

**ИЗМЕНЧИВОСТЬ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ  
И ИССЛЕДОВАНИЕ ГЕННОГО ПОТОКА МЕЖДУ ПОПУЛЯЦИЯМИ  
ДВУХ КАРИОФОРМ ХОМЯЧКОВ НАДВИДОВОГО КОМПЛЕКСА  
*Cricetulus barabensis sensu lato* (Rodentia, Cricetidae)**

© 2017 г. Н. С. Поплавская<sup>1</sup>, \*, В. С. Лебедев<sup>2</sup>, А. А. Банникова<sup>3</sup>, М. М. Белоконов<sup>4</sup>,  
Ю. С. Белоконов<sup>4</sup>, М. В. Павленко<sup>5</sup>, В. П. Кораблев<sup>5</sup>, И. В. Картавцева<sup>5</sup>,  
Ю. А. Баженов<sup>6</sup>, А. В. Суров<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, Москва 119071

<sup>2</sup>Зоологический музей Московского государственного университета, Москва 125009

<sup>3</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, кафедра зоологии позвоночных, Москва 119234

<sup>4</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва 119991

<sup>5</sup>Биолого-почвенный институт Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток 690022

<sup>6</sup>Государственный природный биосферный заповедник “Даурский”,  
Нижний Цасучей, Забайкальский край 674480, Россия

\*e-mail: nata.poplavskaja@gmail.com

Поступила в редакцию 17.11.2015 г.

Окончательный вариант получен 10.03.2016 г.

Проведен анализ изменчивости шести микросателлитных локусов и участка экзона *RAG1* в популяциях двух кариоформ барабинских хомячков (надвидовой комплекс *Cricetulus barabensis sensu lato*) – “barabensis” и “pseudogriseus”. Исследованы 435 образцов из 68 локалитетов с Алтая, Тувы, Бурятии, Монголии, Забайкальского края, Еврейской автономной области и Приморья. Существенная часть выборки происходит из зон потенциального контакта двух кариоформ. Показаны достоверные различия в уровне изменчивости двух кариоформ (по числу аллелей, ожидаемой и наблюдаемой гетерозиготности). Факторный анализ и анализ генетических дистанций разделяют общую выборку на два хорошо дифференцированных кластера, соответствующих кариоформам. Анализ потока генов выявляет в одной популяции из зоны потенциального контакта (Центральная Монголия) некоторое количество особей с предположительно смешанными генотипами, что может указывать на эпизодическую гибридизацию между кариоформами.

**Ключевые слова:** видообразование, дивергенция, микросателлиты, зоны контакта, поток генов, *Cricetulus barabensis*

DOI: 10.7868/S0016675817010106

Одной из ключевых областей в изучении видообразования остается проблема распознавания видовых границ, исследование особенностей внутривидовой дифференциации и потока генов между формами как видового, так и внутривидового ранга. Барабинские хомячки – *Cricetulus barabensis sensu lato* – один из комплексов относительно молодых форм палеарктических хомячков (подсемейство Cricetinae), которые не успели далеко дивергировать друг от друга и представляют собой интересный модельный объект для подобного рода микроэволюционных исследований. В группу барабинских хомячков входят четыре кариоформы, таксономический статус которых на сегодняшний день остается дискуссионным вопросом [1–4]. Также в составе комплекса выделя-

ется несколько аллопатрически распространенных морфологических подвидов [1]. Объектами данной работы стали кариоформы “barabensis” ( $2n = 20$ ) и “pseudogriseus” ( $2n = 24$ ).

Уровень различий между двумя этими кариоформами по цитогенетическим, молекулярным и морфологическим параметрам относительно невелик – между подвидовым и видовым [5]. Также была показана их способность скрещиваться в лаборатории с появлением плодовых гибридов [2]. Вопрос об их взаимодействии в природе пока не до конца прояснен. Существует по крайней мере три зоны потенциального контакта популяций “barabensis” и “pseudogriseus” – в Центральной Монголии, Южной Бурятии и Забайкальском крае, однако случаев симпатрии зарегистри-

Таблица 1. Объем и географическое происхождение исследованного материала

Кариоформа	Морфологический подвид	Регион	Номера локалитетов	Номера локалитетов из зон потенциального контакта	Число образцов	
					микросателлиты	RAG1
“barabensis”	<i>C. b. barabensis</i>	“Алтай”	1–3	–	20	
“barabensis”	<i>C. b. tuvunicus</i>	“Тува”	4–15	–	91	15
“barabensis”	<i>C. b. tuvunicus</i>	“Хангай”	16–24	24	55	38
“barabensis”	<i>C. b. tuvunicus</i>	“Бурятия”	25–30	27–29	59	50
“barabensis”	<i>C. b. ssp.</i>	“Восточное Забайкалье”	32–34	32–34	7	
“barabensis”	<i>C. b. xinganensis</i>	“Амур”	35–40	–	15	
“barabensis”	<i>C. b. ferrugineus</i>	“Приморье”	41	–	1	
“pseudogriseus”	<i>C. b. pseudogriseus</i>	“Центральная Монголия”	42–48	44	50	27
“pseudogriseus”	<i>C. b. pseudogriseus</i>	“Южная Бурятия”	49–57	50–52, 54–57	107	56
“pseudogriseus”	<i>C. b. pseudogriseus</i>	“Юго-Восточное Забайкалье”	58–68	58–60	28	

Примечание. Локалитет 31 (2 образца) не объединен ни с одним из регионов. Расположение локалитетов указано на рис. 1.

ровано не было [2, 3]. Анализ митохондриальной ДНК и интрона *DBY1* Y-хромосомы образцов из зон потенциального контакта не выявил следов интрогрессии этих маркеров, в то же время в одной из популяций формы “barabensis” – в окрестностях сомона Хархорин (потенциальная зона контакта в Центральной Монголии) – были найдены абнормальные кариотипы, возможно гибридного происхождения [2, 5].

В настоящей работе популяционно-генетическая изменчивость и вероятность природной гибридизации кариоформ “barabensis” и “pseudogriseus” исследованы на основании анализа нескольких микросателлитных локусов и фрагмента экзона *RAG1*. Высокая скорость мутирования приводит к тому, что анализ микросателлитов наиболее подходит для внутривидовых, популяционных исследований. Кроме того, они потенциально очень информативны в отношении исследований потока генов между локальными популяциями.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Объем и географическая характеристика материала.** Исползованный материал представляет собой 435 экземпляров хомячков двух кариоформ из 68 природных локалитетов, в том числе 205 экз. из 18 локалитетов в зонах потенциального контакта (табл. 1, рис. 1). Частичная последовательность *RAG1* (1443 пн) исследована для 186 экземпляров из 14 локалитетов (148 экземпляров из 11 локалитетов в зонах потенциального контакта). Вся выборка была разделена на несколько регионов, с учетом разделения на морфологические кластеры по результатам краниометрии [1] и географического происхождения образцов. Так, вы-

борки подвидов *C. b. barabensis*, *C. b. ssp.*, *C. b. xinganensis* и *C. b. ferrugineus* мы обозначаем в работе как регионы “Алтай”, “Восточное Забайкалье”, “Амур” и “Приморье” соответственно. Места сбора образцов подвида *C. b. tuvunicus* сгруппированы в три выборки, с существенными географическими дистанциями между ними, соответствующие густонаселенным хомячком территориям, между которыми хомячок обитает мозаично и с низкой численностью. Регионы “Тува” и “Хангай” разделяет облесенный хребет Хан-Ху-Хэй и северная часть Котловины озер, где хомячки встречаются крайне редко. “Хангай” и “Бурятия” разделены по среднему течению р. Селенга до слияния с р. Орхон. Локалитеты сбора образцов “pseudogriseus” были также сгруппированы в три региона. “Центральная Монголия” и “Южная Бурятия” разделены существенной дистанцией в междуречье рек Орхон и Селенга на севере Монголии, а к региону “Юго-Восточное Забайкалье” мы отнесли сильно удаленную от предыдущих двух регионов выборку из ряда локалитетов в восточных предгорьях Хентэя и долины р. Керулен.

**Выделение ДНК и подбор праймеров.** Выделение ДНК из фиксированных этанолом тканей (семенники, печень, почки, мышцы, ушной хрящ) проводили стандартным фенол-хлороформным методом [6] с использованием протеиназы К.

