

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ЗООЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

Бондарева Ольга Васильевна

**Молекулярные адаптации грызунов к подземному образу жизни на
примере подсемейства полевочных (Arvicolinae, Rodentia)**

1.5.12 – Зоология

Научный руководитель,
кандидат биологических наук,
внс лаборатории эволюционной геномики и палеогеномики,
Абрамсон Н.И.

Санкт-Петербург – 2022

Оглавление

	Стр.
Введение	5
Цель работы	5
1. Обзор литературы	9
1.1. Морфо-физиологические адаптации грызунов к подземному образу жизни	9
1.2. Молекулярные адаптации грызунов к подземному образу жизни	12
1.2.1. Следы отбора на уровне отдельных генов митохондриального генома	13
1.2.2. Изменение уровня отбора в митохондриальных белок-кодирующих генах	15
1.2.3. Следы отбора в ядерных белок-кодирующих генах	15
1.3. Подземные грызуны подсемейства Arvicolinae	16
1.3.1. Изучение молекулярных адаптаций подземных полевочных	18
2. Материалы и методы	19
2.1. Материал	19
2.2. Выделение ДНК	19
2.2.1. Для амплификации отдельных генов методом Сенгера	19
2.2.2. Для секвенирования методом NGS	19
2.3. Выделение РНК	20
2.4. Амплификация отдельных генов методом полимеразной цепной реакции (ПЦР)	20
2.5. Секвенирование	21
2.5.1. Секвенирование методом Сенгера	21
2.5.2. Получение коротких чтений (ридов) методом NGS	22
2.6. Сборка и аннотация	23
2.6.1. Митохондриальные геномы	23
2.6.2. Транскриптомы	23
2.7. Выравнивание	24
2.8. Оценка нуклеотидного состава митохондриальных геномов	24
2.9. Филогенетическая реконструкция	24
2.9.1. По гену <i>CYTB</i> и семи ядерным генам	24
2.9.2. По митохондриальным геномам	25
2.9.3. По ортологичным ядерным генам	25
2.10. Оценка аминокислотных замен и их распределения	26
2.10.1. Цитохром <i>b</i>	26
2.10.2. Митохондриальные геномы и транскриптомы	26

2.11. Оценка уровня отбора	27
2.12. Моделирование и визуализация третичной структуры белка <i>cytb</i>	27
2.13. Предсказание сайтов фосфорилирования	28
2.14. Репозиторий	28
3. Результаты	29
3.1. Поиск следов отбора в гене <i>CYTB</i>	29
3.1.1. Оценка частоты несинонимичных замен	30
3.1.2. Поиск параллельных аминокислотных замен	31
3.1.3. Оценка уровня отбора	32
3.2. Поиск следов отбора в митохондриальных геномах	35
3.2.1. Характеристика собранных митохондриальных геномов	35
3.2.2. Анализ частоты несинонимичных замен	36
3.2.3. Поиск параллельных аминокислотных замен	37
3.2.4. Оценка уровня и направления отбора	39
3.3. Поиск следов отбора в транскриптомах	44
3.3.1. Сборка транскриптомов	44
3.3.2. Анализ частоты несинонимичных замен	45
3.3.3. Оценка параллельных аминокислотных замен	45
3.3.4. Оценка уровня отбора	45
4. Обсуждение	47
4.1. Изменения на молекулярном уровне у полевочных, перешедших к подземному образу жизни	47
4.1.1. Изменение нуклеотиного состава митохондриальных геномов	47
4.1.2. Ослабление уровня отбора	48
4.1.3. Возникновение параллельных аминокислотных замен	50
4.2. Конвергентные молекулярные адаптации грызунов к подземному образу жизни	52
5. Заключение	56
6. Выводы	58
7. Публикации автора по теме диссертации	59
Список литературы	60
Приложение А. Виды, используемые в работе	74
Приложение Б. Анализ популяционной изменчивости гена <i>CYTB</i>	79
Приложение В. Характеристика собранных митохондриальных геномов	84

Введение

Актуальность темы и степень ее разработанности

К подземным грызунам относят примерно 250 видов, проводящих всю или почти всю свою жизнь под землей. Они распространены по всем континентам, за исключением Австралии и Антарктиды (Fang, 2015). Уход под землю помогает избежать открытых контактов с хищниками и сильных температурных колебаний, но приводит к возникновению новых стрессовых факторов: темнота, кислородная недостаточность и гиперкальция, повышенный инфекционный фон. Существование в этих условиях приводит к формированию сходных морфо-физиологических адаптаций у филогенетически далеких форм. Несмотря на их изученность, молекулярные основы адаптивных процессов остаются не до конца понятными. К настоящему моменту в открытых базах данных уже накопилось достаточное количество как последовательностей отдельных генов, так и полногеномных данных, позволяющих проводить сравнения последовательностей и поиск молекулярных следов адаптаций на различных таксономических уровнях.

Подсемейство полевочки (Arvicolinae) – одна из самых молодых и многочисленных групп отряда грызунов (Rodentia), распространенная практически во всех ландшафтных зонах Северного полушария. Полевки представляет собой удобную модель для изучения темпов и форм адаптивной эволюции, прежде всего связанных с роющим и подземным образом жизни. Предыдущие исследования молекулярных адаптаций к подземному образу жизни выполнялись на немногочисленных и полностью подземных представителях филогенетически далеких таксонов из разных семейств и подотрядов (слепыши, землекопы, тuco-tuco). Полевки же предоставляют уникальные возможности для тестирования гипотез об универсальности механизмов адаптаций за счет сравнения близкородственных пар подземных и наземных видов в пределах одного семейства.

Цель работы

Целью данной работы является проведение молекулярно-генетических сравнений филогенетически независимых подземных форм подсемейства полевочных (Arvicolinae, Cricetidae, Rodentia) и их наземных сестринских таксонов и выявление следов отбора при освоении подземной ниши на молекулярном уровне.

Для достижения поставленной цели были сформированы следующие задачи:

1. Сравнить направление и силу отбора для гена *CYTB*, белок-кодирующих митохондриальных и части ядерных генов у подземных и наземных грызунов;
2. Провести поиск параллельных аминокислотных замен в ядерных и митохондриальных генах в независимых линиях подземных полевочных;

3. Выявить функции генов с различиями в силе и направлении отбора относительно наземных грызунов и параллельными аминокислотными заменами, определить биохимические процессы, в которые они вовлечены;
4. Сравнить количество генов со следами адаптации к подземному образу жизни среди подземных представителей подсемейства Arvicolinae;
5. Провести сравнение геномных изменений у эволюционно молодых подземных полевоцых с представителями эволюционно более древних семейств подземных грызунов.

Научная новизна

В рамках работы впервые проведены масштабные исследования представителей подсемейства полевочки (Arvicolinae, Rodentia) для поиска следов конвергентной эволюции в филогенетически независимых линиях подземных грызунов. Исследование выполнено на нескольких уровнях: от анализа отдельного филогенетического маркера *CYTB* до пула ядерных белок-кодирующих генов. Впервые проанализированы паттерны аминокислотных замен и выявлены сайты с параллельными заменами. Для всех белок-кодирующих митохондриальных и ряда ядерных (112) генов проведена оценка силы и направления отбора несколькими методами (codeml branch model, RELAX, aBSREL). В ходе выполнения работы в лаборатории эволюционной геномики и палеогеномики ЗИН РАН получено 36 новых митохондриальных геномов и более 15 транскриптомов, что представляет существенный вклад в дальнейшее изучение эволюционной истории подсемейства.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Наблюдается ослабление уровня отбора в большинстве митохондриальных белок-кодирующих генов у подземных форм полевочьих.
2. У подземных форм подсемейства полевочки присутствуют параллельные аминокислотные замены в генах, которые вовлечены в процессы адаптации к низкой концентрации кислорода.
3. Интенсивность уровня отбора на митохондриальные и ядерные гены коррелирует со степенью специализации к подземному образу жизни и не зависит от возраста таксона.
4. Направления адаптивной изменчивости у подземных форм полевочьих имеют тот же характер, что и в других древних специализированных семейств подземных грызунов Spalacidae, Ctenomyidae, Bathyergidae.

Теоретическая и практическая значимости работы

В работе получены фундаментальные данные, описывающие молекулярные адаптации к подземному образу жизни у представителей подсемейства полевочки. Также впервые дана сравнительная характеристика различий в уровне отбора между филогенетически независи-

мыми подземными видами. Обнаруженные гены с измененным уровнем отбора и параллельными заменами могут служить источником для более детального изучения адаптивной и эволюционной физиологии. Собранные и опубликованные в открытом доступе митохондриальные геномы и транскриптомы будут использованы в работах по филогеографии, филогении и изучении других эволюционных процессов внутри подсемейства Arvicolinae сотрудниками как Зоологического института РАН, так и учебных и научных заведений всего мира. Результаты исследования могут быть использованы в курсах лекций по эволюционной биологии в вузах, школах и секциях дополнительного образования.

Апробация результатов

Материалы диссертации были представлены на следующих конференциях, конгрессах и мероприятиях:

- Международные конференции по вычислительной биологии МССМВ (Москва, 2017, 2019);
- XI Международная конференция по биоинформатике и системной биологии BGRS (Новосибирск, 2018);
- 16 Международная конференция Rodens et Spatium (Потсдам, Германия, 2018);
- VII Международный конгресс общества генетиков и селекционеров ВОГиС (Санкт-Петербург, 2019);
- Семинары лабораторий териологии и эволюционной геномики и палеогеномики ЗИН РАН (2017-2021);
- Отчетная сессия ЗИН РАН (Санкт-Петербург, 2020);
- Семинары лаборатории эволюционной геномики факультета биоинформатики и биоинженерии МГУ (Москва, 2018, 2021);
- 45th Federation of the European Biochemical Societies (FEBS) Congress (дистанционно, 2021);
- XI Съезд Териологического общества при РАН (Москва, 2022);
- Биоинформационный семинар Университета ИТМО (Санкт-Петербург, 2022).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 14 работ. Из них 7 статей в журналах из списка, рекомендованного ВАК, в том числе 7 на английском языке в журналах, индексируемых международными базами данных научного цитирования Scopus и Web of Science Core Collection; 7 тезисов.

Структура и объем диссертации

Работа состоит из введения, трех глав, заключения, выводов и списка литературы. Основная часть работы изложена на 75 страницах, содержит 15 рисунков и 12 таблиц.

Список литературы включает 147 наименований, из которых 7 на русском языке и 140 – на английском. Приложения к работе содержат 4 таблицы на 16 страницах.

Личный вклад автора

Личный вклад автора работы состоит в сборе материала на территории Даурского заповедника (2018 г.) и Якутии (2019 г.), обработке материала, проведении всех анализов по изучению уровня и направления отбора. Подготовка публикации осуществлялась автором как самостоятельно, так и в соавторстве с коллегами. В большинстве публикаций автор является первым автором, где ему принадлежит ведущая роль как при проведении исследований, так и при подготовке рукописей (не менее 80%).

Благодарности

В первую очередь хочу поблагодарить мою научную руководительницу Наталью Иосифовну Абрамсон за помощь и поддержку при выполнении диссертации, ценные советы и доверие в выборе методик анализа. Отдельную благодарность хотелось бы выразить всему коллективу лаборатории эволюционной геномики и палеогеномики ЗИН РАН за неоценимый вклад в мое зоологическое образование, освоение филогенетических и филогеографических методик: Семену Бодрову, Татьяне Петровой и Евгению Генельт-Яновскому. За помощь в изучении биоинформационных подходов искренне благодарю Институт биоинформатики, а за обсуждение полученных результатов и ценные замечания – А.В. Сморкачеву и сотрудников ИППИ РАН, ФББ МГУ и ИОГеН РАН: Надежду Потапову, Артема Касьянова, Алексея Пенина, Марию Логачеву, Егора Базыкина и А.С. Кондрашова.

За моральную поддержку во время написания работы хочу поблагодарить в первую очередь своего супруга Станислава Александровича Бондарева, а также Ольгу Бочкиреву, Александру Пантелееву, Анну Гнетневу, Анну Ганюкову, Евгения Генельт-Яновского, членов моей семьи, друзей и коллектив Института биоинформатики. Отдельную благодарность хочу выразить моей бабушке, Паненковой Галине Ильиничне, которая до конца верила, что у меня все получится.

За помощь в организации рабочего времени выражают огромную благодарность Татьяне Смирновой и Екатерине Копейкиной, без которых получение результатов и написание диссертации заняло бы гораздо больше времени. Отдельную благодарность выражают композиторам компаний CD Projekt Red, Guerrilla Games и FromSoftware, под произведения которых данная работа была написана.

Работа выполнена в рамках темы государственного задания № АААА–А19–119020790106–0 в лаборатории эволюционной геномики и палеогеномики ЗИН РАН. Исследования поддержаны грантами РФФИ №18-04-00730, №15-04-04602, №18-34-20118 и РНФ № 19-74-20110.

1. Обзор литературы

Подземные грызуны представляют собой широко распространенную филогенетически неоднородную группу, представители которой в разной степени адаптированы к подземной среде обитания (Nevo, Reig, 1990; Nevo, 1999; Lacey и др., 2000; Begall и др., 2007). Она защищает грызунов от хищников и колебаний параметров окружающей среды, экстремальных условий. Защита особенно важна в периоды повышенной уязвимости животного: отдыха, сна или размножения. С другой стороны, подземная ниша является очень специализированной и сложной: подземные грызуны живут в условиях темноты, лишены большинства сенсорных сигналов, доступных над землей, сталкиваются с низким запасом продовольствия, тратят большое количество энергии на рытье (Begall и др., 2007) и подвергаются высокой патогенной нагрузке (Nevo, 1999).

1.1. Морфо-физиологические адаптации грызунов к подземному образу жизни

Морфо-физиологические адаптации подземных грызунов, в основном, связаны с теплообменом и адаптациями к гипоксии и гиперкарбонии внутри норы, а также с необходимостью эти норы рыть и поддерживать в жилом состоянии (Гамбарян и др., 1957; Nevo, 1999; McNab, 1966). Уровень специализации, по-видимому, тесно связан с количеством времени, которое животное проводит под землей.

Две конкурирующие, но не исключающие друг друга гипотезы, объясняют уменьшенную скорость базового обмена грызунов (basal metabolic rate, BMR), которые живут и добывают корм под землей (White, 2003). Они предполагают, что сниженный уровень обмена либо компенсирует огромные энергетические затраты поиска подземных кормов (гипотеза стоимости рытья, the cost-of-burrowing hypothesis), либо предотвращает перегрев в системах с закрытыми норами (гипотеза теплового стресса, the thermal-stress hypothesis). Анализ показал (White, 2003; McNab, 1966; Vleck, 1979; Gorecki, Christov, 1969), что в засушливых районах роющие грызуны имеют значительно более низкий BMR, чем в нормально увлажненных. BMR подземных и роющих грызунов в увлажненных почвах достоверно не различается, равно как и BMR крупных (> 77 г) подземных и роющих грызунов в засушливых районах. Поскольку несколько групп имеют одинаковый BMR, несмотря на различия в затратах на добывчу пищи, этот вывод поддерживает гипотезу теплового стресса.

По сравнению с наземными видами, диффузионная способность легких подземных грызунов выше (Widmer и др., 1997), что позволяет продолжать насыщение крови в условиях гипоксически-гиперкарбонической обстановки. Исследования на цокорах *Eospalax fontanieri*

Milne-Edwards, 1867 (Wei и др., 2006) показали различие в содержании кислорода и изменение кровяного давления у особей, проживающих в Тибете. У них наблюдались повышенное количество эритроцитов ($8,11 \pm 0,59 \times 10^{12}/\text{л}$) и концентрация гемоглобина ($147 \pm 9,85 \text{ г}/\text{л}$), но гематокрит ($45,9 \pm 3,29\%$) и средний эритроцитарный объем ($56,67 \pm 2,57 \text{ фл}$) были ниже, чем у обитающей там же *Ochotona curzoniae* Hodgson, 1857, а также лабораторных мышей и крыс. Цокора обладали высокой устойчивостью к изменениям pH в тканях и способностью получать кислород из гипоксически-гиперкапнической среды. В лабораторных условиях *Spalax* sp. Guldenstaedt, 1770 выживал при условиях 3% O₂ и до 15% CO₂ по крайней мере 14 часов без каких-либо побочных эффектов или поведенческих изменений (Avivi и др., 1999; Shams и др., 2005b; Shams и др., 2005a). При тех же условиях крыса погибала через 2-4 часа (Avivi и др., 1999).

Размер тела подземных грызунов зависит от места обитания, энергетических затрат на рытье и терморегуляцию (Vleck, 1979; McNab, 1979). Размер уменьшается при изменении тепловой нагрузки, в зависимости от вида, пола (самцы, в основном, крупнее самок), возраста. Положительная корреляция веса с широтой (правило Бергмана) была обнаружена у *Spalax ehrenbergi* Nehrung 1897, карликовые популяции которых встречаются в северной пустыне Негев, Израиль (McNab, 1966). Эти экстремальные приспособления уменьшают не только перегрев, но и ежедневные энергетические затраты в условиях ограниченных пищевых ресурсов (McNab, 1980). Самый экстремальный адаптивный ответ на тепловую нагрузку заметен у *Heterocephalus glaber* Rüppell 1842, который не только маленького размера и лишен ярко выраженной шерсти, но также имеет самую низкую температуру тела (около 32 °C) и самую плохую способность к терморегуляции среди всех известных млекопитающих (McNab, 1966). Форма тела подземных грызунов варьируется от крысоподобной (*Tachyoryctes* sp. Rüppell, 1835) до дорсо-вентрально сплюснутой и колбасообразной формы с плоской головой и короткой массивной шеей (*Spalax* sp.), а хвост – от длинного (*Heterocephalus* sp.) до полностью редуцированного (*Spalax* sp.). Вес и длина тела колеблются от 35 г и 80 мм (*Heterocephalus glaber*) до 1 500 г и 300 мм (*Bathyergus suillus* Schreber, 1782) или больше (до 4 кг и 535 мм для *Rhizomys* sp. Gray, 1831). Форма морды изменяется от удлиненной до широкой, плоской и ороговевшей, что позволяет, например, слепышам *Spalax* sp. и батергидам (Bathyergidae) использовать ее для прессования почвы (Lacey и др., 2000).

Некоторые органы чувств (чаще всего глаза) у подземных грызунов уменьшены, особенно у полностью подземных видов (Reichman, Smith, 1990). Глаза демонстрируют все стадии регрессии: от средних (*Spalacopus* sp. Wagler, 1832) и маленьких (Bathyergidae; *Tachyoryctes* sp.; *Ctenomys* sp. Blainville, 1826; *Myospalax* sp. Laxmann, 1769; *Ellobius* sp. Fischer, 1814) до полностью покрытых кожей (*Spalax* sp.). Структурно глаза варьируют от почти нормальных до частично (*Tachyoryctes* sp. и Bathyergidae), или полностью редуцированных (*Spalax* sp.) (Nevo, Reig, 1990). Острота зрения уменьшается соответственно. Борги с коллегами (Borghi и др., 2002) обнаружили у разных видов подземных грызунов взаимосвязь между уменьшением размера глаз и использованием головы в качестве клина прикопании. Другую корреляцию

они отметили между типом рациона (в основном подземные источники пищи, подземные и наземные источники пищи или в основном наземные источники пищи) и размером глаз: глаза меньше, если в рационе больше подземных источников пищи – из-за разной вероятности нападения хищников. Таким образом, хищничество способствует формированию зрительной системы тех подземных грызунов, которые должны выходить на поверхность в поисках пищи или выталкивать разрыхленную почву на поверхность головой.

Обоняние подземных грызунов хорошо развито (Reichman, Smith, 1990), как и тактильное чувство. Последнее позволяет эффективно ориентироваться в норах, особенно при быстром движении назад. Сенсорные элементы включают особые волоски (вибриссы) тела, хвоста и передних конечностей. У *Heterocephalus* sp., например, есть головные, концевые и половые вибриссы в добавок к сенсорному хвосту. Армстронг и Киллиам (Armstrong, Quilliam, 1961) подробно описали тысячи сенсорных папилл в носах *Myospalax* sp., которые иннервируются 15-20 нервами каждый.

Полевые и лабораторные эксперименты подтверждают, что, несмотря на сенсорные ограничения подземных грызунов и дефицит ориентиров в среде обитания, они являются чрезвычайно эффективными навигаторами и избегают ненужных высокозатратных процессов рытья. Перемещение в темноте с использованием независимой от ориентира навигации, например, интеграции пути (называемая также счислением координат, dead reckoning), может играть важную роль для подземных грызунов. *Spalax ehrenbergi* использует этот тип навигации в определении кратчайшего пути сложного лабиринта в лабораторных экспериментах (Kimchi и др., 2004). *Cryptomys* sp. Gray, 1864 и *Spalax* sp. также могут использовать направленные сигналы от геомагнитного поля под землей как независимые от света ориентиры направления (Kimchi и др., 2004). Помимо этого, недавние исследования показали, что *Spalax* sp. чувствителен к сейсмическим колебаниям (Heth и др., 1987).

Подземные грызуны специализированы в области копания, которое затрагивает зубы или когти. П.П. Гамбарян (Гамбарян, 1960) приводит несколько способов рытья: (а) когтеголовной: разрыхление земли когтями, выкидывание головой (цокор, прометеева полевка); (б) резцово-головной: разрыхление резцами, выкидывание земли головой (*Spalax* sp.) и (в) резцово-грудной, где выкидывание происходит грудью (*Ellobius* sp.). У видов, которые специализируются на рытье зубами, обычно крупные, сильные, быстро растущие резцы, которые заходят основанием глубоко в челюстную кость до уровня сочленовых отростков. Нижние резцы чаще всего используются для удаления почвы (Гамбарян, 1960; Hildebrand, 1985), и поэтому имеют тенденцию изнашиваться быстрее, чем верхние резцы или моляры. Ряд подземных видов может закрывать свои губы за зубами, не давая почве проникнуть в рот (Гамбарян, 1960; Nevo, 1979; Hildebrand, 1985). У подземных грызунов наблюдается увеличение мышечной массы и объема в частях тела, используемых для различных типов копания. Кроме того, кости, связанные с копанием, становятся широкими и ограниченными, отражая их функцию в качестве платформ для прикрепления мощных мышц (Гамбарян, 1960; Lehmann, 1963; Yalden, 2009). Закрепление частей тела, непосредственно не связанных с процессом ко-

пания, обеспечивает устойчивую платформу для передачи требуемой силы. Например, плечо должно быть стабилизировано, чтобы служить основой для движения передних конечностей. Большинство подземных видов обладают либо специфическими приспособлениями для такой стабилизации, либо усилением признаков, обнаруженных у их менее специализированных родственников (Гамбарян, 1960; Puttick, Jarvis, 1977).

Движение в норах и транспортировка почвы приводят к морфологическим изменениям покровов у подземных грызунов. Полностью подземные виды обычно строят туннели, которые лишь немногим больше, чем их собственный диаметр тела (Andersen, 1982) и, следовательно, поверхность тела находится в постоянном контакте с окружающей средой. Когда особи поворачиваются в норе, они толкают голову между задними ногами или под предплечьем, поворачивая тело на половину оборота. Это движение усиливается за счет дряблой кожи и волос (Nevo, 1979; Tucker, 1981).

1.2. Молекулярные адаптации грызунов к подземному образу жизни

К началу 21 века стало очевидным, что дальнейшее развитие таких классических дисциплин как зоология и ботаника невозможны без использования молекулярных методов и ДНК-технологий и, в том числе, секвенирования. Секвенирование по Сенгеру, также известное как секвенирование первого поколения, было первой основной технологией секвенирования, разработанной Эдвардом Сенгером в 1975 году. С тех пор секвенирование по Сенгеру считалось золотым стандартом секвенирования ДНК в течение двух с половиной десятилетий. Именно с его использованием был выполнен проект «геном человека». Однако, потребность в снижении стоимости секвенирования привела к развитию технологий секвенирования следующего поколения (next-generation sequencing, NGS). Также оно называется секвенированием с высокой пропускной способностью, поскольку за один запуск создаются миллионы прочтений. На сегодняшний день технологии NGS широко используются в разных вариациях, включая секвенирование экзона, целевое секвенирование, полногеномное секвенирование, профилирование транскриптома и т.д. (Fang, 2015).

Молекулярные исследования, проводимые в зоологии на видовом и внутривидовом уровне, чаще всего касались отдельных, предположительно селективно нейтральных, участков митохондриального генома: например, генов цитохрома *b* (*CYTB*) и цитохром-с-оксидазы 1 (*COX1*) или фрагментов ядерного генома, полученных методом секвенирования по Сенгеру. В них же искали потенциальные следы адаптаций из-за большого количества сравнительного материала. Технологии секвенирования NGS серьезным образом изменили характер исследований в области экологии, эволюции и генетики (Hudson, 2008; Stapley и др., 2010; Rokas, Abbot, 2009).

Помимо изменений в количестве обрабатываемых данных, развивались сами подходы изучения эволюционных процессов, в том числе и оценки уровня и направления отбора. После введения моделей замены кодонов (Goldman, Yang, 1994; Muse, Gaut, 1994) почти два десятилетия назад возник устойчивый интерес к использованию их для изучения уровня и направления отбора в белок-кодирующих генах. Отбор принято оценивать как соотношение (ω) несинонимичных (dN) к синонимичным (dS) заменам, т.е. нуклеотидных замен, которые приводят к изменению аминокислоты в белковой последовательности по отношению к заменам, которые оставляют аминокислоту исходной. В случае, если это значение превышает единицу, говорят о положительном отборе. В остальных случаях принято говорить об ослаблении (значение от 0 до 1) или консервации последовательности гена отрицательным отбором ($\omega < 1$) (Anisimova, Kosiol, 2009; Delport и др., 2008). В итоге этот способ анализа превратился в мощный и популярный подход к поиску признаков естественного отбора в молекулярных данных.

Янг и Нильсен в 2002 (Yang, Nielsen, 2002) году опубликовали первую модель расчета отбора на отдельно выделенных таксонах «branch-site», которая включала ограниченные вариации в ω как между сайтами, так и между ветвями и могла использоваться для обнаружения эпизодического положительного отбора. Косаковски-Понд с коллегами (Kosakovsky Pond и др., 2011) показали ограничения этого метода, которые могут привести к появлению ложноположительных результатов и снижению эффективности расчетов. Это происходит, например, в сайтах, которые не соответствуют одной из моделей, в том числе из-за изменения скорости эволюции среди филогенетических линий. Выявленные недостатки привели к усовершенствованию подходов по расчету уровня отбора. Так, Мартин Смит и его коллеги разработали адаптивную модель вероятности случайных эффектов (adaptive branch-site random effects likelihood, aBSREL), ключевым нововведением которой является переменная параметрическая сложность вычисления ω (Smith и др., 2015). В то же время Вертейм с соавторами представили общую схему проверки гипотез для выявления ослабленного отбора RELAX (Wertheim и др., 2015).

1.2.1. Следы отбора на уровне отдельных генов митохондриального генома

Изучение адаптаций отдельных генов начиналось с тех локусов, информации о которых было больше всего. Чаще всего ими являлись филогенетические маркеры, что и объясняло наличие отсеквенированных последовательностей у большого количества видов и внутривидовых групп. Для большинства видов млекопитающих таким локусом был митохондриальный ген цитохрома *b* (*CYTB*).

Цитохром *b* — ключевой компонент белкового комплекса *bc1*, вовлеченный в окислительноное фосфорелирование на мембране митохондрий и синтез АТФ (Tomasco, Lessa, 2014).

Синтез АТФ — важнейший метаболический процесс. Можно предположить, что вследствие такой важной функциональной нагрузки, ген в целом сохраняет консервативную аминокислотную последовательность. Тем не менее, изменения в экологии влекут за собой изменения в метаболической потребности организма в целом и клетки в частности. Это может влиять на направление естественного отбора в генных последовательностях белков, которые участвуют в биохимических путях клеточного дыхания.

Огромную работу по изучению молекулярных адаптаций у подземных грызунов продела Да Сильва с коллегами (Da Silva и др., 2009). Они провели анализ четырех семейств, включающих облигатных подземных грызунов: Ctenomyidae, Octodontidae, Bathyergidae и Geomyidae. При оценке уровня отбора в гене *CYTB* оказалось, что все проанализированные подземные виды показали более высокие значения ω по сравнению с наземными. Помимо этого, были выявлены отдельные кодоны под положительным отбором, характерные только для отдельных пар (*Ctenomys* sp. и *Spalacopus* sp.; *Ctenomys* sp. и *Heterocephalus* sp.) и две позиции, универсальные для всех подземных грызунов.

В работе Томаско (Tomasco, Lessa, 2014) у представителей родов *Ctenomys* и *Spalacopus* были исследованы уже два митохондриальных маркера: *CYTB* и вторая субъединица цитохром оксидазы (*COX2*). В них также обнаружили повышенное значение *dN/dS* у подземных видов по сравнению с сестринскими наземными.

Отдельный интерес представляют исследования подземных грызунов в условиях «двойной гипоксии»: живущих под землей на высоте около 2 тыс м. Одна из работ посвящена как раз такому грызунику: цокору *Eospalax fontanieri* Milne-Edwards, 1867, эндемичному виду с Лёссового плато Китая (Zhang и др., 2013b; Li, 1989). Три исследованные области его распространения охватывали градиент высот от уровня моря до 2 тыс м. Сравнение вариативности *CYTB* между группами показало, что у животных, обитающих в высокогорье, аминокислотное разнообразие снижено, и ген находится в консервативном состоянии под стабилизирующим отбором, т.е. практически неизменен среди высокогорных особей (следует отметить, что у видов с более низких участков ареала эта изменчивость выражена сильнее). Что интересно, при анализе ядерных генов другого высокогорного подземного вида с более высоких участков Тибета – *Myospalax baileyi* Thomas, 1911 – была обнаружена большая генетическая изменчивость и сильный полиморфизм (Cai и др., 2018).

