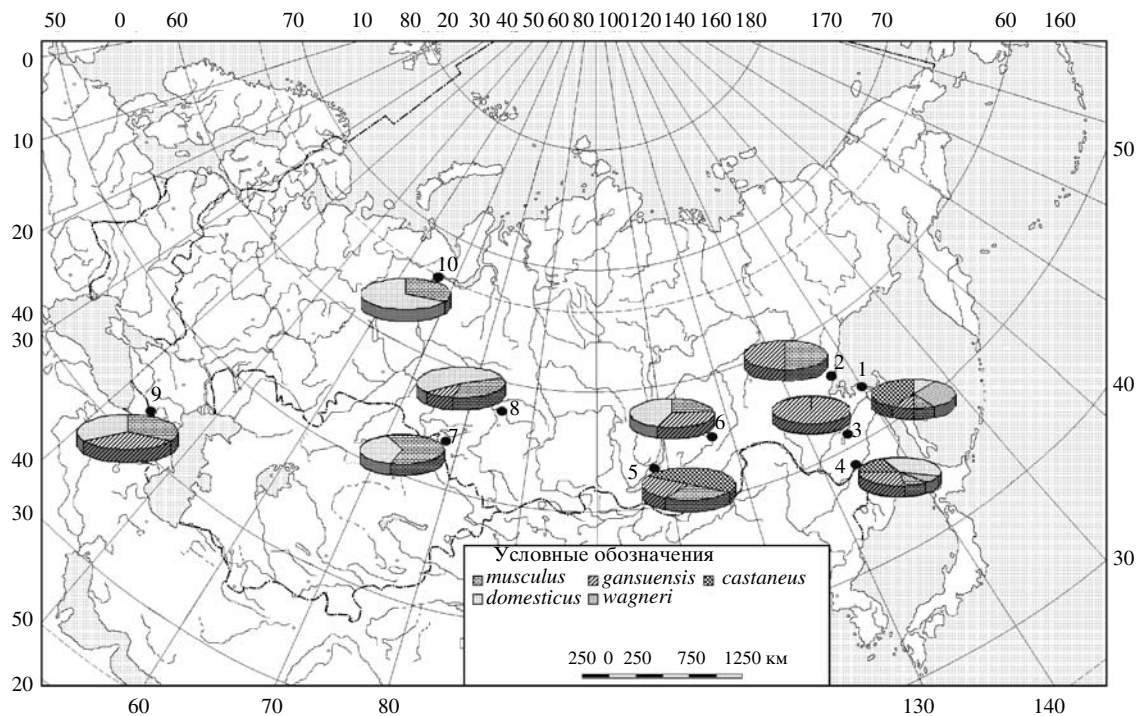
Фрагмент OPD-05<sub>1060</sub> характеризовал подвиды *domesticus* и *castaneus*, а у *gansuensis* был полиморфным. Данный фрагмент представлен с разной частотой во всех анализируемых выборках. Идентичность первичной последовательности этого RAPD-фрагмента у разных подвигов требует проверки.

#### Генетическая изменчивость

RAPD-PCR-анализ показал, как и ранее [4], низкий уровень генного разнообразия мышей исследованных локалитетов (табл. 4). Используемые для его оценки средняя ожидаемая гетерозиготность ( $H_e$ ) и информационный индекс Шеннона ( $I$ ) незначительно отличались между собой. Среднее число аллелей на локус ( $n_a$ ) в выборках из разных популяций невысокое и изменяется от 1.09 (Аян) до 1.28 (Томск, Лазарев). Эффективное число аллелей ( $n_e$ ) в локальных выборках, как и



**Рис. 1.** RAPD-спектры ДНК *M. musculus*, амплифицированные праймерами OPD-06 (а), OPD-05 (б) и OPC-07 (в): 1–7 – Тында; 8–12 – Лазарев; 13–16 – Хабаровск; 17–18 – Аян; 19 – Солнечный; 20–24 – Хужир; 25–33 – Карасук; 34–38 – Томск; 39–40 – Нальчик; 41–42 – Лабитнанги; “стандарты подвидов”: 43 – *M. m. musculus*; 44 – *M. m. gansuensis*; 45 – *M. m. castaneus*; 46 – *M. m. domesticus*; 47 – *M. m. wagneri*; М – маркер 25М.



**Рис. 2.** Распределение подвидоспецифичных молекулярных маркеров *M. musculus* в исследованных популяциях. Цифры – номера локалитетов (соответствуют приведенным в табл. 1 и 3).