Для микросателлитного анализа были протестированы 11 локусов, данные по которым были ранее опубликованы для обыкновенного хомяка *Cricetus cricetus* [7]. Пробные ПЦР и разделение фрагментов в полиакриламидном геле проводились для 10 образцов, при одинаковых условиях для всех локусов (см. ниже). В итоге для анализа были отобраны четыре локуса (*Ccrμ6*, *Ccrμ15*,

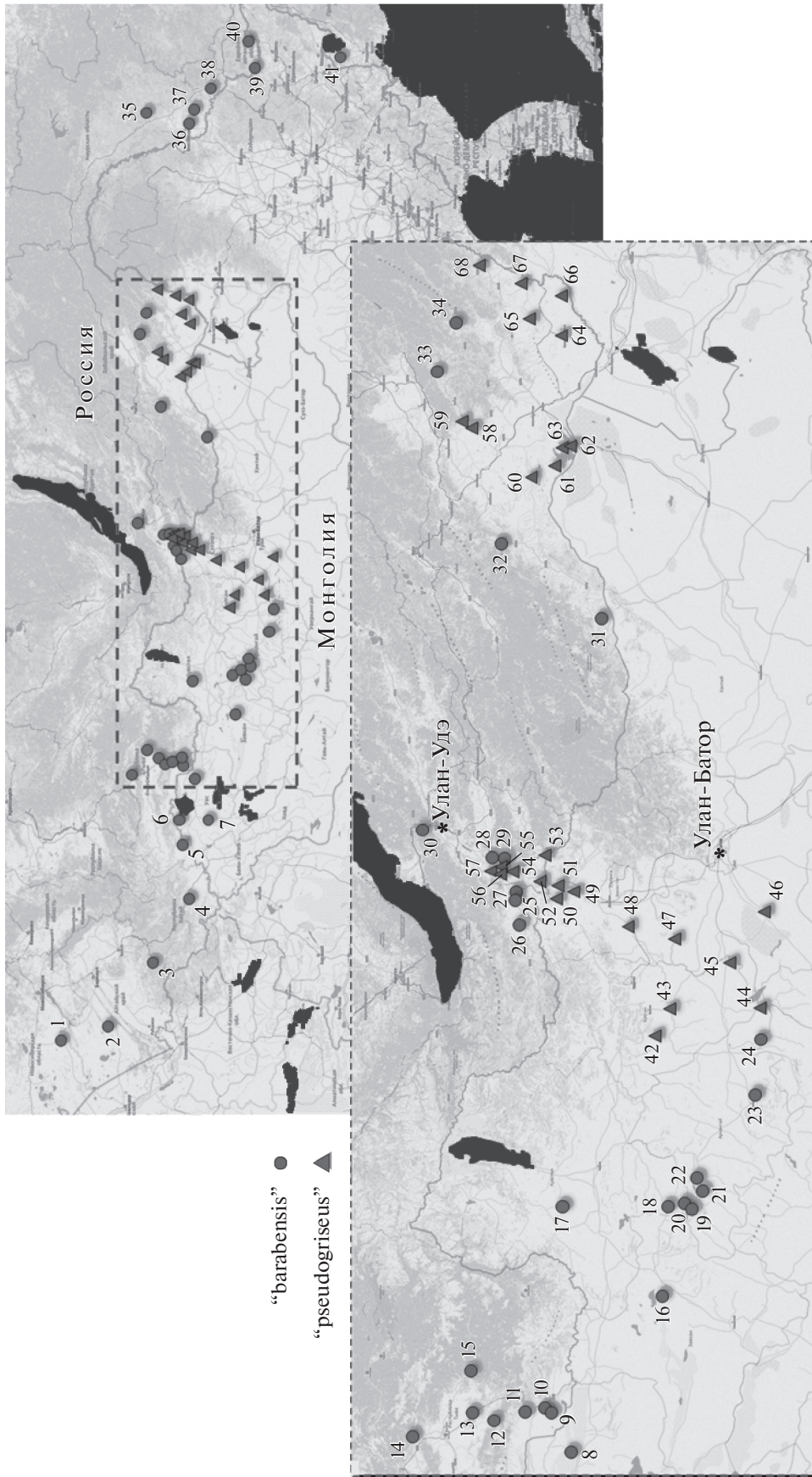


Рис. 1. Места отлова животных для анализа.

*Ccrμ17*, *Ccrμ19*), для которых полученные результаты поддавались интерпретации. Анализ локусов *Ccrμ3*, *Ccrμ10*, *Ccrμ20* оказался невозможным из-за большого числа неспецифических продуктов, *Ccrμ4*, *Ccrμ11*, *Ccrμ12*, *Ccrμ13* — из-за отсутствия продуктов амплификации в размерном классе, соответствующем указанному в первоисточнике.

Кроме того, специально для данной работы были разработаны праймеры к двум микросателлитным локусам, обнаруженным нами при секвенировании последовательностей интронов ядерных генов *p53* и *MGF* барабинских хомячков (далее в работе для краткости мы называем их *p53* и *MGF* соответственно). Номера последовательностей в базе данных GenBank — XX123456 и YY123456 соответственно.

*Условия амплификации и электрофоретический анализ фрагментов.* Состав ПЦР-смеси (20 мкл): 1 × буфер с  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , pH 8.8 для *Taq*-полимеразы, 2.5 mM  $\text{MgCl}_2$ , 0.2 mM dNTP, 4 пмоль каждого праймера, 1–2 ед. *Taq*-полимеразы (производство “Сайлекс”), 25 нг ДНК-матрицы. Условия амплификации — предварительная денатурация — 94°C, 3 мин; денатурация — 94°C, 30 с, отжиг — 1 мин (температура варьирует в зависимости от используемых праймеров), элонгация — 72°C, 1 мин (35 циклов); дополнительная элонгация — 72°C, 6 мин. Для амплификации микросателлитных участков использовалась температура отжига 54°C, для амплификации частичной последовательности *RAG1* (1443 пн) — 60°C. Все опыты выполнены на приборе *Mu Cycler BioRad*. Характеристика исследованных фрагментов и праймеры для их амплификации приведены в табл. 2.

Амплифицированную последовательность гена *RAG1* расщепляли с помощью эндонуклеазы рестрикции *PfeI* (производство “Fermentas”), которая была подобрана с помощью программы MAPDRAW 5.06 (DNASar Inc., 2003) на основе отсеквенированной нами частичной последовательности гена *RAG1*. Рестриктаза *PfeI* позволяет выявлять два аллеля *RAG1* у форм “barabensis” и “pseudogriseus”, при этом исследуемый участок экзона расщепляется либо на 4 фрагмента с длиной 107, 95, 442 и 799 пн (аллель “b”), либо — на 3 фрагмента с длиной 202, 442 и 799 пн (аллель “p”). Номера двух аллелей исследованного фрагмента в базе данных GenBank — AA123456 (аллель “b”) и BB123456 (аллель “p”). Рестрикцию проводили в 25 мкл реакционной смеси, включающей 5 мкл ПЦР-продукта, 2.5 мкл буфера, 1–2 мкл эндонуклеазы рестрикции и 15.5–16.5 мкл  $\text{H}_2\text{O}$ . Рестрикцию проводили в течение 12–20 ч при температуре 37°C.

Продукты амплификации микросателлитных участков и рестрикционные фрагменты *RAG1* разделяли в 6%-ном полиакриламидном геле. Для контроля размера фрагментов в качестве маркера

стандартных длин использовали ДНК плазмиды pBR322 *E. coli*, обработанную рестриктазой *HpaII* (производство “СибЭнзим”). В результате обработки получается смесь из фрагментов размером 622, 527, 404, 307, 242, 238, 217, 201, 190, 180, 160, 147, 123, 110, 90, 76, 67, 34 пн, которую наносили на 1–2 дорожки каждого геля. Форез проводили в стандартном трис-боратном электродном буфере в течение 3–4 ч (в зависимости от длин исследуемых фрагментов), при напряжении электрического поля 300 В и силе тока не более 55 мА на один гель. Для визуализации результатов гель после фореза окрашивали в растворе бромистого этидия и фотографировали на трансиллюминаторе в УФ-излучении с длиной волны 312 нм. Анализ фотографий полученных гелей проводили визуально, сопоставляя фрагменты, полученные для каждого образца, с длинами фрагментов в смеси pBR322/*HpaII*. Кроме того, производили постоянную сверку образцов друг с другом (на каждый новый гель обязательно наносили несколько образцов из предыдущей партии). Надо отметить, что в данной работе не ставилась задача точно определить длины полученных фрагментов, поэтому указанные в результатах обозначения аллелей следует трактовать как показатели их относительного размера.