Адаптивность гена *CYTB* была показана не только у грызунов, но и у других видов, вынужденных приспосабливаться к особым условиям обитания. Так, исследование китообразных показало у них наличие большого количества замен в матричных и трансмембранных доменах цитохрома, которые могут приводить к изменению его биохимических функций (McClellan и др., 2005). Тоже было обнаружено и для *Hominidae*. Связывают эти различия с возросшими энергетическими затратами в неокортексе (Adkins, Honeycutt, 1994). Верблюды Нового и Старого света (*Tylopoda*, Camelidae), приспособленные к принципиально другим условиям – экстремальной жаре, также имеют характерные изменения во всех трех субъединицах гена цитохромоксидазы: *COX1*, *COX2* и *COX3* (Di Rocco и др., 2006).

1.2.2. Изменение уровня отбора в митохондриальных белок-кодирующих генах

Под землей создаются условия с пониженным содержанием кислорода и повышенным содержанием углекислого газа, следовательно, клетки млекопитающих испытывают окислильный стресс из-за гипоксии (Dirmeier и др., 2002). Исследование на подземных представителях двух близкородственных групп Octodontidae и Ctenomyidae – *Ctenomys sp.* и *Spalacopus sp.* – показало наличие положительного отбора во всех митохондриальных генах, за исключением *ND3*. Количество функциональных (приводящих к изменениям в структуре белка) аминокислотных замен на сайт варьировало в зависимости от гена: от 0.03 в *COX3* до 0.38 в *ATP8* (Tomasco, Lessa, 2011). Похожие результаты были получены при исследовании пищухи *Ochotona curzoniae*, вида с Тибетского плато и живущего в условиях гипоксии. В генах *CYTB*, *COX1*, *COX2*, *ND2*, *ND3*, *ND5* и *ND6* нашли 186 замен, 15 из которых находятся в крайне консервативных позициях и остаются неизменными у всех наземных видов, взятых в анализ (Luo и др., 2008).

Исследование других млекопитающих с измененными энергетическими затратами также показывает адаптивность митохондриального генома. Летучие мыши, например, используют полет как способ передвижения, что является невероятно затратным с энергетической точки зрения. Как и у птиц, для полета летучих мышей требуется скорость метаболизма, которая в 3-5 раз превышает максимум, наблюдаемый во время тренировок у наземных млекопитающих аналогичного размера (Thomas, Suther, 1972; Maina, 2000). Оценка уровня отбора на митохондриальных генах летучих мышей показала, что количество несинонимичных замен превышает синонимичные в генах *ND2*, *ND3*, *ND4L*, *ND4*, *ND5*, *ND6* и *COX3*, а значение ω (dN/dS) достоверно выше (Shen и др., 2010).

Помимо перечисленных примеров, прямое влияние митохондриальных гаплотипов на приспособленность к различным условиям отмечено у веслоногих раков (Schizas и др., 2001), мышей (Takeda и др., 2000) и дрозофилы (Nigro, 1994; Hutter, Rand, 1995; Kilpatrick, Rand, 1995; Stordeur, 1997; Rand и др., 2001; James, Ballard, 2003).

1.2.3. Следы отбора в ядерных белок-кодирующих генах

Удешевление стоимости методик полногеномного секвенирования позволило искать молекулярные адаптации не только в митохондриальном, но и в ядерном геноме.

Поиск признаков отбора в ядерных генах у двух филогенетически далеких подземных видов – *Heterocephalus glaber* и *Spalax galili* – позволил выявить группы генов, которые потенциально могут участвовать в адаптивных процессах к подземному образу жизни: регуляция кровяного давления, гены иммунного ответа и формирования эпителия (Fang, 2015). Другие работы, проведенные как отдельно для вида *Spalax galili*, так и при сравнении *Spalax galili* с

Heterocephalus glaber и *Fukomys damarensis* Ogilby, 1838 показали группы генов (Fang, 2015), связанные с устойчивостью клеток в условиях гипоксии, редактированием РНК и ДНК, хромосомными перестройками. Они отличались по уровню отбора от набора видов, взятых для сравнения (крыса, мышь, морская свинка и человек).

Огромную работу проделала Калина Дэйвис с коллегами (Davies и др., 2018), проведя поиск молекулярных адаптаций у сильно удаленных семейств подземных млекопитающих: Rodentia (Bathyergidae и Spalacidae), Afrosoricida (Chrysochloridae), и Eulipotyphla (Talpidae). При анализе более 8 тыс. последовательностей были обнаружены от 270 до 480 генов под положительным отбором для каждой группы. Однако, универсальных генов, которые бы находились под положительным отбором у всех изученных видов, найдено не было. Функции генов, характерных для каждой группы в отдельности, часто были связаны со способностью выживать при низкой концентрации кислорода (например, *PARK7*). Помимо этого, были найдены гены, связанные со зрением, слухом и иммунной системой. В эти физиологические группы также попали 35 генов с общими параллельными заменами для всех взятых в анализ подземных видов.

Все выявленные закономерности на уровне митохондриальных геномов и ядерных генов согласуются с морфологическими и физиологическими изменениями подземных млекопитающих в целом и грызунов в частности. Из перечисленных исследований можно сделать вывод, что гены митохондриального комплекса могут быть адаптивными, не смотря на консервативные функции белков. Результаты анализов пула ядерных генов очень сильно зависят от количества видов, однако, демонстрируют общие паттерны при изучении подземных грызунов и позволяют выявить гены, которые могут быть потенциально вовлечены в процессы адаптации к подземному образу жизни. Тем не менее, исследования подобного рода на подземных представителях подсемейства полевочки почти не проводились.

1.3. Подземные грызуны подсемейства Arvicolinae

Подсемейство полевочки (Arvicolinae, Rodentia) является самым молодым среди грызунов, быстро эволюционирует и имеют огромное разнообразие форм и групп внутри себя. Полевочки освоили почти все ландшафты и типы местообитаний в Северном полушарии и демонстрируют самую быструю палеонтологически задокументированную адаптивную радиацию среди современных млекопитающих. Самые ранние полевочки известны с позднего миоцена (около 7-8 млн лет) как в Евразии, так и в Северной Америке (Robert A. Martin, 2003; Fejfar и др., 2011). Подсемейство насчитывает около 150 видов, сгруппированных по разным оценкам в 28-30 родов, относящихся к 8-10 трибам (Musser, 2005). Число современных видов в восемь раз больше, чем в сестринском подсемействе хомяков Cricetinae, которое присутствует в летописи еще с раннего миоцена (Gomes Rodrigues и др., 2012). Arvicolinae

возникли во время серии повторяющихся событий быстрого виообразования, по крайней мере, с тремя «взрывными» периодами дивергенции в течение своей эволюционной истории (Abramson и др., 2009).

Внутри группы по меньшей мере пять филогенетически далеких линий, включающих около 10 видов, демонстрируют независимый переход к подземному образу жизни. Прометеева полевка — *Prometheomys schaposchnikowi* Satunin, 1901 — представляет собой самую раннюю эволюционную линию среди всех современных полевочных и является единственной подземной формой среди так называемой первой волны радиации полевок (Abramson и др., 2009). Расхождение между *Prometheomys* и всеми другими видами внутри подсемейства, согласно молекулярному датированию, оценивается примерно в 7 млн лет. Другие подземные линии относятся к наиболее многочисленной последней волне радиации.

Слепушонки *Ellobiusini* — другие специализированные подземные грызуны подсемейства, ранее считались самыми примитивными в группе и рассматривались как самые древние ее представители или даже как полевозубые хомяки (Громов, Поляков, 1977). Неожиданный результат молекулярных исследований подсемейства (Abramson и др., 2009) показал родство слепушонок с пеструшками (*Lagurini*), серыми и водяными полевками (*Arvicolini*), что указывает на принадлежность их к последней радиации подсемейства. Таким образом, переход и специализация к подземному образу жизни произошел у слепушонок довольно поздно, в плиоцене, в отличие от *P. schaposchnikowi*. Подземные слепушонки трибы *Ellobiusini* представлены единственным родом *Ellobius* Fisher, 1814, который насчитывает пять видов в двух подродах. Ископаемые остатки трибы известны на рубеже плиоцена-плейстоцена, возрастом примерно 2,5 млн лет (Lychev, Savinov, 1974). Оценки молекулярного датирования дивергенции подродов указывают на период 4,5-4,8 млн лет (Abramson и др., 2009; Lebedev и др., 2020; Abramson и др., 2021).

Некоторые виды в пределах самой многочисленной трибы *Arvicolini* (включает по разным оценкам 60-65 видов) также демонстрируют различную степень адаптации к подземному образу жизни, в частности: *Terricola subterraneus* de Selys-Longshamps, 1836; *Terricola daghestanicus* Shidlovsky, 1919; *Mynomes pinetorum* Le Conte, 1830; *Hyperacrius fertilis* True, 1894 и *Lasiopodomys mandarinus* Milne-Edwards, 1830. Эти виды принадлежат к разным узлам в пределах трибы (Abramson и др., 2009; Martínková, Moravec, 2012; Abramson и др., 2021) и не являются потомками одного ближайшего общего предка. Сестринские таксоны каждого вида — обитающие на поверхности или ведущие роющий образ жизни, что указывает на независимый многократный переход под землю.

Морфологически все перечисленные виды в разной степени адаптированы к подземному образу жизни. Так, ротовой аппарат и передние конечности *Prometheomys* позволяют проследить изменение ниши на подземную, но резцы не изолированы губами и не выдаются вперед. Когти передних конечностей, кроме переднего пальца, удлинены. Слепушонки приобретают более явные адаптации: очень маленькие глаза, отсутствие ушной раковины, сильно выступающие резцы и изолирование ротового отдела губами (Громов, Поляков, 1977).

Hyperacrius обитает в Западных Гималаях на высотах от 1900 до 3600 м над ур.м. Вид считается подземным (или полуподземным), имея густой, короткий и не дифференцированный мех в качестве адаптивного признака (Громов, Поляков, 1977). У полевочных рода *Terricola* переход к подземному образу жизни привел к появлению короткого густого меха, маленьким глазкам, коротким ушным раковинам, скрытым в мехе, и снижению уровня базового обмена (Громов, Поляков, 1977). У других полевочных, считающихся подземными или полу-подземными, ярко выраженных морфологических адаптаций нет.

1.3.1. Изучение молекулярных адаптаций подземных полевочных

Несмотря на очень интенсивную историю исследования подсемейства с применением молекулярных методов, мало что известно относительно молекулярных механизмов их быстрой адаптивной радиации. За относительно недолгий период эволюции этой группы ее представители неоднократно переходили к жизни под землей. Предыдущие исследования молекулярных адаптаций к подземному образу жизни выполнялись на немногочисленных и полностью подземных представителях филогенетически далеких таксонов из разных семейств и подотрядов (слепыши, землекопы, тuco-tuco). Полевки, в свою очередь, предоставляют уникальные возможности для тестирования гипотез об универсальности молекулярных механизмов адаптаций к подземному образу жизни за счет сравнения близкородственных пар подземных и наземных видов в пределах одного семейства и филогенетически удаленных подземных видов.

Среди подземных полевочных в плане молекулярных адаптаций изучен только вид *Lasiopodomys mandarinus*: авторы (Sun и др., 2018b) изучили эволюцию генов *CLOCK* и *BAML1*, вовлеченных в циркадные ритмы. Однако, они не обнаружили следов конвергентной эволюции при сравнении с *Heterocephalus glaber*, *Fukomys damarensis* и несколькими видами рода *Spalax*. Затем исследование продолжили, но уже с генами *PER* и *CRY*, также вовлеченными в регуляцию циркадных ритмов (Sun и др., 2018a). В этих генах авторы обнаружили сайты под положительным отбором у представителей *Fukomys damarensis* и видов рода *Spalax*. Цикл изучения циркадных ритмов завершился анализом экспрессии перечисленных генов в глазах и гипоталамусе (Sun и др., 2020), показав различия между *L. mandarinus* и *Lasiopodomys brandtii* Radde 1861. В 2020 году та же группа авторов провела уже сравнение транскриптомов (Dong и др., 2020) между этими видами в поиске молекулярных адаптаций к гипоксии, которая возникает при подземном образе жизни. В результате были обнаружены группы генов с измененной экспрессией, связанных с гипоксией и иммунной системой.

Несмотря на то, что в подсемействе есть другие виды, которые независимо перешли к подземному образу жизни, исследования их молекулярных адаптаций не проводилось. Также не проводились сравнения и анализ конвергенции молекулярных признаков с другими более эволюционно древними подземными грызунами.

2. Материалы и методы

2.1. Материал

Работа включает в себя поиск следов отбора к подземному образу жизни на нескольких уровнях: отдельном митохондриальном филогенетическом маркере *CYT B*, полных митохондриальных геномах и ядерных генах. Количество видов, взятых в анализ на каждом из этапов, различается из-за доступности материала и количества данных, выложенных в открытый доступ в базе данных GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). Ген *CYT B* был выбран как самый распространенный филогенетический маркер и, следовательно, дал возможность взять в анализ большое количество подземных и наземных видов. В каждом случае мы использовали максимально репрезентативную филогенетическую выборку из доступных на момент исследования видов для адекватного таксономического контекста. Все виды, использованные в каждом из анализов, ссылки на номера сиквенсов в базе данных GenBank приведены в Приложении А.

2.2. Выделение ДНК

Образцы мышечной ткани хранили в 96% этаноле при -20 °С в коллекции тканей и ДНК лаборатории эволюционной геномики и палеогеномики Зоологического института РАН. Все сиквенсы, проанализированные в рамках данной работы, были получены из материала коллекции или из открытой базы данных GenBank.

2.2.1. Для амплификации отдельных генов методом Сенгера

Геномную ДНК выделяли с использованием стандартного протокола солевой экстракции (Miller и др., 1999). Выделение проводили в специально оборудованной лаборатории эволюционной геномики и палеогеномики ЗИН РАН на Английском проспекте, 32 (Санкт-Петербург, Россия).

2.2.2. Для секвенирования методом NGS

Гомогенизацию тканей выполняли с использованием ступки и пестика или Qiagen TissueLyser LT (Qiagen). Геномную ДНК экстрагировали с помощью Diatom DNA Prep

200 (Isogen, Россия). Выделение проводилось в помещении, изолированном от пост-ПЦР-установок, с использованием рабочей станции для ПЦР (LAMSYSTEMS CC). Все инструменты, рабочая поверхность и пластмассы были стерилизованы УФ-светом и хлорамином-Т, чтобы избежать загрязнения. Ультразвуковая фрагментация общей геномной ДНК проводилась с использованием сфокусированного ультразвукового прибора Covaris S220 (Covaris). Полученные фрагменты очищали и концентрировали с использованием парамагнитной химии на основе гранул AMPure XP (Beckman-Coulter), применяя стандартные протоколы. Концентрацию ДНК оценивали флуориметром Qubit (Thermo Fisher). Выделение ДНК проводили в центре коллективного пользования в области геномики Сколтеха (<https://www.skoltech.ru/research/en/shared-resources/gcf-2/>).

2.3. Выделение РНК

Образцы смешанных тканей (мышцы, печень, селезенка, семенники) от пойманых в ловушки животных хранили в фиксаторе intactRNA (Евроген, Россия) в коллекции тканей и ДНК лаборатории эволюционной геномики и палеогеномики ЗИН РАН.

Выделение РНК из тканей производилось с использованием набора RNeasy mini kit (Qiagen) по протоколу для клеток животных (animal cells/spin) со следующими модификациями: 1) на шаге 4 добавляли 0,5 объема 96% EtOH; 2) после добавления спирта помещали пробирку в термостат на 37 °С на 2 минуты, 3) элюция проводилась в 30 мкл воды, очищенной от РНКаз. Гомогенизацию проводили при помощи растирания пестиком в ступке в жидком азоте. Целостность РНК (RIN) определяли с помощью капиллярного электрофореза на приборе Bioanalyzer 2100 (Agilent). Для дальнейшей работы использовали образцы с RIN не менее 7. Выделение РНК проводили в центре коллективного пользования в области геномики Сколтеха (<https://www.skoltech.ru/research/en/shared-resources/gcf-2/>).

2.4. Амплификация отдельных генов методом полимеразной цепной реакции (ПЦР)

В первой части работы для лучшего разрешения филогенетического дерева Arvicolinae, необходимого для анализа изменчивости гена *CYT B*, наряду с самим геном были использованы и семь ядерных генов: ген рака груди 1 (*BRCA1*), экзон 11; ген рецептора гормона роста (*GHR*), экзон 10; фрагмент гена лецитин-холестерин-ацилтрансферазы (*LCAT*), экзоны 2-5 и интроны 2-4; ген белка-супрессора опухолей (*PT53*), экзоны 5-7 и интроны 5-6; ген интерфоторецепторного ретиноид-связывающего белка (*IRBP*); ген фактора фон Виллебранда

(*vWF*), экзон 28; и ген кислой фосфатазы типа V (*Acp5*), экзоны 2 и 3. Все использованные праймеры перечислены в таблице 1. Условия амплификации использовали без изменений согласно опубликованным в источниках.

Таблица 1. Праймеры, использованные в работе. Внутренние праймеры для секвенирования помечены (*).

Ген	Праймер	Последовательность (5' - 3')	Ссылка
<i>CYTB</i>	L14729	GACATGAAAAATCATCGTTGTTATT	Lebedev и др., 2007
	H15985	TAGAATGTCAGCTTGCGGTGCT	Ohdachi и др., 2001
<i>BRCA1</i>	F180_arv	CGGAACAGATGGGCTGAAAGTAAAG	Bannikova и др., 2013
	R1240_arv	GGCATCTGCTGCAGGTTCTGTGT	
<i>GHR</i>	arv_F	GGCGTTCATGACAACACTACAAA	Abramson и др., 2009
	arvic_R	ATAGCCACACGAGGAGAGGAAC	
<i>LCAT</i>	LCAT F	CACCATCTCCTGGATCTCAA	Abramson и др., 2009
	LCAT R	AAGAAATAACAGCACATGTAGGCA	
<i>PT53</i>	p53 2F	TYCCCCTCAATAAGCTRTTCTGCCA	Petrova и др., 2016
	p53 3R	GT TTATGCC CCCC ATGCAGA	
<i>IRBP</i>	A3	CTGATGGGAATGCAAGCAGC	Petrova и др., 2016
	IPL*	GACATCGCCTACATCCTCAAGCA	
	IPR*	CTCAGCTTCTGSAGGT CYAGG	
	B2a	ATGAGGTGYTCYGTGTCTG	
<i>vWF</i>	V1	TGTSAACCTYACSTGTGAAGCCTG	Poux и др., 2006
	VIF*	CTACCTCTGTGACCTTGCCCCCTGA	
	VIR*	TCAGGGCAAGGTACAGAGGTAG	
	W1	TGCAGGACCAGGT CAGGAGCCTCTC	
<i>Acp5</i>	AP5-120fwd	AATGCC CATTCCACACAGC	Steppan, Schenk, 2017
	AP5-564rev	CCCGGGAAATGGCCAATG	

2.5. Секвенирование

2.5.1. Секвенирование методом Сенгера

Очистку ПЦР-продуктов проводили с использованием набора Omnipix («Омникс», Россия). ПЦР-продукты секвенировали в обоих направлениях с использованием ABI BigDye версии 3.1. на автоматическом капиллярном секвенаторе Genetic Analyzer 3130 (Applied Biosystems) в компании Евроген (<https://evrogen.ru/>).

2.5.2. Получение коротких чтений (ридов) методом NGS

Получение чтений для сборки митохондриальных геномов

Для подготовки библиотек ДНК был использован набор NEBNext Ultra II DNA Library Prep Kit for Illumina (New England Biolabs). Приготовление производилось по протоколу со следующими изменениями: 1) очистка на магнитных частицах после лигирования проводилась по пункту 3В (without size selection) в соотношении объем образца к объему магнитных частиц – 1:0,9; 2) число циклов в ПЦР – 10. Полученные в результате ПЦР продукты были очищены и концентрированы при помощи магнитных частиц в соотношении объем образца к объему магнитных частиц – 1:0,9. Элюция проводилась в 20 мкл бидистиллированной воды. Концентрация образцов измерялась на флуориметре Qubit. Проверка качества полученных библиотек проводилась при помощи Bioanalyzer 2100 Agilent с помощью набора DNA High Sensitivity kit.

Секвенирование проводили на приборе HiSeq4000 (Illumina) со следующими параметрами: длина чтения – 75 п.н., парные чтения. Демультиплексирование и перевод данных в формат fastq производили с помощью программы bcl2fastq2. Секвенирование проводили в центре коллективного пользования в области геномики Сколтеха (<https://www.skoltech.ru/research/en/shared-resources/gcf-2/>).

Получение чтений для сборки транскриптомов

Для выделения полиА-РНК из общей фракции РНК и дальнейшей подготовки использовался совмещенный протокол набора NEBNext Poly(A) mRNA Magnetic Isolation Module и набора NEBNext Ultra II Directional RNA Library Prep Kit for Illumina (<https://international.neb.com/protocols/>). Подготовка производилась по протоколу со следующими модификациями: 1) фрагментация образцов проводилась при 94°C 10 минут; 2) синтез первой цепи шел со следующими параметрами: 25°C – 10 минут, 42°C – 30 минут, 70°C – 15 минут; 3) очистку и концентрирование ДНК проводили при помощи магнитных частиц Ampure XP. Элюция делалась бидистиллированной водой; 4) число циклов в ПЦР – 10 или 15, в зависимости от исходной концентрации РНК. Концентрация образцов измерялась на флуориметре Qubit. Проверка качества полученных библиотек проводилась при помощи Bioanalyzer 2100 Agilent с помощью набора DNA High Sensitivity kit.

Секвенирование проводили на приборе HiSeq4000 (Illumina) со следующими параметрами: длина чтения – 75 п.н., парные чтения. Демультиплексирование и перевод данных в формат fastq производили программой bcl2fastq2. Секвенирование проводили в центре коллективного пользования в области геномики Сколтеха (<https://www.skoltech.ru/research/en/shared-resources/gcf-2/>).

2.6. Сборка и аннотация

2.6.1. Митохондриальные геномы

Качество сырых чтений оценивали программой FastQC (Andrews, 2010). Очистка от адаптеров или фрагментов с низким качеством проводилась с помощью программы Trimmomatic (Bolger и др., 2014).

Поскольку выделение ДНК *Hyperacrius fertilis* производилось из коллекционных образцов прошлого века, это могло сказать на качество отсеквенированных последовательностей. Для оценки качества ридов в этом случае дополнительно использовали программу mapDamage 2.0 (Jónsson и др., 2013), отображающую паттерны неправильного включения нуклеотидов и процессов дезаминирования. Это происходит в результате серьезного повреждения ДНК, которое продолжается после смерти организма.

Сборка *de novo* осуществлялась программой plasmid SPAdes (Bankevich и др., 2012) с настройками по умолчанию. Полученные контиги были отфильтрованы по длине. Для дальнейшей аннотации отбирали контиг с наибольшим сходством по размеру с митохондриальной ДНК (для млекопитающих примерно 16 т.п.н.). Контиги были аннотированы в веб-сервере MITOS (Bernt и др., 2013) с настройками по умолчанию и учетом митохондриального генетического кода позвоночных. Границы генов были проверены и уточнены при сравнении с 21 опубликованной последовательностью митохондриального генома Arvicolinae. Все позиции с низким качеством и покрытием, а также фрагменты, сильно отличающиеся от ранее опубликованных митохондриальных геномов Arvicolinae, были заменены на N вручную. Последовательности белок-кодирующих генов проверяли на содержание преждевременных стоп-кодонов вручную.

2.6.2. Транскриптомы

Качество сырых чтений оценивалось в FastQC (Andrews, 2010). Очистка от адаптеров или фрагментов с низким качеством проводилась программой Trimmomatic (Bolger и др., 2014). В работу брали риды только качеством выше 28-29. Транскриптомы собирали стандартным пакетом Trinity (Grabherr и др., 2011) с настройками по умолчанию. Поиск кодирующих участков собранных транскриптов проводили в Transdecoder (<https://github.com/TransDecoder/>). Полученные последовательности очищали от химерных генов программой DIAMOND (Buchfink и др., 2015), беря для сравнения белковую базу NCBI (nr). Ортологичные гены определяли с помощью Proteinortho (Lechner и др., 2011). Полученные ID ортологичных генов анализировали в статистической среде R 3.4.4 (R Core Team,

2017), оставляя только универсальные однокопийные ортологи: те гены, которые встречаются в одной копии у всех взятых в анализ видов.

2.7. Выравнивание

Последовательности генов *CYTB* и полных митохондриальных геномов были выровнены с помощью программы Mauve 1.1.1 (Darling, 2004), реализованной как плагин Geneious Prime 2019.1 (<https://www.geneious.com>). Конкатенированная последовательность 13 белок-кодирующих митохондриальных генов была отдельно выровнена с использованием MAFFT 7.222 (Katoh, Standley, 2014).

Ядерные ортологичные гены по отдельности были выровнены программой prank (<http://wasabiapp.org/software/prank/>) с учетом триплетности кодирующей последовательности. Общие для всех фрагменты выравнивания редактировали вручную. Выравнивания конкатенировали в единую последовательность скриптом на языке программирования Python3.

2.8. Оценка нуклеотидного состава митохондриальных геномов

Базовый нуклеотидный состав (процентное содержание каждого из нуклеотидов) был рассчитан в Geneious Prime 2019.1 (<https://www.geneious.com>). Смещение (GC-skew) было оценено как $CG_{skew} = \frac{C-G}{C+G}$ (Arabi и др., 2010; Hassanin и др., 2005) с помощью пакета BioSeqUtils в BioPython (Cock *et al.*, 2009), Python 3.0.

2.9. Филогенетическая реконструкция

2.9.1. По гену *CYTB* и семи ядерным генам

Для анализа изменчивости *CYTB* было построено филогенетическое дерево на основе конкатенированных гена *CYTB* и семи ядерных генов (*BRCA1*, *GHR*, *LCAT*, *PT53*, *IRBP*, *vWF*, *Acp5*). Наилучшее соответствие нескольких моделей замены для каждого гена оценивалось с помощью Treefinder (Jobb и др., 2004) в соответствии с скорректированным информационным критерием Акаике (AICc). Байесовский анализ был проведен на основе конкатенированного выравнивания семи генов с указанием их границ в программе MrBayes 3.2.6 (Ronquist и др., 2012). Каждый анализ начинался со случайных деревьев, и два независи-

мых прогона с 4 Марковскими цепями Монте-Карло (МСМС) выполнялись для 5 миллионов поколений, с выборкой каждого 1000-го поколения. Стандартные отклонения разделенных частот были ниже 0.01, потенциальные коэффициенты уменьшения масштаба были равны 1.0, а сходимость оценивали с помощью статистики ESS в Tracer v1.6 (Rambaut и др., 2014). Консенсусное дерево было построено на основе деревьев, отобранных после 25% отжига.

2.9.2. По митохондриальным геномам

Для оценки уровня и направления отбора в митохондриальных генах была создана филогенетическая реконструкция, включавшая 57 видов подсемейства полевочных и 6 видов в качестве внешней группы. Реконструкция проводилась в программе MrBayes 3.2.2 (Ronquist и др., 2012), используя 13 белок-кодирующих генов (11 417 п.н.). Внешней группой были выбраны: *Akodon montensis* Thomas, 1913; *Peromyscus megalops* Merriam, 1898; *Cricetulus griseus* Milne-Edwards, 1867; *C. kamensis* Satunin, 1903; *C. longicaudatus* Milne-Edwards, 1867; *C. migratorius* Pallas, 1773.

Были заданы следующие параметры анализа: nst=mixed и гамма-распределение скоростей замен между сайтами, использовалось деление на партиции по генам. Каждый анализ начинался со случайных деревьев, и два независимых прогона с 4 Марковскими цепями Монте-Карло (МСМС) выполнялись для 5 миллионов поколений, с выборкой каждого 1000-го поколения. Стандартные отклонения разделенных частот были ниже 0.01, потенциальные коэффициенты уменьшения масштаба были равны 1.0, а сходимость оценивали с помощью статистики ESS в Tracer v1.6 (Rambaut и др., 2014). Консенсусное дерево было построено на основе деревьев, отобранных после исключения первых 25%. Дерево визуализировали в программе FigTree v1.4 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

2.9.3. По ортологичным ядерным генам

Конкатенированное выравнивание ортологичных генов было очищено от неинформативных сайтов программой Gblocks (Castresana, 2000). Деревья были построены по очищенному выравниванию с помощью программы RAxML (Stamatakis, 2014) с 500 репликами бутстрепа. Консенсусное дерево выведено методом Majority Rule.

2.10. Оценка аминокислотных замен и их распределения

2.10.1. Цитохром *b*

Достоверные физико-химические аминокислотные изменения между остатками в *CYTB* были обнаружены с использованием модифицированной модели MM01, реализованной в TreeSAAP v3.2 (Woolley и др., 2003). Восемь категорий (1 – 8) использовались для представления уровня влияния замен, из которых категории от 6 до 8 указывают на наиболее сильное влияние (McClellan, McCracken, 2001). Достоверные значения (категории 6-8, *p.value* <0,001) были оценены как признак значимого изменения функции белка.