**Таблица 3.** Индивидуальные характеристики RAPD-маркеров *M. musculus* и их географическое распределение

Место сбора (№ точки)	Зоол. №	<i>M. m. musculus</i>	<i>M. m. gansuensis</i>	<i>M. m. castaneus</i>	<i>M. m. domesticus</i>	<i>M. m. wagneri</i>	
Тында (6)	889	opc-07 <sub>500</sub>			opa-16 <sub>547</sub>		"Восток"
	890				opa-16 <sub>547</sub>		
	891		opc-02 <sub>1161</sub>				
	892		opc-02 <sub>1161</sub>				
	893					opa-16 <sub>547</sub>	
	895			opc-02 <sub>1161</sub>		opa-16 <sub>547</sub>	
Лазарев (1)	897	opc-07 <sub>500</sub>		opc-07 <sub>835</sub>		opc-07 <sub>1488</sub>	
	898	opc-07 <sub>500</sub>	opc-02 <sub>1161</sub>	opc-07 <sub>835</sub>		opc-07 <sub>1488</sub>	
	899			opc-07 <sub>835</sub>		opc-07 <sub>1488</sub>	
	900	opd-05 <sub>700</sub>		opc-07 <sub>835</sub>	opc-08 <sub>900</sub>	opc-07 <sub>1488</sub>	
Хабаровск (4)	902			opc-07 <sub>835</sub>			
	914	opc-07 <sub>500</sub>	opc-02 <sub>1161</sub>				
	916	opd-05 <sub>700</sub>	opc-02 <sub>1161</sub>			opc-07 <sub>1488</sub>	
	917		opc-02 <sub>1161</sub>	opc-07 <sub>835</sub>	opc-08 <sub>900</sub>		
Аян (2)	918				opc-08 <sub>900</sub>		
	964	opc-07 <sub>500</sub>					
Солнечный (3)	965	opc-07 <sub>500</sub>					
	966		opc-02 <sub>1161</sub>				
Хужир(5)	0579	opc-07 <sub>500</sub>			opa-16 <sub>547</sub>		"Запад"
	0580	opc-07 <sub>500</sub>		opc-07 <sub>835</sub>			
	0581	opc-07 <sub>500</sub>		opc-07 <sub>835</sub>			
	0582	opc-07 <sub>500</sub>					
	0584	opc-07 <sub>500</sub>					
Карасук(7)	972	opd-05 <sub>700</sub>					
	973	opd-05 <sub>700</sub>			opc-08 <sub>900</sub>		
	974	opd-05 <sub>700</sub>			opc-08 <sub>900</sub>		
	975	opd-05 <sub>700</sub>			opc-08 <sub>900</sub>		
	976	opd-05 <sub>700</sub>			opc-08 <sub>900</sub>		
	977	opc-07 <sub>500</sub> , opd-05 <sub>700</sub>			opc-08 <sub>900</sub>		
	978	opc-07 <sub>500</sub> , opd-05 <sub>700</sub>			opc-08 <sub>900</sub>		
	979	opd-05 <sub>700</sub>					
Томск(8)	980	opd-05 <sub>700</sub>					
	903	opd-05 <sub>700</sub>			opc-08 <sub>900</sub>		
	907				opc-08 <sub>900</sub>		
	909	opc-07 <sub>500</sub> , opd-05 <sub>700</sub>			opc-08 <sub>900</sub>		
	910	opd-05 <sub>700</sub>	opc-02 <sub>1161</sub>				
Нальчик(9)	911	opc-07 <sub>500</sub>			opa-16 <sub>547</sub>		
	912				opc-08 <sub>900</sub>		
	24530		opc-02 <sub>1161</sub>		opc-08 <sub>900</sub>		
	24531	opc-07 <sub>500</sub> , opd-05 <sub>700</sub>			opc-08 <sub>900</sub>		
Лабытнанги (10)	24634				opa-12 <sub>846</sub>		
	24635	opd-05 <sub>700</sub>			opc-08 <sub>900</sub> opc-08 <sub>900</sub>		

Примечание. Нижний индекс указывает длину маркерного фрагмента в пн.

**Таблица 4.** Внутрипопуляционное генетическое разнообразие домовых мышей

№ точки	Локалитет	$n_a$	$n_e$	$H_e$ (unbiased)	$I$	$\theta_S$	$S/D_N$	$N$	$P_{99, (95), \%}$
6	Тында ( $n = 7$ )	1.24 ± 0.43	1.13 ± 0.27	0.08	0.12	0.41 ± 0.06	0.944/0.058	42	24
1	Лазарев ( $n = 5$ )	1.28 ± 0.45	1.15 ± 0.30	0.09	0.14	0.15 ± 0.06	0.967/0.033	49	28
4	Хабаровск ( $n = 4$ )	1.25 ± 0.43	1.15 ± 0.30	0.09	0.13	0.31 ± 0.06	0.941/0.061	43	24.57
2	Аян ( $n = 2$ )	1.09 ± 0.28	1.06 ± 0.2	0.04	0.05	0.41 ± 0.06	0.975/0.026	15	8.57
5	Хужир ( $n = 5$ )	1.18 ± 0.39	1.09 ± 0.23	0.06	0.09	0.36 ± 0.07	0.957/0.045	32	18.29
7	Карасук ( $n = 9$ )	1.18 ± 0.39	1.09 ± 0.23	0.05	0.08	0.37 ± 0.1	0.959/0.042	33	18.86
8	Томск ( $n = 6$ )	1.28 ± 0.45	1.14 ± 0.27	0.09	0.14	0.33 ± 0.06	0.938/0.064	50	28.57
9	Нальчик ( $n = 2$ )	1.13 ± 0.33	1.09 ± 0.24	0.05	0.08	0.28 ± 0.08	0.977/0.023	22	12.57
10	Лабытнанги ( $n = 2$ )	1.13 ± 0.33	1.09 ± 0.24	0.05	0.08	0.21 ± 0.09	0.979/0.021	23	13.14
<b>Суммарно</b>		<b>1.6 ± 0.5</b>	<b>1.18 ± 0.27</b>	<b>0.12</b>	<b>0.19</b>	<b>0.388 ± 0.03</b>	<b>0.995/0.005</b>	<b>105</b>	<b>60 (32.57)</b>

Примечание.  $H$  (unbiased) – гетерогенность с поправкой на величину выборки,  $N$  – число полиморфных локусов.

предыдущий показатель, характеризуется низкими значениями (1.06–1.15). Суммарное значение  $n_a$  увеличивается до 1.6, тогда как  $n_e$  остается низким (1.18).