*Обработка данных.* Показатель информативности микросателлитного локуса ( $\text{pic} = \text{polymorphism information content}$ ) [9] рассчитывали в программе MStools [10]. Оценка частот аллелей в популяциях, наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности ( $H_O$  и  $H_E$ ) и индекса фиксации ( $F_{ST}$ ) проведена в программе GenAlex 6.0 [11, 12]. Отклонение от равновесия Харди–Вайнберга рассчитано в программе Arlequin 3.5.1.3 [13], полученные результаты оценены с учетом поправки на множественные сравнения (поправка Бонферрони). Для оценки вклада группировок разного ранга в разнообразие для разных вариантов группирования проведен тест AMOVA [14]. Проанализированы следующие выборки: 1) вся выборка, разделенная на две кариоформы; 2) выборка формы “barabensis”, разделенная на подвиды; 3) выборка подвида *C. b. tuvinicus*, разделенная на регионы; 4) выборка формы “pseudogriseus”, разделенная на регионы. Для каждой кариоформы отдельно для установления корреляции показателей  $F_{ST}$  и географических дистанций в программе GenAlex проведен тест Мантела [15] с 1000 повторов для проверки гипотезы об изоляции расстоянием. Анализ сходства–различия между популяциями выполнен несколькими методами. Для оценки генетического расстояния между популяциями в программе GenAlex рассчитали дистанции Ней [16]. По полученной матрице дистанций в программе PAUP\* [17] построили дерево ближайшего соседа (Neighbor Joining, NJ). Факторный анализ по частотам аллелей в популяциях проведен в

Таблица 2. Характеристика исследованных в работе фрагментов и последовательности праймеров

Локус	Размер фрагмента, пн	Повторяющийся мотив	Праймер	Последовательность праймера	Литературная ссылка
Фрагмент экзона <i>RAG1</i>	1443	—	RAG1_all_940_F	5'-GACCTGGAGAGTCCAGTGAAGTCCCTTCT-3'	[8]
			RAG1_Cm_2370a_R	5'-TTTRCCAGTGTGGCCSTGCCATCTCTTC-3'	*
<i>Serμ6**</i>	142–190	(CTTT) <sub>3</sub>	Serμ6F	5'-TAAAGTAGCAATGGTTCCCTAGTA-3'	[7]
			Serμ6R	5'-TAGTTCSTAGGACAGCCSTCCSAAT-3'	[7]
<i>Serμ15**</i>	196–216	(CA) <sub>14</sub> GA(CA) <sub>18</sub>	Serμ15F	5'-GCCCACTGCTACAAAAAАСТС-3'	[7]
			Serμ15R	5'-GTTCAATGAATGTTGTTAAATCTCT-3'	[7]
<i>Serμ17**</i>	180–224	(GT) <sub>20</sub> (TG) <sub>4</sub> (TG) <sub>6</sub>	Serμ17F	5'-GGTTATAAAGAGAAAAAGACAAGAA-3'	[7]
			Serμ17R	5'-GACTCCTGACATCCACCTC-3'	[7]
<i>Serμ19**</i>	244–252	(GT) <sub>23</sub>	Serμ19F	5'-AGTCATGTAAGCCACTAAG-3'	[7]
			Serμ19R	5'-ATTCAATTСAGCCACCААААG-3'	[7]
<i>p53</i>	160–185	(GTTTG) <sub>4</sub>	cb_p53_A_F	5'-CCTGGATGACAAGCAGACATTTCCG-3'	*
			cb_p53_A_R	5'-CTCAGGAGCATGAGGCCAAGAGAGT-3'	*
<i>MGF</i>	178–181	(TAG) <sub>3</sub>	cb_MGF_210_F	5'-AATTGAAGCATTGTGTGACTTACCA-3'	*
			cb_MGF_356_R	5'-AACTCGTGAGGATCAGAATTCAAAGTC-3'	*

\* Праймеры разработаны нами специально для данного исследования.

\*\* Информация о размере фрагмента и мотиве приведена из первоисточника [7].

программе Statistica. Все статистические расчеты проводили для популяций (популяцией считалась выборка из одного локалитета) с размером выборки не меньше пяти образцов и на основании только данных по изменчивости микросателлитных локусов. В некоторых случаях в виде исключения выборки из географически близких локалитетов анализировали совместно.

Генетическая структура двух кариоформ была оценена в программах BAPS ver 5.2 [18–20] и Structure 2.3.4 [21–23] по объединенным данным о распределении в популяциях микросателлитных аллелей и аллелей *RAG1*.

Анализ генетической структуры в программе BAPS (Clustering of groups of individuals) проводили совместно с данными о географических координатах мест отлова животных по трем наборам данных: 1) полная выборка, включающая все исследованные образцы из всех популяций; 2) выборка из регионов “Тува”, “Хангай”, “Бурятия” (“barabensis”, морфологический подвид *C. b. tuvunicus*) и “Центральная Монголия”, “Южная Бурятия”, “Юго-Восточное Забайкалье” (“pseudogriseus”, *C. b. pseudogriseus*); 3) выборка из локалитетов в зонах потенциального контакта в Монголии и Бурятии (возможный контакт подвида *C. b. tuvunicus* и формы “pseudogriseus”, *C. b. pseudogriseus*). Образцы формы “barabensis” из Восточного Забайкалья были исключены из анализа зон потенциального контакта, так как ранее проведенное исследование черепов выделяет хомячков из этой географической области в отдельный кластер, существенно отличающийся от *C. b. tuvunicus* [1]. Также их обособленность от выборки из Монголии и Бурятии подтверждают наши предварительные данные анализа мтДНК, поэтому мы посчитали некорректным анализировать все три зоны контакта совместно. Отдельно зону контакта в Восточном Забайкалье не анализировали из-за небольшого объема выборки. Для оценки сходимости решения все типы анализов повторяли 2–5 раз.

Порядок проведения анализа: 1) на первом этапе программа разделяла весь исследуемый набор популяций/индивидуумов на два кластера (mixture stage); 2) на основании полученного разбиения на две формы проводился тест на смешанное происхождение (admixture analysis). При этом для каждого экземпляра оценивается доля аллелей, происходящих из каждой двух групп и на основе распределения генотипов чистых форм, полученных с помощью Монте-Карло симуляций, также проводится более строгий тест на смешанное происхождение, позволяющий консервативно оценить число гибридных особей. Параметры анализа – минимальный размер популяции = 1, число итераций = 200, число референсных особей = 1000, число повторных итераций = 20. Дополнительно в программе BAPS проводили анализ с

нефиксированным числом кластеров, позволяя программе выбрать их число [18]. Результаты по выбранному программой числу кластеров анализировались для популяций с размером выборки не меньше пяти образцов.

В анализе генетической структуры в программе Structure (анализ admixture) при двух заданных кластерах использовалась опция определения величины коэффициента  $\alpha$  (параметр Дирихле для доли примеси в генотипе) и исходное допущение о скореллированности частот аллелей в кластерах, при этом параметр  $\lambda$  был задан по умолчанию и равен 1.0. Для параметра  $Q$  определяли 95%-ный доверительный интервал для каждого образца. Общая длина цепи в анализе составляла 100000 генераций, первые 10% шагов исключались из анализа (burn-in = 10000). Смешанным считался генотип, у которого доверительный интервал для  $Q$  не включал 0 и 1. Были исследованы полные выборки двух кариоформ и выборки из зоны потенциального контакта (первая и третья выборки из анализа BAPS, см. выше).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

### *Изменчивость микросателлитных локусов и RAG1*

Основные характеристики исследованных локусов приведены в табл. 3. Частоты аллелей и показатели разнообразия для региональных выборок приведены в табл. 4 и 5 соответственно, показатели разнообразия для локальных выборок – на рис. 2.

По локусу *Ccrμ6* форма “barabensis” практически мономорфна на всем ареале, преобладающим является аллель 150. Исключения – несколько популяций в регионах “Тува”, “Хангай” “Бурятия”, “Амур” и единственный образец региона “Приморье”. Максимально высокое разнообразие аллелей по этому локусу наблюдается в популяции Хархорин (локалитет № 24). У формы “pseudogriseus” наблюдается высокий уровень полиморфизма, в разных популяциях могут преобладать разные аллели. При этом все аллели, встречающиеся у формы “barabensis”, представлены у “pseudogriseus”.

В локусе *Ccrμ15* аллель 216 уникален для формы “pseudogriseus”, остальные встречаются у обеих кариоформ. Выборки “Восточное Забайкалье” – *C. barabensis* ssp. и “Амур” – *C. b. xinganensis* характеризуются пониженным по сравнению с остальными разнообразием, но в целом обе кариоформы демонстрируют достаточно высокий уровень полиморфизма по этому локусу.