Распределение синонимичных и несинонимичных замен было рассчитано между подземными и наземными видами на каждом участке отдельно и объединено по координатам доменов. Достоверность частоты замен оценивали с помощью точного критерия Фишера и поправки на множественное сравнение методом Холма-Бонферрони. Все расчеты проводились в программе R v.3.4.4. Координаты доменов были получены на сайте UniProt по координатам *CYTB Mus musculus*: <https://www.uniprot.org/uniprot/P00158>.

Частоты использования аминокислот для каждой позиции гена *CYTB* определяли с использованием всех последовательностей для выбранных видов, чтобы учесть внутривидовые вариации. Этот набор данных включал все имеющиеся последовательности в базе данных GenBank по всем взятым в анализ видам на август 2020 года. Аминокислотные паттерны были рассчитаны с использованием скрипта на Python 3. Тест Фишера для сравнения частот считали с учетом неравных размеров выборки, поправку на множественное сравнение проводили методом Холма-Бонферрони в статистической среде R.

2.10.2. Митохондриальные геномы и транскриптомы

Оценка паралельных аминокислотных замен проводилась программой ProtParCon (github.com/iBiology/ProtParCon) с дальнейшим поиском аминокислот, характерных только для подземных грызунов. Поиск осуществлялся с помощью рукописного скрипта на языке программирования Python 3. Оценку достоверности обнаруженных замен проводили с помощью функции ProtParCon с дальнейшей поправкой Холма-Бонферрони на множественное сравнение вручную в статистической среде R.

2.11. Оценка уровня отбора

Количество несинонимичных (dN) и синонимичных (dS) замен, а также ω (их соотношение) были рассчитаны несколькими способами:

- С использованием codeml, реализованного в ete-toolkit (Huerta-Cepas и др., 2016). Для каждого подземного вида (или группы видов) был проведен отдельный анализ. Подразделение на анализируемые группы производилось по принципу выбора филогенетически ближайших наземных таксонов для сравнения ω и более удаленных как внешняя группа. Для каждого подземного вида было проведено несколько анализов: с использованием модели со свободными ветвями (b_free , где ω_{frg} и ω_{bkg} свободны), нейтральной модели (b_neut , где ω_{frg} фиксировано равно единице) и модели M0, где все ветви изменяются с одинаковой скоростью. Для сравнения различных моделей рассчитывали likelihood-ratio test (LRT). Сравнение моделей b_free и M0 показывает, отличаются ли по уровню замен выделенные ветви (подземные полевочки) от остальной части дерева (наземные полевочки). Значения 999 и 0,001 были расценены как ошибки.
- Программой RELAX. Эта система проверки гипотез анализирует, ослаблен или усилен отбор на выделенных ветвях. Достоверное значение коэффициента $K > 1$ указывает на то, что уровень отбора увеличен, в то время как $K < 1$ — на его ослабление (Wertheim и др., 2015).
- Алгоритмом aBSREL, который позволяет определить оптимальное число ω и выявить отдельные ветви, которые находятся под отбором (Smith и др., 2015).

2.12. Моделирование и визуализация третичной структуры белка *cytb*

Общая архитектура митохондриальных комплексов незначительно различается по кристаллическим структурам (Crowley и др., 2008; Hunte и др., 2000), что оправдывает моделирование по гомологии. За основу брали модель кристаллической структуры *Bos taurus* Linnaeus, 1758 с разрешением 2,4 Å (1NTM (Gao и др., 2003)). Программа modeller 9.22 (Webb, Sali, 2016) использовалась для создания структур комплекса протоколом автомоделирования с настройками по умолчанию. Моделирование было основано на последовательностях *Lemmus sibiricus* Kerr, 1792 и *Ellobius lutescens* Thomas, 1897. Замены были проанализированы визуально в PyMOL v.2.0 (Schrödinger, LLC). Трансмембранные участки комплекса оценивали с помощью веб-сервера OPM (Lomize и др., 2012).

2.13. Предсказание сайтов фосфорилирования

Для предсказания изменения статуса фосфорилирования были использованы веб-серверы NetPhos 3.1 Server (<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetPhos/>, Blom и др., 2004) и GPS 5.0 (<http://gps.biocuckoo.cn/online.php>, Xue и др., 2011). Оценка вероятности NetPhos 3.1 определяется в диапазоне 0,00-1,00. Значения выше 0,50 указывают на наличие фосфорилирования.

2.14. Репозиторий

Все рукописные скрипты, использованные для анализа данных секвенирования геномной ДНК и РНК, проведения расчетов и запуска программ, доступны в репозитории: https://github.com/ZaTaxon/work_skripts.

3. Результаты

3.1. Поиск следов отбора в гене *CYT B*

На первом этапе мы использовали 62 последовательности гена *CYT B* представителей всех основных родов и триб Arvicolinae. Среди них были почти все филогенетически неродственные виды, перешедшие к существованию в подземной среде: представители рода *Ellobius*, *P. schaposchnikowi*, *L. mandarinus*, *T. subterraneus* и *M. pinetorum*. Сравнение проводилось с наземными видами из 22 родов (рис. 1 и приложение А).

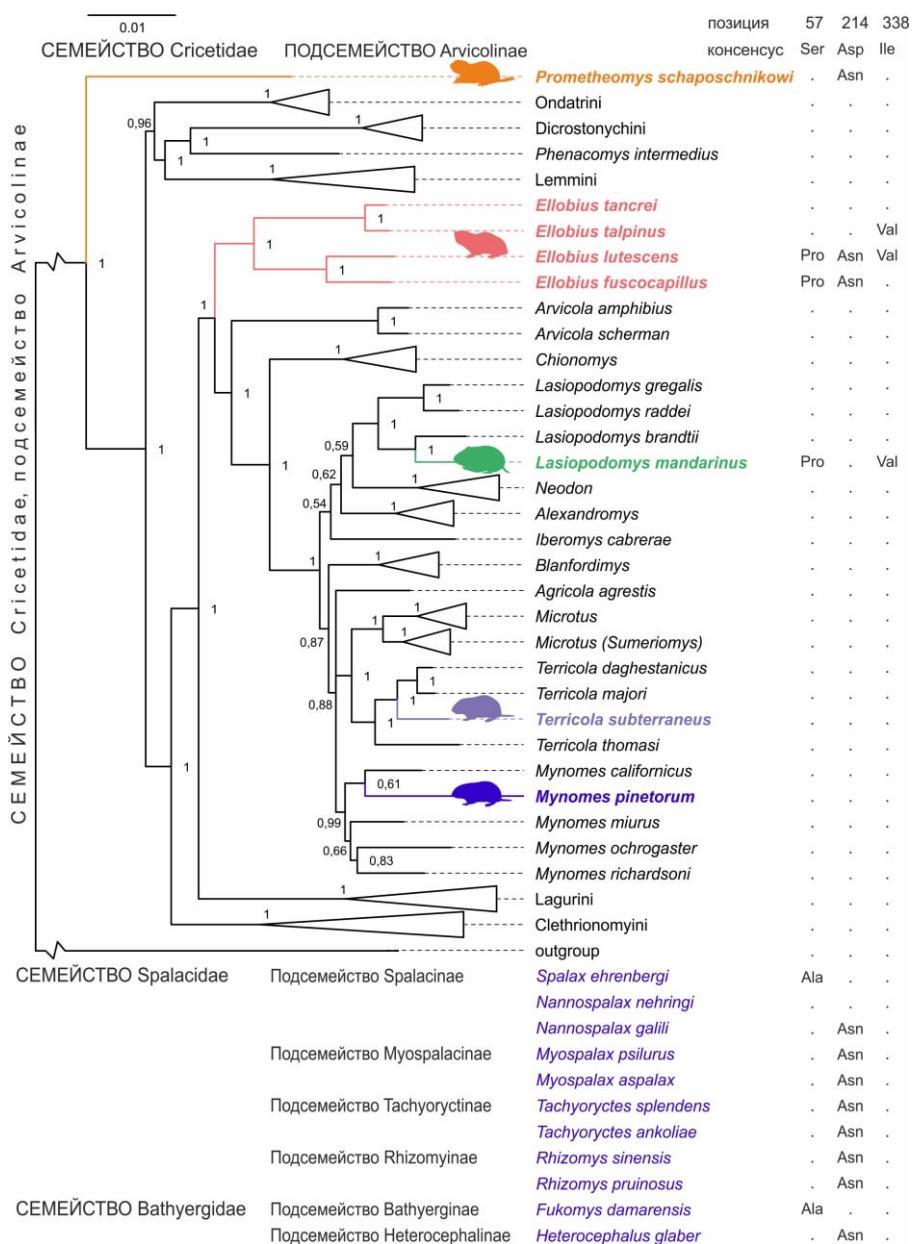


Рисунок 1. Филогенетическое дерево взятых в анализ видов. Указаны аминокислотные замены, характерные для подземных видов. Подземные виды отмечены цветом.

3.1.1. Оценка частоты несинонимичных замен

Мы рассчитали распределение замен в каждом сайте *CYTB* отдельно и объединили по координатам доменов. Анализ по сайтам показал три позиции (таблица 2) с достоверно более высокими значениями частоты несинонимичных замен у подземных видов: 4, 237 и 241. Кроме того, в позиции 236 достоверно повышена частота синонимичных замен. Сравнение распределение замен по целым доменам (таблица 3, рис. 2) выявило достоверные различия в уровне частот в мембранных доменах 1, 2, 5 и 9 и трансмембранных доменах 5 и 7 для несинонимичных замен (рис. 2 А, рис. 3); и мембранном домене 6 и трансмембранном домене 5 для синонимичных замен (рис. 2 В).

Таблица 2. Сайты в гене *CYTB* с достоверной разницей в частоте замен между подземными и наземными видами. NS – несинонимичные замены, S – синонимичные замены, Fs – значения p.value при сравнении точным критерием Фишера, Holm – значения p.value после поправки Холма-Бонферрони на множественные значения.

Тип замен	Позиция	Подземные	Наземные	Fs	Holm
NS	4	0.875	0.1296	0.000049	0.023
NS	237	0.75	0.07	0.000084	0.038
NS	241	0.75	0.07	0.000084	0.039
S	236	1	0.148	0.0000038	0.002

Таблица 3. Домены в гене *CYTB* с достоверной разницей в частоте замен между подземными и наземными видами. NS – несинонимичные замены, S – синонимичные замены, Fs – значения p.value при сравнении точным критерием Фишера, Holm – значения p.value после поправки Холма-Бонферрони на множественное тестирование, Memb – мембранный домен, TM – трансмембранный домен.

Домены	Подземные	Наземные	Тип замен	Fs	Holm
Memb1	0.45	0.097	NS	0.00000033	0.000011
Memb2	0.33	0.043	NS	0.00001176	0.000365
Memb5	0.263	0.047	NS	0.00033176	0.008957
Memb9	0.52	0.15	NS	0.00005434	0.001522
TM5	0.64	0.10	NS	0.00000001	0.000000
TM7	0.29	0.06	NS	0.00004166	0.001208
Memb6	0.40	0.19	S	0.00000012	0.000004
TM5	0.42	0.19	S	0.00002733	0.000820

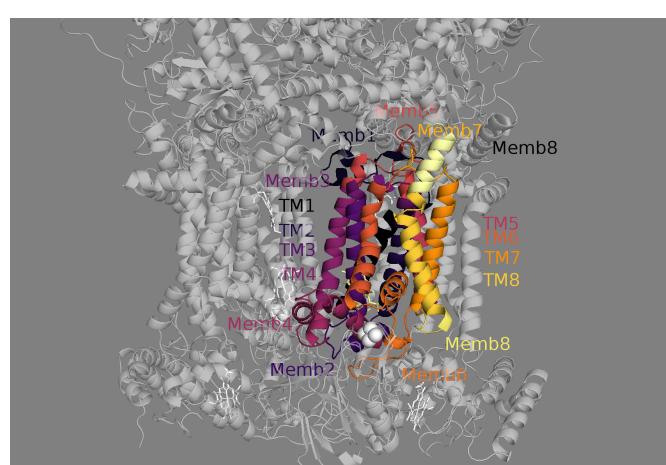
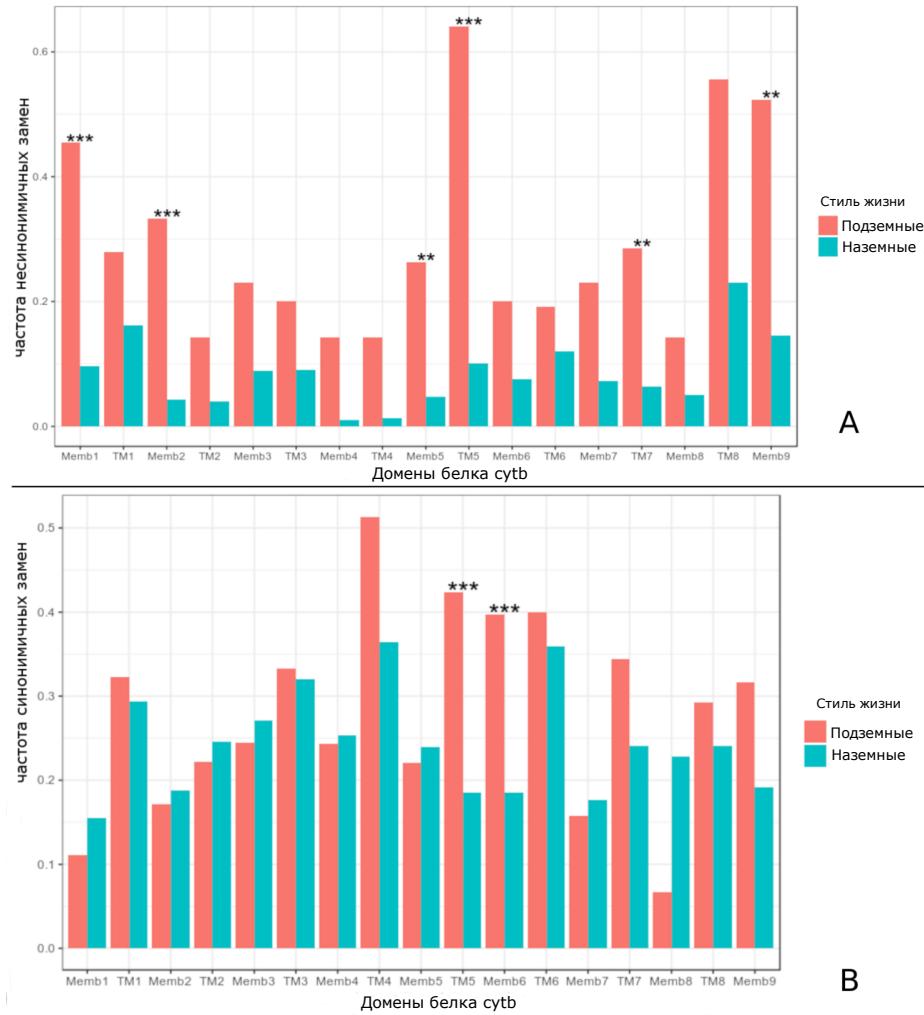


Рисунок 3. Структурное положение доменов с достоверно повышенной частотой несинонимичных замен в белке цитохрома *b*. Memb – мембранный домен, TM – трансмембранный домен.

3.1.2. Поиск параллельных аминокислотных замен

При анализе изменчивости гена *CYTB* мы нашли три параллельные замены, характерные для подземных грызунов: Ser57Pro, Asp₂₁₄Asn и Пе338Val (рис. 1). Замена Asp₂₁₄Asn была обнаружена также и у специализированных подземных грызунов из других семейств.

Замена серина на пролин в остатке 57 у подземных грызунов потенциально удаляет сайт фосфорилирования. Мы использовали два разных метода, чтобы оценить статус фосфорилирования этого сайта. Сервер NetPhos 3.1 предсказал фосфорилирование киназой *CDC2* с оценкой 0,518. GPS 5.0 выявил киназы *AGC*, *PKN* и *PKN1* с оценкой 65,363. Предсказания киназ не согласуются друг с другом, однако все прогнозы указывают на высокую вероятность фосфорилирования этого сайта. Те же методы не предсказывали фосфорилирование для Asp214Asn, и, насколько нам известно, ни Ile, ни Val в позиции 338 не могут быть фосфорилированы.

Нуклеотидная замена в кодоне 338 (ATT> GTT), приводящая к замене Ile338Val, была обнаружена как вероятный патоген в базе данных ClinVar и связана с раковыми процессами: www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/143898/.

Мы смоделировали третичную структуру белка цитохрома, чтобы изучить возможный структурный эффект замен (рис. 4 A). Согласно ей, Ser57 обращен к межмембранныму пространству митохондрий. Он расположен на неструктурированном сегменте петли, охватывающей остатки 54–60. Эта петля контактирует с той же петлей на втором мономере цитохрома *bc1* в комплексе (рис. 4 B). В отличие от Ser57Pro, замена Asp214Asn находится на петле, обращенной к матрице митохондрии. Он контактирует с N-концом субъединицы VII комплекса убихинол-цитохром с редуктазы III (UQCRQ) (рис. 4 C). Замена Ile338Val находится на границе раздела α -спиралей в трансмембранный области комплекса (рис. 4 D). Смоделированная структура показывает, что эта замена благоприятствует другому ротамеру Ile350, который соседствует с остатком 58 UQCRQ.

Для рассмотрения внутривидового аминокислотного полиморфизма в сайтах, выявленных программой TreeSAAP, был взят расширенный набор данных: 6 059 последовательностей *CYTB* для наземных видов и 131 – для подземных. Он включал в себя все, что было в базе данных GenBank по взятым в анализ видам на август 2020 года. Сравнение частот использования аминокислот в каждой позиции белка выявило более 60 сайтов с достоверными различиями между подземными и наземными видами (рис. 5, таблица 15). Среди них были обнаруженные в ходе анализа TreeS AAP позиции 57 и 338.

3.1.3. Оценка уровня отбора

Оценка значений ω (отношение dN/dS) у взятых в анализ видов показала общую тенденцию к ослаблению уровня отбора у подземных грызунов при сравнении их с филогенетически близкими наземными видами (рис. 6)

Достоверные отличия получены в результатах работы программы codeml для видов рода *Ellobius*, *Lasiopodomys mandarinus* и *Terricola subterraneus*. Почти у всех подземных видов наблюдаются более высокие значения ω по сравнению наземными, за исключением *T. subterraneus* (таблица 4). Эта разница варьирует от одного (для *Myomomys pinetorum*) до пяти

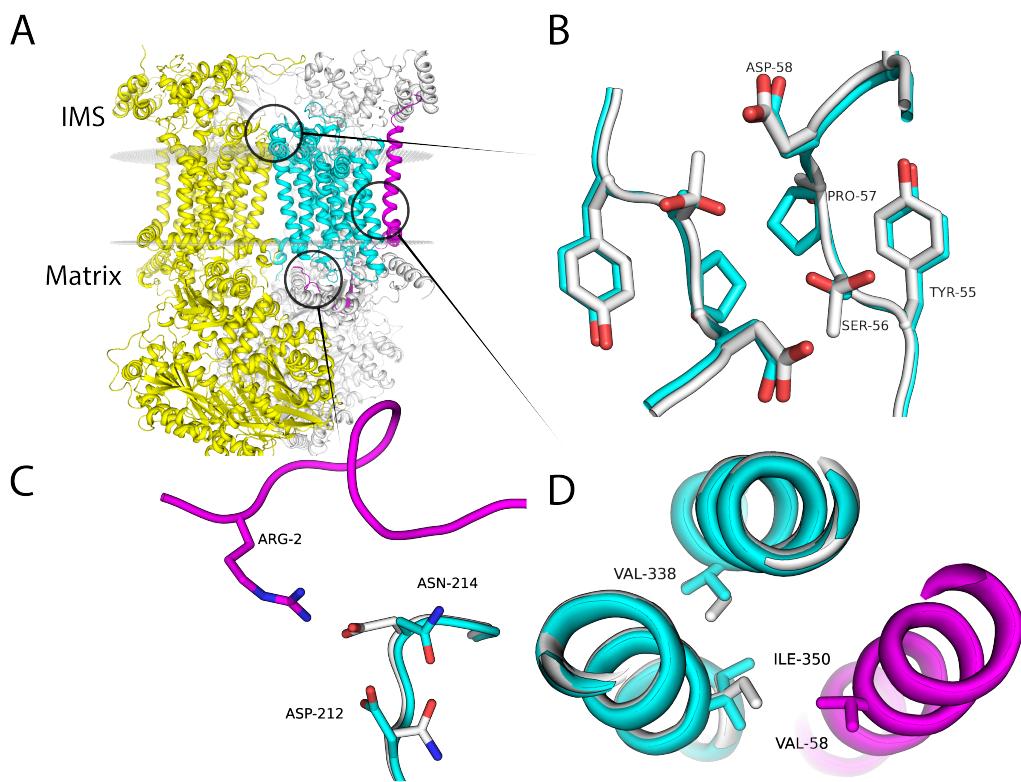


Рисунок 4. Структурная модель замен в комплексе цитохрома *bc1*. **A.** Обзор гомодимера цитохрома *bc1*. Цитохром Б — голубой, UQCRQ - пурпурный. Второй мономер окрашен в желтый цвет. Места замены выделены кружками. IMS — межмембранные пространство. **B.** Увеличенные структуры *E. lutescens* и *L. sibiricus*, показывающие замену Ser57Pro. Модель *E. lutescens* голубая, *L. sibiricus* — белая. **C.** Замена Asp214Asn и его взаимодействие с N-концом UQCRQ (пурпурный). **D.** Замена Ile338Val и соседняя цепочка UQCRQ (пурпурный).

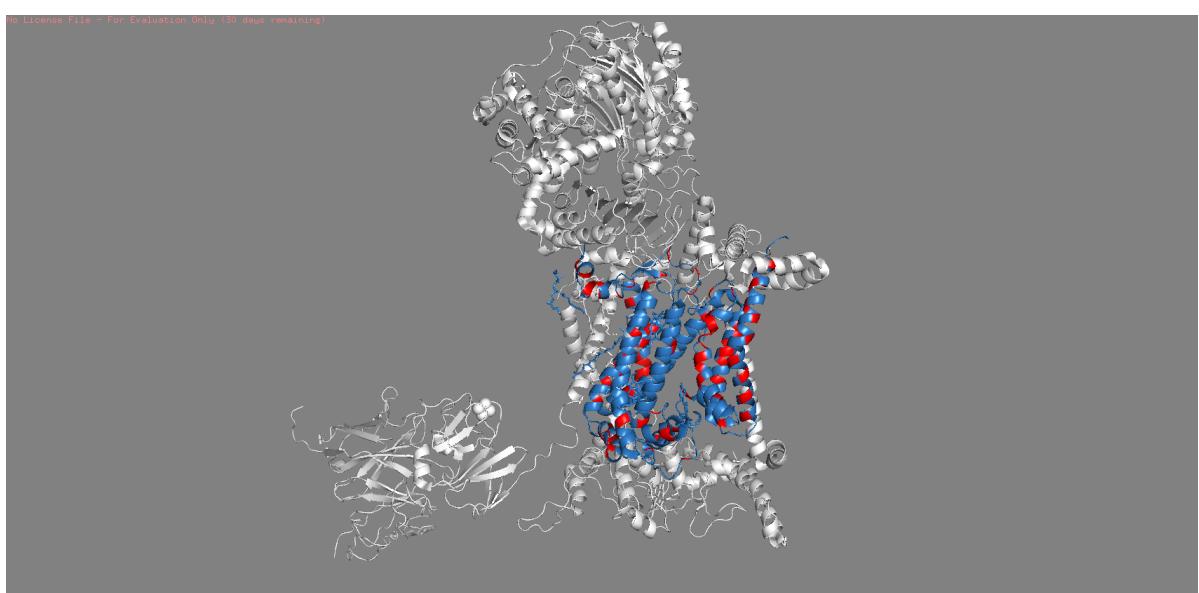


Рисунок 5. Структурная модель замен в белке цитохрома *b*. Синим цветом отмечен белок цитохрома, красным — сайты с достоверным отличием в частоте использования аминокислот у наземных и подземных грызунов.

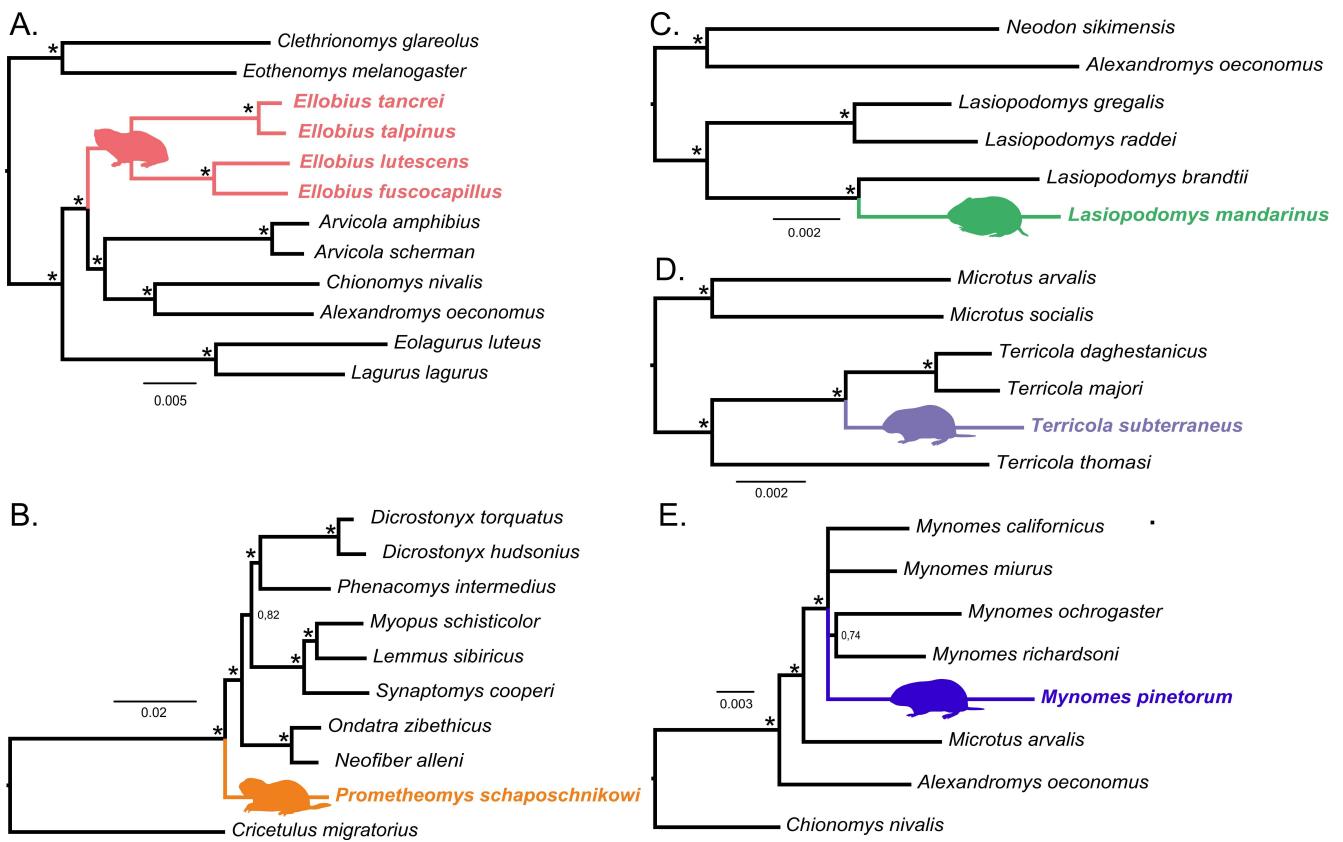


Рисунок 6. Филогенетические деревья, использованные для оценки отбора по отдельным ветвям. Подземные виды отмечены цветом. Звездочки (*) обозначают апостериорные байесовские вероятности 0.95 – 1.0.

раз для *Lasiopodomys mandarinus*. Тесты сравнения с нейтральной моделью (*b_neut*, таблица 4) показали, что нуклеотидные последовательности гена *CYTB* эволюционно не нейтральны у всех подземных грызунов.

Анализ алгоритмом aBSREL не показал свидетельств эпизодического отбора в анализируемой филогении. Результаты программы RELAX подтвердили изменения в уровне естественного отбора у подземных грызунов. Так, коэффициент отбора *K* для трех подземных представителей (*Ellobius* sp., *L. mandarinus* и *P. schaposchnikowi*; таблица 5) показал значения < 1 , что может указывать на ослабление уровня отбора. В то же время, для представителей рода *Ellobius* и для *L. mandarinus* показаны повышенные значения ω при анализе отбора методом codeml. Значение *K* для *T. subterraneus* намного превышало 1, что можно интерпретировать как то, что сила отбора увеличилась и коррелировала с более низким значением ω по сравнению с видами, обитающими на поверхности. Суммируя результаты этих анализов, можно сказать о наличии следов ослабления отбора в гене *CYTB* у почти всех подземных грызунов.

Таблица 4. Оценка ω с использованием branch model codeml. Fg — foreground branch (подземные виды), Bg — background branch (наземные виды). Подземные виды обозначены цветом на рисунке 6. b_free — модель независимого расчета по ветвям, b_neut — нейтральная модель. Достоверность сравнения типов моделей выражена в p.value, достоверные значения отмечены **жирным**.

