УЛК 599.323.45

ВНУТРИВИДОВАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ СЕРОЙ КРЫСЫ (RATTUS NORVEGICUS) В РОССИИ ПО ЛАННЫМ D-LOOP МТЛНК

© 2024 г. А. Н. Мальцев^{1, 4, *}, И. В. Картавцева², В. В. Стахеев³, В. Ю. Комаров⁴, Ю. А. Баженов⁵, Л. А. Хляп¹, Е. В. Котенкова¹

Представлено академиком РАН В. В. Рожновым

Поступило 20.03.2024 г. После доработки 30.04.2024 г. Принято к публикации 10.05.2024 г.

Впервые для территории России проведено исследование внутривидовой структуры серой крысы ($Rattus\ norvegicus$) с использованием митохондриального маркера контрольного региона (D-loop) мтДНК. Проанализированы последовательности мтДНК из 8 регионов европейской и азиатской частей России. Выявлено три клады серых крыс, из них: в европейской части России -1, в азиатской -2. Синантропный подвид -R. n. norvegicus представлен европейской и азиатской линиями. В европейскую линию вошли гаплотипы из регионов центральной части и юга России, в азиатскую - из Восточной Сибири и Дальнего Востока. Выделен в отдельную генетическую линию ранее описанный экзоатропный подвид -R. n. caraco с Дальнего Востока России.

Ключевые слова: серая крыса, внутривидовая структура, D-loop мтДНК, Rattus norvegicus, R. n. norvegicus, R. n. caraco

DOI: 10.31857/S2686738924050096

Серая крыса (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769), относящаяся к настоящим синантропным видам грызунов, расселилась вместе с человеком по всему миру, включая территорию России [1, 2]. Серые крысы повсеместно причиняют существенный вред здоровью человека, являясь переносчиками опасных инфекций, наносят урон инфраструктурам (повреждая коммуникации и др.) и входят в число самых опасных инвазивных видов России [3]. Ранее считалось, что

родина этого вида – равнины Северо-Восточного Китая [4]. Однако недавние палеонтологические находки предковых форм серой крысы, датируемые 1.2-1.6 млн лет, обнаруженные в Юго-Западном Китае [5], свидетельствуют в пользу происхождения вида на юге Китая. Это подтверждается и рядом молекулярно-генетических исследований ядерной и мтДНК [6, 7]. На территорию России древние очаги обитания серой крысы — экзоантропной формы R. n. coraco сформировались на Дальнем Востоке и Приамурье, граничащими с Китаем. Синантропная форма серой крысы появилась в Западной Европе в XVI веке и оттуда проникла в европейскую часть России [8, 9]. Несмотря на обширный ареал, изменчивость серых крыс относительно невелика по сравнению с другими настоящими синантропными видами, принадлежащими к надвидовому комплексу Mus musculus s.l. По данным экологии и морфологии в настоящее время в области первичного ареала серой крысы (Китай) различают четыре подвида: (R. norvegicus norvegicus, R. n. caraco, R. n. humiliatus, R. n. soccer) [10-12]. В России обитают R. n. norvegicus и *R. n. caraco* [13, 14]. Внутривидовая структура

¹Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва, Россия

²Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток, Россия

³Федеральный исследовательский центр ЮНЦ РАН, Ростов-на-Лону, Россия

 $^{^4}$ Институт Дезинфектологии Φ БУН

[«]ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора, Москва, Россия

⁵Институт природных ресурсов, экологии и криологии *CO PAH*, Чита, Россия

^{*}e-mail: mus-musculus@yandex.ru

серой крысы изучалась на территории Центральной Азии, Западной Европы, Северной Америки и Африки [6, 7, 9, 15, 16]. Однако, исследование внутривидовой структуры R. norvegicus на территории России с применением молекулярно-генетических методов не проводилось, изучены лишь единичные образцы, собранные в европейской и азиатской частях России [9, 16]. Среди специальных исследований морфологического полиморфизма можно отметить лишь книгу Ю.Л. Вигорова [14], который детально проанализировал изменчивость экстерьерных и краниологических признаков крыс Евразии с помощью имеющихся на тот момент методов. Согласно его данным, серые крысы из Восточной Сибири и Дальнего Востока по ряду диагностических признаков заметно отличаются от европейских. Без использования молекулярно-генетических методов исследования серой крысы на территории России невозможно представить полную картину филогеографической структуры этого вида в Палеарктике. В связи с этим цель нашего исследования состояла в изучении внутривидовой структуры R. norvegicus по данным изменчивости контрольного региона мтДНК (D-loop).