Значения гетерозиготности ( $H$ ) в выборках изменялись от 0.04 до 0.09. Выборки разного объема могли характеризоваться одинаковой величиной  $H$  (выборки 7, 9, 10). Для общей выборки значение средней гетерозиготности составило  $H = 0.12$  (см. табл. 4). Внутрипопуляционная дифференциация ( $\theta_S$ ) в локальных выборках значительна. Несмотря на большую генетическую изменчивость в сравнении с остальными популяциями, особи из Лазарева были генетически слабо дифференцированы ( $\theta_S = 0.15$ ), что также подтверждалось значениями  $D_N$ . Напротив, мыши из Аяна, имеющие низкий уровень генетической изменчивости, обладали разнородной генетической информацией ( $\theta_S = 0.41$ ).

Уровень генетического полиморфизма ( $P_{99}$ ) в полной выборке составил 60%. При использовании 95%-ного уровня значимости его величина в объединенной выборке снизилась до 32.57%, указывая на высокое содержание редких аллелей. Наиболее полиморфными оказались популяции Лазарева и Томска (см. табл. 4). Домовые мыши в каждой выборке характеризовались высоким генетическим сходством ( $S$ ), которое для суммарной выборки составило 0.99 (см. табл. 4).

#### Генетическая дифференциация

Значения параметров генетической дифференциации между всеми выборками приведены в табл. 5. При попарном сравнении особей из Солнечного и Аяна с животными других выборок получены показатели  $H_S$  в 2–5 раз ниже  $H_T$ . Животные из этих мест оказались хорошо дифференцированы от домовых мышей из других точек, т.е.

генное разнообразие между выборками из данных локалитетов выше, чем в каждом из них. Однако в целом общее генное разнообразие  $D_{ST}$  между локальными выборками домовых мышей характеризуется низким уровнем.

Степень генетической подразделенности популяций, рассчитанная через коэффициент генных фиксации ( $G_{st}$ ), изменяется от 0.162 (между мышами Тынды и Хабаровска) до 0.77 (между особями пос. Солнечный и г. Нальчик), что соответствует генному потоку  $Nm = 2.45$  для первой и 0.149 – для второй пары популяций.

Низкая генетическая дифференциация мышей Тынды и Хабаровска, а также Карасука и Томска подтверждается низкими межпопуляционными генетическими дистанциями ( $D_N = 0.026$  и 0.022 соответственно) и положительно коррелирует с географическими расстояниями и наличием–отсутствием прямых транспортных связей между указанными точками. Неожиданно оказалось, что особи из Нальчика по сумме всех генетических признаков близки к домовым мышам как Тынды, так и Томска, имеющим разные генетические маркеры и значительно удаленным друг от друга (см. табл. 5). Наиболее высокие генетические дистанции, причем со всеми исследованными животными, имеют мыши из Солнечного и Аяна. Однако между собой особи из этих точек, с одной стороны, хорошо подразделены ( $G_{st} = 0.693$ ), и между ними практически отсутствует обмен генами ( $Nm = 0.222$ ), а с другой, они генетически сходны ( $D_N = 0.079$ ).

Среднее генетическое расстояние для всех популяций *M. musculus* равно 0.071. Для сравнения, генетические дистанции между *M. musculus* и *M. abbotti*, а также *M. musculus* и *M. spicilegus* составили 0.147 и 0.181 соответственно [4].