Подземные виды	Fg	Bg	Сравнение моделей b_free и M0	Сравнение моделей b_free и b_neut
<i>Ellobius sp.</i>	0.0642	0.0243	2.33E-06	4.76E-81
<i>L. mandarinus</i>	0.1325	0.0269	4.69E-05	0.00024
<i>M. pinetorum</i>	0.0233	0.0224	0.9327	4.62E-24
<i>P. schaposchnikowi</i>	0.0617	0.0356	0.0711	1.26E-09
<i>T. subterraneus</i>	0.0071	0.0343	0.05	2.48E-17

Таблица 5. Оценка уровня отбора с использованием программы RELAX. K — значение коэффициента отбора, P — p-value, LRT — likelihood ratio test. Подземные виды обозначены цветом на рисунке 6. Достоверные результаты отмечены **жирным**.

Подземные виды	RELAX		
	K	P	LRT
<i>Ellobius sp.</i>	0.52	0	23.97
<i>L. mandarinus</i>	0	0.001	11.78
<i>M. pinetorum</i>	1.05	0.804	0.06
<i>P. schaposchnikowi</i>	0.63	0.023	5.15
<i>T. subterraneus</i>	23.22	0.014	6.02

3.2. Поиск следов отбора в митохондриальных геномах

3.2.1. Характеристика собранных митохондриальных геномов

Всего в лаборатории эволюционной геномики и палеогеномики ЗИН РАН было собрано 34 новых митохондриальных генома представителей Arvicolinae (таблица 16). Все собранные последовательности, а также доступные в базе данных GenBank, были использованы для реконструкции филогении подсемейства.

Отдельной задачей была проверка качества ридов для *Hyperacrius fertilis* из-за древности образца (1903 г.). Молекуляное изучение музейных коллекций требует множества дополнительных проверок качества сырых прочтений. Прежде всего, из-за проблемы дезаминирования, которая возникает в виде включения тимины вместо цитозина (C-to-T) на 5'-концах и аденина вместо гуанина (G-to-A) на 3'-концах последовательности. Анализ программой mapDamage показал низкое значение дезаминирования (рис. 7). Неправильное включение тимины вместо цитозина (красный) варьировалось от 12.09 % до 17.94 %, аденина вместо гуанина (синий) – от 12.84 % до 17.49 %. Уровни ошибочного включения сравнимы со всеми

другими вариантами замен, окрашенными в серый цвет, а также аналогичными значениям из статей (Molto и др., 2017), что позволило взять образец в дальнейший анализ.

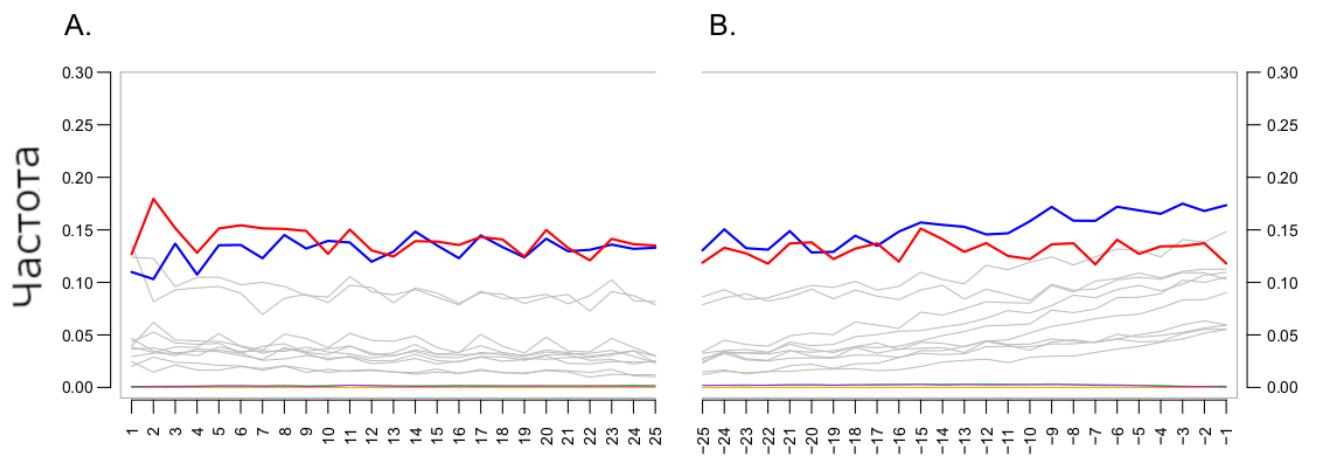


Рисунок 7. Замены, которые могут являться следствием дезаминирования нуклеотидов, помечены цветом: замены гуанина на аденин ($G>A$, голубой цвет) и цитозина на тимин ($C>T$, красный цвет). Остальные варианты замен отмечены серым.

Собранные митогеномы представляют собой кольцевые двуцепочечные последовательности ДНК (рис. 8). Состав и порядок генов всех последовательностей соответствует структуре митохондриального генома других млекопитающих: 13 белок-кодирующих генов, 22 транспортные РНК (тРНК), две рибосомные РНК (рРНК) и некодирующая регуляторная область (D-петля). Девять генов ($ND6$ и 8 тРНК) были ориентированы в обратном (reverse) направлении, тогда как остальные транскрибировались в прямом. Нами не было обнаружено каких-либо структурных изменений в порядке генов или их количестве, которые отличали бы подземных грызунов от наземных сестринских видов.

Филогенетическая реконструкция (рис. 9) с использованием митохондриальных геномов полевочных на полноценной выборке таксонов в целом не противоречит предыдущим данным Абрамсон Н.И. с соавторами (Abramson и др., 2009).

Для начала мы сравнили митохондриальные геномы по GC-обогащенности и смещению нуклеотидов в паре GC (GC-skew). Результаты сравнения показали увеличение среднего значения % GC и уменьшение GC-skew. Разница в различиях оказалась недостоверная (рис. 10).

3.2.2. Анализ частоты несинонимичных замен

При подсчете количества несинонимичных замен и нормировке их на количество взятых в анализ видов (рис. 11) оказалось, что доля замен в митохондриальных геномах подземных грызунов достоверно выше, чем у наземных. При оценке частот замен по каждому белок-кодирующему гену в отдельности тенденция повторяется — в каждом гене доля несинонимичных замен достоверно выше у подземных грызунов, чем у наземных (табл. 6).

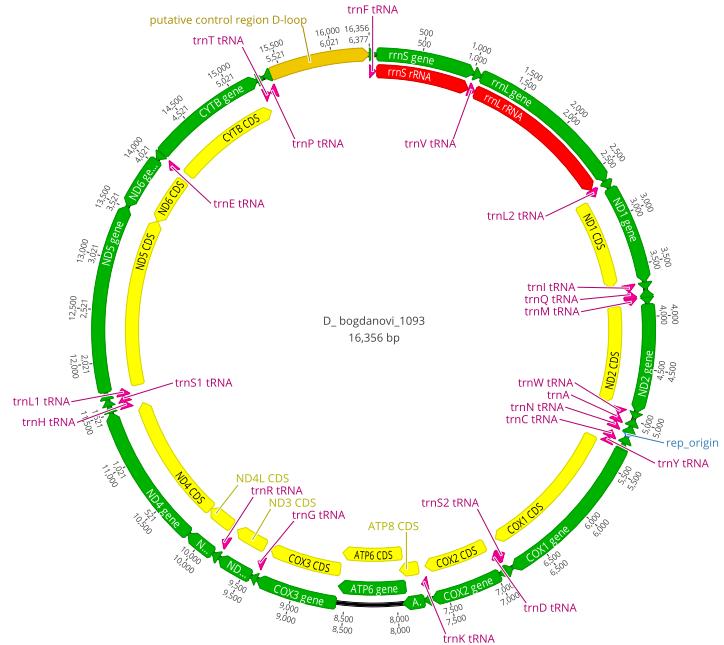


Рисунок 8. Собранный митохондриальный геном *Dinaromys bogdanovi* Martino, 1922. Зеленым отмечены гены, желтым – CDS, красным – pРНК, розовым – тРНК

Таблица 6. Частота несинонимичных замен в митохондриальных генах. p.value – значения p.value при сравнении точным критерием Фишера, Holm – значения p.value после поправки Холма-Бонферрони на множественное тестирование.

Ген	Наземные	Подземные	p.value	Holm
ATP6	0.099	0.253	0.000000040	0.000000317
ATP8	0.133	0.355	0.000000134	0.000000940
COX1	0.094	0.253	0.000021490	0.000107451
COX2	0.088	0.297	0.000188734	0.000566201
COX3	0.111	0.296	0.000000464	0.000002782
CYTB	0.097	0.262	0.000000000	0.000000000
ND1	0.121	0.252	0.000000020	0.000000200
ND2	0.136	0.299	0.000000000	0.000000000
ND3	0.155	0.313	0.000889496	0.001778992
ND4	0.149	0.260	0.001607514	0.001778992
ND4L	0.098	0.197	0.000061623	0.000246493
ND5	0.124	0.278	0.000000000	0.000000000
ND6	0.111	0.260	0.000000023	0.000000208

3.2.3. Поиск параллельных аминокислотных замен

Мы, по аналогии с логикой исследования гена *CYTB*, искали характерные только для подземных грызунов параллельные аминокислотные замены. При анализе белок-кодирующих митохондриальных генов были выявлены замены в генах *COX1*, *COX3*, *ND5*, *ND6* и *CYTB* (таблица 7). Больше всего замен было обнаружено в гене *CYTB*. При дальнейшей проверке оказалось, что вероятность этих замен не достоверные.

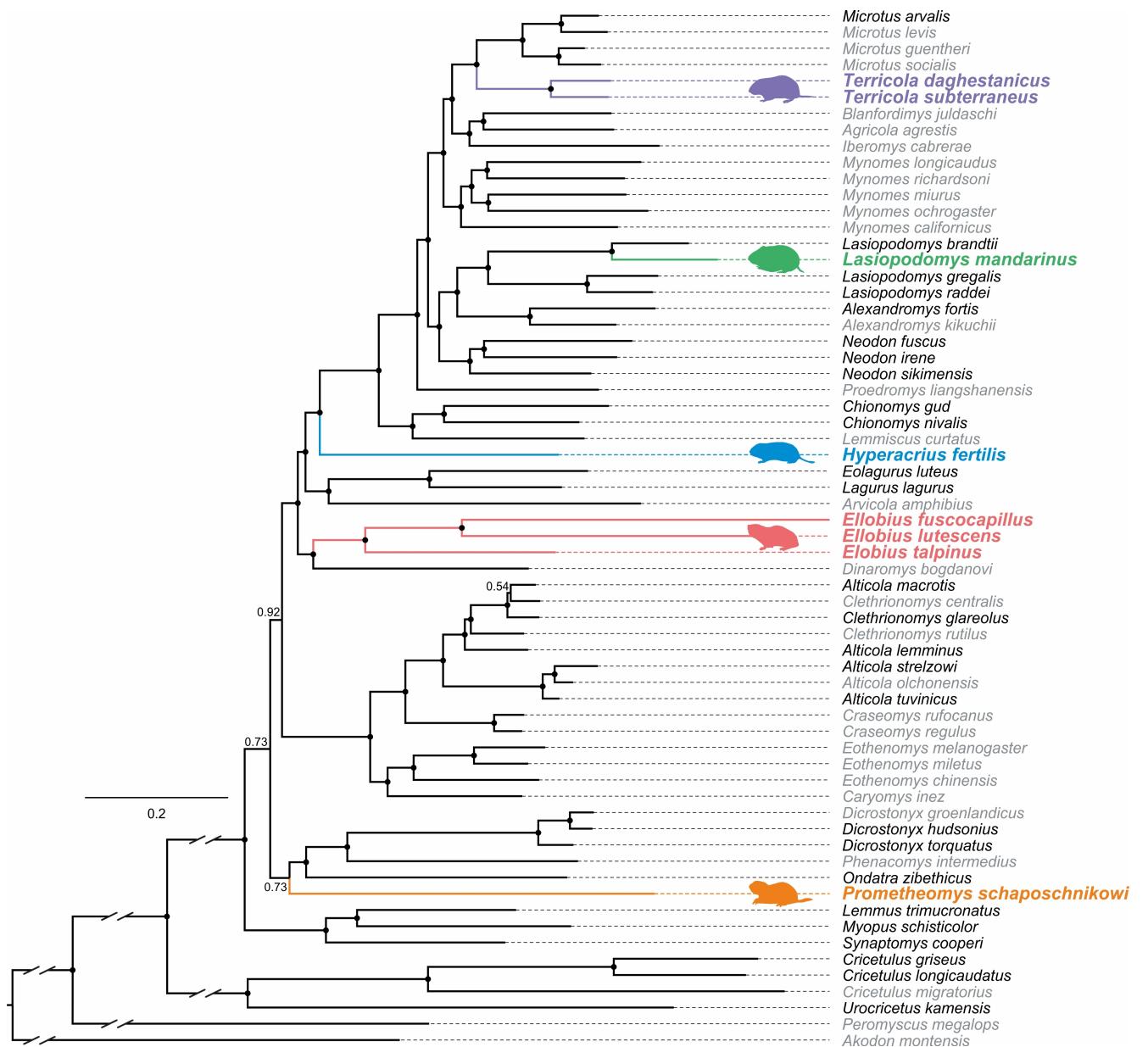


Рисунок 9. Филогенетическое дерево, построенное по последовательности 13 белок-кодирующих генов. Подземные виды обозначены цветом.

Таблица 7. Обнаруженные параллельные аминокислотные замены у подземных грызунов.

	<i>COX1</i>	<i>COX3</i>	<i>ND5</i>	<i>CYTB</i>		
Вид / позиция	73	121	466	56	338	357
Наземные виды	Met	Ile	Phe	Thr	Ile	Ala
<i>Ellobius lutescens</i>	Val	—	—	Ser	Val	—
<i>Ellobius fuscocapillus</i>	Ile	—	Leu	—	—	Thr
<i>Ellobius talpinus</i>	—	Val	Leu	—	Val	—
<i>Prometheomys schaposchnikowi</i>	Ile	Val	—	Ser	—	Thr
<i>Lasiopodomys mandarinus</i>	Ile	—	—	Ser	Val	Thr
<i>Hyperacrius fertilis</i>	—	Val	—	—	—	—
<i>Terricola subterraneus</i>	—	—	Leu	—	—	—

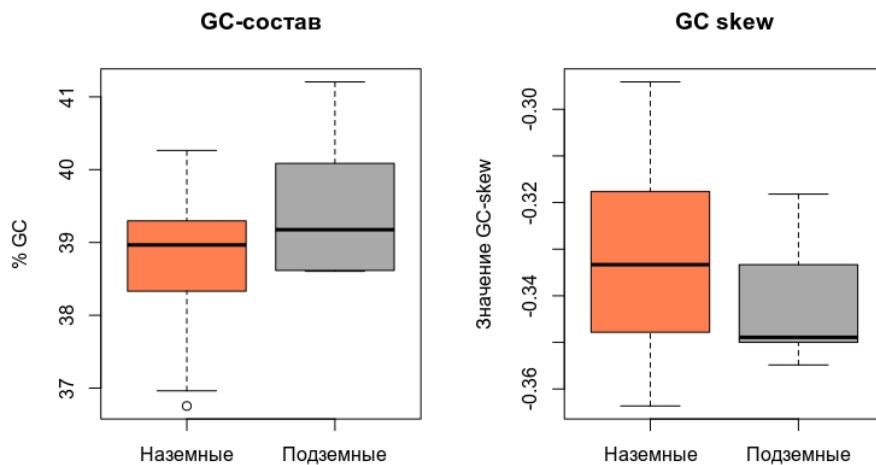


Рисунок 10. Сравнение % GC и GC-skew у подземных и наземных видов

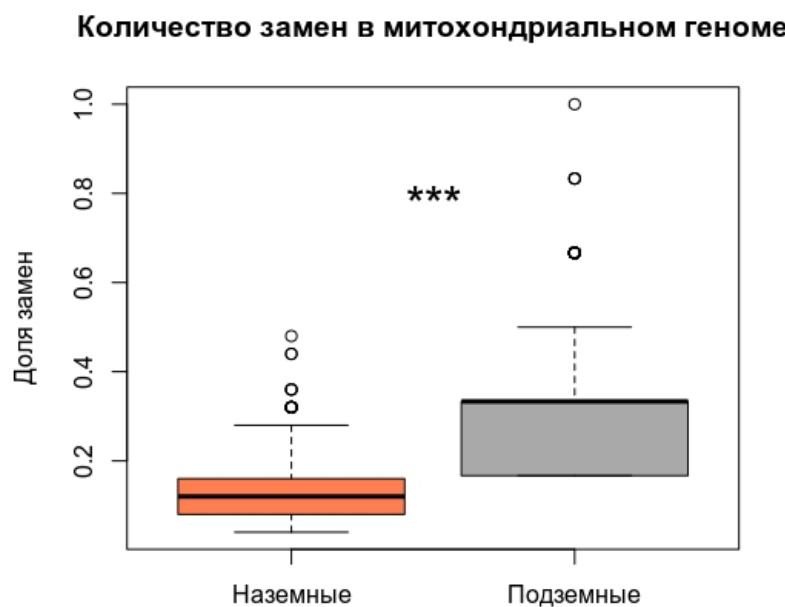


Рисунок 11. Соотношение несинонимичных замен у наземных и подземных грызунов

3.2.4. Оценка уровня и направления отбора

Уровень и направление отбора на белок-кодирующих генах оценивали отдельно по каждому подземному виду (или нескольким в случае рода *Ellobius*), сравнивая его только с филогенетически близкими наземными видами (рис. 12) несколькими подходами: REXAL, aBSREL и codeml. Из-за базального положения *P. schaposchnikowi* уровень отбора оценивали дважды, сравнивания его с хомяками и с другими представителями «первой» радиации.

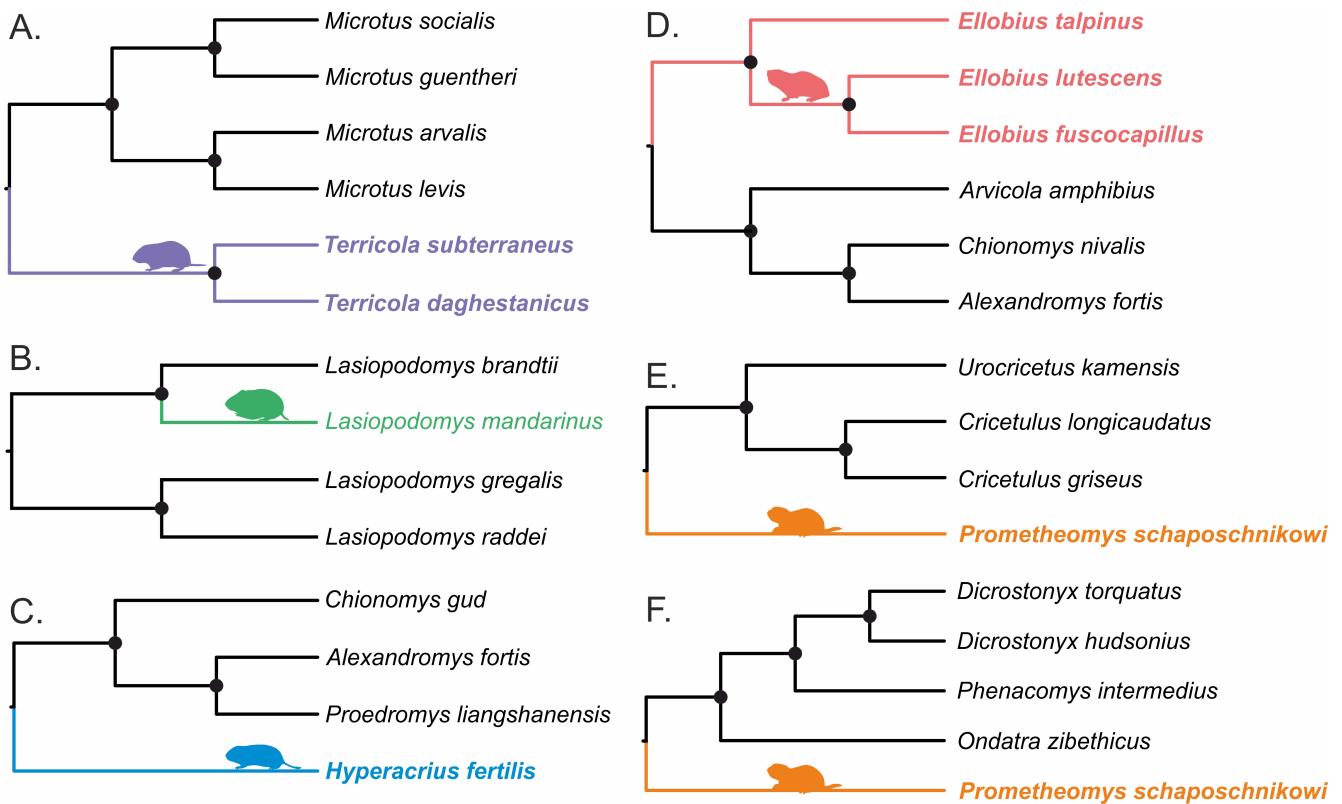


Рисунок 12. Филогенетические деревья, использованные для оценки отбора отдельных ветвей. Подземные виды обозначены цветом. Для каждого подземного вида или группы видов использовались филогенетически близкие наземные таксоны.

Для каждого из подземных грызунов мы провели сравнение по каждому митохондриальному гену (таблица 8). У представителей рода *Ellobius* при оценке codeml разница в отборе наблюдается во всех митохондриальных генах, кроме *ND2*, *3*, *5*, *6* и *COX3*. Несколько генов под отбором обнаружено также у *L. mandarinus*: *COX3* и *CYTB*. Только один ген с достоверной разницей в уровне отбора найден для *P. schaposchnikowi* — *COX3*. У оставшихся представителей подземных грызунов не обнаружено генов с достоверным отличием от наземных видов. Значимые различия наблюдались в последовательностях *COX3* и *CYTB* для двух подземных видов одновременно: в *COX3* для *P. schaposchnikowi* и *L. mandarinus* и в *CYTB* для *L. mandarinus* и представителей рода *Ellobius*. Хотя значения ω существенно различались в зависимости от генов и анализируемых видов, в любом случае оно не превышало единицы. Однако все достоверно различающиеся значения ω были выше для подземных видов, чем для наземных.

Таблица 8. Оценка уровня отбора независимо у всех филогенетических линий подземных грызунов методом codeml. Жирным обозначены достоверные различия между подземными и наземными видами после поравки на множественное сравнение. Fg — foreground branch (подземные виды), Bg — background branch (наземные виды). Ветви обозначены цветом на рисунке 12. NA – рассчитать значение невозможно.

	<i>Ellobius sp.</i>		<i>P. schaposchnikowi</i> ♂		<i>P. schaposchnikowi</i> ♂ первая радиация		<i>L. mandarinus</i>		<i>H. fertilis</i>		<i>Terricola</i>	
	fg	bg	fg	bg	fg	bg	fg	bg	fg	bg	fg	bg
Ген	fg	bg	fg	bg	fg	bg	fg	bg	fg	bg	fg	bg
<i>ATP6</i>	0.132	0.039	NA	0.015	NA	0.034	0.138	0.075	NA	0.022	0.042	0.030
<i>ATP8</i>	0.739	0.163	0.903	0.153	0.376	0.269	0.184	0.240	NA	0.198	0.095	0.079
<i>COX1</i>	0.033	0.009	0.138	0.008	0.029	0.010	0.036	0.023	NA	0.007	0.002	0.027
<i>COX2</i>	0.217	0.022	NA	0.006	0.023	0.029	0.108	0.039	NA	0.018	0.030	0.029
<i>COX3</i>	0.087	0.044	0.051	0.012	0.055	0.019	0.117	0.028	NA	0.033	0.028	0.041
<i>CYTB</i>	0.060	0.021	0.048	0.021	0.050	0.028	0.234	0.028	NA	0.021	0.017	0.030
<i>ND1</i>	0.064	0.029	0.042	0.030	0.059	0.021	0.075	0.020	0.009	0.027	0.011	0.035
<i>ND2</i>	0.133	0.084	NA	0.048	NA	0.085	0.198	0.085	NA	0.076	0.104	0.092
<i>ND3</i>	0.119	0.057	0.063	0.027	NA	0.067	0.234	0.116	NA	0.019	0.079	0.094
<i>ND4</i>	0.095	0.045	0.045	0.031	0.095	0.057	0.165	0.072	0.107	0.051	0.035	0.075
<i>ND4L</i>	0.179	0.038	0.009	0.017	NA	0.101	0.100	0.073	NA	0.036	0.000	0.083
<i>ND5</i>	0.098	0.069	0.071	0.037	NA	0.052	0.179	0.068	NA	0.062	0.093	0.055
<i>ND6</i>	0.149	0.084	NA	0.052	0.681	0.045	0.054	0.121	NA	0.104	0.013	0.046

Используя алгоритм aBSREL, мы обнаружили следы эпизодического положительного отбора в гене *COX2* для *E. lutescens* и в двух генах *P. schaposchnikowi*: *ATP8* при сравнении с видами Arvicolinae и *ND5* при сравнении с хомяками (таблица 9).

Таблица 9. Оценка уровня отбора независимо для всех филогенетических линий подземных грызунов методом aBSREL. Подземные виды обозначены цветом на рисунке 12. В – длина ветви; LRT – Likelihood-ratio test; NA – рассчитать значение невозможно.

Группа сравнения	Вид	В	LRT	P.value	Распределение ω по сайтам
<i>Ellobius</i>	<i>E. lutescens</i>	0.0072	17.9838	0.0001	$\omega_1 = 0.238$ (81%) $\omega_2 = 15.4$ (19%)
<i>P. schaposchnikowi</i> & первая радиация	<i>P. schaposchnikowi</i>	0.0149	4.4686	0.0390	$\omega_1 = 0.395$ (89%) $\omega_2 = 16.7$ (11%)
<i>P. schaposchnikowi</i> & <i>Cricetulus</i> sp.	<i>P. schaposchnikowi</i>	0.1443	6.0817	0.0171	$\omega_1 = 0.0553$ (90%) $\omega_2 = \text{NA}$ (10%)

Анализ RELAX подтвердил изменения в уровне отбора подземных грызунов (таблица 10) по сравнению с наземными грызунами. Так, мы обнаружили несколько генов с К-значениями < 1 для представителей рода *Ellobius*, *L. mandarinus* и *P. schaposchnikowi*. Семь генов для *Ellobius*: *ATP6*, *COX1*, *COX3*, *CYTB*, *ND1*, *ND2* и *ND4* и столько же для *P. schaposchnikowi* при сравнении с «первой радиацией» Arvicolinae: *COX1*, *COX3*, *ND2*, *ND4* и *ND5* продемонстрировали достоверное ослабление отбора. Ген *COX3* *P. schaposchnikowi* также достоверно отличается от видов *Cricetulus* по этому признаку. Список генов *L. mandarinus* более скромен и включает всего три: *COX1*, *COX3* и *CYTB*. У оставшихся подземных грызунов: *H. fertilis* и двух видов рода *Terricola* гены с достоверным ослаблением или усилением отбора не обнаружены. Многие гены выявлены у нескольких подземных видов одновременно. Так, у генов *COX3* и *COX1* наблюдается ослабление отбора у видов рода *Ellobius*, *P. schaposchnikowi* и *L. mandarinus*. Некоторые гены были обнаружены при анализе дважды для видов *Ellobius* и *P. schaposchnikowi* (например, *ND2* и *ND4*) или видов *Ellobius* и *L. mandarinus* (*CYTB*).

Таблица 10. Оценка ослабления отбора независимо для всех филогенетических линий подземных грызунов методом RELAX. Подземные виды обозначены цветом на рисунке 12. LRT – Likelihood-ratio test; P – p.value; K – коэффициент ослабления RELAX; NA – рассчитать значение невозможно. Достоверные значения отмечены **жирным**.