В качестве молекулярного митохондриального маркера использован контрольный регион мтДНК. Материалом для молекулярно-генетического анализа было 47 серых крыс, отловленных в 8 регионах России: Москва — 12; Московская область – 1 (п. Лесной, Пушкинский район); Тульская область — 2 (г. Плавск); Ростовская область — 8 (г. Ростов-на-Дону); Забайкальский край – 12 (г. Чита); Приморский край -8 (г. Владивосток -5, пос. Рубиновка -2, г. Комсомольск-на-Амуре -1); Хабаровский край — 2 (Советско-Гаванский район, п. Лососина), Еврейская автономная область – 2 (с. Ленинское). На Дальнем Востоке 4 (ЕАО с. Ленинское -2, Приморский край, пос. Рубиновка -2) из 12 особей, использованных в исследовании были по морфологическим признакам идентифицированы как представители подвида *R. n. caraco* [12]. Они были отловлены в природных стациях и отличались меньшими размерами и двухцветным опушенным хвостом.

Работа выполнена в ЦКП «Инструментальные методы в экологии» ИПЭЭ РАН. Для выделения ДНК использовали наборы DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen) и набор для выделения ДНК из тканей животных «Tissue» (Raissol, Sesana). ПЦР проведена в термоциклере SimpliAmp™ (Applied Biosystems). Амплификация осуществлялась с помощью набора двух Мастер-микс HotStarTaq Plus (Qiagen). В 25 мкл реакционной смеси входил микс из смеси полимераз (HS-Таq и Pfu), смеси дезоксинуклеозидтрифосфатов, ПЦР-буфер, Mg2+и другие реагенты (ДНК-матрица — 1—2 нг, деионезированная вода (H2O), прямой и обратный

праймеры — 0.1—800 нМ). Режим ПЦР включал следующие условия: 94° С в течение 3 мин, 25 циклов амплификации (94° С — 30 с, 58° С — 30 с и 72° С — 1 мин 30 с и финальную достройку цепей (72° С — 10 мин). ПЦР для тотальной ДНК серых крыс проведена с использованием праймеров контрольного региона (D-loop) мтДНК [6]. Длина анализируемых последовательностей после выравнивания составила 746 пн.

Выравнивание последовательностей производилось с помощью программы Bioedit v.7.0.5.3. [17]. Филогенетическая сеть Median Joining построена в программе Network [18]. Р-дистанция между филогенетическими группами посчитана в программе Mega X [19].

В результате филогенетического анализа выявлено 23 гаплотипа серых крыс. Гаплотипы на медианной сети представлены двумя подвидами — R. n. norvegicus и R. n. caraco (Рис. 1). При этом подвид R. n. norvegicus разделен на две клады: из европейской и азиатской частей России. Экзоантропный подвид R. n. caraco с Дальнего Востока выделяется в отдельную кладу.

Клада 1 включает преимущественно гаплотипы из европейской части России: г. Ростова-на-Дону, г. Москвы, Тульской области (г. Плавск) (рис. 1). Исключением были 2 гаплотипа из Хабаровского края (пос. Лососина). В кладу 2 из азиатской части России вошли гаплотипы из Восточной Сибири (г. Чита), Дальнего Востока (г. Владивосток) и г. Москвы. Генетическая дистанция между 1 и 2 кладами составила 0.006397 (р-дистанция). Третья клада на медианной сети представлена гаплотипами особей, идентифицированных по экстерьерным признакам как представители подвида R. n. caraco (из Приморского края и Еврейской автономной области), в нее также вошли гаплотипы особей, идентифицированных по этим признакам как R. n. norvegicus (г. Комсомольск-на-Амуре и Московской области (пос. Лесной) (рис. 1). Значение р-дистанции между гаплотипами подвидов R. n. caraco и R. n. norvegicus составляет 0.008945 с европейской кладой и 0.005962 с азиатской соответственно.