**Таблица 5.** Внутривидовая генетическая дифференциация *M. musculus*: попарное сравнение локальных популяций

Локалитеты	$H_T (\pm)$	$H_S (\pm)$	$D_{ST} (\pm)$	$G_{st} (\pm)$	$Nm$	$D_N$
Тында/Лазарев	0.108	0.085	0.023	0.210	1.882	0.042
Тында/Хабаровск	0.1	0.084	<b>0.016</b>	<b>0.162</b>	<b>2.579</b>	<b>0.026</b>
Тында/Аян	0.102	0.057	<b>0.045</b>	0.437	0.644	0.089
Тында/Солнечный	0.096	0.04	<b>0.056</b>	<b>0.588</b>	<b>0.350</b>	<b>0.121</b>
Тында/Хужир	0.095	0.068	0.027	0.279	1.296	0.051
Тында/Карасук	0.086	0.066	0.02	0.233	1.647	0.039
Тында/Нальчик	0.09	0.064	0.026	<b>0.169</b>	<b>2.453</b>	<b>0.029</b>
Тында/Томск	0.1	0.083	0.017	0.283	1.266	0.044
Тында/Тюмень	0.096	0.067	0.029	0.302	1.157	0.051
Лазарев/Хабаровск	0.11	0.09	0.02	0.183	2.229	0.033
Лазарев/Аян	0.109	0.064	<b>0.045</b>	0.416	0.701	0.090
Лазарев/Солнечный	0.099	0.046	<b>0.053</b>	<b>0.538</b>	<b>0.429</b>	<b>0.112</b>
Лазарев/Хужир	0.111	0.074	0.037	0.330	1.016	0.073
Лазарев/Карасук	0.1	0.072	0.028	0.285	1.257	0.056
Лазарев/Томск	0.111	0.089	0.022	0.197	2.039	0.038
Лазарев/Нальчик	0.106	0.07	0.036	0.334	0.999	0.064
Лазарев/Тюмень	0.109	0.074	0.035	0.321	1.056	0.062
Хабаровск/Аян	0.110	0.063	0.045	0.434	0.653	0.094
Хабаровск/Солнечный	0.107	0.045	<b>0.062</b>	<b>0.583</b>	<b>0.357</b>	<b>0.132</b>
Хабаровск/Хужир	0.1	0.073	0.027	0.266	1.383	0.048
Хабаровск/Карасук	0.097	0.071	0.026	0.272	1.337	0.050
Хабаровск/Томск	0.11	0.088	0.022	0.199	2.016	0.037
Хабаровск/Нальчик	0.099	0.07	0.029	0.299	1.174	0.050
Хабаровск/Тюмень	0.104	0.072	0.032	0.309	1.117	0.055
Аян/Солнечный	0.058	0.018	0.04	<b>0.693</b>	<b>0.222</b>	<b>0.079</b>
Аян/Хужир	0.086	0.047	0.039	0.460	0.588	0.077
Аян/Карасук	0.086	0.043	0.043	0.493	0.515	0.086
Аян/Томск	0.102	0.061	0.041	0.399	0.754	0.079
Аян/Нальчик	0.097	0.042	<b>0.055</b>	<b>0.561</b>	<b>0.391</b>	<b>0.106</b>
Аян/Тюмень	0.1	0.045	<b>0.055</b>	<b>0.549</b>	<b>0.411</b>	<b>0.106</b>
Солнечный/Хужир	0.105	0.029	<b>0.076</b>	<b>0.726</b>	<b>0.189</b>	<b>0.166</b>
Солнечный/Карасук	0.091	0.026	<b>0.065</b>	<b>0.714</b>	<b>0.201</b>	<b>0.142</b>
Солнечный/Томск	0.109	0.044	<b>0.065</b>	<b>0.600</b>	<b>0.333</b>	<b>0.141</b>
Солнечный/Нальчик	0.108	0.025	<b>0.083</b>	<b>0.770</b>	<b>0.149</b>	<b>0.178</b>
Солнечный/Тюмень	0.095	0.027	<b>0.068</b>	<b>0.713</b>	<b>0.201</b>	<b>0.140</b>
Хужир/Карасук	0.075	0.055	0.02	0.272	1.340	0.039
Хужир/Томск	0.094	0.072	0.022	0.230	1.679	0.039
Хужир/Нальчик	0.085	0.054	0.031	0.370	0.852	0.057
Хужир/Тюмень	0.083	0.056	0.027	0.327	1.032	0.046
Карасук/Томск	0.083	0.07	<b>0.013</b>	<b>0.159</b>	<b>2.652</b>	<b>0.022</b>
Карасук/Нальчик	0.071	0.051	0.02	0.277	1.304	0.032
Карасук/Тюмень	0.081	0.053	0.028	0.342	0.961	0.049
Томск/Нальчик	0.088	0.069	0.019	0.226	1.717	0.029
Томск/Тюмень	0.1	0.071	0.029	0.291	0.291	0.049
Нальчик/Тюмень	0.082	0.052	0.03	0.361	0.885	0.046
Суммарная выборка	0.125	0.06	0.065	0.525	0.453	0.071

Примечание. Жирным шрифтом выделены минимальные и максимальные значения.

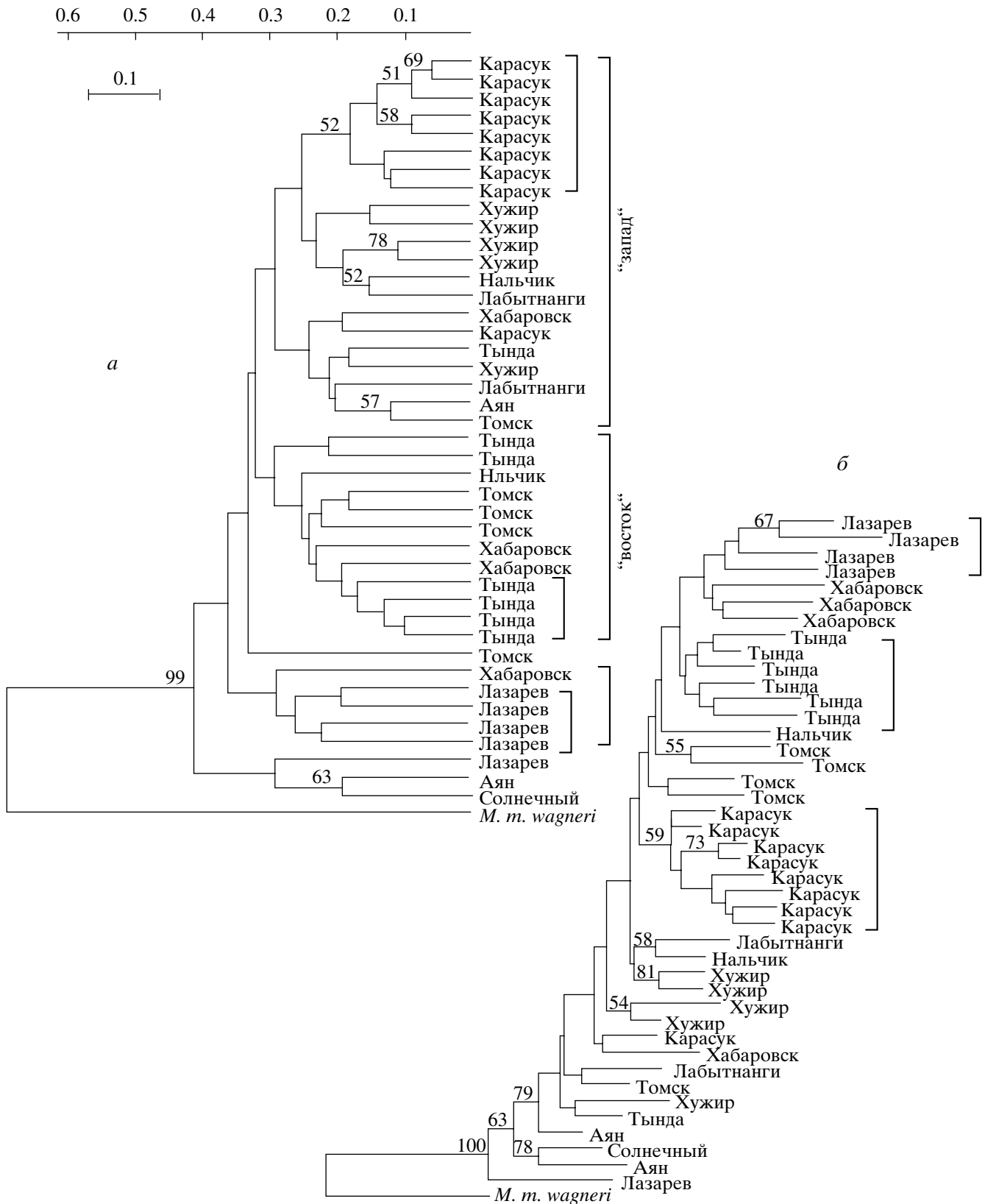
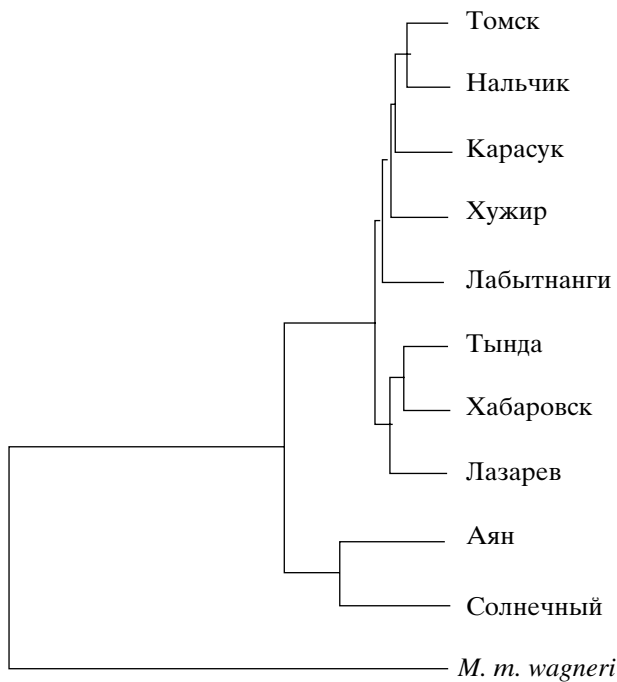