	<i>Ellobius</i>			<i>P. schaposchnikowi</i> & первая радиация			<i>P. schaposchnikowi</i> & <i>Cricetulus sp.</i>			<i>L. mandarinus</i>			<i>H. fertilis</i>			<i>Terricola</i>		
Ген	LRT	P	K	LRT	P	K	LRT	P	K	LRT	P	K	LRT	P	K	LRT	P	K
<i>ATP6</i>	38.90	0.00	0.17	1.76	0.90	0.84	5.08	0.27	0.66	3.03	0.65	0.65	0.32	1	0.88	1.92	1	0.8
<i>ATP8</i>	6.3	0.06	20.91	3.83	0.30	0.07	0.2	1	8.7	0.25	1	0.11	0.18	1	1.64	0.19	1	0.87
<i>COX1</i>	24.88	0.00	0.41	18.80	0.00	0.39	0.03	1	0.84	8.87	0.03	0.49	4.21	0.44	0.77	2.75	1	10.20
<i>COX2</i>	0.03	0.86	0.98	6.56	0.08	0.69	0.23	1	0.93	1.04	1	12.76	0.57	1	0.88	0.28	1	1.12
<i>COX3</i>	9.06	0.02	0.13	12.46	0.004	0.40	18.56	0.00	0.34	11.15	0.01	0.02	0.26	1	1.2	0.67	1	1.3
<i>CYTB</i>	17.47	0.00	0.48	4.81	0.19	0.67	8.18	0.05	0.41	22.55	0.00	0.30	0.24	1	0.86	0.12	1	1.04
<i>ND1</i>	14.79	0.001	0.64	0.64	1	0.86	2.85	0.83	0.67	0.25	1	0.80	4.99	0.3	1.33	0.89	1	1.5
<i>ND2</i>	23.7	0.00	0.36	21.27	0.00	0.18	2.32	0.9	0.53	-11.77	1	0.00	0.68	1	0.77	0.03	1	0.56
<i>ND3</i>	7.98	0.03	0.6	0.77	1	0.83	0.23	1	1.77	0.41	1	18.07	2.21	1	0.52	0.3	1	0.88
<i>ND4</i>	14.2	0.001	0.16	30.12	0.00	0.53	-18.65	1	0.00	5.43	0.18	0.42	5.57	0.24	0.54	0.07	1	1.03
<i>ND4L</i>	6.12	0.06	0.47	0.09	1	1.1	0.28	1	1.1	0.01	1	1.91	0.16	1	0.92	0.97	1	1.27
<i>ND5</i>	2.87	0.27	0.9	9.92	0.01	0.36	2.58	0.87	0.25	8.23	0.04	0.27	NA	NA	NA	4.82	0.36	0.22
<i>ND6</i>	2.49	0.27	0.79	0.24	1	0.75	3.2	0.73	0.61	2.79	0.66	2.09	0.13	1	1.07	0.95	1	3.68

3.3. Поиск следов отбора в транскриптомах

3.3.1. Сборка транскриптомов

В ходе работы нами было собрано 17 транскриптомов: сырые риды для 10 видов были полученных нами лично (таблица 17, «наши данные») и 7 взяты из открытой базы данных SRA (таблица 17, «SRA»). Статистика собранных транскриптомов (таблица 17) показала, что все из них можно использовать в дальнейшем анализе:

Показатель N50. Он характеризует непрерывность сборки и может быть описан как взвешенная медиана: 50% сборки содержится в контигах, длина которых меньше или равна значению N50. Для дальнейшего анализа считается пригодной сборка с показателем $N50 > 400$. В наших данных это значение сильно больше и варьирует от 1644 до 3571.

Количество потенциальных генов. С учетом ошибок сборки и возникновения химерных транскриптов, количество «генов» должно быть в несколько раз больше количества реальных. Наши сборки удовлетворяют и этому критерию.

После очистки собранных транскриптомов мы приступили к поиску универсальных однокопийных ортологов, которые присутствуют в одной копии у всех взятых в анализ видов. На этом этапе мы добавили к нашим данным два уже собранных и выложенных в базе данных Genome транскриптома: *Microtus ochrogaster* Wagner, 1842 и *Cricetulus griseus*. Всего мы нашли 112 универсальных однокопийных ортологов. Общая длина их выравнивания составила 214 696 п.о., после очистки программой Gblocks – 98 595 п.о. (45% от изначальной длины). Используя очищенное выравнивания, мы реконструировали топологию алгоритмом RaxML (рис. 13).

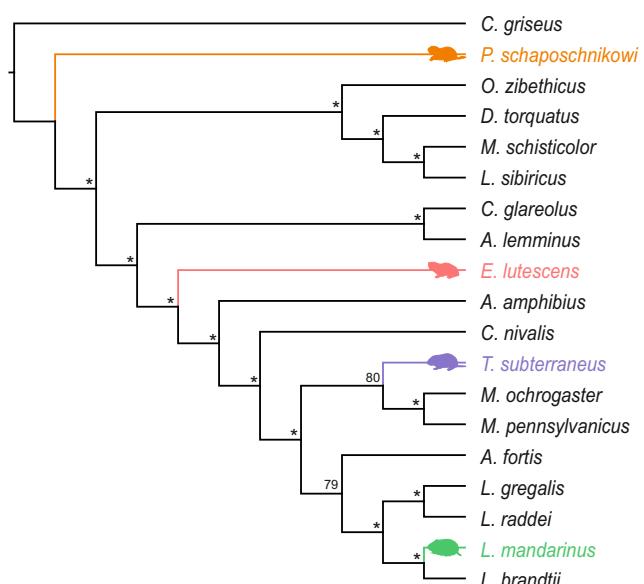


Рисунок 13. Филогенетическое дерево, построенное при использовании 112 ядерных белок-кодирующих генов. Подземные грызуны отмечены цветом.

3.3.2. Анализ частоты несинонимичных замен

Сравнение частот несинонимичных замен между подземными и наземными видами не показало достоверных различий (рис. 14). Также нами не было обнаружено отдельных генов или позиций, в которых частоты будут достоверно различаться.

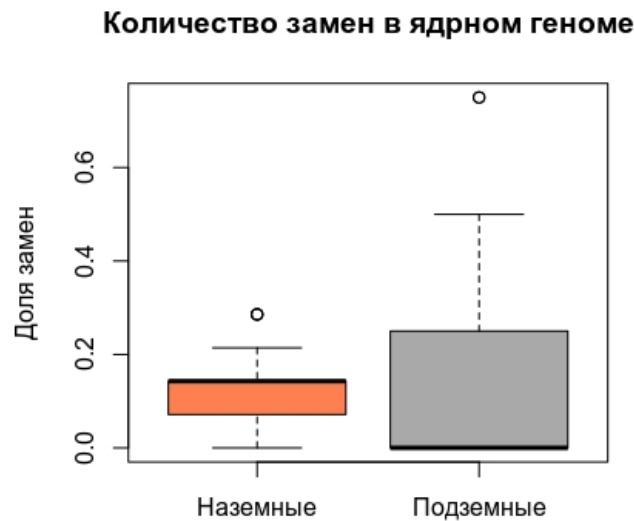


Рисунок 14. Оценка частот несинонимичных замен у подземных и наземных грызунов.

3.3.3. Оценка параллельных аминокислотных замен

При изучении полученных нами ядерных генов мы повторили подход поиска параллельных аминокислотных замен. Нами были обнаружены замены в нескольких генах, где у подземных грызунов она замещалась другой идентичной для всех ("параллельные таблица 11) или замена происходит в той же позиции, но различными аминокислотами ("дивергентные таблица 12). Последующая статистическая проверка показала достоверность замен в генах *Rad23b* и *Pycr2*.

3.3.4. Оценка уровня отбора

Мы провели поиск следов отбора в найденных нами ортологических генах независимо для каждой линии подземных грызунов (рис. 15). Однако генов с достоверными различиями обнаружено не было.

Таблица 11. Параллельные замены у подземных грызунов, обнаруженные в ядерных генах. Символ «—» означает ту же аминокислоту, что и у наземных видов. Жирным выделены достоверные замены.

Ген	<i>Rad23b</i>	<i>Hikeshi</i>	<i>Mrps14</i>	<i>Pycr2</i>	<i>GTPBP2</i>	<i>Snapc2</i>
Вид / позиция	121	189	5	314	30	204
Наземные виды	Thr	Ala	Val	Ala	Val	Glu
<i>P. schaposchnikowi</i>	—	Thr	—	Thr	Met	Gly
<i>E. lutestence</i>	Ala	—	Met	Thr	Met	Gly
<i>L. mandarinus</i>	—	—	—	—	—	—
<i>T. subterraneus</i>	Ala	Thr	Met	—	—	—

Таблица 12. Дивергентные замены у подземных грызунов, обнаруженные в ядерных генах. Символ «—» означает ту же аминокислоту, что и у наземных видов.

Ген	<i>Erp29</i>	<i>Zadh2</i>	<i>Ccdc86</i>	<i>Tll12</i>
Вид / позиция	255	162	125	91
Наземные виды	Ala	Ala	His	Gln
<i>P. schaposchnikowi</i>	Val	Val	—	—
<i>E. lutestence</i>	Thr	Thr	Pro	Arg
<i>L. mandarinus</i>	—	—	Arg	—
<i>T. subterraneus</i>	—	—	—	Lys

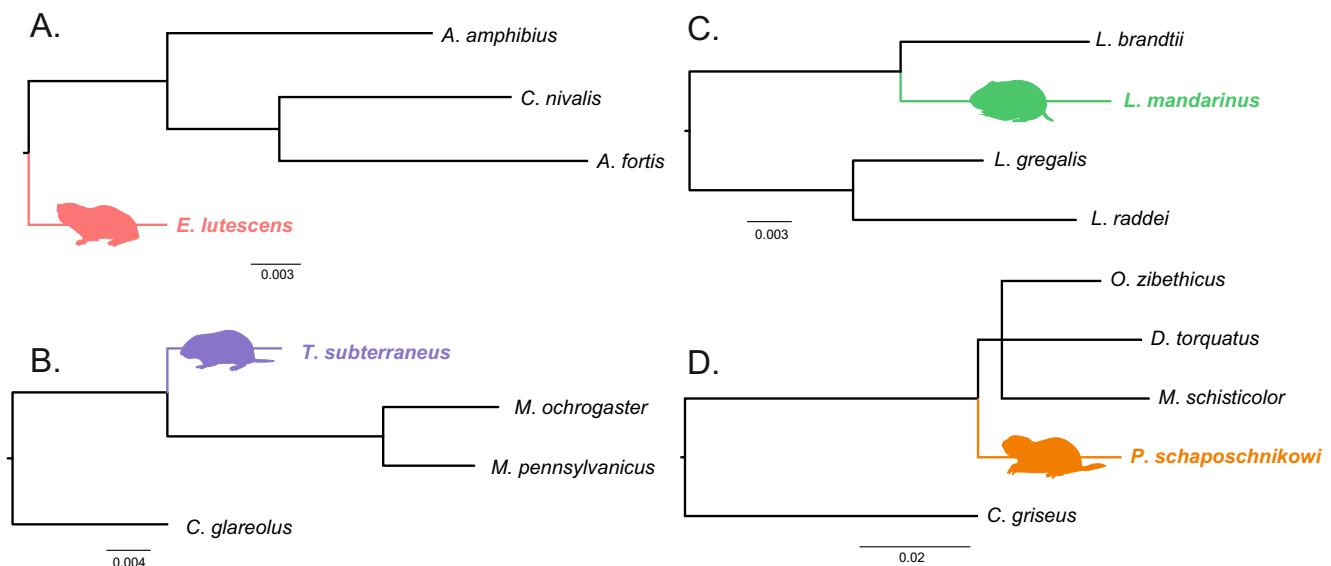


Рисунок 15. Филогенетические деревья, использованные для оценки отбора отдельных ветвей. Подземные виды обозначены цветом. Для каждого подземного вида или группы видов использовались филогенетически близкие наземные таксоны.

4. Обсуждение

4.1. Изменения на молекулярном уровне у полевочных, перешедших к подземному образу жизни

В нашей работе получены данные по изменению уровня отбора в митохондриальных генах подземных грызунов, а также обнаружены характерные для них параллельные замены в ядерных. Помимо этого, мы сравнивали базовые характеристики митохондриальных геномов: GC-состав, его смещение, количество и порядок генов.

4.1.1. Изменение нуклеотиного состава митохондриальных геномов

Оценка GC-состава показывает повышение количества этих нуклеотидов у подземных грызунов. Уровень смещения (GC-skew) у подземных грызунов сильнее, чем у наземных грызунов. Оно может быть связано с изменением количества нуклеотидов GC-пары. Несмотря на то, что разница в обоих случаях недостоверна, это может указывать на адаптивные следы в митохондриальном геноме.

Смещение в сторону повышенного содержания А/Т наблюдается в mtДНК многих видов (Ballard, Whitlock, 2004). Это может быть вызвано факторами, влияющими на скорость повреждения ДНК (Martin, 1995) и относительную доступность каждого нуклеотида в клеточной среде митохондрии (Xia и др., 1996). AT-богатые геномы могут реплицироваться быстрее, чем GC-богатые и, при прочих равных, обладают избирательным преимуществом в гетероплазматической популяции (Ballard, 2000). Поскольку у подземных грызунов снижен общий метаболический уровень, может также снижаться и скорость репликации митогеномов. Это, в том числе, и может повлечь обогащение GC-нуклеотидами и, помимо этого, обеспечить большую устойчивость перед активными формами кислорода. Зависимость между обогащением GC-нуклеотидов и увеличением значения GC-skew показана в работе (Saccone и др., 2000), и вполне ожидаемо было обнаружить тенденцию к разнице в этом значении между подземными и наземными видами.

Генный состав митохондрий среди всех изученных видов остается стабильным и неизменным. Переход к подземному образу жизни не повлек за собой изменение в порядке генов или удвоение каких-то конкретных блоков.

4.1.2. Ослабление уровня отбора

Исторически изучение адаптивности митохондриальных генов началось с гена *CYTB*. Начатые с трудов Эндрюс (Andrews и др., 1998), и в последующем повторенные целым рядом исследователей (Tomasco, Lessa, 2014; Da Silva и др., 2009; Di Rocco и др., 2006; Shao и др., 2015), работы свидетельствовали о наличии признаков положительного отбора при эволюции гена *CYTB*. Дальнейшие исследования показали, что, несмотря на сильные функциональные ограничения, вся митохондриальная ДНК может подвергаться положительному направленному отбору, например, в случаях, когда требуется энергоемкий образ жизни и/или есть ограничения в доступности кислорода (Tomasco, Lessa, 2011; Shen и др., 2010; Blier, 2001).

Нево (Nevo, 1999) связывал изменения в гене *CYTB* с экологическими различиями между хромосомными расами слепышей *Spalax ehrenbergi*. Да Сильва с коллегами (Da Silva и др., 2009) обнаружили достоверную разницу в соотношении dN/dS (ω) у независимых линий подземных грызунов по сравнению с их наземными сестринскими видами. Это предполагает связь между эволюцией гена *CYTB* и освоением гипоксической среды. Позднее это наблюдение было подтверждено для всех митохондриальных белок-кодирующих генов *Octodontidae* (Tomasco, Lessa, 2011).

В нашем исследовании гена *CYTB* мы также обнаружили ослабление отбора у некоторых подземных грызунов. Применяя стандартные подходы, мы показали, что в последовательности гена *CYTB* повышено соотношение между несинонимичными и синонимичными заменами (ω) у подземных грызунов по сравнению с наземными и восемь белковых доменов обладают повышенной частотой замен у подземных видов. Признаки усиления положительного отбора были выявлены как при сравнении четырех видов *Ellobius* с *Arvicola*, *Eothenomys* и *Chionomys*, так и у *L. mandarinus* при сравнении с другими видами *Lasiodromomys* и *Neodon*. Мы обнаружили достоверную разницу в значениях ω , сравнивая *T. subterraneus* с другими видами *Terricola* и *Microtus*, но в этом случае соотношение dN/dS , наоборот, было меньше для *T. subterraneus*. Данные анализа RELAX согласуются с результатами codeml и показывают, что ген *CYTB* у подземных грызунов подвержен ослаблению уровня отбора. Все эти результаты соотносятся с гипотезой о том, что колонизация подземной ниши способствует положительному отбору в генах митохондриальной ДНК.

Результаты, полученные нами при исследовании всех белок-кодирующих митохондриальных генов, также говорят о вовлеченности митохондриального генома в адаптивный процесс. Метод оценки отбора по отдельным ветвям (branch model) показал повышение уровня отбора в белок-кодирующих генах у подземных грызунов. Однако, мы наблюдаем разницу в количестве генов с достоверным отличием у исследованных видов. Больше всего различий обнаружено у представителей рода *Ellobius*: разница в отборе наблюдается во всех митохондриальных генах, кроме *ND2,3,5,6* и *COX3*. Два гена обнаружено у *L. mandarinus*: *COX3* и *CYTB* и только один у *Prometheomys* – *COX3*. У оставшихся представителей подземных

грызунов не было обнаружено генов с достоверным отличием. Анализ RELAX подтвердил ослабление уровня отбора в митохондриальных генах у разных видов. Так, у представителей рода *Ellobius* ослабление отбора наблюдается в 8 генах, у *Prometheomys* — в пяти (при сравнении с первой радиацией) и одном при сравнении с хомяками. Для *L. mandarinus* разница обнаружена в трех генах.

Проводя поиск следов изменения отбора в генах подземных Arvicolinae мы обнаруживаем гены, которые показывают достоверные различия для более чем одного проанализированного подземного вида, и гены, обнаруженные в более чем в одном анализе. Так, гены *CYTB* и *COX3* продемонстрировали более высокие значения ω одновременно у видов *P. schaposchnikowi* и *L. mandarinus* (*COX3*) и *L. mandarinus* и *Ellobius* (*CYTB*) при оценке уровня отбора методом codeml. Гены *COX3*, *COX1*, *ND2* и *ND4* демонстрируют ослабление отбора согласно программе RELAX по крайней мере для двух видов. Гены *COX1* и *COX3* были обнаружены как наиболее изменчивые при сравнении результатов нескольких программ.

Набор генов с разницей в уровне отбора у подземных и наземных грызунов частично положительно коррелирует со скоростью их эволюции. Скорости изменчивости среди семейств митохондриальных генов распределяются следующим образом: *ATP*>*ND*>*CYTB*>*COX* согласно Лопесу (Lopez и др., 1997). По нашим результатам, оба гена *ATP* (*ATP6* и *ATP8*) показывают достоверную разницу в уровне отбора для представителей рода *Ellobius* по сравнению с наземными видами. Кроме того, они выявляются в других анализах: RELAX (*ATP6* для рода *Ellobius*) и aBSREL (*ATP8* для *P. schaposchnikowi*). Гены семейства *ND* показывают неоднородность в результатах. Среди всех генов этого семейства для генов *ND2*, *ND4* и *ND5* обнаружены достоверные различия в трех из пяти проанализированных подземных видов. Ген *CYTB* показывает достоверную разницу в уровне ω между подземными и наземными видами и подтверждает ослабление отбора для видов *Ellobius* и *L. mandarinus*. Эти результаты повторяют полученные при анализе отдельно гена *CYTB* (Bondareva и др., 2021). Неожиданный результат получен для генов семейства *COX*: несмотря на свой консерватизм, они показывают достоверные изменения в уровне отбора во всех анализах на том же уровне, что и более вариабельные гены семейства *ND*.

Независимые исследования различных подземных грызунов показали адаптации в митохондриальных генах. Да Силва с коллегами (Da Silva и др., 2009) обнаружили достоверную разницу в значениях ω в последовательностях *CYTB* филогенетически удаленных линий подземных грызунов (*Ctenomys*, *Spalacopus*, семейство *Geomyidae* и семейство *Bathyergidae*) по сравнению с их наземными близкородственными видами (Tomasco, Lessa, 2014). Результаты Цанга и коллег предполагали, что эволюция гена *CYTB* цокора *Eospalax canus* также в основном определяется изменением уровня отбора. Более того, распределение несинонимичных мутаций указывало на значительные изменения в последовательности *CYTB* у животных, которые столкнулись с более тяжелой гипоксией из-за большей высоты и более холодного и сухого климата, чем другие митохондриальные линии (Zhang и др., 2013b). Наконец, Томаско и Лесса (Tomasco, Lessa, 2011) обнаружили повышенные значения ω в гене *COX2* подземных

восьмизубов (почти в 30 раз) и туко-туко (в 11 раз) по сравнению с наземными родственными видами. Позже эти авторы (Tomasco, Lessa, 2011) показали достоверно более высокие значения ω для тех же видов при сравнении с наземными в 11 из 13 митохондриальных генов. Конвергентные изменения были также обнаружены между изученными подземными видами и другими млекопитающими, адаптированными к гипоксии. Tavares и коллеги выявили достоверное ослабление отбора в большинстве митохондриальных генов подземных африканских землекопов, туко-туко и восьмизубов (Tavares, Seuánez, 2018). Исследования пищухи *Ochotona curzoniae* показали пятнадцать новых аминокислотных замен, в том числе три в субъединицах цитохром с оксидазы. Эти замены потенциально влияют на модуляцию митохондриальных комплексов и эффективность переноса электронов при адаптации к холodu и гипоксии (Luo и др., 2008).

С одной стороны, наши данные согласуются с опубликованным ранее работами и показывают, что митохондриальный геном подземных полевочных также потенциально вовлечен в процесс адаптации к подземному образу жизни. Но с другой, мы видим различие в уровне отбора между разными видами. Потенциально, это может быть связано с уровнем и способом специализации к подземному образу жизни.

К сожалению, обнаруженная на митохондриальных геномах тенденция к ослаблению отбора не подтвердилась на ядерных данных и нам не удалось найти генов, уровень отбора в которых достоверно бы различался у подземных и наземных грызунов. Это может быть связано как с более медленными темпами эволюции ядерных генов (Lin, Danforth, 2004) по сравнению с митохондриальными, так и с недостаточным количеством генов, взятых в анализ. Например, в работе Калины Дейвис (Davies и др., 2018) по исследованию адаптаций подземных млекопитающих только в 10% от всех проанализированных генов (которых было около 8 тыс.) обнаружена достоверная разница в отборе между подземными и наземными видами.

4.1.3. Возникновение параллельных аминокислотных замен

Поиск параллельных замен показал себя как действенный способ обнаружить гены, которые могут быть вовлечены в адаптационные процессы и при этом не меняют уровень или направление отбора (Davies и др., 2018, Zhou и др., 2015, Sackman и др., 2017).

При анализе отдельно гена *CYT B* нами было обнаружено три замены, характерные для подземных грызунов: Ser57Pro, Asp214Asn, и Ile338Val. Среди подземных полевок замена Asp214Asn была обнаружена у *Prometheomys schaposchnikowi*, *Ellobius fuscocapillus* и *Ellobius lutescens*, а такая же у представителей специализированных семейств подземных грызунов: аналогичные замены в сайте 214 были обнаружены у высокогорных подземных цокоров *Eospalax fontanieri* (Cooper и др., 1993). Так же замена в сайте 57 обнаружена у

африканских слепышей (семейство Bathyergidae), а в 214 – у африканских слепышей и тукотуко (род *Ctenomys*).

Выполняя изначальный поиск на одиночных последовательностях (т.е. имея только один вариант гена для одного вида), мы имели возможность проверить найденные замены на популяционном уровне в гене *CYTb*. Использование его как основного филогенетического маркера позволило включить в полномасштабный популяционный анализ более 6 тыс сиквенсов. Из трех позиций, обнаруженных при анализе, две подтвердились: Thr56Ser и Ile338Val. В них мы видим достоверное смещение использования аминокислот у подземных грызунов: процесс ослабления отбора и большую вариативность в аминокислотном составе.

При анализе собранных митохондриальных геномов нами было обнаружено шесть позиций с характерными для подземных грызунов заменами: *COX1* Met73Ile, *COX3* Ile121Val, *ND5* Phe446Leu, *CYTb* Thr56Ser, *CYTb* Ile338Val, *CYTb* Ala357Thr. К сожалению, все выявленные замены оказались недостоверными при статистической проверке.

Повторив поиск на ядерных геномах, нам удалось найти несколько генов с параллельным аминокислотными заменами, которые есть только у подземных грызунов: *Erp29*, *Rad23b*, *Hikeshi*, *Zadh2*, *Mrps14*, *Pycr2*, *Ccdc86*, *GTPBP2*, *Snapc2* и *Tll12*. Последующая проверка показала достоверность замен в генах *Rad23b* и *Pycr2*.

Согласно литературе, обнаруженное нами небольшое число генов с уникальными заменами является нормальным и ожидаемым. Так, в работе Калины Дейвис (Davies и др., 2018) было обнаружено всего 35 генов с параллельными заменами у всех проанализированных видов (от общего количества проанализированных генов это меньше 1%), а большее количество составляли гены с уникальными заменами (в нашей работе мы не рассматривали эти варианты) и парными среди разных родов.

Найденные нами ядерные гены не выявлялись ранее при изучении подземных грызунов, в отличие от митохондриальных. Однако, биохимические пути и процессы, в которые они вовлечены, можно связать с процессами адаптации подземных грызунов. Активная работа митохондрий, которая может быть усиlena в условиях сниженной концентрации кислорода, потенциально вызывает образование активных форм кислорода, являющихся опасным для клетки разрушающим фактором (Turrens, 2003). Гены *Rad23b* и *Pycr2* (пирролин-5-карбоксилатредуктаза 2) связаны с процессами репарации ДНК (Pohjoismaki и др., 2012) и реакцией на окислительный стресс (Kuo и др., 2015), соответственно. Гомолог гена *Rad23* был обнаружен при изучении адаптаций к засухе у растений, его уровень отбора сильно изменялся в сторону положительного (Zhang и др., 2013a). Изменение экспрессии этого гена также выявлено при анализе устойчивости к холоду *Thinopyrum intermedium* (Jaikumar и др., 2020).

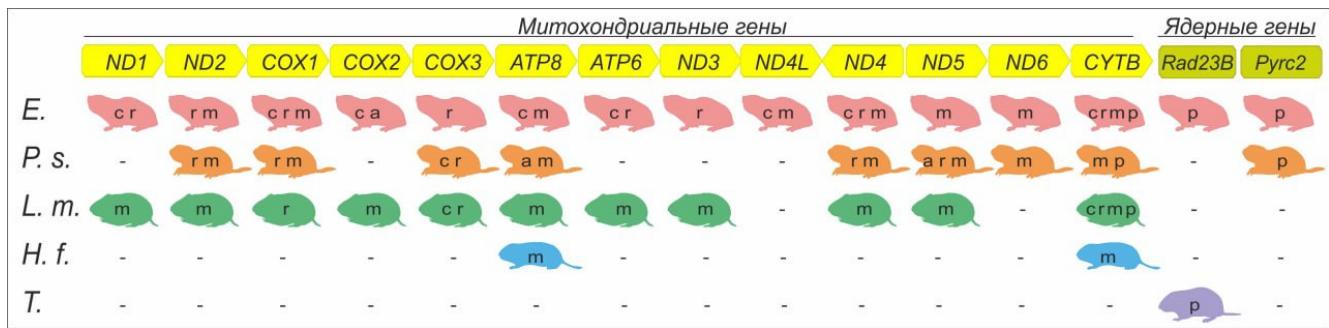
4.2. Конвергентные молекулярные адаптации грызунов к подземному образу жизни

Мы наблюдаем у подземных полевочных тенденцию проявления молекулярных адаптаций, описанную ранее в литературе, не смотря на ограниченную выборку полученных и проанализированных генов. В первую очередь, у них независимо ослабляется отбор на митохондриальных генах и увеличивается частота несинонимичных замен в целом. Как в митохондриальных, так и в ядерных генах происходят параллельные аминокислотные замены в физиологически важных генах.

По некоторым предположениям, повышение уровня отбора в митохондриальных генах могло быть следствием низкой эффективной численности популяции подземных грызунов (Lacey и др., 2000). Однако, факты, что мы видим этот тренд 1) не во всех генах у одного рода и 2) не у всех видов подземных грызунов, скорее противоречит выдвинутой гипотезе.

Анализ митохондриальных геномов и транскриптомов показал общие характеристики для подземных грызунов: увеличение уровня отбора и повышение частоты несинонимичных замен в митохондриальных генах, наличие параллельных аминокислотных замен как в митохондриальных, так и в ядерных генах. Однако, если анализировать каждую подземную линию независимо, видна неоднородность проявления этих признаков (рис. 16). Так, больше всего изменений затронуло род *Ellobius*, а меньше всего – *Hyperacrius*. Наблюданное количество изменений не коррелирует со временем появления вида. Переход к подземному образу жизни у *P. schaposchnikowi* произошел, согласно молекулярным данным, 7 млн лет назад. Но при этом вид не демонстрирует самое большое количество обнаруженных молекулярных изменений. Самое большое количество генов в обоих случаях наблюдается у представителей рода *Ellobius*, хотя их переход к подземному образу жизни был совершен в Плиоцене. Несмотря на это, морфологические изменения представителей этого рода наиболее близки к тем, что наблюдаются у «модельных» подземных грызунов семейств Bathyergidae и Spalacidae: выступающие резцы, очень маленькие глаза и изолирование ротового отдела губами (Громов, Поляков, 1977).

Самыми стрессовыми факторами, с которыми сталкиваются подземные грызуны, являются гипоксические / гиперкапнические условия и перегрев в закрытой системе нор (Lacey и др., 2000). Хотя и слепушонки, и *P. schaposchnikowi* являются высокоспециализированными подземными грызунами, они занимают разные среды обитания, и характеристики их нор, а также методы добычи пищи весьма различны. Типичные места обитания *Ellobius* – засушливые или полузасушливые ландшафты, такие как степи, пустыни и луга. Эти грызуны населяют различные типы почв, в том числе плотные почвы глинистых пустынь, и создают довольно устойчивые системы узких туннелей для кормления под землей (Огнев, 1950; Громов, Поляков, 1977; Шубин И.Г., 1978). Таким образом, слепушонки должны справляться с проблемами, с которыми сталкиваются другие действительно подземные млекопитающие



c - codeml, a - aBSREL, r - RELAX, m - MEME, p - parallel

Рисунок 16. Гены с достоверными изменениями уровня отбора для каждого из подземных видов. Буквы внутри каждого силуэта обозначают анализы, в которых был получен достоверный результат. Е — виды рода *Ellobius*, P.s. — *P. schaposchnikowi*, L.m. — *L. mandarinus*, H.f. — *H. fertilis*, Т. — виды рода *Terricola*.