Основной аллель для кариоформы “barabensis” по локусу *Ccrμ17*, преобладающий во всех регионах, – 200. Все образцы из региона “Алтай” мономорфны по этому аллелю, в выборках “Восточное Забайкалье” – *C. barabensis* ssp. и “Амур” –

Таблица 3. Показатели изменчивости исследованных локусов у двух кариоформ

Локус	Показатель информативности локуса (pic)	Число аллелей ( $N_a$ )			Наблюдаемая гетерозиготность ( $H_o$ )		Ожидаемая гетерозиготность ( $H_e$ )	
		“barabensis”	“pseudogriseus”	суммарно	“barabensis”	“pseudogriseus”	“barabensis”	“pseudogriseus”
<i>Ccrμ6</i>	0.53	7	13	13	0.112	0.768	0.123	0.848
<i>Ccrμ15</i>	0.83	9	10	10	0.389	0.337	0.831	0.833
<i>Ccrμ17</i>	0.77	12	14	14	0.430	0.770	0.494	0.845
<i>Ccrμ19</i>	0.29	5	2	5	0.321	0.078	0.450	0.075
<i>p53</i>	0.35	4	5	5	0.020	0.582	0.044	0.619
<i>MGF</i>	0.23	2	2	2	0.008	0.443	0.008	0.466
<i>RAG/PfeI</i>		2	2	2	0.136	0.241	0.175	0.247

*C. b. xinganensis*, а также в выборке “Тува” – *C. b. tuvinicus* встречаются несколько дополнительных аллелей. Самый высокий уровень полиморфизма наблюдается в регионах “Хангай” и “Бурятия” (*C. b. tuvinicus*).

У кариоформы “barabensis” в разных регионах наблюдается преобладание разных аллелей по локусу *Ccrμ19*. У формы “pseudogriseus” выявлены только два аллеля, преобладает аллель 250, с небольшой частотой встречается аллель 252.

Форма “barabensis” почти везде мономорфна по аллелю 170 локуса *p53* при исключении популяций Арбулаг (№ 17), Хархорин (№ 24) и Ошурково (№ 30). Форма “pseudogriseus” полиморфна, аллель 170 также преобладает.

Форма “barabensis” мономорфна по аллелю 178 локуса *MGF*, за исключением популяции Хархорин (№ 24). У “pseudogriseus” преобладает этот же аллель, немалую долю во всех регионах составляет и аллель 181.

По всем исследованным нами микросателлитным локусам обнаружилась большая изменчивость формы “pseudogriseus” по сравнению с “barabensis”. При этом в трех из шести локусов генотип подавляющего числа особей “barabensis” был представлен единственным аллелем. Среди популяций “pseudogriseus”, напротив, мономорфных популяций практически не было обнаружено. При этом особо следует отметить результаты исследования выборки из популяции Хархорин (№ 24). Хомячки из этого локалитета по результатам проведенного ранее анализа *DBY1*, *cyt b* и кариотипов относятся к форме “barabensis”, хотя есть некоторые основания предполагать гибридное происхождение некоторых кариотипов [2, 5]. Для четырех микросателлитных локусов в Хархорине были обнаружены аллели, уникальные или чаще встречающиеся у формы “pseudogriseus”.

Картина разделения рестрикционных фрагментов демонстрирует наличие двух аллелей для

исследованного участка экзона *RAG1*. Во всех исследованных популяциях формы “barabensis”, кроме популяции из Хархорина, встречается только аллель “b”. В популяции Хархорин встречаются гетерозиготные особи и гомозиготы по аллелю “p”. Во всех популяциях формы “pseudogriseus” преобладает аллель “p”, однако аллель “b” также встречается во всех исследованных популяциях, за единственным исключением. Так, характер изменчивости исследованного нами участка экзона *RAG1* схож с таковым для микросателлитных локусов – для формы “barabensis” характерна мономорфность по одному аллелю везде, кроме популяции из окрестностей Хархорина, в то время как в популяциях “pseudogriseus” встречаются оба аллеля.

Таким образом, наблюдается выраженная разница в изменчивости кариоформ “barabensis” и “pseudogriseus”. Обнаружение в популяции Хархорин нехарактерных для формы “barabensis” аллелей позволяет предположить наличие потока генов между кариоформами.

Уровень как ожидаемой ( $H_e$ ), так и наблюдаемой ( $H_o$ ) гетерозиготности у кариоформы “barabensis” (средние значения  $H_e = 0.23$ ;  $H_o = 0.20$ ) оказался ниже аналогичных показателей для кариоформы “pseudogriseus” (0.52 и 0.48). Среднее число аллелей в популяциях отличается у двух кариоформ не так сильно, но все же оно ниже у “barabensis” (2.3 по сравнению с 4.1 у “pseudogriseus”). Здесь следует отметить, что самый высокий показатель среднего числа аллелей у этой кариоформы обнаружен в популяции Хархорин (4.0). Небольшое снижение этого показателя, а также показателей гетерозиготности наблюдается в популяциях из таких регионов, как “Алтай”, “Восточное Забайкалье”, “Амур” – краевые регионы кариоформы “barabensis”.

У формы “pseudogriseus” во всех популяциях и регионах все выше перечисленные показатели разнообразия оказались достоверно выше, чем у

Таблица 4. Частоты встречаемости аллелей в различных регионах

Локус	Аллель	“Алтай”	“Тува”	“Хангай”	“Бурятия”	“Восточное Забайкалье”	“Амур”	“Центральная Монголия”	“Южная Бурятия”	“Юго- Восточное Забайкалье”
<i>Ccrμ6</i>	142	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.019	0.000
	146	0.000	0.011	0.000	0.000	0.000	0.267	0.122	0.162	0.000
	150	1.000	0.989	0.855	0.958	1.000	0.733	0.571	0.186	0.259
	154	0.000	0.000	0.082	0.000	0.000	0.000	0.041	0.067	0.111
	158	0.000	0.000	0.000	0.042	0.000	0.000	0.153	0.124	0.037
	162	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.031	0.143	0.037
	166	0.000	0.000	0.055	0.000	0.000	0.000	0.010	0.081	0.056
	170	0.000	0.000	0.009	0.000	0.000	0.000	0.010	0.100	0.204
	174	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.051	0.067	0.111
	178	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.024	0.056
	182	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.019	0.093
	186	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.010	0.010	0.000
190	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.037	
<i>Ccrμ15</i>	196	0.000	0.028	0.009	0.017	0.000	0.333	0.000	0.009	0.000
	198	0.000	0.106	0.155	0.263	0.000	0.000	0.020	0.042	0.071
	200	0.028	0.106	0.055	0.305	0.286	0.000	0.040	0.118	0.000
	202	0.500	0.250	0.073	0.161	0.071	0.100	0.180	0.358	0.196
	204	0.361	0.211	0.345	0.178	0.643	0.567	0.270	0.099	0.125
	206	0.111	0.133	0.109	0.034	0.000	0.000	0.120	0.212	0.214
	208	0.000	0.022	0.100	0.034	0.000	0.000	0.090	0.090	0.179
	210	0.000	0.117	0.045	0.008	0.000	0.000	0.100	0.028	0.125
	212	0.000	0.028	0.109	0.000	0.000	0.000	0.160	0.033	0.089
216	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.020	0.009	0.000	
<i>Ccrμ17</i>	180	0.000	0.000	0.000	0.017	0.000	0.000	0.000	0.000	0.022
	192	0.000	0.000	0.064	0.000	0.000	0.000	0.240	0.342	0.022
	198	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.035	0.000
	200	1.000	0.593	0.827	0.543	0.429	0.867	0.010	0.015	0.000
	202	0.000	0.335	0.055	0.138	0.143	0.133	0.050	0.069	0.109
	204	0.000	0.000	0.009	0.000	0.000	0.000	0.150	0.248	0.130
	206	0.000	0.000	0.018	0.000	0.143	0.000	0.040	0.050	0.087
	208	0.000	0.000	0.000	0.009	0.000	0.000	0.030	0.030	0.043
	210	0.000	0.066	0.018	0.207	0.286	0.000	0.030	0.005	0.043
	212	0.000	0.000	0.009	0.000	0.000	0.000	0.220	0.054	0.304
	214	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.020	0.035	0.022
	216	0.000	0.000	0.000	0.060	0.000	0.000	0.100	0.079	0.130
	218	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000	0.000	0.110	0.035	0.087
224	0.000	0.000	0.000	0.026	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	



Таблица 4. Окончание

Локус	Аллель	“Алтай”	“Тува”	“Хангай”	“Бурятия”	“Восточное Забайкалье”	“Амур”	“Центральная Монголия”	“Южная Бурятия”	“Юго-Восточное Забайкалье”
<i>Scr19</i>	244	0.000	0.000	0.009	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	246	1.000	0.157	0.173	0.500	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	248	0.000	0.060	0.009	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	250	0.000	0.783	0.800	0.500	1.000	1.000	0.969	0.971	0.911
	252	0.000	0.000	0.009	0.000	0.000	0.000	0.031	0.029	0.089
<i>p53</i>	160	0.000	0.000	0.036	0.034	0.000	0.000	0.500	0.308	0.315
	170	1.000	1.000	0.936	0.966	1.000	1.000	0.400	0.509	0.537
	175	0.000	0.000	0.009	0.000	0.000	0.000	0.020	0.009	0.037
	180	0.000	0.000	0.018	0.000	0.000	0.000	0.080	0.150	0.111
	185	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.023	0.000
<i>MGF</i>	178	1.000	1.000	0.982	1.000	1.000	1.000	0.688	0.537	0.893
	181	0.000	0.000	0.018	0.000	0.000	0.000	0.313	0.463	0.107
<i>RAG/Pfe1</i>	<i>b</i>	—	1.000	0.737	1.000	—	—	0.104	0.161	0.167
	<i>p</i>	—	0.000	0.263	0.000	—	—	0.896	0.839	0.833

формы “barabensis” в целом и подвида *C. b. tuvini-cus* в частности (тест Mann–Whitney,  $p < 0.01$ ).