Рис. 3. Генетическое сходство (а) и филогенетические связи (б) *M. musculus* из разных локалитетов, основанные на RAPD-данных и с помощью программы TREECON. В узлах ветвлений приведены значения BP  $\geq$  50%.





**Рис. 4.** UPGMA-дерево генетических дистанций (Nei, 1978) между популяциями *M. musculus*, основанное на RAPD-данных и построенное с помощью программы PopGen32.

#### Фено- и филогенетические реконструкции

На рис. 3 представлены деревья генетического подобия (UPGMA) [16] и филогенетических отношений (NJ) [17] домашних мышей из исследованных локальностей с бутстрепными оценками надежности ветвления. Несмотря на различающуюся топологию деревьев, в обеих реконструкциях выделяются несколько сходных по составу и географической привязанности кластеров. На UPGMA-дереве все особи разделились на три, неравнозначных по объему, кластера (рис. 3,а). Первый сформирован из трех географически неоднородных подкластеров преимущественно “западных” популяций. Во второй вошла большая часть особей Томска, Тынды и Хабаровска. Третий, наименьший по объему кластер, образован в основном мышами из Лазарева. Иногда в эти кластеры могли входить несколько животных из несвойственных им групп (“запад”, “восток”; см. рис. 3). В отдельную хорошо дифференцированную ветвь (бутстреп 99%) попали три особи (Аян, Солнечный и Лазарев). Большинство мышей из Карасука, Тынды и Лазарева сформировали собственные однородные подкластеры, соответствующие географической привязанности точек отлова животных. Причем генетическое сходство особей из этих локальностей подтверждается и их филогенетическим родством на NJ-дереве (рис. 3,б). Животные из Хабаровска с разными подвидовыми маркерами на UPGMA-дереве распределились по трем от-

даленным кластерам, что указывает на значительную генетическую гетерогенность мышей данной выборки. Несмотря на это, мыши хабаровской популяции на NJ-дереве в основном объединились с особями близких территорий (Тынды, Лазарев). Мыши с о. Ольхон (пос. Хужир) разделились на две генетических группы, хотя и не далеко отстоящих друг от друга, и объединились с “западными” популяциями *M. musculus*, что отражено и на NJ-дереве. Таким образом, можно предположить, что на мышиную фауну Ольхона большее влияние оказывают европейские подвиды домашней мыши, чем азиатские. Интересно, что особи из поселков Аян, Солнечный и Лазарев отделились от “восточных” популяций *M. musculus* и расположились у основания обоих деревьев.

Межпопуляционные взаимоотношения исследованных домашних мышей представлены на рис. 4. “Западные” и “восточные” популяции формируют разные, хотя и близко расположенные кластеры. Наиболее существенную генетическую дифференциацию с остальными мышами, как и в случае деревьев, построенных при сравнении отдельных особей (см. рис. 3), имеют животные из Солнечного и Аяна, хотя между собой они различаются больше, чем “западные” и “восточные” локальности по всем генетическим параметрам.