(Lacey и др., 2000). Последнее, в свою очередь, может привести к наблюдаемым нами изменениям в белок-кодирующих генах. Напротив, *P. schaposchnikowi* встречается на кавказских субальпийских высокотравных лугах на высоте 1500-2500 м (Верещагин, 1959; Vorontsov, 1966; Krystufek, Vohralik, 2005). Его норы вырыты в рыхлой влажной почве, заполненной камнями, что может увеличить диффузию газа. Поверхностные кормовые туннели этих полевок необычны тем, что они кажутся слишком большими и почти вдвое шире, чем можно было бы ожидать от грызунов такого размера (Vorontsov, 1966; личные наблюдения А.В. Сморкачевой). Это дополнительное пространство может предотвратить перегрев, гипоксию и гиперкапнию. Кроме того, *P. schaposchnikowi* строго травояден, по крайней мере, летом. Во время кормления полевка высовывается из норы, подбирает растения и затаскивает их в нору для безопасного кормления (Гамбарян и др., 1957; Зимина, Ясный, 1977; личные наблюдения А.В. Сморкачевой). Таким образом, даже будучи ограниченными в поисках пищи вблизи отверстий для нор, они на самом деле проводят много времени вне туннелей. Благодаря холодному климату, архитектуре нор и особенностям кормления, *P. schaposchnikowi* может избежать некоторых физиологических проблем, с которыми приходится сталкиваться большинству подземных видов.

У *L. mandarinus*, несмотря на обнаруженные ранее изменения в циркадных ритмах и адаптации к гипоксии (Sun и др., 2018а; Dong и др., 2020), мы наблюдаем не такие сильные изменения: всего три гена с изменением уровня отбора — *COX1*, *COX3* и *CYTB*. Тем не менее, мы обнаружили существенные различия у *L. mandarinus* и *Terricola*, несмотря на схожий эволюционный возраст этих таксонов. Это различие также может отражать неравные уровни энергетического и гипоксического стресса, возникающие из-за специфических характеристик стратегии поиска пищи и архитектуры норы. *L. mandarinus* питаются либо под землей, либо зелеными частями растений в непосредственной близости от входа в нору. Кормовые ходы этого вида расположены на глубине 10-30 см (Smorkatcheva и др., 1990; Hong и др., 2019), а прямые измерения концентрации газов, температуры и влажности подтвердили, что животные в норе должны столкнуться с гипоксией и гиперкапнией. *Terricola* населяют

различные растительные сообщества от широколиственных лесов (*T. subterraneus*) до альпийских лугов (*T. daghestanicus*) (Aulagnier и др., 2018). Подобно *Ellobius*, *Prometheomys* и *L. mandarinus*, они используют сложную сеть подземных тоннелей и демонстрируют некоторые внешние черты, связанные с подземным образом жизни (Aulagnier и др., 2018; Mironov, 2020). Однако телосложение и повадки *T. subterraneus* (Н.И. Абрамсон и А.В. Сморкачева, неопубликовано), а также характеристики его туннельной системы отличают эту полевку от специализированных подземных грызунов. Пищевые пути этого вида располагаются в самом поверхностном слое почвы (в пределах 5–10 см) или даже непосредственно под опадом листьев (Mironov, 2020). Туннели обеспечивают защиту полевок от неблагоприятных погодных условий и хищников, что объясняет тенденцию видов *Terricola* к снижению скорости базовых метаболических процессов (Caroli и др., 2000; Jemioło, 1983; Schröpfer, 1977), но их глубина, вероятно, слишком мала, чтобы существенно предотвратить диффузию газа, приводящую к гипоксическим / гиперкапническим условиям внутри. К сожалению, об экологии *T. daghestanicus*, населяющего кавказские альпийские степи и луга, почти ничего не известно. Тот факт, что полевки этого вида, как сообщается, находят убежище среди скал (Krystufek, Vohralík, 2005), предполагает, что они не так строго подземные. Наши результаты подтверждают этот факт, поэтому мы не обнаружили никаких изменений уровня отбора в митохондриальных генах этого вида.

Подземные полевочки повторяют адаптационный путь других подземных грызунов, показывая схожие признаки (таблица 13). Так, во время многочисленных исследований представителей семейств Bathyergidae и Spalacidae были обнаружены параллельные замены в абсолютно разных генах. Также во многих генах видно ослабление отбора и увеличение его уровня по сравнению с наземными. Этот эволюционный тренд подтверждается не только на подземных грызунах, но и на других подземных млекопитающих – Talpidae и Chrysocloridae. Обнаруженные адаптации митохондриального генома (увеличение уровня отбора, наличие параллельных замен) совпадают с исследованиями на Octodontidae и Ctenomyidae. Таким образом, полученные нами результаты согласуются с гипотезой о том, что переход к подземному образу жизни стимулирует ослабление уровня отбора. Причем выраженность скорее связана с уровнем специализации вида, нежели с возрастом его появления.

Таблица 13. Конвергентная эволюция у подземных млекопитающих. МТ – митохондриальный геном.

	Arvicolinae (<i>Ellobius</i> , <i>Prometheomys</i> , <i>Lasiopodomys</i>)	Octodontidae (<i>Spalacopus</i>)	Ctenomyidae (<i>Ctenomys</i>)	Bathyergidae (<i>Heterocephalus</i> , <i>Fukomys</i> , <i>Cryptomys</i>)	Talpidae (<i>Condylura</i>)	Chrysochloridae (<i>Amblysomus</i> , <i>Chrysoschoris</i>)	Spalacidae (<i>Spalax</i>)
Ослабление очищающего отбора (МТ)	увеличение уровня	увеличение уровня	увеличение уровня	нет данных	нет данных	нет данных	нет данных
Ослабление очищающего отбора (ядерные гены)	как у наземных	нет данных	нет данных	увеличение уровня	увеличение уровня	увеличение уровня	увеличение уровня
Параллельные замены	<i>Rad23b</i> , <i>Pycr2</i> , <i>CYTB</i>	нет данных	нет данных	<i>ARG1</i> , <i>A2M</i> , <i>ABCC3...</i>	<i>A2M</i> , <i>ABCC3</i> , <i>C3...</i>	<i>A2M</i> , <i>ABCC3</i> , <i>C3...</i>	<i>ARG1</i> , <i>A2M...</i>

5. Заключение

Представители полевочных, ведущие подземный образ жизни, демонстрируют изменение силы и направления отбора в митохондриальных генах, а также имеют характерные для них параллельные замены в ядерных генах. При анализе только одного митохондриального гена *CYT B* мы показали, что в последовательности повышенено соотношение между несинонимичными и синонимичными заменами (ω) у подземных грызунов по сравнению с наземными и восемь белковых доменов обладают повышенной частотой замен у подземных видов. Результаты, полученные нами при исследовании белок-кодирующих митохондриальных генов, говорят о вовлечении всего митохондриального генома в адаптивный процесс. Анализы показали повышение уровня отбора в митогеномах у подземных грызунов. Однако, мы наблюдаем различие в количестве генов с достоверным отличием выявленных признаков отбора у разных видов: больше всего таких генов обнаружено у представителей рода *Ellobius*. Обнаруженная у митохондриальных геномов тенденция к ослаблению отбора не подтверждалась на ядерных данных, и нам не удалось найти генов, уровень отбора в которых достоверно бы различался у подземных и наземных грызунов.

При анализе параллельных аминокислотных замен нами было обнаружено три замены в гене *CYT B*: Ser57Pro, Asp214Asn, и Ile338Val. Замена в сайте 57 также обнаружена у землекопов (семейство Bathyergidae), а в 214 – у землекопов и тuco-tuco (род *Ctenomys*). Среди подземных полевок замена Asp214Asn была обнаружена у *Prometheomys schaposchnikowi*, *Ellobius fuscocapillus* и *Ellobius lutescens*, а такая же у представителей большинства специализированных семейств подземных грызунов (Spalacidae, Bathyergidae). Повторив поиск на ядерных геномах, нам удалось найти два гена с параллельным аминокислотными заменами: *Rad23b* и *Pycr2*. Найденные нами ядерные гены не выявлялись ранее при изучении подземных грызунов. Однако, биохимические пути и процессы, в которые они вовлечены, можно связать с процессами адаптации подземных грызунов. Гены *Rad23b* и *Pycr2* (pyrroline-5-carboxylate reductase 2) связаны с процессами репарации ДНК (Pohjoismaki и др., 2012) и реакцией на окислительный стресс (Кио и др., 2015), соответственно. Гомолог гена *Rad23* был обнаружен при изучении адаптаций к засухе у растений, поскольку его уровень отбора сильно изменялся в сторону положительного (Zhang и др., 2013a). Изменение его экспрессии также выявлен при анализе устойчивости к холоду *Thinopyrum intermedium* (Jaikumar и др., 2020).

Анализ митохондриальных геномов и транскриптомов показал общие характеристики для подземных грызунов: усиление отбора и повышение частоты несинонимичных замен в митохондриальных генах, наличие параллельных аминокислотных замен как в митохондриальных, так и в ядерных генах. Однако, если анализировать каждую подземную линию независимо, видна неоднородность проявления этих признаков. Так, больше всего изменений затронуло род *Ellobius*, а меньше всего – *Hyperacrius*. Наблюданное количество изменений не коррелирует со временем появления таксона. Прометеева полевка (*P.schaposchnikowi*) — древ-

нейший представитель подсемейства, согласно молекулярным данным ее возраст оценивается в 7 млн лет. Но при этом вид не демонстрирует самое большое количество молекулярных следов адаптации к подземным условиям. Самое большое количество генов с признаками адаптивных изменений как в митохондриальном, так и в ядерном геномах наблюдается у представителей рода *Ellobius*, хотя их переход к подземному образу жизни произошел не ранее плиоцена. Несмотря на это, морфологические изменения представителей этого рода наиболее близки к тем, что наблюдаются у «модельных» подземных грызунов семейств Bathyergidae и Spalacidae: выступающие резцы, очень маленькие глаза и изолирование ротового отдела губами (Громов, Поляков, 1977).

В целом, подземные полевочки повторяют адаптационный путь других подземных грызунов, показывая схожие тенденции. Так, во время многочисленных исследований представителей семейств Bathyergidae и Spalacidae были обнаружены параллельные замены в абсолютно разных генах. Также во многих генах видно ослабление отбора и увеличение количества признаков его проявления по сравнению с наземными. Этот эволюционный тренд подтверждается не только на подземных грызунах, но и на других подземных млекопитающих – Talpidae и Chrysochloridae. Обнаруженные адаптивные изменения в митохондриальном геноме полевочных (изменения уровня отбора, наличие параллельных замен) совпадают с тенденциями, выявленными ранее у Octodontidae и Ctenomyidae. Таким образом, полученные нами результаты согласуются с гипотезой о том, что переход к подземному образу жизни стимулирует ослабление отбора. При этом количество адаптивных сигналов в геноме и их выраженность положительно коррелирует с уровнем специализации вида, а не с временем его возникновения.

6. Выводы

1. В гене *CYT B* обнаружены параллельные аминокислотные замены, характерные для подземных грызунов и показано увеличение частоты несинонимичных замен.
2. В большинстве генов митохондриального генома наблюдается процесс ослабления отбора у подземных грызунов.
3. При анализе белок-кодирующих генов были выявлены параллельные замены у подземных грызунов, которые вовлечены в разные биохимические процессы.
4. Количество генов, в которых произошли изменения уровня отбора или возникли параллельные замены, отличаются для разных видов подземных грызунов и связано скорее с уровнем специализации, а не с эволюционным возрастом вида.
5. Для подземных представителей эволюционно молодого подсемейства полевочных характерны те же направления молекулярной адаптивной изменчивости, что и для относительно древних специализированных семейств подземных грызунов.

7. Публикации автора по теме диссертации

Основные положения диссертации изложены в семи опубликованных печатных работах в журналах, индексируемых Web of Science и Scopus.

- Bondareva O. V., Abramson N. I. The complete mitochondrial genome of the common pine vole *Terricola subterraneus* (Arvicolinae, Rodentia) //Mitochondrial DNA Part B. – 2019. – Т. 4. – №. 2. – С. 3925-3926;
- Abramson N. I. et al. Phylogenetic relationships and taxonomic position of genus *Hyperacrius* (Rodentia: Arvicolinae) from Kashmir based on evidences from analysis of mitochondrial genome and study of skull morphology //PeerJ. – 2020. – Т. 8. – С. e10364;
- Bondareva O. V. et al. The complete mitochondrial genomes of three *Ellobius* mole vole species (Rodentia: Arvicolinae) //Mitochondrial DNA Part B. – 2020. – Т. 5. – №. 3. – С. 2485-2487.
- Bondareva O. V. et al. Searching for signatures of positive selection in cytochrome b gene associated with subterranean lifestyle in fast-evolving arvicolines (Arvicolinae, Cricetidae, Rodentia) //BMC Ecology and Evolution. – 2021. – Т. 21. – №. 1. – С. 1-12.
- O. Bondareva, S. Bodrov, E. Genelt-Yanovskiy, T. Petrova, N. Abramson. Signatures of selection and adaptation to subterranean lifestyle across the transcriptomes of Arvicolinae (Rodentia, Cricetidae)// FEBS Open Bio. - 2021. - 11:P-01.3-17. doi:10.1002/2211-5463.13205
- Abramson N. I. et al. Mitochondrial genome phylogeny of voles and lemmings (Rodentia: Arvicolinae): evolutionary and taxonomic implications //Plos One. – 2021. - 16(11): e0248198.
- Bondareva O., Genelt-Yanovskiy, E., Petrova, T., Bodrov, S., Smorkatcheva, A., & Abramson, N. Signatures of Adaptation in Mitochondrial Genomes of Palearctic Subterranean Voles (Arvicolinae, Rodentia) //MDPI Genes. – 2021. – V. 12. – №. 12. – P. 1945.

Список литературы

1. Cock P. J. A. et al. Biopython: freely available Python tools for computational molecular biology and bioinformatics // Bioinformatics. — 2009. — June. — Vol. 25, no. 11. — P. 1422–1423. — URL: <https://academic.oup.com/bioinformatics/article-lookup/doi/10.1093/bioinformatics/btp163>.
2. Nevo E., Reig O. Evolution of subterranean mammals at the organismal and molecular levels // proceedings of the fifth International Theriological Congress held in Rome, Italy, — 1990.
3. Abramson N. I., Lebedev V. S., Tesakov A. S., Bannikova A. A. Supraspecies relationships in the subfamily Arvicolinae (Rodentia, Cricetidae): An unexpected result of nuclear gene analysis // Molecular Biology. — 2009. — ОКТ. — Т. 43, № 5. — С. 834—846. — URL: <http://link.springer.com/10.1134/S0026893309050148>.
4. Abramson N. I., Bodrov S. Y., Bondareva O. V., Genelt-Yanovskiy E. A., Petrova T. V. A mitochondrial genome phylogeny of voles and lemmings (Rodentia: Arvicolinae): Evolutionary and taxonomic implications // PLoS ONE. — 2021. — Нояб. — Т. 16, 11 November.
5. Adkins R. M., Honeycutt R. L. Evolution of the primate cytochrome c oxidase subunit II gene // Journal of Molecular Evolution. — 1994. — Т. 38, № 3. — С. 215—231.
6. Andersen D. C. Belowground Herbivory: The Adaptive Geometry of Geomyid Burrows // The American Naturalist. — 1982. — ЯНВ. — Т. 119, № 1. — С. 18—28. — URL: <https://www.journals.uchicago.edu/doi/10.1086/283887>.
7. Andrews S. FastQC: A Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data [Online]. // Available online at: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>. — 2010.
8. Andrews T. D., Jermiin L. S., Easteal S. Accelerated Evolution of Cytochrome b in Simian Primates: Adaptive Evolution in Concert with Other Mitochondrial Proteins? // Journal of Molecular Evolution. — 1998. — Сент. — Т. 47, № 3. — С. 249—257. — URL: <http://link.springer.com/10.1007/PL00006382>.
9. Anisimova M., Kosiol C. Investigating Protein-Coding Sequence Evolution with Probabilistic Codon Substitution Models // Molecular Biology and Evolution. — 2009. — Февр. — Т. 26, № 2. — С. 255—271. — URL: <https://academic.oup.com/mbe/article-lookup/doi/10.1093/molbev/msn232>.
10. Arabi J., Cruaud C., Couloux A., Hassanin A. Studying sources of incongruence in arthropod molecular phylogenies: Sea spiders (Pycnogonida) as a case study // Comptes Rendus Biologies. — 2010. — Май. — Т. 333, № 5. — С. 438—453. — URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1631069110000193>.

11. Armstrong J., Quilliam T. A. Nerve Endings in the Mole's Snout // *Nature*. — 1961. — Сент. — Т. 191, № 4796. — С. 1379—1380. — URL: <http://www.nature.com/articles/1911379a0>.
12. Aulagnier S., Haffner P., Mitchell-Jones A., Moutou F., Zima J. *Mammals of Europe, North Africa and the Middle East*. — Bloomsbury Wildlife, 2018.
13. Avivi A., Resnick M., Nevo E., Joel A., Levy A. Adaptive hypoxic tolerance in the subterranean mole rat *Spalax ehrenbergi*: the role of vascular endothelial growth factor // *FEBS Letters*. — 1999. — Июнь. — Т. 452, № 3. — С. 133—140. — URL: <http://doi.wiley.com/10.1016/S0014-5793%2899%2900584-0>.
14. Ballard J. W. O. Comparative Genomics of Mitochondrial DNA in Members of the *Drosophila melanogaster* Subgroup // *Journal of Molecular Evolution*. — 2000. — Июль. — Т. 51, № 1. — С. 48—63. — URL: <http://link.springer.com/10.1007/s002390010066>.
15. Ballard J. W. O., Whitlock M. C. The incomplete natural history of mitochondria // *Molecular Ecology*. — 2004. — Апр. — Т. 13, № 4. — С. 729—744. — URL: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-294X.2003.02063.x>.
16. Bankevich A. и др. SPAdes: A New Genome Assembly Algorithm and Its Applications to Single-Cell Sequencing // *Journal of Computational Biology*. — 2012. — Май. — Т. 19, № 5. — С. 455—477. — URL: <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/cmb.2012.0021>.
17. Bannikova A. A., Sighazeva A. M., Malikov V. G., Golenishchev F. N., Dzuev R. I. Genetic diversity of *Chionomys* genus (Mammalia, Arvicolinae) and comparative phylogeography of snow voles // *Russian Journal of Genetics*. — 2013. — Май. — Т. 49, № 5. — С. 561—575. — URL: <http://link.springer.com/10.1134/S1022795413050025>.
18. Begall S., Burda H., Schleich C. E. Subterranean Rodents: News from Underground // *Subterranean Rodents*. — Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg, 2007. — С. 3—9. — URL: http://link.springer.com/10.1007/978-3-540-69276-8_1.
19. Bernt M., Donath A., Jühling F., Externbrink F., Florentz C., Fritzsch G., Pütz J., Middendorf M., Stadler P. F. MITOS: Improved de novo metazoan mitochondrial genome annotation // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. — 2013. — Ноябрь. — Т. 69, № 2. — С. 313—319. — URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1055790312003326>.
20. Blier P. Natural selection and the evolution of mtDNA-encoded peptides: evidence for intergenicomic co-adaptation // *Trends in Genetics*. — 2001. — Июль. — Т. 17, № 7. — С. 400—406. — URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168952501023381>.
21. Blom N., Sicheritz-Pontén T., Gupta R., Gammeltoft S., Brunak S. Prediction of post-translational glycosylation and phosphorylation of proteins from the amino acid sequence // *PROTEOMICS*. — 2004. — Июнь. — Т. 4, № 6. — С. 1633—1649. — URL: <http://doi.wiley.com/10.1002/pmic.200300771> <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pmic.200300771>.

22. *Bolger A. M., Lohse M., Usadel B.* Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data // Bioinformatics. — 2014. — Авг. — Т. 30, № 15. — С. 2114–2120. — URL: <https://academic.oup.com/bioinformatics/article-lookup/doi/10.1093/bioinformatics/btu170>.
23. *Bondareva O. V., Potapova N. A., Konovalov K. A., Petrova T. V., Abramson N. I.* Searching for signatures of positive selection in cytochrome b gene associated with subterranean lifestyle in fast-evolving arvicolines (Arvicolinae, Cricetidae, Rodentia) // BMC Ecology and Evolution. — 2021. — Дек. — Т. 21, № 1. — С. 92. — URL: <https://bmcevolbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12862-021-01819-4>.
24. *Borghí C. E., Giannoni S. M., Roig V. G.* Eye Reduction in Subterranean Mammals and Eye Protective Behavior in Ctenomys // Mastozoología Neotropical. — 2002. — Т. 9, № 2. — С. 123–134.
25. *Buchfink B., Xie C., Huson D. H.* Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND // Nature Methods. — 2015. — Янв. — Т. 12, № 1. — С. 59–60. — URL: <http://www.nature.com/articles/nmeth.3176>.
26. *Cai Z. и др.* Adaptive Transcriptome Profiling of Subterranean Zokor, *Myospalax baileyi*, to High- Altitude Stresses in Tibet // Scientific Reports. — 2018. — Дек. — Т. 8, № 1. — С. 4671. — URL: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-22483-7>
27. *Caroli L., Capizzi D., Luiselli L.* Reproductive Strategies and Life-history Traits of the Savi's Pine Vole, *Microtus savii* // Zoological Science. — 2000. — Март. — Т. 17, № 2. — С. 209–216. — URL: <http://www.bioone.org/doi/abs/10.2108/zsj.17.209>.
28. *Castresana J.* Selection of Conserved Blocks from Multiple Alignments for Their Use in Phylogenetic Analysis // Molecular Biology and Evolution. — 2000. — Апр. — Т. 17, № 4. — С. 540–552. — URL: <http://academic.oup.com/mbe/article/17/4/540/1127654>.
29. *Cooper H. M., Herbin M., Nevo E.* Ocular regression conceals adaptive progression of the visual system in a blind subterranean mammal // Nature. — 1993. — Янв. — Т. 361, № 6408. — С. 156–159. — URL: <http://www.nature.com/articles/361156a0>.
30. *Crowley P. J., Berry E. A., Cromartie T., Daldal F., Godfrey C. R., Lee D.-W., Phillips J. E., Taylor A., Viner R.* The role of molecular modeling in the design of analogues of the fungicidal natural products crocacin A and D // Bioorganic & Medicinal Chemistry. — 2008. — Дек. — Т. 16, № 24. — С. 10345–10355. — URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0968089608009826>.
31. *Da Silva C. C., Tomasco I. H., Hoffmann F. G., Lessa E. P.* Genes and Ecology: Accelerated Rates of Replacement Substitutions in the Cytochrome b Gene of Subterranean Rodents // The Open Evolution Journal. — 2009. — № 3. — С. 17–30.
32. *Darling A. C.* Mauve: Multiple Alignment of Conserved Genomic Sequence With Rearrangements // Genome Research. — 2004. — Июнь. — Т. 14, № 7. — С. 1394–1403. — URL: <http://www.genome.org/cgi/doi/10.1101/gr.2289704>.

33. Davies K. T. J., Bennett N. C., Faulkes C. G., Rossiter S. J. Limited Evidence for Parallel Molecular Adaptations Associated with the Subterranean Niche in Mammals: A Comparative Study of Three Superorders // Molecular Biology and Evolution / под ред. A. Yoder. — 2018. — Окт. — Т. 35, № 10. — С. 2544–2559. — URL: <https://academic.oup.com/mbe/article/35/10/2544/5076795>.
34. Delport W., Scheffler K., Seoighe C. Models of coding sequence evolution // Briefings in Bioinformatics. — 2008. — Окт. — Т. 10, № 1. — С. 97–109. — URL: <https://academic.oup.com/bib/article-lookup/doi/10.1093/bib/bbn049>.
35. Di Rocco F., Parisi G., Zambelli A., Vida-Rioja L. Rapid evolution of cytochrome c oxidase subunit II in camelids (Tylopoda, Camelidae) // Journal of Bioenergetics and Biomembranes. — 2006. — Дек. — Т. 38, № 5/6. — С. 293–297. — URL: <http://link.springer.com/10.1007/s10863-006-9048-8>.
36. Dirmeyer R., O'Brien K. M., Engle M., Dodd A., Spears E., Poyton R. O. Exposure of Yeast Cells to Anoxia Induces Transient Oxidative Stress // Journal of Biological Chemistry. — 2002. — Сент. — Т. 277, № 38. — С. 34773–34784. — URL: <http://www.jbc.org/lookup/doi/10.1074/jbc.M203902200> % 20https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021925818366997.
37. Dong Q. и др. Transcriptome analysis of the response provided by *Lasiopodomys mandarinus* to severe hypoxia includes enhancing DNA repair and damage prevention // Frontiers in Zoology. — 2020. — Дек. — Т. 17, № 1. — С. 9. — URL: <https://frontiersinzoology.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12983-020-00356-y>.
38. Fang X. Convergent and divergent adaptations of subterranean rodents // PhD thesis. — 2015.
39. Fejfar O., Heinrich W. D., Kordos L., Maul L. C. Microtoid cricetids and the Early history of arvicolids (Mammalia, Rodentia) // Palaeontologia Electronica. — 2011. — Т. 14, № 3. — С. 12.
40. Gao X., Wen X., Esser L., Quinn B., Yu L., Yu C.-A., Xia D. Structural Basis for the Quinone Reduction in the bc 1 Complex: A Comparative Analysis of Crystal Structures of Mitochondrial Cytochrome bc 1 with Bound Substrate and Inhibitors at the Q i Site // Biochemistry. — 2003. — Авг. — Т. 42, № 30. — С. 9067–9080. — URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/bi0341814>.
41. Goldman N., Yang Z. A codon-based model of nucleotide substitution for protein-coding DNA sequences. // Molecular Biology and Evolution. — 1994. — Сент. — Т. 11, № 5. — URL: <https://academic.oup.com/mbe/article/11/5/725/1008711/A-codonbased-model-of-nucleotide-substitution-for>.
42. Gomes Rodrigues H., Marivaux L., Vianey-Liaud M. The Cricetidae (Rodentia, Mammalia) from the Ulantatal area (Inner Mongolia, China): New data concerning the evolution of Asian cricetids during the Oligocene // Journal of Asian Earth Sciences. —

2012. — Авг. — Т. 56. — С. 160—179. — URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S136791201200212X>.
43. Gorecki A., Christov L. Metabolic rate of the lesser mole rat // Acta Theriologica. — 1969.
 44. Grabherr M. G. и др. Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome // Nature Biotechnology. — 2011. — Июль. — Т. 29, № 7. — С. 644—652. — URL: <https://www.nature.com/articles/nbt.1883>.
 45. Hassanin A., Léger N., Deutsch J. Evidence for Multiple Reversals of Asymmetric Mutational Constraints during the Evolution of the Mitochondrial Genome of Metazoa, and Consequences for Phylogenetic Inferences // Systematic Biology / под ред. Т. Collins. — 2005. — Апр. — Т. 54, № 2. — С. 277—298. — URL: <https://academic.oup.com/sysbio/article/54/2/277/2842904>.
 46. Heth G., Frankenberg E., Raz A., Nevo E. Vibrational communication in subterranean mole rats (*Spalax ehrenbergi*) // Behavioral Ecology and Sociobiology. — 1987. — Июль. — Т. 21, № 1. — С. 31—33. — URL: <http://link.springer.com/10.1007/BF00324432>.
 47. Hildebrand M. Digging in quadrupeds. — Cambridge, United Kingdom. : Belknap Press, Cambridge, United Kingdom., 1985.
 48. Hong S., Yifeng Z., Baishi W., Yangwei L., Wenbo X., Runkun M., Zhenglong W. Investigation on Oxygen and Carbon Dioxide Fluctuations in *Lasiopodomys mandarinus* Burrows // Pakistan Journal of Zoology. — 2019. — Май. — Т. 51, № 4. — URL: <http://researcherslinks.com/current-issues/Investigation-on-Oxygen-and-Carbon-Dioxide-Fluctuations/20/1/2253/html>.
 49. Hudson M. E. Sequencing breakthroughs for genomic ecology and evolutionary biology // Molecular Ecology Resources. — 2008. — Янв. — Т. 8, № 1. — С. 3—17. — URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1471-8286.2007.02019.x>.
 50. Huerta-Cepas J., Serra F., Bork P. ETE 3: Reconstruction, Analysis, and Visualization of Phylogenomic Data // Molecular Biology and Evolution. — 2016. — Июнь. — Т. 33, № 6. — С. 1635—1638. — URL: <https://academic.oup.com/mbe/article-lookup/doi/10.1093/molbev/msw046>.
 51. Hunte C., Koepke J., Lange C., Roßmanith T., Michel H. Structure at 2.3 Å resolution of the cytochrome bc1 complex from the yeast *Saccharomyces cerevisiae* co-crystallized with an antibody Fv fragment // Structure. — 2000. — Июнь. — Т. 8, № 6. — С. 669—684. — URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0969212600001520>.
 52. Hutter C. M., Rand D. M. Competition between mitochondrial haplotypes in distinct nuclear genetic environments: *Drosophila pseudoobscura* vs. *D. persimilis*. // Genetics. — 1995. — Июнь. — Т. 140, № 2. — 537 LP —548. — URL: <http://www.genetics.org/content/140/2/537.abstract>.
 53. Jaikumar N. S., Dorn K. M., Baas D., Wilke B., Kapp C., Snapp S. S. Nucleic acid damage and DNA repair are affected by freezing stress in annual wheat (*Triticum*

- aestivum) and by plant age and freezing in its perennial relative (*Thinopyrum intermedium*) // American Journal of Botany. — 2020. — Т. 107, № 12. — С. 1693—1709.
54. *James A. C., Ballard J. W. O.* Mitochondrial Genotype Affects Fitness in *Drosophila simulans* // Genetics. — 2003. — Май. — Т. 164, № 1. — 187 LP —194. — URL: <http://www.genetics.org/content/164/1/187.abstract>.
55. *Jemiolo B.* Reproduction in a Laboratory Colony of the Female Pine Voles, *Pitymys Subterraneus*. // Acta Theriologica. — 1983. — Т. 28. — С. 197—207.
56. *Jobb G., Von Haeseler A., Strimmer K.* TREEFINDER: A powerful graphical analysis environment for molecular phylogenetics // BMC Evolutionary Biology. — 2004. — Т. 4. — С. 1—9.
57. *Jónsson H., Ginolhac A., Schubert M., Johnson P. L. F., Orlando L.* mapDamage2.0: fast approximate Bayesian estimates of ancient DNA damage parameters // Bioinformatics. — 2013. — Июль. — Т. 29, № 13. — С. 1682—1684. — URL: <https://academic.oup.com/bioinformatics/article-lookup/doi/10.1093/bioinformatics/btt193>.
58. *Katoh K., Standley D. M.* MAFFT: Iterative Refinement and Additional Methods //. — 2014. — С. 131—146. — URL: http://link.springer.com/10.1007/978-1-62703-646-7_8.
59. *Kilpatrick S. T., Rand D. M.* Conditional hitchhiking of mitochondrial DNA: frequency shifts of *Drosophila melanogaster* mtDNA variants depend on nuclear genetic background. // Genetics. — 1995. — Нояб. — Т. 141, № 3. — 1113 LP —1124. — URL: <http://www.genetics.org/content/141/3/1113.abstract>.
60. *Kimchi T., Etienne A. S., Terkel J.* A subterranean mammal uses the magnetic compass for path integration // Proceedings of the National Academy of Sciences. — 2004. — Янв. — Т. 101, № 4. — С. 1105—1109. — URL: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0307560100>.
61. *Kosakovsky Pond S. L., Murrell B., Fourment M., Frost S. D., Delport W., Scheffler K.* A Random Effects Branch-Site Model for Detecting Episodic Diversifying Selection // Molecular Biology and Evolution. — 2011. — Нояб. — Т. 28, № 11. — С. 3033—3043. — URL: <https://academic.oup.com/mbe/article-lookup/doi/10.1093/molbev/msr125>.
62. *Krstufek B., Vohralik V.* Mammals of Turkey and Cyprus: Rodentia I: Sciuridae, Dipodidae, Gliridae, Arvicolinae. — Zgodovinsko drustvo za juzno Primorsko, 2005.
63. *Kuo M.-L. и др.* PYCR1 and PYCR2 Interact and Collaborate with RRM2B to Protect Cells from Overt Oxidative Stress OPEN. — 2015. — URL: www.nature.com/scientificreports.
64. *Lacey E., Patton J., Cameron G.* Life underground: The biology of subterranean rodents. — The University of Chicago Press, Chicago, Illinois, 2000. — С. 449.
65. *Lebedev V., Bogdanov A., Brandler O., Melnikova M., Enkhbat U., Tukhbatullin A., Abramov A., Surov A., Bakloushinskaya I., Bannikova A.* Cryptic variation in mole voles *Ellobius* (Arvicolinae, Rodentia) of Mongolia // Zoologica Scripta. — 2020. — Сент. — Т. 49, № 5. — С. 535—548. — URL: <http://doi.wiley.com/10.1111/zsc.12440>.