По локусу *Scr15* в ряде популяций было обнаружено достоверное отклонение от равновесия Харди–Вайнберга, возможно, вызванное наличием в выборке нуль-аллелей. Для формы “barabensis” это оказались популяции из регионов “Тува” (№ 8, 9), “Хангай” (№ 24 – Хархорин), “Бурятия” (№ 27, 28 + 29), а для “pseudogriseus” – из регионов “Центральная Монголия” (№ 48), “Южная Бурятия” (№ 52, 54, 55 + 56) и “Юго-Восточное Забайкалье” (№ 62 + 63).

*Анализ AMOVA и тест Мантелла*

Результаты теста Мантелла по данным изменчивости микросателлитных локусов подтверждают гипотезу о корреляции генетической и географической дистанций для обеих кариоформ: форма “pseudogriseus” –  $P = 0.001$ ,  $R^2 = 0.3232$ , форма “barabensis” –  $P = 0.012$ ,  $R^2 = 0.3075$ .

Согласно результатам AMOVA (рис. 3), самая высокая доля (66–90.5%) изменчивости приходится на внутривидовую компоненту во всех проведенных тестах. Доля изменчивости между популяциями при этом невысока (6–13%). Таким образом, данные по изменчивости выбранных нами микросателлитных локусов имеют низкую разрешающую способность для такого анализа. Тем не менее можно отметить, что компоненты изменчивости между кариоформами “barabensis” и “pseudogriseus” и между подвидами

в составе формы “barabensis” (21 и 17% соответственно) оказываются заметно выше, чем компоненты изменчивости между региональными выборками формы “pseudogriseus” и подвида *C. b. tuvini-cus* (3.5 и 5.7%). Такой результат указывает на заметную дивергенцию не только кариоформ, но и подвидов “barabensis”, в то время как внутри формы “pseudogriseus” и подвида *C. b. tuvini-cus* какой-либо структуры микросателлитной изменчивости уже не наблюдается.

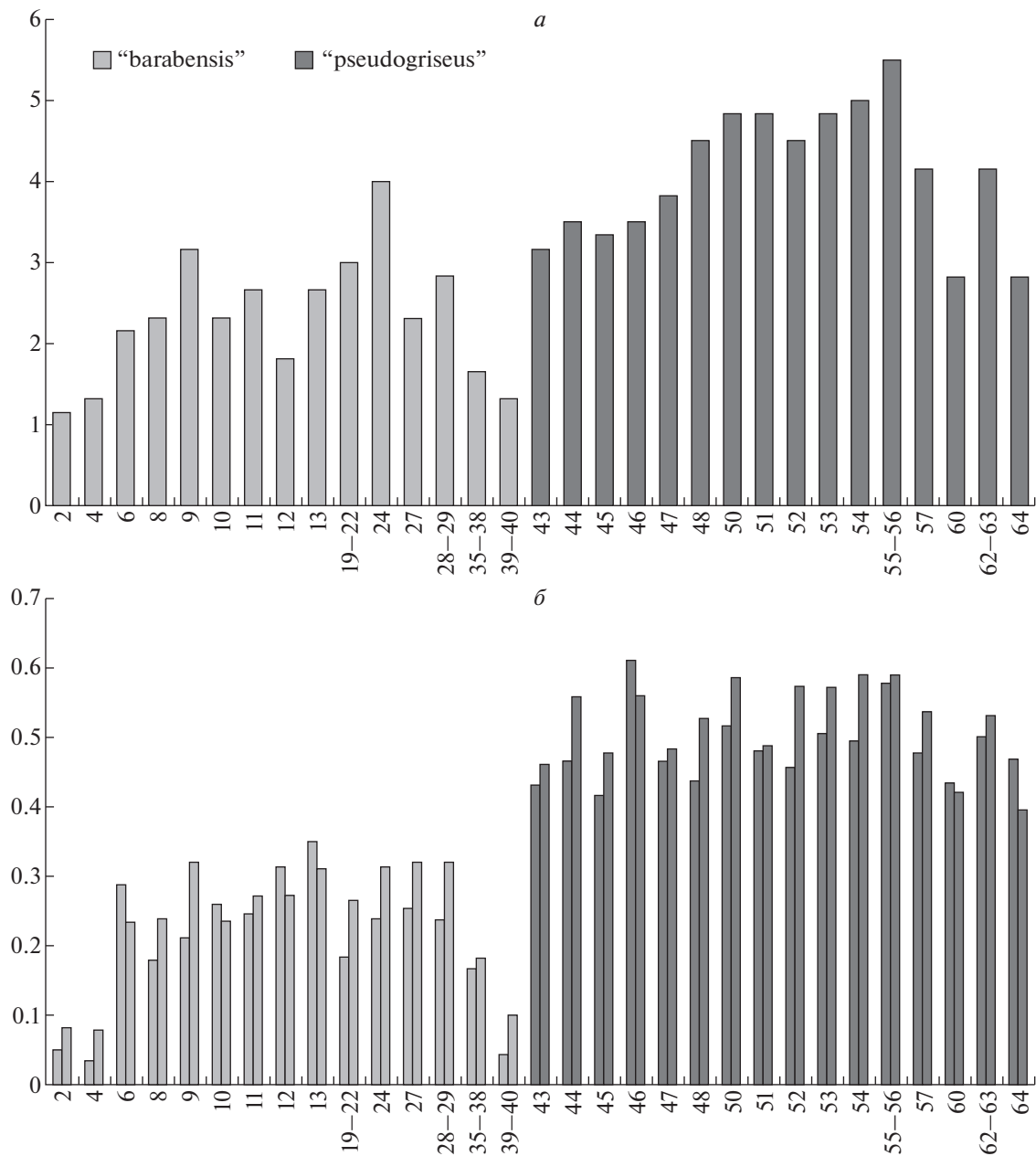
*Внутривидовая структура*

Факторный анализ, проведенный на основании матрицы частот аллелей, позволяет разделить две кариоформы, но не выделить четкую структуру внутри кариоформ. На рис. 4 отображена проекция центроидов выборок на плоскость первых двух факторов. Доля общей изменчивости, которая объясняется первым фактором, – 50.6%, вторым – 8.7%.

При исследовании отношений между географически близкими группами популяций путем построения NJ-деревьев (не приводятся) по генетическим дистанциям выделяются два хорошо дифференцированных кластера, соответствующих кариоформам “barabensis” и “pseudogriseus”. Также в пределах первого кластера выделяется обособленная ветвь, соответствующая выборке “Алтай” (подвид *C. b. barabensis*), в остальном структуре внутри кариоформ не выявляются.