#### ОБСУЖДЕНИЕ

Попытки типирования домашних мышей методами кариологии [18–24], аллозимного анализа [25–32], секвенирования контрольного региона мтДНК [1, 2] показали во многих случаях несовпадение диагнозов при использовании разных генетических маркеров. Данное обстоятельство является естественным следствием не только обширных процессов гибридизации разных подвидов *M. musculus*, но и неодинаковой, как показано в нашей работе, интрогрессии генов как ядерной, так и мтДНК, обнаруженных далеко за пределами установленных границ ареалов подвидов. Показанное в настоящем исследовании распределение подвидоспецифичных молекулярных RAPD-маркеров домашней мыши не является безусловным в популяциях, которые представлены малым числом особей, а лишь указывает на возможное доминирование выявленных маркеров.

Распределение RAPD-признаков исследованных особей оказалось довольно сложным. Причиной такого явления могут быть как значительная гетерогенность геномов скрещивающихся особей, представляющих далеко не первое гибридное поколение, так и неравномерные рекомбинационные события, существенно усиливающиеся в процессе гибридизации. Наиболее генетически гетерогенными оказались особи Хабаровска (оживленного транспортного узла), где с

разной частотой выявлены маркеры пяти подвидов *M. musculus*. В некоторых выборках отмечено присутствие разных маркерных последовательностей ДНК, характеризующих один и тот же подвид, что может косвенно указывать на доминирование признаков данного подвида у особи.

Исследования генетической изменчивости домашних мышей российского Дальнего Востока обнаружили у некоторых экземпляров *domesticus*-тип D-петли мтДНК [1]. RAPD-PCR анализ мышей Приморского края также выявил у некоторых мышей *domesticus*-тип яДНК (с. Иннокентьевка), что указывает на интрогрессию последовательностей не только митохондриальной, но и ядерной ДНК *domesticus*-типа [33]. Признаки *domesticus*, найденные ранее в Иннокентьевке, встречаются почти во всех исследованных нами “восточных” и во всех “западных” популяциях. В последних одинаково часто встречаются маркеры как *domesticus*, так и *musculus*. Обнаружение маркеров *domesticus* в “восточных” популяциях и успешность их закрепления здесь можно объяснить либо доминированием данного признака, либо какими-то предпочтительными физиологическими адаптациями.

Настоящее исследование продемонстрировало масштабы присутствия маркеров *domesticus* на территории российского Дальнего Востока. Складывается впечатление, что интрогрессия генов этого подвида не встречает никаких существенных ограничений на своем пути, чего нельзя сказать о распространении генов *castaneus*, которые, вероятно, находятся в рецессивном состоянии по отношению к генам других подвидов. Можно высказать предположение, согласно которому существуют некие, пока нам неизвестные ограничения, препятствующие массовому расселению *castaneus* из Юго-Восточной Азии, где находится основная часть его ареала, на север, несмотря на развитые морские связи между российским Дальним Востоком и юго-востоком Азии. Это могут быть и многообразные механизмы репродуктивной изоляции, препятствующие проникновению этого подвида и его признаков на территорию обитания *M. m. musculus*.

Генетические маркеры азиатских подвидов (*castaneus*, *gansuensis*, *wagneri*) не обнаружены в исследованных “западных” выборках, за исключением одной особи из Нальчика, тогда как молекулярные признаки европейских подвидов, как было сказано выше, представлены в Забайкалье и на Дальнем Востоке [4, 15, 23, 33]. Таким образом, территории российского Дальнего Востока, по нашим результатам, являются местом значительной интродукции мышью фауны не только Китая и других регионов Юго-Восточной Азии морским путем, но и отдаленных западных регионов России. Животные из более удаленных от

оживленных транспортных магистралей изолированных населенных пунктов характеризуются высоким внутривидовым генетическим сходством (принцип основателя). Например, мыши Карасука и острова Ольхон генетически более однородны, чем особи из Хабаровска и Тынды.

Домовые мыши “западных” территорий более четко дифференцированы по географической локализованности, чем “восточных”. Неудивительно, что ольхонские мыши, несмотря на присутствие у некоторых из них маркеров *castaneus*, оказались генетически ближе к “западным” популяциям, ибо существует связь ольхонских и материковых популяций западного побережья Байкала. Это обстоятельство косвенным образом подтверждает условно проведенную нами границу между “западными” и “восточными” популяциями по Байкалу.

Х. Ионекава с соавт. [1, 2] показали широкое распространение митохондриальных признаков фонового подвида *musculus* и возможное “поглощение” им гаплотипов других подвидов. Устойчивое сохранение “чистых” подвидовых признаков ядерной ДНК выявлено нами [4] в немногих популяциях (Новосибирск – *musculus*; Семипалатинская обл. – *wagneri*; юг Читинской области – *gansuensis*). Однако в большинстве исследованных выборок из синантропных популяций наблюдается смешение признаков разных подвидов.

Таким образом, анализ географического распределения подвидоспецифичных RAPD-маркеров домашней мыши (см. табл. 3), показавший возможное присутствие у одной особи признаков двух–четырех разных подвидов, подтверждает наличие сложнейших процессов интрогрессивной гибридизации. При этом потоки генов разных подвидов разнонаправлены. Генные потоки *castaneus* на западе ограничиваются озером Байкал. Достаточно неожиданно, что на Дальнем Востоке России маркеры яДНК этого подвида оказались сравнительно редки. Возможные объяснения этого явления высказаны нами выше. Не вызывает сомнения, что сравнение данных, полученных разными методами, способствует созданию более полной и достоверной картины распределения генетических признаков в зонах контакта подвидов и их гибридизации.