66. *Lebedev V. S., Bannikova A. A., Tesakov A. S., Abramson N. I.* Molecular phylogeny of the genus Alticola (Cricetidae, Rodentia) as inferred from the sequence of the cytochrome b gene // *Zoologica Scripta*. — 2007. — Нояб. — Т. 36, № 6. — С. 547—563. — URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1463-6409.2007.00300.x>.
67. *Lechner M., Findeiß S., Steiner L., Marz M., Stadler P. F., Prohaska S. J.* Proteinortho: Detection of (Co-)orthologs in large-scale analysis // *BMC Bioinformatics*. — 2011. — Дек. — Т. 12, № 1. — С. 124. — URL: <https://bmcbioinformatics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2105-12-124>.
68. *Lehmann W. H.* The forelimb architecture of some fossorial rodents // *Journal of Morphology*. — 1963. — Июль. — Т. 113, № 1. — С. 59—76. — URL: <http://doi.wiley.com/10.1002/jmor.1051130105%20https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmor.1051130105>.
69. *Li D.* Economic Animal Fauna of Qinghai. // *Qinghai People's Publishing House*, — 1989. — С. 681—682.
70. *Lin C.-P., Danforth B. N.* How do insect nuclear and mitochondrial gene substitution patterns differ? Insights from Bayesian analyses of combined datasets // *Molecular Phylogenetics and Evolution*. — 2004. — Март. — Т. 30, № 3. — С. 686—702. — URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1055790303002410>.
71. *Lomize M. A., Pogozheva I. D., Joo H., Mosberg H. I., Lomize A. L.* OPM database and PPM web server: resources for positioning of proteins in membranes // *Nucleic Acids Research*. — 2012. — Янв. — Т. 40, № D1. — С. D370—D376. — URL: <https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/gkr703>.
72. *Lopez J. V., Culver M., Stephens J. C., Johnson W. E., O'Brien S. J.* Rates of nuclear and cytoplasmic mitochondrial DNA sequence divergence in mammals // *Molecular Biology and Evolution*. — 1997. — Март. — Т. 14, № 3. — С. 277—286. — URL: <https://academic.oup.com/mbe/article-lookup/doi/10.1093/oxfordjournals.molbev.a025763>.
73. *Luo Y., Gao W., Gao Y., Tang S., Huang Q., Tan X., Chen J., Huang T.* Mitochondrial genome analysis of Ochotona curzoniae and implication of cytochrome c oxidase in hypoxic adaptation // *Mitochondrion*. — 2008. — Дек. — Т. 8, № 5/6. — С. 352—357. — URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567724908000603>.
74. *Lychev G. F., Savinov P. F.* Late Pliocene lagomorphs and rodents of Kiikbay // Materials on the history of fauna and flora of Kazakhstan, Almaty. — 1974. — Т. 6. — С. 39—57.
75. *Maina J. N.* What it takes to fly: the structural and functional respiratory refinements in birds and bats // *Journal of Experimental Biology*. — 2000. — Окт. — Т. 203, № 20. — 3045 LP —3064. — URL: <http://jeb.biologists.org/content/203/20/3045.abstract>.
76. *Martin A. P.* Metabolic rate and directional nucleotide substitution in animal mitochondrial DNA. // *Molecular Biology and Evolution*. — 1995. — Нояб. — URL: <https://academic.oup.com/mbe/article-lookup/doi/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040286>.

77. Martíková N., Moravec J. Multilocus phylogeny of arvicoline voles (Arvicolini, Rodentia) shows small tree terrace size // *Folia Zoologica*. — 2012. — Нояб. — Т. 61, № 3/4. — С. 254—267. — URL: <http://www.bioone.org/doi/10.25225/fozo.v61.i3.a10.2012>.
78. McClellan D. A., Palfreyman E. J., Smith M. J., Moss J. L., Christensen R. G., Sailsbury J. K. Physicochemical Evolution and Molecular Adaptation of the Cetacean and Artiodactyl Cytochrome b Proteins // *Molecular Biology and Evolution*. — 2005. — Март. — Т. 22, № 3. — С. 437—455. — URL: <https://academic.oup.com/mbe/article-lookup/doi/10.1093/molbev/msi028>.
79. McClellan D. A., McCracken K. G. Estimating the Influence of Selection on the Variable Amino Acid Sites of the Cytochrome b Protein Functional Domains // *Molecular Biology and Evolution*. — 2001. — Июнь. — Т. 18, № 6. — С. 917—925. — URL: <http://academic.oup.com/mbe/article/18/6/917/1046906>.
80. McNab B. K. The Metabolism of Fossorial Rodents: A Study of Convergence // *Ecology*. — 1966. — Сент. — Т. 47, № 5. — С. 712—733. — URL: <http://doi.wiley.com/10.2307/1934259>.
81. McNab B. K. The Influence of Body Size on the Energetics and Distribution of Fossorial and Burrowing Mammals // *Ecology*. — 1979. — Окт. — Т. 60, № 5. — С. 1010—1021. — URL: <http://doi.wiley.com/10.2307/1936869>.
82. McNab B. K. Food Habits, Energetics, and the Population Biology of Mammals // *The American Naturalist*. — 1980. — Июль. — Т. 116, № 1. — С. 106—124. — URL: <https://www.journals.uchicago.edu/doi/10.1086/283614>.
83. Miller D. N., Bryant J. E., Madsen E. L., Ghiorse W. C. Evaluation and Optimization of DNA Extraction and Purification Procedures for Soil and Sediment Samples // *Applied and Environmental Microbiology*. — 1999. — Нояб. — Т. 65, № 11. — С. 4715—4724. — URL: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AEM.65.11.4715-4724.1999>.
84. Mironov A. Spatial Organization of Common Pine Vole (*Microtus Subterraneus* Selys-Longchamps, 1836) Colonies. // *Amurian Zoological Journal*. — 2020. — Т. 12. — С. 460—476.
85. Molto J. E., Loreille O., Mallott E. K., Malhi R. S., Fast S., Daniels-Higginbotham J., Marshall C., Parr R. Complete Mitochondrial Genome Sequencing of a Burial from a Romano-Christian Cemetery in the Dakhleh Oasis, Egypt: Preliminary Indications // *Genes*. — 2017. — Окт. — Т. 8, № 10. — С. 262. — URL: <http://www.mdpi.com/2073-4425/8/10/262>.
86. Muse S. V., Gaut B. S. A likelihood approach for comparing synonymous and nonsynonymous nucleotide substitution rates, with application to the chloroplast genome. // *Molecular Biology and Evolution*. — 1994. — Сент. — Т. 11, № 5. — URL: <https://academic.oup.com/mbe/article/11/5/715/1008710/A-likelihood-approach-for-comparing-synonymous-and>.

87. *Musser G. G.* Superfamily muroidea // Mammal species of the world. — 2005. — С. 894—1531.
88. *Nevo E.* Adaptive Convergence and Divergence of Subterranean Mammals // Annual Review of Ecology and Systematics. — 1979. — Нојб. — Т. 10, № 1. — С. 269—308. — URL: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.es.10.110179.001413>.
<https://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.es.10.110179.001413>.
89. *Nevo E.* Mosaic evolution of subterranean mammals: regression, progression, and global convergence. // Oxford University Press. — 1999.
90. *Nigro L.* Nuclear background affects frequency dynamics of mitochondrial DNA variants in *Drosophila simulans* // Heredity. — 1994. — Июнь. — Т. 72, № 6. — С. 582—586. — URL: <http://www.nature.com/articles/hdy199480>.
91. *Ohdachi S., Dokuchaev N. E., Hasegawa M., Masuda R.* Intraspecific phylogeny and geographical variation of six species of northeastern Asiatic *Sorex* shrews based on the mitochondrial cytochrome b sequences // Molecular Ecology. — 2001. — Сент. — Т. 10, № 9. — С. 2199—2213. — URL: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-294X.2001.01359.x>.
92. *Petrova T. V., Tesakov A. S., Kowalskaya Y. M., Abramson N. I.* Cryptic speciation in the narrow-headed vole *Lasiopodomys (Stenocranius) gregalis* (Rodentia: Cricetidae) // Zoologica Scripta. — 2016. — Нојб. — Т. 45, № 6. — С. 618—629. — URL: <http://doi.wiley.com/10.1111/zsc.12176>.
93. *Pohjoismaki J. L. O., Boettger T., Liu Z., Goffart S., Szibor M., Braun T.* Oxidative stress during mitochondrial biogenesis compromises mtDNA integrity in growing hearts and induces a global DNA repair response. — 2012.
94. *Poux C., Chevret P., Huchon D., Jong W. W. de, Douzery E. J. P.* Arrival and Diversification of Caviomorph Rodents and Platyrrhine Primates in South America // Systematic Biology / под ред. Р. Soltis. — 2006. — Апр. — Т. 55, № 2. — С. 228—244. — URL: <https://academic.oup.com/sysbio/article/55/2/228/1621645>.
95. *Puttick G. M., Jarvis J. U.* The functional anatomy of the neck and forelimbs of the Cape golden mole, *Chrysocloris asiatica* (Lipotyphla: Chrysocloridae) // African Zoology. — 1977. — Т. 12, № 2.
96. *R Core Team.* R: A language and environment for statistical computing. — 2017.
97. *Rambaut A., Drummond A., Suchard M.* Tracer v1. 6. Available from <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>. — 2014.
98. *Rand D. M., Clark A. G., Kann L. M.* Sexually Antagonistic Cytonuclear Fitness Interactions in *Drosophila melanogaster* // Genetics. — 2001. — Сент. — Т. 159, № 1. — 173 LP — 187. — URL: <http://www.genetics.org/content/159/1/173.abstract>.
99. *Reichman O. J., Smith S. C.* Burrows and burrowing behavior by mammals // Current mammalogy. — 1990. — № 2. — С. 197—244.

100. *Robert A. Martin*. Biochronology of Latest Miocene Through Pleistocene Arvicolid Rodents from the Central Great Plains of North America // Coloquios de Paleontología. — 2003. — Т. 1. — С. 373—383.
101. *Rokas A., Abbot P.* Harnessing genomics for evolutionary insights // Trends in Ecology & Evolution. — 2009. — Апр. — Т. 24, № 4. — С. 192—200. — URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169534709000275>.
102. *Ronquist F., Teslenko M., Mark P. van der, Ayres D. L., Darling A., Höhna S., Larget B., Liu L., Suchard M. A., Huelsenbeck J. P.* MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space // Systematic Biology. — 2012. — Май. — Т. 61, № 3. — С. 539—542. — URL: <https://academic.oup.com/sysbio/article/61/3/539/1674894>.
103. *Saccone C., Gissi C., Lanave C., Larizza A., Pesole G., Reyes A.* Evolution of the mitochondrial genetic system: an overview // Gene. — 2000. — Дек. — Т. 261, № 1. — С. 153—159. — URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378111900004844>.
104. *Sackman A. M., Mcgee L. W., Morrison A. J., Pierce J., Anisman J., Hamilton H., Sanderbeck S., Newman C., Rokyta D. R.* Mutation-Driven Parallel Evolution during Viral Adaptation // Molecular Biology and Evolution. — 2017. — Т. 34, № 12. — С. 3243—3253. — URL: <https://academic.oup.com/mbe/article/34/12/3243/4259274>.
105. *Schizas N. V., Chandler G. T., Coull B. C., Klosterhaus S. L., Quattro J. M.* Differential Survival of Three Mitochondrial Lineages of a Marine Benthic Copepod Exposed to a Pesticide Mixture // Environmental Science & Technology. — 2001. — Февр. — Т. 35, № 3. — С. 535—538. — URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es001219g>.
106. *Schröpfer R.* Die Postnatale Entwicklung Der Kleinwühlmaus, *Pitymys Subterraneus* De Selys-Longchamps, 1836 (Rodentia, Cricetidae). // Bonn Zool Beitr. — 1977. — Т. 28. — С. 249—268.
107. *Shams I., Avivi A., Nevo E.* Oxygen and carbon dioxide fluctuations in burrows of subterranean blind mole rats indicate tolerance to hypoxic–hypercapnic stresses // Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology. — 2005a. — Ноябр. — Т. 142, № 3. — С. 376—382. — URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1095643305003144>.
108. *Shams I., Nevo E., Avivi A.* Ontogenetic expression of erythropoietin and hypoxia-inducible factor-1 alpha genes in subterranean blind mole rats // The FASEB Journal. — 2005b. — Февр. — Т. 19, № 2. — С. 1—14. — URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1096/fj.04-2758fje%20https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1096/fj.04-2758fje>.
109. *Shao Y., Li J.-X., Ge R.-L., Zhong L., Irwin D. M., Murphy R. W., Zhang Y.-P.* Genetic adaptations of the plateau zokor in high-elevation burrows // Scientific Reports. — 2015. — Дек. — Т. 5, № 1. — С. 17262. — URL: <http://www.nature.com/articles/srep17262>.

110. *Shen Y.-Y., Liang L., Zhu Z.-H., Zhou W.-P., Irwin D. M., Zhang Y.-P.* Adaptive evolution of energy metabolism genes and the origin of flight in bats // Proceedings of the National Academy of Sciences. — 2010. — Май. — Т. 107, № 19. — С. 8666–8671. — URL: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0912613107>.
111. *Smith M. D., Wertheim J. O., Weaver S., Murrell B., Scheffler K., Kosakovsky Pond S. L.* Less Is More: An Adaptive Branch-Site Random Effects Model for Efficient Detection of Episodic Diversifying Selection // Molecular Biology and Evolution. — 2015. — Май. — Т. 32, № 5. — С. 1342–1353. — URL: <https://academic.oup.com/mbe/article-lookup/doi/10.1093/molbev/msv022>.
112. *Smorkatcheva A., Aksanova T., Zorenko T.* Ecology of the Chinese Vole *Lasiopodomys Mandarinus* (Rodentia, Cricetidae) in Transbaikalia. // Zoologicheskii Zhurnal. — 1990. — Т. 69. — С. 115–124.
113. *Stamatakis A.* RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies // Bioinformatics. — 2014. — Май. — Т. 30, № 9. — С. 1312–1313. — URL: <https://academic.oup.com/bioinformatics/article-lookup/doi/10.1093/bioinformatics/btu033>.
114. *Stapley J., Reger J., Feulner P. G., Smadja C., Galindo J., Ekblom R., Bennison C., Ball A. D., Beckerman A. P., Slate J.* Adaptation genomics: the next generation // Trends in Ecology & Evolution. — 2010. — Дек. — Т. 25, № 12. — С. 705–712. — URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0169534710002168>.
115. *Steppan S. J., Schenk J. J.* Muroid rodent phylogenetics: 900-species tree reveals increasing diversification rates // PLOS ONE / под ред. D. Huchon. — 2017. — Авг. — Т. 12, № 8. — e0183070. — URL: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0183070>.
116. *Stordeur E. de.* Nonrandom partition of mitochondria in heteroplasmic *Drosophila* // Heredity. — 1997. — Дек. — Т. 79, № 6. — С. 615–623. — URL: <http://www.nature.com/articles/hdy1997207>.
117. *Sun H., Cui Z., Zhang Y., Pan D., Wang Z.* Expression patterns of clock genes in the hypothalamus and eye of two *Lasiopodomys* species // Chronobiology International. — 2020. — Март. — Т. 37, № 3. — С. 327–338. — URL: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/07420528.2020.1730881>.
118. *Sun H., Dong Q., Wang C., Jiang M., Wang B., Wang Z.* Evolution of circadian genes PER and CRY in subterranean rodents // International Journal of Biological Macromolecules. — 2018a. — Окт. — Т. 118. — С. 1400–1405. — URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813018317963>.
119. *Sun H., Zhang Y., Shi Y., Li Y., Li W., Wang Z.* Evolution of the CLOCK and BMAL1 genes in a subterranean rodent species (*Lasiopodomys mandarinus*) // International Journal of Biological Macromolecules. — 2018b. — Апр. — Т. 109. — С. 932–940. — URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813017335791>.

120. *Takeda K., Takahashi S., Onishi A., Hanada H., Imai H.* Replicative Advantage and Tissue-Specific Segregation of RR Mitochondrial DNA Between C57BL/6 and RR Heteroplasmic Mice // Genetics. — 2000. — Июнь. — Т. 155, № 2. — 777 LP —783. — URL: <http://www.genetics.org/content/155/2/777.abstract>.
121. *Tavares W. C., Seuánez H. N.* Changes in selection intensity on the mitogenome of subterranean and fossorial rodents respective to aboveground species. — 2018. — URL: <https://doi.org/10.1007/s00335-018-9748-5>.
122. *Thomas S., Suther R.* The Physiology and Energetics of Bat Flight // Journal of Experimental Biology. — 1972. — № 57. — С. 317—335.
123. *Tomasco I. H., Lessa E. P.* The evolution of mitochondrial genomes in subterranean caviomorph rodents: Adaptation against a background of purifying selection // Molecular Phylogenetics and Evolution. — 2011. — Окт. — Т. 61, № 1. — С. 64—70. — URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2011.06.014%20https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1055790311003034>.
124. *Tomasco I. H., Lessa E. P.* Two mitochondrial genes under episodic positive selection in subterranean octodontoid rodents // Gene. — 2014. — Янв. — Т. 534, № 2. — С. 371—378. — URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2013.09.097%20https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378111913013310>.
125. *Tucker R.* The digging behavior and skin differentiations in *Heterocephalus glaber* // Journal of Morphology. — 1981. — Апр. — Т. 168, № 1. — С. 51—71. — URL: <http://doi.wiley.com/10.1002/jmor.1051680107%20https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmor.1051680107>.
126. *Turrens J. F.* Mitochondrial formation of reactive oxygen species. — 2003.
127. *Vleck D.* The Energy Cost of Burrowing by the Pocket Gopher *Thomomys bottae* // Physiological Zoology. — 1979. — Апр. — Т. 52, № 2. — С. 122—136. — URL: <https://www.journals.uchicago.edu/doi/10.1086/physzool.52.2.30152558>.
128. *Vorontsov N.* New Data on the Biology and Taxonomic Position of the Long-Clawed Mole Vole (*Prometheomys Schaposchnikovi* Satunin, 1901). // Zoologicheskii Zhurnal. — 1966. — Т. 45. — С. 619—623.
129. *Webb B., Sali A.* Comparative Protein Structure Modeling Using MODELLER // Current Protocols in Bioinformatics. — 2016. — Июнь. — Т. 54, № 1. — URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/cpbi.3%20https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cpbi.3>.
130. *Wei D.-B., Wei L., Zhang J.-M., Yu H.-Y.* Blood-gas properties of plateau zokor (*Myospalax baileyi*) // Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology. — 2006. — Нояб. — Т. 145, № 3. — С. 372—375. — URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1095643306003291>.
131. *Wertheim J. O., Murrell B., Smith M. D., Kosakovsky Pond S. L., Scheffler K.* RELAX: Detecting Relaxed Selection in a Phylogenetic Framework // Molecular Biology and

- Evolution. — 2015. — Март. — Т. 32, № 3. — С. 820—832. — URL: <https://academic.oup.com/mbe/article-lookup/doi/10.1093/molbev/msu400>.
132. White C. R. The Influence of Foraging Mode and Arid Adaptation on the Basal Metabolic Rates of Burrowing Mammals // Physiological and Biochemical Zoology. — 2003. — Янв. — Т. 76, № 1. — С. 122—134. — URL: <http://www.journals.uchicago.edu/doi/10.1086/367940>.
133. Widmer H. R., Hoppeler H., Nevo E., Taylor C. R., Weibel E. R. Working underground: Respiratory adaptations in the blind mole rat // Proceedings of the National Academy of Sciences. — 1997. — Март. — Т. 94, № 5. — С. 2062—2067. — URL: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.94.5.2062>.
134. Woolley S., Johnson J., Smith M. J., Crandall K. A., McClellan D. A. TreeSAAP: Selection on Amino Acid Properties using phylogenetic trees // Bioinformatics. — 2003. — Март. — Т. 19, № 5. — С. 671—672. — URL: <https://academic.oup.com/bioinformatics/article-lookup/doi/10.1093/bioinformatics/btg043>.
135. Xia X., Hafner M. S., Sudman P. D. On Transition Bias in Mitochondrial Genes of Pocket Gophers // Journal of Molecular Evolution. — 1996. — Т. 43. — С. 32—40.
136. Xue Y., Liu Z., Cao J., Ma Q., Gao X., Wang Q., Jin C., Zhou Y., Wen L., Ren J. GPS 2.1: enhanced prediction of kinase-specific phosphorylation sites with an algorithm of motif length selection // Protein Engineering Design and Selection. — 2011. — Март. — Т. 24, № 3. — С. 255—260. — URL: <https://academic.oup.com/peds/article-lookup/doi/10.1093/protein/gzq094>.
137. Yalden D. W. The anatomy of mole locomotion // Journal of Zoology. — 2009. — Авг. — Т. 149, № 1. — С. 55—64. — URL: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1469-7998.1966.tb02983.x%20https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-7998.1966.tb02983.x>.
138. Yang Z., Nielsen R. Codon-Substitution Models for Detecting Molecular Adaptation at Individual Sites Along Specific Lineages // Molecular Biology and Evolution. — 2002. — Июнь. — Т. 19, № 6. — С. 908—917. — URL: <http://academic.oup.com/mbe/article/19/6/908/1094851>.
139. Zhang J., Xie P., Lascoux M., Meagher T. R., Liu J. Rapidly Evolving Genes and Stress Adaptation of Two Desert Poplars, *Populus euphratica* and *P. pruinosa* // PloS one. — 2013a. — Т. 8, № 6. — С. 2—11.
140. Zhang T., Lin G., Nevo E., Yang C., Su J. Cytochrome b gene selection of subterranean rodent Gansu zokor *Eospalax canus* (Rodentia, Spalacidae) // Zoologischer Anzeiger - A Journal of Comparative Zoology. — 2013b. — Март. — Т. 252, № 1. — С. 118—122. — URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcz.2012.04.002%20https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0044523112000204>.
141. Zhou X., Seim I., Gladyshev V. N. Convergent evolution of marine mammals is associated with distinct substitutions in common genes OPEN. — 2015. — URL: [www.nature.com/scientificreports.](http://www.nature.com/scientificreports/)

142. *Верещагин Н.* Млекопитающие Кавказа. История формирования фауны. — АН ССР: Иерусалим, 1959.
143. *Гамбарян П. П., Карапетян В. С., Айрумян К. А., Казарян К. Г., Межслумян С. К.* К экологии прометеевой полевки *Prometheomys schaposchnikovi sat* // Зоологический сборник. — 1957. — Т. 10, № 5—16.
144. *Гамбарян П. П.* Приспособительные особенности органов движения роющих млекопитающих. — Ереван : Изд-во Акад. наук Арм. ССР, 1960. — С. 195.
145. *Громов И. М., Поляков И. Я.* Полевки (Microtinae) // Млекопитающие. — Наука. Ленингр. отд-ние., 1977.
146. *Зимина Р., Ясный Е.* Новые находки редких млекопитающих на Большом Кавказе // Экология, методы изучения и организация охраны мелких млекопитающих горных областей. — 1977. — Т. 82. — С. 63—64.
147. *Огнев С. И.* Грызуны. // Звери СССР и прилежащих стран. — Москва, 1950. — С. 17—49.
148. *Шубин И.Г.* Род Слепушонки – *Ellobius Fischer, 1814* // Млекопитающие Казахстана. — Алма-Ата, 1978. — С. 188—207.

Приложение А

Виды, используемые в работе

Таблица 14. Виды, использованные в работе. Каждому анализу соответствуют отдельные столбцы. **Жирным** выделены сиквенсы, полученные в лаборатории эволюционной геномики и палеогеномики ЗИН РАН. SRA — сырье риды были взяты из базы данных NCBI SRA, но сборка осуществлялась самостоятельно в лаборатории эволюционной геномики и палеогеномики ЗИН РАН; наши данные — сиквенсы получены в лаборатории эволюционной геномики и палеогеномики ЗИН РАН, но пока не выложенные в открытый доступ; GenBank assambly — в анализ взят уже собранный транскриптом из базы данных Genome.