Таблица 5. Показатели разнообразия для региональных выборок, рассчитанные по данным изменчивости шести микросателлитных локусов

Регион	N (количество образцов)	N <sub>L</sub> (число полиморфных локусов)	N <sub>A</sub> число аллелей на локус		H <sub>O</sub> (наблюдаемая гетерозиготность)		H <sub>E</sub> (ожидаемая гетерозиготность)		F <sub>ST</sub> (индекс фиксации)	
			среднее	стандартная ошибка	среднее	стандартная ошибка	среднее	стандартная ошибка	среднее	стандартная ошибка
“Алтай”	20	1	1.500	0.500	0.046	0.046	0.101	0.101	0.542	0.104
“Тува”	91	4	3.333	1.229	0.239	0.107	0.291	0.142	0.085	0.090
“Хангай”	55	6	5.167	1.014	0.230	0.066	0.311	0.110	0.177	0.066
“Бурятия”	59	5	3.667	1.229	0.253	0.109	0.344	0.137	0.314	0.192
“Восточное Забайкалье”	7	2	1.833	0.543	0.190	0.164	0.199	0.128	0.137	0.334
“Амур”	15	3	1.667	0.333	0.100	0.064	0.197	0.098	0.427	0.184
“Центральная Монголия”	50	6	6.167	1.621	0.468	0.110	0.563	0.119	0.108	0.112
“Южная Бурятия”	107	6	7.333	2.028	0.510	0.115	0.608	0.124	0.117	0.095
“Юго-Восточное Забайкалье”	28	6	6.000	1.612	0.490	0.108	0.580	0.133	0.084	0.085



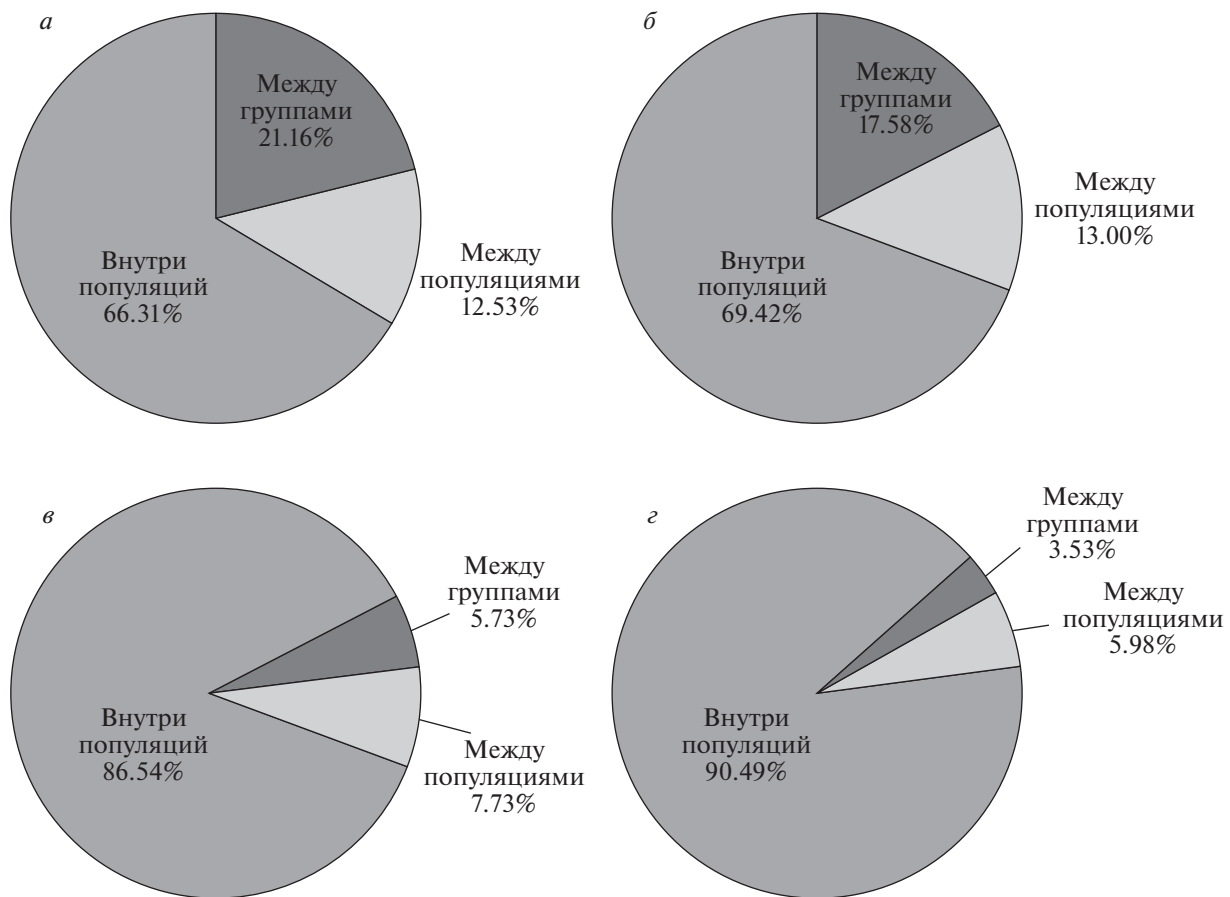
**Рис. 2.** Среднее число аллелей на выборку (а) и наблюдаемая (первый столбец) и ожидаемая (второй столбец) гетерозиготность (б) по данным изменчивости шести микросателлитных локусов в популяциях двух кариоформ. Номера столбцов диаграммы соответствуют номерам локалитетов на рис. 1, в некоторых случаях данные из нескольких локалитетов проанализированы совместно.

В результате анализа локальных популяций в программе BAPS методом автокластеризации программа разделяет выборку, включающую популяции обеих кариоформ, на 10 кластеров. В составе кариоформы “barabensis” выделяется при этом шесть кластеров, а “pseudogriseus” – четыре. Состав кластеров оказался одинаков как при анализе с учетом географических данных, так и без них. Ни в одном из кластеров не объединены популяции обеих кариоформ, а состав кластеров не

демонстрирует однозначной связи с географическим происхождением выборки.

*Поиск следов гибридизации*

При разделении популяций двух кариоформ (в анализ вошли выборки из всех локалитетов, с любым количеством образцов) в программе BAPS на два кластера (mixture) каждый кластер состоял из популяций только одной кариоформы. Результаты



**Рис. 3.** Доли дисперсии, приходящиеся на внутривнутрипопуляционный, межпопуляционный внутригрупповой и межгрупповой уровни (по результатам AMOVA). В качестве групп используются полные выборки кариоформ “barabensis” и “pseudogriseus” (а), выборки морфологических подвидов формы “barabensis” (б), отдельные регионы подвида *C. b. tuvunicus* (в) и кариоформы “pseudogriseus” (г).

последующего анализа admixture как в программе BAPS, так и в программе Structure выявили некоторое количество образцов, чьи генотипы достоверно определяются как смешанные (рис. 5). Набор этих образцов немного различается в зависимости от исследованной выборки, так как результаты теста admixture весьма чувствительны к набору исходных данных. Так, при анализе всей выборки в программе BAPS достоверно выявляется четыре смешанных образца ( $P < 0.01$ ), все из локалитета Хархорин (№ 24) в Монголии, где ранее были обнаружены животные с аномальными кариотипами. При аналогичном анализе только подвидов *C. b. tuvunicus* и *C. b. pseudogriseus* как достоверно смешанные выявляются три из этих четырех образцов, а при анализе только выборок из зоны контакта (табл. 1, рис. 1) таковым оказывается только один. Анализ всей выборки и выборки из зоны контакта (те же наборы данных, что и для анализа в BAPS) в программе Structure выявляет как достоверно смешанные все те образцы, что и по результатам BAPS, а также еще по одному об-

разцу в каждом анализе (из Хархорина). В программе Structure смешанный генотип обнаруживается у одного образца из Тувы. Такой результат вызван наличием у этого образца по локусу *Scr1b* аллеля, практически не встречающегося у формы “barabensis” и широко распространенного у “pseudogriseus”. Отметим, что географическое происхождение данного образца находится далеко от зоны контакта кариоформ и не позволяет предположить гибридную природу такого генотипа, поэтому нам кажется более вероятной гипотеза о параллельном возникновении данного аллеля. В целом Structure выявляет больше образцов с потенциально смешанными генотипами, чем программа BAPS, однако для большинства из них этот результат недостоверен (95%-ный доверительный интервал для Q включает 0 или 1). Однако при любой анализируемой выборке обеими программами больше всего смешанных генотипов было обнаружено в популяции Хархорин. Стоит отметить, что в исследованную выборку вошли образцы животных, у которых ра-

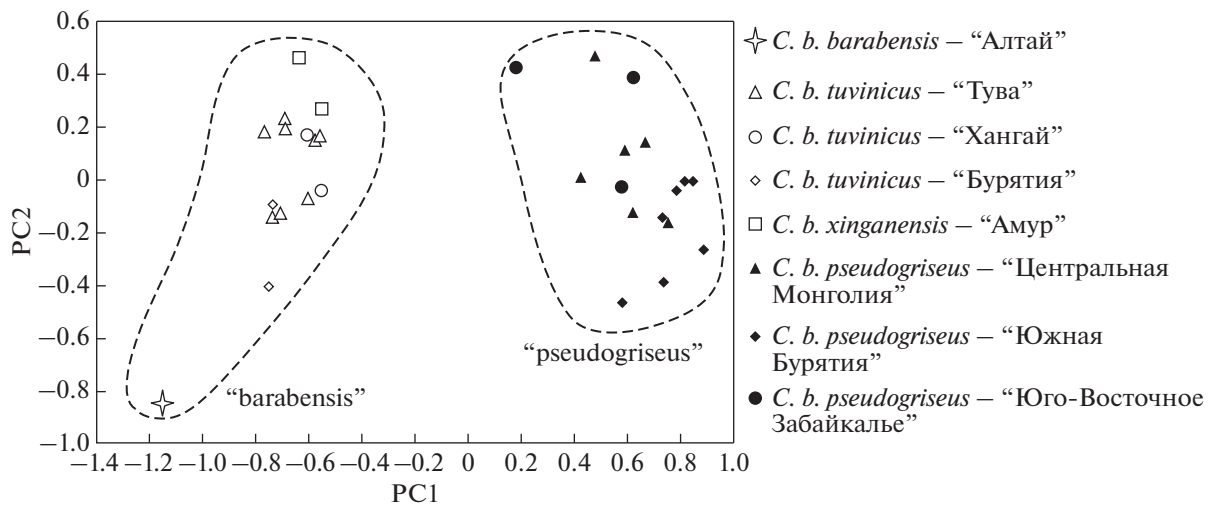


Рис. 4. Анализ главных компонент по матрице ковариаций между средними частотами аллелей в популяциях.