Авторы благодарны М.В. Павленко, В.П. Кораблеву, А.П. Крюкову и Л.В. Фрисман, а также В.С. Лукаревскому, В.Г. Потанскому, О.В. Брандлеру и А.Ю. Пузаченко за помощь в отлове домашних мышей.

Работа выполнена при частичной поддержке грантов РФФИ-ГФЕН (03-04-39016 и 06-04-39015), программ Президиума РАН “Биоразнообразие и динамика генофондов” и ОБН РАН “Фундаментальные основы управления биологическими ресурсами”.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Yonekawa H., Tsuda K., Tsuchiya K. et al. Mitochondrial DNA variation and distribution of *Mus musculus* subspecies in Russia: recent invasion of *M. m. domesticus* in the Far-Eastern Russia // Proc. Intern. Symp. "Species and genetic diversity of wild animals in East Asia". Hayama, Japan, 2000. P. 21.
2. Yonekawa H., Tsuda K., Yakimenko L.V. et al. Genetic diversity, geographic distribution and evolutionary relationships of *Mus musculus* subspecies based on polymorphisms of mitochondrial DNA // Проблемы эволюции. Владивосток: Дальнаука, 2003. Т. 5. С. 90–108.
3. Chelomina G.N., Spiridonova L.N., Moriwaki K., Yonekawa H. Genetic variation and geographical differentiation in house mice of some regions of Central and East Asia from the former USSR: RAPD-PCR data // Proc. Intern. Sympos. "Species and genetic of wild animals in East Asia". Hayama, 2000. P. 18.
4. Спиридонова Л.Н., Челомина Г.Н., Мориваки К. и др. Генетическое и таксономическое разнообразие домашних мышей в азиатской части бывшего СССР // Генетика. 2004. Т. 40. № 10. С. 1378–1388. (Spiridonova L.N., Chelomina G.N., Moriwaki K. et al. Genetic and taxonomic diversity of the house mouse *Mus musculus* from the Asian part of the former Soviet Union // Rus. J. Genetics. 2004. V. 40. № 10. P. 1134–1143.)
5. Спиридонова Л.Н. Молекулярно-генетические аспекты естественной гибридизации (на примере домашней мыши, сусликов и врановых птиц): Автореф. канд. дис. Владивосток: Дальприбор, 2005. 23 с.
6. Seifert B., Goropashnaya A.V. Ideal phenotypes and mismatching haplotypes – errors of mtDNA treeing in ants (Hymenoptera: Formicidae) detected by standardized morphometry // Org. Diver. Evol. 2004. V. 32. № 4. P. 295–305.
7. Спиридонова Л.Н., Челомина Г.Н., Тсуда К. и др. Генетические свидетельства обширной интрогрессии генов короткохвостого суслика в зоне гибридизации *Spermophilus major* и *S. erythrognys*: данные секвенирования гена цитохрома b мтДНК // Генетика. 2006. Т. 42. № 7. С. 976–984. (Spiridonova L.N., Chelomina G.N., Tsuda K. et al. Genetic evidence of extensive introgression of short-tailed ground squirrel genes in a hybridization zone of *Spermophilus major* and *S. erythrognys*, inferred from sequencing of the mtDNA cytochrome b gene // Rus. J. Genetics. 2006. V. 42. № 7. P. 802–809.)
8. Aljanabi S.M., Martinez I. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques // Nucl. Acids Res. 1997. V. 25. № 22. P. 4692–4693.
9. Yeh F.C., Boyle T.J.B. Population genetic analysis of codominant and dominant markers and quantitative traits // Belgian J. Bot. 1997. V. 129. 157 p.
10. Miller M.P. Tools for population genetic analysis (TFPGA) 1.3: A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. 1997. Computer software distributed by author.
11. Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals // Genetics. 1978. V. 89. P. 583–590.
12. Shannon C.E. The mathematical theory of communication // Bell System Technical J. 1948. V. 27. P. 379–423.
13. Gregorius H.-R. The concept of genetic diversity and its formal relationship to heterozygosity and genetic distances // Math. Biosci. 1978. V. 41. P. 253–271.
14. Van de Peer Y., De Wachter R. TREECON for Windows: a software package for the construction and drawing of evolutionary trees for the Microsoft Windows environment // Comput. Applic. Biosci. 1994. V. 10. P. 569–570.
15. Коробицына К.В., Якименко Л.В. Роль и место *wagneri*-подобных форм домашней мыши (Rodentia, Muridae) в фауне России и сопредельных стран // Зоол. журн. 2004. Т. 83. № 8. С. 1018–1030.
16. Sneath P.H.A., Sokal R.R. Numerical Taxonomy. San Francisco: W.H. Freeman, 1973.
17. Saitou N., Nei M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees // Mol. Biol. Evol. 1987. V. 4. P. 406–425.
18. Moriwaki K., Miyashita N., Yonekawa H. Genetic survey of laboratory mice and its implication in genetic monitoring // The contribution of laboratory animal science to the welfare of man and animals. Stuttgart: Verlag, 1985. P. 237–247.
19. Moriwaki K., Miyashita N., Suzuki H. Genetic feature of major geographical isolates of *Mus musculus* // Curr. Top. Microbiol. and Immunol. 1986. V. 127. P. 55–61.
20. Крюков В.И., Толстой В.А., Офицеров К.Г. Каротипиский анализ популяций домашних мышей Таджикской депрессии // Зоол. журн. 1990. Т. 69. Вып. 9. С. 108–115.
21. Korobitsyna K.V., Yakimenko L.V., Frisman L.V. Genetic differentiation of house mice in the fauna of the former USSR: results of cytogenetic studies // Biol. J. Linnean Soc. 1993. V. 48. P. 93–112.
22. Козловский А.И., Булатова Н.Ш., Орлов В.Н. Неадекватность интерпретации результатов цитогенетического и биохимического анализа домашних мышей Туркменистана // Докл. РАН. 1997. Т. 353. № 3. С. 418–422.
23. Якименко Л.В., Коробицына К.В., Фрисман Л.В. и др. Генетические исследования домашних мышей в гибридной зоне Приморского края // Генетика. 2000. Т. 36. № 1. С. 77–86. (Yakimenko L.V., Korobitsyna K.V., Frisman L.V., et al. Genetic studies on house mice from the hybrid zone of Primorskii Krai // Rus. J. Genetics. 2000. V. 36. № 1. P. 66–75.)
24. Якименко Л.В., Коробицына К.В., Фрисман Л.В. и др. Цитогенетика и систематика домашних мышей России и прилежащих стран // Проблемы эволюции / Ред. А.П. Крюков, Л.В. Якименко. Владивосток: Дальнаука, 2003. Т. 5. С. 62–89.
25. Selander R.K., Hunt W.G., Yang S.Y. Protein polymorphism and genetic heterozygosity in two European subspecies of the house mouse // Evolution. 1969. V. 23. P. 379–390.
26. Marshall J.T., Sage R.D. Taxonomy of the house mouse // Symp. Zool. Soc. London. 1981. V. 47. P. 15–25.