Присутствие гаплотипов серых крыс из г. Москвы и Московской области в гаплогруппах азиатской части России и наоборот может свидетельствовать о постоянном расселении серых крыс вместе с человеком на дальние расстояния, что неоднократно фиксировали разные исследователи [2]. С Дальнего Востока России зверьки могли быть завезены в Центральную Россию и в обратном направлении по крупным транспортным магистралям (Трансиб, БАМ). На это указывает сходство гаплотипа особи из г. Москвы (18КР) и гаплотипов из г. Владивостока в азиатской кладе. Между представителями экзоантропных и синантропных подвидов серых крыс может

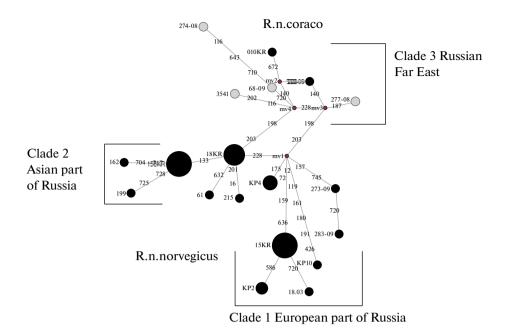


Рис. 1. Филогенетический анализ гаплотипов серых крыс.

происходить гибридизация. Так, ранее на севере Китая была отмечена гибридизация между другими близкими формами R. norvegicus [12]. Ю.Л. Вигоров, работавший с подвидом R. n. caraco в Восточной Сибири и на Дальнем Востоке, также не исключал скрещивание в природе представителей этого экзоантропного подвида с синантропным подвидом R. n. norvegicus [14]. В нашем исследовании мы также обнаружили предполагаемых гибридов, которые вошли в состав третьей клады R. n. caraco (рис. 1, № 010KP, 328-09).

Согласно данным других исследований на основании анализа как ядерной, так и мтДНК [6, 7, 9] гаплотипы серых крыс также разделяются на две генетические линии — европейскую и азиатскую, каждая из которых может подразделяться на несколько кластеров. Происхождение серых крыс с территории России пока до конца неизвестно. Имеются лишь единичные данные, указывающие на общность происхождения серых крыс из Центральной России (г. Москва, г. Тверь) и крыс из Скандинавии [9].

В заключение отметим, что несмотря на относительно недавнее заселение территории России серыми крысами, их внутривидовая структура неоднородна и характеризуется разделением на два подвида: *R. п. norvegicus* и *R. п. caraco*. Синантропный подвид *R. п. norvegicus* заселяет большую часть территории России и представлен европейской и азиатской гаплогруппами. Экзоантропный подвид *R. п. caraco* обитает преимущественно на Дальнем Востоке и гибридизирует с номинативной синантропной формой. Приспособление отдельных

форм серой крысы к разным природным условиям и переход к синантропному образу жизни могли способствовать дифференциации до подвидового уровня.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-24-00482.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ И СТАНДАРТОВ

Содержание животных после отлова и их умерщвление проведены в соответствии с правилами Европейской конвенцией о защите позвоночных. Одобрено Биоэтической комиссией ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН. Протокол № 39 от 27.07.2020 г.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы подтверждают отсутствие конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kucheruk V.V. Synanthropic rodents and their significance in the transmission of infections //

- Theoretical questions of natural foci diseases. Prague, 1965. P.353–366.
- 2. *Кучерук В.В., Кузиков И.В.* Современный ареал серой крысы // Распространение и экология серой крысы и методы ограничения ее численности. М.: Наука.1985. С.17–52.
- 3. *Петросян В.Г., Хляп Л.А.* Самые опасные инвазионные виды России (ТОП-100) / Ред. Дгебуадзе Ю.Ю., Петросян В.Г., Хляп Л.А. М.: Т-во научных изданий КМК, 2018. 688 с.
- 4. *Hedrich H.J.* History, Strains and Models. In: Krinke GJ, Buton T, editors. The laboratory Rat (Handbook of Experimental Animals). London: Academic. Press, 2000. P. 1871–1895.
- 5. Wu X., Wang Y. Fossil materials and migrations of Mus musculus and Rattus norvegicus // Research of China's Frontier Archaeology. 2012. V.1. P. 1–9.
- 6. *Song Y., Lan Z., Kohn M.H.* Mitochondrial DNA phylogeography of the Norway rat // PLOS ONE. 2014. V. 9. Issue 2. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088425.
- 7. Zeng L., Ming C., Li Y., Su L-Y., Su Y-H., et al. Out of Southern East Asia of the Brown Rat Revealed by Large-Scale Genome Sequencing // Molecular Biology Evolution. V. 35. P. 149–158.
- 8. *Кащенко Н.Ф.* Крысы и их заместители в Западной Сибири и Туркестане // Ежегодник зоол. Музея АН. 1912 (1913). Т. 17. С. 370—390.
- 9. Puckett E.E., Magnussen E., Khlyap L.A, Strand T.M., Lundkvist A., Munshi-South J. Genomic analyses reveal three independent introductions of the invasive brown rat (*Rattus norvegicus*) to the Faroe Islands // Heredity, 2020. V.124. P. 15–27.
- 10. Wu D. On subspecific differentiation of brown rat (*Rattus norvegicus* Berkenhout) in China // Acta Theriologica Sinica, 1982. V. 2. P. 107–112.