Род	Вид	CYTB	Митохондриальные геномы	Транскриптомы
<i>Agricola</i>	<i>A. agrestis</i>	FJ619786	NC_041250	—
<i>Alexandromys</i>	<i>A. fortis</i>	AF163894	NC_015241	SRA
	<i>A. kikuchii</i>	—	NC_003041	—
	<i>A. maximowiczii</i>	KJ857288	—	—
	<i>A. oeconomus</i>	AY219983	—	—
<i>Alticola</i>	<i>Al. argentatus</i>	KJ556627	—	—
	<i>A. barakshin</i>	KJ556637	—	—
	<i>A. lemminus</i>	KJ556621	MT381922	наши данные
	<i>A. macrotis</i>	DQ845196	MT381923	—
	<i>A. olchonensis</i>	—	MT381924	—
	<i>A. strelzowi</i>	—	MT381925	—
	<i>A. tuvinicus</i>	—	MT381926	—
<i>Arvicola</i>	<i>A. amphibius</i>	MF099519	MT381921	SRA
	<i>B. afghanus</i>	EF599109	—	—
<i>Blanfordimys</i>				Продолжение на следующей странице

Таблица 14 — продолжение

Род	Вид	<i>CYTB</i>	Митохондриальные геномы	Транскриптомы
<i>Bathyergus</i>	<i>B. carruthersii</i>	EF599113	—	—
	<i>B. juldaschi</i>	—	MT381927	—
<i>Caryomys</i>	<i>C. inez</i>	—	KU200225	—
<i>Chionomys</i>	<i>C. gud</i>	JN244677	MT381928	—
	<i>C. nivalis</i>	JN244707	MT381934	наши данные
<i>Clethrionomys</i>	<i>C. centralis</i>	—	MT381940	—
	<i>C. glareolus</i>	MH197069	NC_024538	SRA
	<i>C. rutilus</i>	AF119274	—	—
<i>Craseomys</i>	<i>C. regulus</i>	—	JN629046	—
	<i>C. rex</i>	AB565454	—	—
	<i>C. rufocanus</i>	AY309418	NC_029477	—
<i>Dicrostonyx</i>	<i>D. groenlandicus</i>	—	NC_034313	—
	<i>D. hudsonius</i>	KY753975	NC_034307	—
	<i>D. torquatus</i>	AF119275	NC_034646	наши данные
<i>Ellobius</i>	<i>E. fuscocapillus</i>	MN735805	MT483991	—
	<i>E. lutescens</i>	MN735804	MT483992	SRA
	<i>E. talpinus</i>	MN735803	MT483993	—
	<i>E. tancrei</i>	AF119270	—	—
<i>Eolagurus</i>	<i>E. luteus</i>	MN735806	MT492448	—
<i>Eothenomys</i>	<i>E. chinensis</i>	—	NC_013571	—
	<i>E. melanogaster</i>	AY426681	NC_027418	—
	<i>E. miletus</i>	—	NC_030330	—
<i>Iberomys</i>	<i>I. cabrerae</i>	AY513789	MT381938	—

Продолжение на следующей странице

Таблица 14 — продолжение

Род	Вид	<i>CYTB</i>	Митохондриальные геномы	Транскриптомы
<i>Lagurus</i>	<i>L. lagurus</i>	AF429818	MT492449	—
<i>Lasiopodomys</i>	<i>L. brandtii</i>	GQ352472	MT381936	SRA
	<i>L. gregalis</i>	AY513803	MT381937	наши данные
	<i>L. mandarinus</i>	FJ986322	NC_025283	SRA
	<i>L. raddei</i>	KF751080	MT381929	наши данные
<i>Lemmus</i>	<i>L. sibiricus</i>	KY754011	—	наши данные
	<i>L. trimicronatus</i>	AF119276	MT381930	—
<i>Microtus</i>	<i>M. arvalis</i>	AM991041	NC_038176	—
	<i>M. guentheri</i>	AY513806	MT381935	—
	<i>M. levis</i>	AY513821	NC_008064	—
	<i>M. qazvinensis</i>	KM390979	—	—
	<i>M. socialis</i>	AY513829	MT381932	—
<i>Mynomes</i>	<i>M. californicus</i>	AF163891	MT381939	—
	<i>M. longicaudus</i>	—	MT381942	—
	<i>M. miurus</i>	GU809171	MT381943	—
	<i>M. ochrogaster</i>	AF163901	NC_027945	GenBank assambly
	<i>M. pennsylvanicus</i>	—	—	SRA
	<i>M. pinetorum</i>	KY754042	—	—
	<i>M. richardsoni</i>	AF163905	MT381944	—
<i>Myopus</i>	<i>M. schisticolor</i>	AF119263	MT381931	наши данные
<i>Neodon</i>	<i>N. fuscus</i>	JF906122	NC_040138	—
	<i>N. irene</i>	HQ123595	NC_016055	—
	<i>N. leucurus</i>	KP190223	—	—
Продолжение на следующей странице				

Таблица 14 — продолжение

Род	Вид	<i>CYTB</i>	Митохондриальные геномы	Транскриптомы
	<i>N. sikimensis</i>	HQ123599	NC_035503	—
<i>Neofiber</i>	<i>N. alleni</i>	AM910618	—	—
<i>Ondatra</i>	<i>O. zibethicus</i>	AF119277	NC_036035	наши данные
<i>Phenacomys</i>	<i>P. intermedius</i>	AF119260	MT381941	—
<i>Proedromys</i>	<i>P. liangshanensis</i>	—	NC_013563	—
<i>Prometheomys</i>	<i>P. schaposchnikowi</i>	MN735802	наши данные	наши данные
<i>Synaptomys</i>	<i>S. cooperi</i>	DQ323957	MT492450	—
<i>Terricola</i>	<i>T. daghestanicus</i>	AY513791	MT381933	—
	<i>T. majori</i>	AY513814	—	—
	<i>T. thomasi</i>	LT222312	—	—
	<i>T. subterraneus</i>	AY513832	MN326850	наши данные
<i>Volemys</i>	<i>V. millicens</i>	JF906123	—	—
<i>Dinaromys</i>	<i>D. bogdanovi</i>	—	MT588182	—
<i>Hyperacrius</i>	<i>H. fertilis</i>	—	MT433094	—
OUTGROUP				
<i>Akodon</i>	<i>A. montensis</i>	—	NC_025746	—
<i>Cricetulus</i>	<i>C. griseus</i>	—	NC_007936	GenBank assambly
	<i>C. kamensis</i>	—	NC_024592	—
	<i>C. longicaudatus</i>	—	NC_025330	—
	<i>C. migratorius</i>	AY288508	NC_031802	—
	<i>Mesocricetus</i>	<i>M. auratus</i>	KY754035	—
<i>Phodopus</i>	<i>P. roborovskii</i>	KT750095	—	—
<i>Peromyscus</i>	<i>P. ochraventer</i>	JX910119	—	—

Продолжение на следующей странице

Таблица 14 — продолжение

Род	Вид	<i>CYT B</i>	Митохондриальные геномы	Транскриптомы
	<i>P. megalops</i>	—	NC_035613	—

Приложение Б

Анализ популяционной изменчивости гена *CYTB*

Таблица 15. Сайты с достоверным отличием частот использования аминокислот у наземных и подземных видов. Аминокислоты приведены в универсальной однобуквенной кодировке. Holm – значение p.value после поправки на множественное тестирование методом Холма.

Позиция	Holm	Наземные виды	Подземные виды
3	0,003	A:0,00388, I:0,67137, L:0,00071, M:0,00141, N:0,00035, S:0,00106, T:0,00035, V:0,32017, Y:0,00071	F:0,0177, I:0,95575, V:0,02655
4	0,003	A:0,00035, F:0,00105, I:0,97484, L:0,00175, M:0,01363, N:0,00035, T:0,00035, V:0,00769	I:0,61062, M:0,36283, T:0,02655
10	0,003	L:0,99935, M:0,00065	L:0,97345, M:0,02655
11	0,016	A:0,00032, F:0,00032, I:0,99132, L:0,00032, M:0,00257, S:0,00064, V:0,00289, Y:0,00161	I:0,95575, M:0,00885, T:0,00885, V:0,02655
13	0,003	I:0,8445, K:0,00032, L:0,00664, M:0,1476, V:0,00032, W:0,00063	I:0,62832, L:0,31858, M:0,0531
17	0,003	A:0,14015, I:0,00031, S:0,85741, T:0,00153, V:0,00061	A:0,00885, S:0,99115
23	0,003	A:0,83373, R:0,00027, S:0,00348, T:0,16252	A:0,55814, T:0,44186
33	0,003	C:0,00212, F:0,99618, I:0,00021, L:0,00085, S:0,00021, V:0,00042	F:0,95385, L:0,04615
40	0,018	C:0,99938, F:0,00041, W:0,00021	C:0,98462, G:0,00769, W:0,00769
42	0,003	A:0,01348, F:0,00099, I:0,85431, L:0,00079, M:0,09197, T:0,00634, V:0,03211	A:0,04615, F:0,02308, I:0,67692, S:0,01538, T:0,22308, V:0,01538
Продолжение на следующей странице			

Таблица 15 — продолжение

Позиция	Holm	Наземные виды	Подземные виды
43	0,003	A:0,00118, D:0,00039, I:0,75666, M:0,00887, T:0,02189, V:0,211	I:0,36154, M:0,05385, T:0,16923, V:0,41538
46	0,01	I:0,06471, L:0,93472, S:0,00019, T:0,00038	L:1
50	0,005	F:0,99946, I:0,00018, L:0,00018, S:0,00018	F:0,97692, I:0,01538, S:0,00769
56	0,003	I:0,00034, S:0,00272, T:0,99694	P:0,00769, S:0,04615, T:0,94615
57	0,003	A:0,00136, L:0,00034, P:0,00119, S:0,99643, Y:0,00068	P:0,0458, S:0,9542
60	0,003	A:0,38586, I:0,00034, S:0,51283, T:0,10097	A:0,63359, S:0,32824, T:0,03817
66	0,008	L:0,00068, V:0,99932	I:0,01527, V:0,98473
67	0,003	A:0,49248, S:0,00051, T:0,50668, V:0,00034	A:0,9771, T:0,0229
69	0,003	I:0,99966, L:0,00034	I:0,9771, M:0,0229
82	0,003	A:0,01129, G:0,00034, L:0,06625, M:0,91571, T:0,00624, V:0,00017	L:0,30769, M:0,69231
102	0,003	I:0,23305, L:0,00101, M:0,39155, V:0,37439	I:0,0687, V:0,9313
118	0,003	F:5e-04, I:0,65786, M:0,00151, N:0,00017, V:0,33995	I:0,9771, V:0,0229
133	0,003	F:0,00033, L:0,99967	I:0,01527, L:0,9771, R:0,00763
149	0,005	L:1	L:0,98462, M:0,01538
160	0,003	L:0,99983, V:0,00017	I:0,02308, L:0,97692
162	0,003	E:0,99745, K:0,00255	E:0,89231, K:0,10769
171	0,003	D:0,99557, E:0,00085, N:0,00306, Y:0,00051	D:0,88462, N:0,11538
178	0,005	F:0,99983, V:0,00017	F:0,98462, L:0,01538
194	0,003	F:0,37632, L:0,6157, M:0,00799	L:1
203	0,003	A:0,00036, K:0,00054, S:0,00018, T:0,99893	S:0,02308, T:0,97692

Продолжение на следующей странице

Таблица 15 — продолжение

Позиция	Holm	Наземные виды	Подземные виды
209	0,005	A:0,06304, I:0,00322, M:0,00036, P:0,00018, S:0,10244, T:0,82611, V:0,00466	S:0,03077, T:0,96923
212	0,003	D:0,00018, N:0,99982	D:0,01538, K:0,03846, N:0,94615
215	0,003	A:0,86109, S:0,01828, T:0,12063	A:0,98462, T:0,01538
221	0,003	H:0,99424, P:0,00558, Y:0,00018	H:0,88462, P:0,11538
226	0,003	I:0,6858, M:0,00108, T:0,00054, V:0,31258	I:0,33077, M:0,00769, T:0,02308, V:0,63846
232	0,003	A:0,11343, D:0,00018, G:0,00252, I:0,02485, N:0,00018, V:0,85884	A:0,32308, I:0,03077, V:0,64615
233	0,003	F:0,00144, I:0,00252, L:0,99586, Q:0,00018	F:0,03077, L:0,96923
234	0,003	F:0,02035, I:0,91682, L:0,05221, M:0,0027, T:0,00018, V:0,00774	F:0,00769, I:0,66154, L:0,30769, M:0,02308
237	0,003	K:0,00252, L:0,00036, M:0,96307, S:0,0054, T:0,0281, V:0,00054	A:0,26154, K:0,12308, M:0,57692, T:0,01538, V:0,02308
238	0,003	A:0,4351, D:0,00018, G:0,3982, S:0,01242, T:0,0036, V:0,1505	A:0,72308, T:0,26923, V:0,00769
239	0,003	F:0,36712, L:0,63036, S:0,00234, V:0,00018	F:0,65385, L:0,31538, S:0,03077
240	0,003	I:0,00018, K:0,00072, M:0,99856, Q:0,00018, T:0,00036	K:0,10769, M:0,87692, T:0,01538
241	0,003	I:0,99027, M:0,00018, N:0,00036, T:0,00504, V:0,00414	I:0,67692, M:0,27692, T:0,03846, V:0,00769
243	0,003	A:0,11107, G:0,00018, N:0,00018, T:0,32005, V:0,56852	A:0,3, T:0,65385, V:0,04615
248	0,003	D:0,99802, E:0,00018, H:0,00018, K:0,00018, N:0,00144	D:0,9, N:0,1
249	0,003	A:0,06564, I:0,48007, L:0,00054, M:0,00036, T:0,00343, V:0,44995	A:0,23256, F:0,00775, I:0,75194, T:0,00775

Продолжение на следующей странице

Таблица 15 — продолжение

Позиция	Holm	Наземные виды	Подземные виды
256	0,003	D:0,00036, F:0,04833, Y:0,9513	F:0,28319, Y:0,71681
266	0,003	A:0,43584, P:0,56379, T:0,00037	A:0,00893, M:0,02679, P:0,96429
275	0,016	I:0,00019, L:0,99926, M:0,00019, P:0,00019, S:0,00019	I:0,01802, L:0,98198
281	0,039	L:0,99907, V:0,00093	L:0,98198, V:0,01802
288	0,027	G:0,00019, L:0,99907, M:0,00037, V:0,00037	L:0,98198, V:0,01802
296	0,003	L:0,99963, P:0,00019, V:0,00019	L:0,97297, M:0,02703
299	0,003	F:0,00167, L:0,79117, M:0,00056, S:0,00111, V:0,20549	F:0,00901, I:0,00901, L:0,94595, S:0,02703, V:0,00901
300	0,003	I:0,9358, M:0,00037, N:0,00019, T:0,00019, V:0,06346	I:0,68468, V:0,31532
302	0,003	A:0,99207, N:0,00019, S:0,0058, T:0,00193	A:0,81081, T:0,18919
303	0,003	A:0,0642, D:0,00039, F:0,23856, I:0,03491, L:0,66001, M:0,00019, R:0,00019, V:0,00155	F:0,01802, L:0,98198
304	0,003	I:0,00019, L:0,42658, M:0,57148, N:0,00019, Q:0,00019, V:0,00116, Y:0,00019	I:0,01802, M:0,98198
305	0,01	P:0,99942, T:0,00058	P:0,98198, R:0,01802
306	0,003	F:0,03052, H:0,04976, I:0,0344, L:0,8206, M:0,00739, S:0,00019, T:0,00019, Y:0,05695	F:0,90991, I:0,00901, L:0,08108
311	0,045	K:0,99903, N:0,00058, P:0,00019, V:0,00019	E:0,00901, K:0,98198, N:0,00901
314	0,01	A:0,35146, F:0,00019, G:0,5193, L:0,00019, S:0,00253, T:0,12632	A:0,55856, G:0,36937, T:0,07207
324	0,02	C:2e-04, I:0,05851, L:0,00078, M:0,91037, Q:2e-04, V:0,02994	L:0,00901, M:0,95495, V:0,03604
325	0,003	H:2e-04, P:2e-04, Y:0,99961	F:0,01802, Y:0,98198

Продолжение на следующей странице

Таблица 15 — продолжение

Позиция	Holm	Наземные виды	Подземные виды
327	0,045	I:0,92446, L:0,0012, M:2e-04, T:0,00381, V:0,07033	I:1
329	0,003	A:0,001, M:6e-04, T:2e-04, V:0,99819	I:0,01802, T:0,03604, V:0,94595
331	0,003	D:1	D:0,96364, N:0,03636
334	0,003	A:0,00143, I:0,70123, L:2e-04, T:0,0135, V:0,28364	I:0,94595, L:0,00901, T:0,02703, V:0,01802
335	0,008	L:1	F:0,01802, L:0,98198
338	0,003	I:0,99666, M:0,00022, N:0,00022, V:0,00289	I:0,94595, V:0,05405
349	0,003	A:0,01107, I:0,89657, M:0,0131, T:0,01265, V:0,06662	I:0,64865, L:0,01802, M:0,32432, V:0,00901
353	0,003	A:0,04928, H:0,00023, I:0,0636, M:0,38653, P:0,00023, S:7e-04, T:0,47407, V:0,02535	A:0,01802, L:0,00901, T:0,63063, V:0,34234
357	0,01	A:0,98307, G:0,00072, L:0,00119, S:0,00024, T:0,01479	A:0,93694, G:0,01802, T:0,04505
360	0,003	A:0,77274, E:0,00024, S:0,00048, T:0,22654	A:0,07207, T:0,92793
365	0,003	F:0,60583, I:0,00025, L:0,39316, S:0,00051, V:0,00025	F:0,03604, L:0,95495, P:0,00901
366	0,003	I:0,00026, M:0,99974	M:0,98198, T:0,01802
369	0,014	A:0,91371, G:0,00026, S:0,07742, T:0,00782, V:0,00078	A:1
371	0,003	I:0,00999, K:0,00053, L:0,00053, M:0,97529, T:0,0071, V:0,00657	A:0,00901, I:0,00901, L:0,03604, M:0,82883, V:0,11712
375	0,003	D:0,29643, I:0,00136, K:0,00027, N:0,6853, R:0,00027, S:0,01309, Y:0,00327	D:0,05455, N:0,94545
377	0,003	L:0,78128, M:0,21844, R:0,00028	L:1
379	0,003	L:0,98892, M:0,01049, R:3e-04, V:3e-04	L:0,67273, M:0,32727
380	0,003	D:0,97739, E:0,00428, N:0,01803, T:0,00031	D:0,66364, N:0,33636

Приложение В

Характеристика собранных митохондриальных геномов

Таблица 16. Характеристика собранных митохондриальных геномов. **Жирным** выделены виды, полученные в лаборатории эволюционной геномики и палеогеномики ЗИН РАН.

Триба	Род	Вид	GenBank No	Нуклеотидный состав				GC %	GC skew	Длина, п.н.
				Т	А	С	Г			
Arvicolini	<i>Arvicola</i>	<i>A. amphibius</i>	MT381921	30	31,6	25,8	12,6	38,687	-0,333	16,085
	<i>Agricola</i>	<i>A. agrestis</i>	NC_041250	27,9	30,8	27,9	13,4	35,646	-0,333	16,297
	<i>Alexandromys</i>	<i>A. fortis</i>	NC_015241	27,1	30,8	28,9	13,1	36,501	-0,367	16,310
		<i>A. kikuchii</i>	NC_003041	27	30,7	28,9	13,4	36,659	-0,348	16,312
	<i>Blanfordimys</i>	<i>B. juldaschi</i>	MT381927	27,5	31,1	28,3	13,1	36,065	-0,333	16,378
	<i>Chionomys</i>	<i>C. gud</i>	MT381928	29,9	31,5	25,8	12,8	33,948	-0,301	16,278
		<i>C. nivalis</i>	MT381934	28	31	27,7	13,3	35,673	-0,318	16,296
	<i>Hyperacrius</i>	<i>H. fertilis</i>	MT433094	29,6	29,1	26,7	14,6	27,467	-0,200	12,524
	<i>Iberomys</i>	<i>I. cabrerae</i>	MT381938	27,4	29,6	28,5	14,4	37,143	-0,318	16,327
	<i>Lasiopodomys</i>	<i>L. brandtii</i>	MT381936	28,5	30,2	27,3	14	35,989	-0,303	16,315
		<i>L. gregalis</i>	MT381937	27,5	30,2	28,3	14	36,691	-0,333	16,297
		<i>L. mandarinus</i>	NC_025283	28,4	30,5	27,8	13,3	36,109	-0,359	16,375
		<i>L. raddei</i>	MT381929	28	30,2	28,1	13,7	36,196	-0,326	16,317
	<i>Lemmiscus</i>	<i>L. curtatus</i>	MT598643	28,7	30,3	27,6	13,4	36,722	-0,284	16,347
		<i>M. arvalis</i>	NC_038176	28,3	30,7	27,5	13,6	35,586	-0,313	16,285
<i>Microtus</i>										
Продолжение на следующей странице										

Таблица 16 — продолжение

Триба	Род	Вид	GenBank №	Нуклеотидный состав				GC %	GC skew	Длина, п.н.
				Т	А	С	Г			
♂	<i>M. guentheri</i>	<i>M. guentheri</i>	MT381935	28,6	31,1	27	13,3	34,324	-0,318	16,342
		<i>M. levis</i>	NC_008064	28,5	30,9	27,2	13,4	35,233	-0,333	16,283
		<i>M. socialis</i>	MT381932	27,9	31	27,8	13,3	35,717	-0,306	16,339
	<i>Mynomes</i>	<i>M. californicus</i>	MT381939	28,3	31,3	27,5	12,8	35,020	-0,347	16,297
		<i>M. longicaudus</i>	MT381942	30,8	30,6	25,5	13	33,954	-0,318	16,303
		<i>M. miurus</i>	MT381943	27,7	30,8	27,9	13,6	35,929	-0,333	16,294
		<i>M. ochrogaster</i>	NC_027945	27,8	31	28,1	13,1	35,820	-0,347	16,292
		<i>M. richardsoni</i>	MT381944	28,4	31	27,6	13,1	35,205	-0,308	16,286
	<i>Neodon</i>	<i>N. fuscus</i>	NC_040138	27,4	29,8	28,5	14,4	36,920	-0,318	16,328
		<i>N. irene</i>	NC_016055	27,8	30,3	28,3	13,6	36,419	-0,314	16,367
		<i>N. sikimensis</i>	NC_035503	27,4	31,5	28,3	12,8	35,891	-0,333	16,330
	<i>Proedromys</i>	<i>P. liangshanensis</i>	NC_013563	27,3	31	28,2	13,4	36,365	-0,333	16,296
	<i>Terricola</i>	<i>T. daghestanicus</i>	MT381933	28,5	30,8	27,4	13,3	35,233	-0,333	16,297
		<i>T. subterraneus</i>	MN326850	28,2	30,9	27,6	13,3	35,461	-0,315	16,296
Dicrostonychini	<i>Dicrostonyx</i>	<i>D. groenlandicus</i>	NC_034313	28,6	30,4	28	13	35,820	-0,352	16,341
		<i>D. hudsonius</i>	NC_034307	28,4	30,3	28,3	13	35,989	-0,333	16,338
		<i>D. torquatus</i>	NC_034646	28,8	30,6	27,8	12,7	35,554	-0,351	16,340
	<i>Phenacomys</i>	<i>P. intermedius</i>	MT381941	30,2	32,5	25,4	11,9	32,985	-0,317	16,336
Ellobiusini	<i>Ellobius</i>	<i>E. fuscocapillus</i>	MT483991	28,7	30,9	27,4	13	35,880	-0,316	16,388
		<i>E. lutescens</i>	MT483992	26,6	29,6	30	13,8	38,335	-0,333	16,435
		<i>E. talpinus</i>	MT483993	27,7	30,2	28,7	13,5	36,816	-0,340	16,367
Lagurini	<i>Eolagurus</i>	<i>E. luteus</i>	MT492448	28,4	31,4	26,9	13,3	35,178	-0,307	16,354

Продолжение на следующей странице

Таблица 16 — продолжение

Триба	Род	Вид	GenBank №	Нуклеотидный состав				GC %	GC skew	Длина, п.н.
				Т	А	С	Г			
	<i>Lagurus</i>	<i>L. lagurus</i>	MT492449	29,3	31,2	26,4	13,1	34,786	-0,326	16,362
Lemmini	<i>Lemmus</i>	<i>L. trimucronatus</i>	MT381930	29,4	30,1	27	13,6	35,140	-0,333	16,344
	<i>Myopus</i>	<i>M. schisticolor</i>	MT381931	28,3	30,6	28,1	13	35,913	-0,350	16,339
	<i>Synaptomys</i>	<i>S. cooperi</i>	MT492450	28,6	30,3	28,2	12,9	35,918	-0,354	16,355
Clethrionomyini	<i>Alticola</i>	<i>A. lemminus</i>	MT381922	27,8	31	28,6	12,7	35,804	-0,354	16,343
		<i>A. macrotis</i>	MT381923	28,1	30,8	28,1	13	35,771	-0,349	16,355
		<i>A. olchonensis</i>	MT381924	27,3	30,3	28,7	13,7	37,018	-0,333	16,403
		<i>A. strelzowi</i>	MT381925	27,1	30,2	29	13,7	37,322	-0,333	16,420
		<i>A. tuvinicus</i>	MT381926	27,5	30,1	28,7	13,7	34,563	-0,286	15,334
	<i>Caryomys</i>	<i>C. inez</i>	KU200225	28,2	31,4	27,9	12,6	35,390	-0,351	16,354
	<i>Clethrionomys</i>	<i>C. centralis</i>	MT381940	27,8	31,2	28,2	12,8	35,690	-0,350	16,350
		<i>C. glareolus</i>	NC_024538	28,3	31,1	27,8	12,9	35,483	-0,330	16,353
		<i>C. rutilus</i>	MK482363	26,9	32,9	27	13,2	40,147	-0,371	16,295
	<i>Craseomys</i>	<i>C. regulus</i>	JN629046	27,9	30,9	28,1	13	35,913	-0,355	16,379
		<i>C. rufocanus</i>	NC_029477	27,2	31,5	29,2	12,1	-0,333	16,487	16,487
	<i>Eothenomys</i>	<i>E. chinensis</i>	NC_013571	27,9	31,2	27,9	12,9	35,739	-0,317	16,362
		<i>E. melanogaster</i>	NC_027418	27,7	31	28	13,3	36,011	-0,320	16,331
		<i>E. miletus</i>	NC_030330	27,2	30,9	28,5	13,3	36,452	-0,350	16,344
Ondatrini	<i>Ondatra</i>	<i>O. zibethicus</i>	NC_036035	28,8	32,8	26,2	12,2	33,758	-0,333	16,348
Prometeomyni	<i>Prometheomys</i>	<i>P. schaposchnikowi</i>	MW405261	28,3	30,5	28,2	13	36,931	-0,370	16,268
incertae sedis	<i>Dinaromys</i>	<i>D. bogdanovi</i>	MT588182	28,6	30,7	27	13,7	35,543	-0,317	16,356

Таблица 16 — продолжение

Триба	Род	Вид	GenBank №	Нуклеотидный состав				GC %	GC skew	Длина, п.н.
				Т	А	С	Г			
Cricetinae	<i>Akodon</i>	<i>A. montensis</i>	NC_025746	29,5	29,4	28,2	12,9	35,690	-0,349	16,376
		<i>C. griseus</i>	NC_007936	32,3	32,3	22,8	12,6	31,706	-0,266	16,284
	<i>Cricetulus</i>	<i>C. kamensis</i>	NC_024592	27,8	31,7	28,1	12,4	35,407	-0,356	16,270
		<i>C. longicaudatus</i>	NC_025330	32,5	31,4	23,1	13,1	32,348	-0,247	16,302
		<i>C. migratorius</i>	NC_031802	30,8	28,8	27,3	13,1	35,369	-0,304	16,246
	<i>Peromyscus</i>	<i>P. megalops</i>	NC_035613	28,9	33,6	25,5	12	33,039	-0,333	16,821

Приложение Г

Характеристика собранных транскриптомов

Таблица 17. Характеристика собранных транскриптомов. **Жирным** выделены виды для, которых данные полученные в лаборатории эволюционной геномики и палеогеномики ЗИН РАН. SRA обозначает, что сырые риды были взяты из базы данных SRA, но сборка осуществлялась самостоятельно в лаборатории эволюционной геномики и палеогеномики ЗИН РАН; наши данные – сиквенсы получены в лаборатории эволюционной геномики и палеогеномики ЗИН РАН, но не выложены в открытые базы данных; Genome – в анализ взят уже собранный транскриптом из базы данных Genome. Все метрики, кроме первых 4 столбцов, указаны в п.н.

Вид	Total trinity 'genes'	Total trinity transcripts	GC %	N10	N20	N30	N40	N50	median contig length	average contig	total assembled bases	Источник
<i>M. ochrogaster</i>												Genome
<i>C. griseus</i>												Genome
<i>L. brandtii</i>	371688	460613	47.98	8363	6176	4700	3584	2573	378	969.34	446492765	SRA
<i>L. mandarinus</i>	357635	452815	47.83	8005	5890	4556	3495	2552	385	985.17	446100619	SRA
<i>A. fortis</i>	72651	91394	49.47	4533	3432	2703	2136	1644	379	824.90	75390873	SRA
<i>M. pennsylvanicus</i>	79568	115517	46.79	6390	4802	3837	3048	2388	422	1058.27	122248017	SRA
<i>A. amphibius</i>	320461	417344	47.07	7297	5319	4097	3158	2343	460	1061.62	443062418	SRA
<i>E. lutescens</i>	406446	537142	46.85	8238	6053	4626	3531	2569	389	1007.65	541249517	SRA
<i>C. glareolus</i>	88559	136534	49.00	6519	4921	3987	3250	2619	437	1142.13	155940249	SRA
<i>L. gregalis</i>	34750	47038	49.93	7249	5480	4461	3711	3043	699	1485.45	69872555	наши данные
<i>L. raddei</i>	41891	63394	49.91	8180	6327	5139	4320	3571	853	1740.48	110335828	наши данные
<i>T. subterraneus</i>	76865	120144	49.73	5787	4515	3718	3066	2508	575	1227.63	147492207	наши данные

Таблица 17 — продолжение

Вид	Total trinity 'genes'	Total trinity transcripts	GC %	N10	N20	N30	N40	N50	median contig length	average contig	total assembled bases	Источник
<i>A. lemminus</i>	62348	89610	49.83	6367	4881	4007	3294	2679	527	1254.82	112444261	наши данные
<i>L. sibiricus</i>	48891	69517	49.82	5761	4534	3790	3129	2580	618	1293.65	89930905	наши данные
<i>M. schisticolor</i>	55375	77236	48.98	5965	4681	3853	3174	2579	533	1224.39	94567361	наши данные
<i>O. zibethicus</i>	42898	57009	49.24	5116	3989	3306	2722	2213	563	1138.91	64927930	наши данные
<i>P. schaposchnikowi</i>	45751	69046	49.80	6682	5114	4223	3520	2890	694	1435.51	99115921	наши данные
<i>D. torquatus</i>	58226	76013	49.51	4825	3769	3068	2501	2005	349	758.86	44185371	наши данные
<i>C. nivalis</i>	46957	71753	49.78	7523	5764	4673	3904	3219	775	1592.66	114277997	наши данные