нее был найден абнормальный кариотип [5], однако их генотипы не были распознаны как смешанные ни одной из программ.

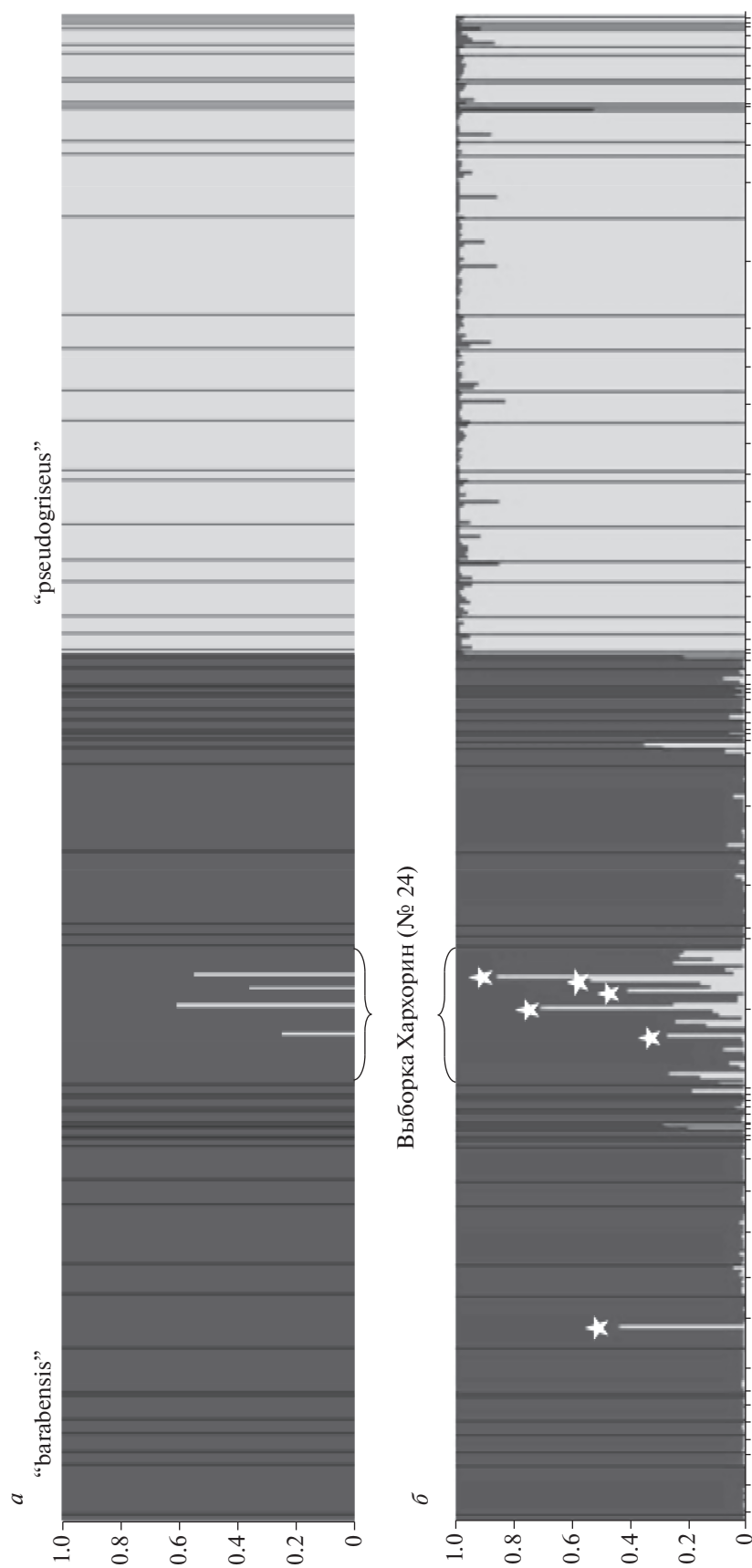
#### ОБСУЖДЕНИЕ

Все использованные нами методы обработки данных по изменчивости микросателлитных локусов четко разделяют две кариоформы хомячков на два отдельных кластера. Такой результат хорошо согласуется с известными ранее данными, по которым две эти хромосомные формы отличаются не только по кариотипам и морфологическим признакам [1], но и по молекулярным маркерам — специфическим гаплотипам *cut b*, каждый из которых встречается только у одной кариоформы [24], и двум аллелям интрона *DBY1* [5]. Однако сразу же следует отметить некоторое несоответствие результатов настоящей работы уже известным данным. В результатах опубликованных ранее работ [1, 5, 24], где исследовались различия хромосомных форм хомячков “barabensis” и “pseudogriseus” по разным признакам, можно выделить одну тенденцию: по большинству из обсуждаемых показателей форма “barabensis” структурирована в соответствии с морфологическими подвидами, географическими популяциями и митохондриальными гаплогруппами. Изменчивость исследованных параметров у формы “barabensis” выше, чем у “pseudogriseus”, или сопоставима с таковой. В результате анализа высокополиморфных микросателлитных локусов и относительно консервативного экзона *RAG1* мы обнаружили иную закономерность. По исследованным маркерам уровень изменчивости формы “barabensis” оказывается достоверно ниже такового для формы “pseudogriseus”. К сожалению, имеющиеся на сегодняшний день данные не поз-

воляют выдвигать гипотезы о причине такой несогласованности.

Мы предполагаем, что образцы из локалитета Хархорин, чье происхождение определено тестом admixture как смешанное, — свидетельство интрогрессии генов формы “pseudogriseus” в популяцию “barabensis” вследствие единичных случаев гибридизации. Серьезным аргументом в пользу гипотезы о гибридном происхождении по крайней мере части этих экземпляров служит то, что большинство из них происходит из той же популяции, где ранее также были найдены предположительно гибридные кариотипы [2]. Более высокий уровень изменчивости “pseudogriseus” и отсутствие у “barabensis” специфических диагностирующих аллелей не дает возможности выявить направление интрогрессии.

Итак, две кариоформы хомячков — “barabensis” и “pseudogriseus” — хорошо дифференцированы по параметрам изменчивости микросателлитных локусов. Нами не выявлено интенсивного потока генов между ними, однако распределение аллелей позволяет предполагать, что время от времени гибридизация между ними происходит. Для более точной оценки уровня интрогрессии требуется анализ большего числа ядерных маркеров и дальнейшее тщательное исследование зон потенциального контакта кариоформ. Однако уже имеющиеся результаты не соответствуют нашим ожиданиям, основанным на том, что самые различные виды млекопитающих с аналогичным невысоким уровнем генетических и морфологических различий зачастую активно гибридизируют в природе: краснохвостые бурундуки — *Tamias ruficaudus ruficaudus* и *T. r. simulans* [25]; суслики *ICTIDOMYS parvidens* и *I. tridecemlineatus* [26–28], пустынные суслики *Xerospermophilus mohavensis* и *X. tereticaudus* [29]. Согласно биологической и ге-



**Рис. 5.** Анализ генетической структуры по объединенным данным распространения аллелей микросателлитных локусов и аллелей *RAG1* в популяциях двух кариоформ хомячков в программах VAPs (a) и Structure (б). Приведен результат анализа полных выборок обеих кариоформ. В позиции б отмечены образцы, результат для которых оказался достоверным.

нетической концепции вида, такое отсутствие выраженного потока генов и следов активной гбридизации в природе может свидетельствовать об эффективном действии механизмов репродуктивной изоляции, характер которой требует дальнейших исследований.

Авторы выражают признательность А.В. Абрамову, И.Г. Мещерскому и Н.Ю. Феоктистовой за ряд предоставленных для анализа образцов.