27. Thaler L., Bonhomme F., Britton-Davidian J., Hamar M. The house mouse complex of species: Sympatric occurrence of biochemical groups Mus 2 and Mus 4 in Rumania // *Ztschr. Säugetierk.* 1981. В. 46. С. 169–173.
28. Bonhomme F., Catalan J., Britton-Davidian J. et al. Biochemical diversity and evolution in the genus *Mus* // *Biochem. Genet.* 1984. V. 22. P. 275–303.
29. Межжерин С.В., Котенкова Е.В. Генетическое маркирование подвидов домашних мышей фауны СССР // Докл. АН СССР. 1989. Т. 304. № 5. С. 1271–1275.
30. Милюшиников А.Н., Лавренченко Л.А., Рафиев А.Н., Орлов В.Н. К вопросу о биохимической и морфологической идентификации некоторых форм надвидового комплекса *Mus musculus* s. lato // Домовая мышь / Ред. Е.В. Котенкова и Н.Ш. Булатова М.: Наука, 1989. С. 80–98.
31. Фрисман Л.В. Белковый полиморфизм домашних мышей: взгляд на систематику и центры расселения // Эволюционные исследования. Вавиловские темы. Владивосток: Изд-во ДВО АН СССР, 1988. С. 74–93.
32. Фрисман Л.В., Коробицына К.В. Генетическая дифференциация домашних мышей юга дальнего востока СССР // *Генетика.* 1990. Т. 26. С. 2147–2155.
33. Челомина Г.Н., Спиридонова Л.Н., Янекава Х., Мориваки К. RAPD-PCR анализ генетического разнообразия домашних мышей: таксономическая диагностика и свидетельства *musculus* × *domesticus* гибридизации на Российском Дальнем Востоке // Систематика и филогения грызунов и зайцеобразных: Сб. стат. / Ред. А.К. Агаджанян и В.Н. Орлов. М., 2000. С. 182–184.

## Genetic Diversity of the House Mouse *Mus musculus* and Geographic Distribution of its Subspecies-Specific RAPD Markers on the Territory of Russia

L. N. Spiridonova<sup>a</sup>, K. V. Korobitsyna<sup>a</sup>, L. V. Yakimenko<sup>b</sup>, and A. S. Bogdanov<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Institute of Biology and Soil Science, Russian Academy of Sciences, Vladivostok, 690022 Russia

e-mail: spiridonova@biosoil.ru

<sup>b</sup>Vladivostok State University of Economics and Service, Vladivostok, 690022 Russia

<sup>c</sup>Kol'tsov Institute of Developmental Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119334 Russia

Genetic diversity and geographic distribution of taxon-specific RAPD markers was examined in ten local populations of the house mouse *Mus musculus* ( $n = 42$ ). The house mice were generally characterized by moderate genetic variation: polymorphism  $P_{99} = 60\%$ ,  $P_{95} = 32.57\%$ ; heterozygosity  $H = 0.12$ ; the observed allele number  $n_a = 1.6$ ; the effective allele number  $n_e = 1.18$ ; the within-population differentiation  $\theta = 0.388$ ; and Shannon index  $I = 0.19$ . The degree of genetic isolation of individual local populations was greatly variable. The genetic subdivision index  $G_{st}$  varied from 0.162 to 0.770 at the gene flow of  $Nm = 2.58$ –0.149, while the among-population distances  $D_N$  varied from 0.026 to 0.178. of the largest part of the genetic diversity was found among the populations ( $H_T = 0.125$ ), while the within-population diversity was twice lower ( $H_S = 0.06$ ). The samples examined were well discriminated relative to the sets of RAPD markers. The character distribution pattern provided conditional subdivision of the mice into the “western” and the “eastern” groups with the putative boarder along the Baikal Lake. The first group was characterized by the prevalence of the markers typical of *M. m. musculus* and *M. m. domesticus*. The second group was characterized by the prevalence of the markers typical of *M. m. musculus*, *M. m. gansuensis*, *M. m. castaneus*, *M. m. domesticus*, and *m. m. wagneri*. The genotype of the nominative subspecies *M. m. musculus* was background for all populations. In the populations examined some of earlier described subspecies-specific molecular markers were found at different frequencies, pointing to the involvement of several subspecies of *M. musculus* in the process of hybridization.