- 11. *Wang Y.A.* Complete checklist of mammal species and subspecies in China: a taxonomic and geographic reference. Beijing: China Forestry Publishing House. 2003. 394 p.
- 12. Zhao L., Zhang J-X., Zhang Y.-H. Genetic boundary and gene flow between two parapatric subspecies of brown rats // Current Zoology. 2020. V. 66. P. 677–688.
- 13. *Аргиропуло А.И.* Фауна СССР. Млекопитающие. Семейство Muridae мыши. М.; Л.: Изд-во АН ССР, 1940. Т. 3. вып.5. 170 с.
- 14. *Вигоров Ю.Л.* Сравнительная экология и изменчивость крыс Евразии. Екатеринбург: Наука, Урал. отделение, 1992. 144 с.
- 15. Lack J., Hamilton M., Braun J., Mares M., Van Den Bussche R. Comparative phylogeography of invasive Rattus rattus and Rattus norvegicus in the U.S. reveals distinct colonization histories and dispersal // Biological Invasions. 2013. V.15. P. 1067–1087.
- 16. Puckett E.E., Park J., Combs M. et al. Global population divergence and admixture of the brown rat (Rattus norvegicus) // Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. 2016. V. 283(1841).20161762. doi: 10.1098/rspb.2016.1762.
- 17. *Hall T.A.* BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT // Nucleic Acids Symposium Series. 1999. V. 41. P. 95–98.
- 18. *Bandelt H-J., Forster P., Röhl A.* Median-Joining Networks for Inferring Intraspecific Phylogenies // Molecular Biology Evolution. 1999. V. 16(1). P. 37–48.
- Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. Mega X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms // Molecular Biology Evolution. 2018.V. 35. P. 1547–1549. doi: 10.1093/molbev/msy096

INTRASPECIFIC VARIABILITY OF THE NORWAY RATS (RATTUS NORVEGICUS) IN RUSSIA ACCORDING TO D-LOOP MTDNA DATA

A. N. Maltsev^{1, 4, #}, I. V. Kartavtseva², V. V. Stakheev³, V. Y. Komarov⁴, Y. A. Bazhenov⁵, L. A. Khlyap¹, E. V. Kotenkova¹

¹Severtsov Institute of Problems of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation ²Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity, Far East Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok, Russian Federation

³Southern Research Center, Russian Academy of Sciences, Rostov-on-Don, Russian Federation
⁴Erisman Research Institute of Disinfectology,

Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Moscow, Russian Federation

⁵Institute of Natural Resources, Ecology and Cryology, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences,

Chita, Russian Federation

#e-mail: mus-musculus@yandex.ru

Presented by Academician of the RAS V.V. Rozhnov

For the first time in Russia, a study of the intraspecific structure of the brown rat ($Rattus\ norvegicus$) was carried out using the mitochondrial marker of the control region (D-loop) of mtDNA. MtDNA sequences of brown rats from 8 regions of the European and Asian parts of Russia were analyzed. Three clades of rats have been identified: in the European part of Russia -1, in the Asian part -2. Synanthropic subspecies -R. n. norvegicus is represented by european and asian lineages. The european lineage included haplotypes from the regions of central and southern Russia, and the Asian lineage included haplotypes from Eastern Siberia and the Far East. The previously described free living subspecies, R. n. caraco from the Russian Far East was represented as separate genetic lineage.

Keywords: brown rat, intraspecific structure, D-loop mtDNA, Rattus norvegicus, R. n. norvegicus, R. n. caraco