Молекулярно-генетические исследования выполнены на средства проекта РФФИ № 14-04-00034а, популяционно-генетическая обработка результатов проведена в рамках проекта РНФ № 14-50-00029.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лебедев В.С., Лисовский А.А. Географическая изменчивость метрических признаков черепа и таксономическая структура хомячков *Cricetulus* группы *barabensis* (Rodentia, Cricetidae) // Зоол. журн. 2008. Т. 87. № 3. С. 361–374.
2. Поплавская Н.С., Лебедев В.С., Малыгин В.М., Суоров А.В. Новые данные о распространении хромосомных форм хомячков надвидового комплекса *Cricetulus barabensis* sensu lato (Rodentia, Cricetidae) и анализ репродуктивных барьеров между ними // Зоол. журн. 2012. Т. 91. № 8. С. 1013–1022.
3. Кораблев В.П., Павленко М.В., Баженов Ю.А., Кирилюк В.Е. Распространение хомячков надвиды *Cricetulus barabensis* sensu lato (Rodentia, Cricetidae) в Забайкальском крае // Зоол. журн. 2013. Т. 92. № 5. С. 596–601.
4. Вакурин А.А., Картавцева И.В., Кораблев В.П., Павленко М.В. Особенности цитогенетической дифференциации хомячков *Cricetulus barabensis* и *Cricetulus pseudogriseus* (Rodentia, Cricetidae) // Зоол. журн. 2014. Т. 93. № 7. С. 877–886.
5. Поплавская Н.С., Лебедев В.С., Банникова А.А. и др. Дивергенция кареоформ в надвидовом комплексе *Cricetulus barabensis* sensu lato и их взаимоотношения в зонах природного контакта // Журн. общ. биол. 2012. Т. 73. № 3. С. 183–197.
6. Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. N.Y.: Cold Spring Harbor Lab. Press, 1989. 398 p.
7. Neumann K., Jansman H. Polymorphic microsatellites for the analysis of endangered common hamster populations (*Cricetus cricetus* L.) // Conserv. Genet. 2004. V. 5. P. 127–130. doi 10.1023/B:COGE.0000014055.95035.cd
8. Lebedev V.S., Bannikova A.A., Pages M. et al. Molecular phylogeny and systematics of Dipodoidea: a test of morphology-based hypotheses // Zool. Scripta. 2013. V. 42. № 3. P. 231–249. doi 10.1111/zsc.12002
9. Bostein D., White R.L., Skolnick M., Davis R.W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms // Am. J. Hum. Genet. 1980. V. 32. P. 314–331.
10. Park S.D.E. Trypanotolerance in West African Cattle and the Population Genetic Effects of Selection [Ph.D. thesis]. University of Dublin, 2001.
11. Peakall R., Smouse P.E. GenAlEx V. 6: genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research // Mol. Ecol. Notes. 2006. V. 6. P. 288–295. doi 10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x
12. Peakall R., Smouse P.E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update // Bioinformatics. 2012. № 28. P. 2537–2539. doi 10.1093/bioinformatics/bts460
13. Petit R.J., Excoffier L. Gene flow and species delimitation // Trends Ecol. Evol. 2009. № 24. P. 386–393. doi 10.1016/j.tree.2009.02.011
14. Excoffier L., Smouse P.E. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data // Genetics. 1992. № 131. P. 479–491.
15. Mantel N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach // Cancer Res. 1967. V. 27. P. 209–220.
16. Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals // Genetics. 1978. № 89. P. 583–590.
17. Swofford D.L. PAUP\*. Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods) v. 4.0b10. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Assoc., 2000.
18. Corander J., Marttinen P. Bayesian identification of admixture events using multi-locus molecular markers // Mol. Ecol. 2006. V. 15. P. 2833–2843. doi 10.1111/j.1365-294X.2006.02994.x
19. Corander J., Sirén J., Arjas E. Bayesian Spatial Modelling of Genetic Population Structure // Comput. Statistics. 2008. № 23. P. 111–129. doi 10.1007/s00180-007-0072-x
20. Corander J., Marttinen P., Sirén J., Tang J. Enhanced Bayesian modelling in BAPS software for learning genetic structures of populations // BMC Bioinformatics. 2008. V. 9. P. 539. doi 10.1186/1471-2105-9-539
21. Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data // Genetics. 2000. № 155. P. 945–959.
22. Falush D., Stephens M., Pritchard J.K. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies // Genetics. 2003. № 164. P. 1567–1587.
23. Falush D., Stephens M., Pritchard J.K. Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles // Mol. Ecol. Notes. 2007. № 7. P. 574–578. doi 10.1111/j.1471-8286.2007.01758.x
24. Lebedev V.S., Bannikova A.A., Surov A.V. Systematics of striped hamsters (*Cricetulus barabensis* group) from morphological and genetic viewpoints // Cricetinae. Internationales Ehrensymposium im Gedeken an Rolf Gattermann. Abhandlungen der Sächsischen Akademie der Wissenschaften zu Leipzig. Mathematisch-naturwissenschaftliche Klasse / Eds Herausgegeben von Peschke E., Moritz G. 2008. Bd 64. № 5. S. 69–76.
25. Hird S., Sullivan J. Assessment of gene flow across a hybrid zone in red-tailed chipmunks (*Tamias ruficaudus*) // Mol. Ecol. 2009. V. 18. P. 3097–3109. doi 10.1111/j.1365-294X.2009.04196.x
26. Cothran E.G., Zimmerman E.G., Nadler C.F. Genic differentiation and evolution in the ground squirrel subgenus

- nus *Ictidomys* (genus *Spermophilus*) // J. Mammal. 1977. V. 58. P. 610–622.
27. *Cothran E.G.* Morphologic relationships of the hybridizing ground squirrels *Spermophilus mexicanus* and *S. tridecemlineatus* // J. Mammal. 1983. V. 64. P. 591–602.
28. *Cothran E.G., Honeycutt R.L.* Chromosomal differentiation of hybridizing ground squirrels (*Spermophilus mexicanus* and *S. tridecemlineatus*) // J. Mammal. 1984. V. 65. P. 118–122.
29. *Hafner D.J.* Speciation and persistence of a contact zone in Mojave Desert ground squirrels, subgenus *Xerospermophilus* // J. Mammal. 1992. V. 73. P. 770–778.

### Microsatellite variation and investigation of gene flow between two karyoforms of *Cricetulus barabensis* sensu lato (Rodentia, Cricetidae)

N.S. Poplavskaya<sup>a</sup>, V.S. Lebedev<sup>b</sup>, A.A. Bannikova<sup>c</sup>, M.M. Belokon<sup>d</sup>, Yu.S. Belokon<sup>d</sup>, M.V. Pavlenko<sup>e</sup>, V.P. Korablev<sup>e</sup>, I.V. Kartavtseva<sup>e</sup>, Yu.A. Bajenov<sup>f</sup>, and A.V. Surov<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*A.N. Severtsov Institute of Ecology and Evolution RAS, Leninskii Prospect, 33, Moscow 119071 Russia*

<sup>b</sup>*Zoological Museum of Moscow State University, B. Nikitskaya 6, Moscow 125009, Russia*

<sup>c</sup>*Department of Vertebrate Zoology, Moscow State University, Moscow 119991 Russia*

<sup>d</sup>*Vavilov Institute of General Genetics, Russian Academy of Sciences, 3 Gubkin str., GSP-1, Moscow, Russia 119991, Russia*

<sup>e</sup>*Institute of Biology and Soil Science, Russian Academy of Sciences Far East Branch, Vladivostok, 690022, Russia*

<sup>f</sup>*Daurian State Nature Biosphere Reserve, ul. Komsomol'skaya 76, Nizhny Tsasuchey, Zabaikalsky krai, 674480, Russia*

**Annotation**—We examined diversity of 6 microsatellite loci and partial *RAG1* exon of “barabensis” and “pseudogriseus” karyoforms in *Cricetulus barabensis* sensu lato species complex. 435 specimens from 68 localities ranging from Altai to Far East were investigated. The results of the population structure analysis (Factor Analysis and NJ tree based on Nei genetic distances) support subdivision into two well-differentiated clusters corresponding to the two karyoforms. Also these karyoforms are well differentiated by the level of microsatellite variability. In several “barabensis” specimens we found microsatellite alleles which are common in “pseudogriseus” populations but are otherwise absent in “barabensis”. Most of these specimens originate from a single population in one of the zones of potential contact between karyoforms—Kharkhorin in Central Mongolia. These molecular results are concordant with previously published karyological data in suggesting that rare hybridization events between the two chromosomal races occur in nature

**Keywords:** speciation, divergence, microsatellites, contact zones, gene flow, *Cricetulus barabensis*.