

## ОБЩАЯ БИОЛОГИЯ

УДК 597.6

### КРИПТИЧЕСКОЕ ВИДООБРАЗОВАНИЕ У *PELOBATES FUSCUS* (*AMPHIBIA, PELOBATIDAE*): ЦИТОМЕТРИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ДОКАЗАТЕЛЬСТВА

© 2001 г. Л. Я. Боркин, С. Н. Литвинчук, К. Д. Мильто, Ю. М. Розанов, М. Д. Халтурин

Представлено академиком Н.Н. Никольским 20.03.2000 г.

Поступило 19.04.2000г.

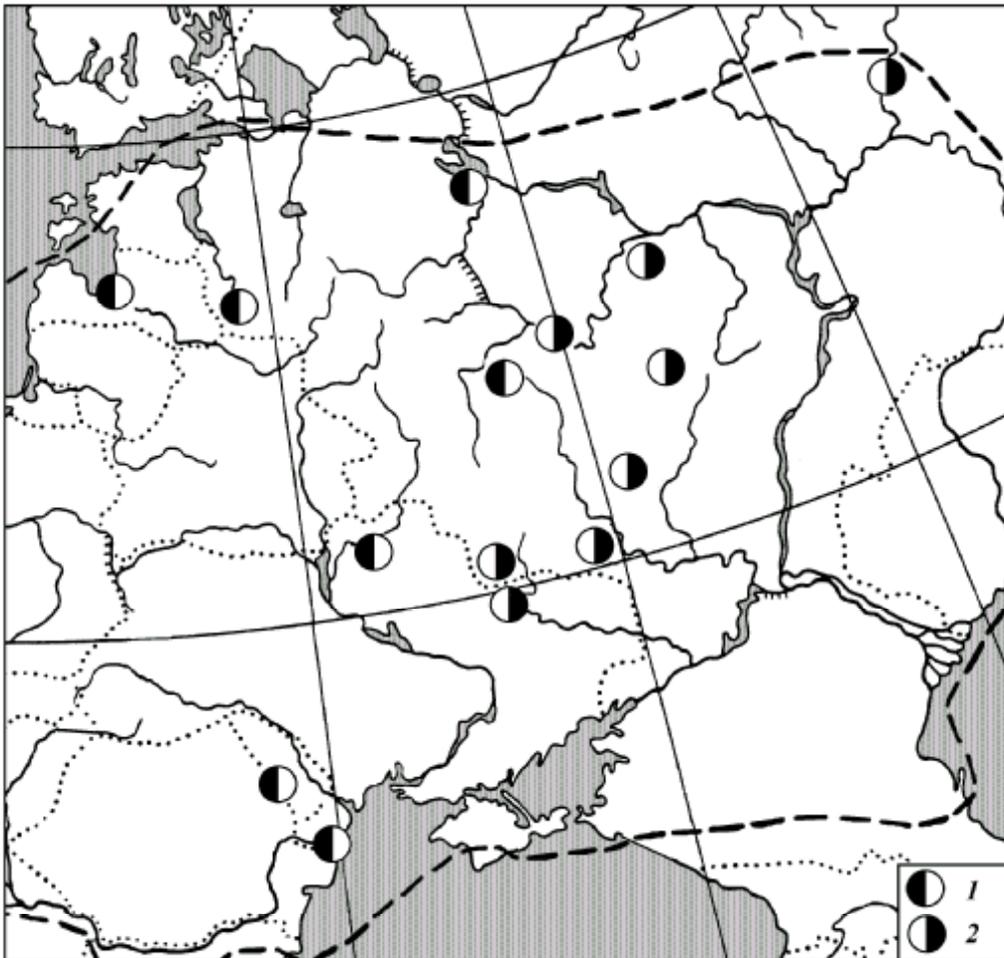
Современная теория видообразования утверждает, что виды - это генетически обособленные системы популяций, хотя ограниченная межвидовая гибридизация возможна в зонах контакта. Поэтому с популяционно-генетических позиций виды определяются не степенью различий, например морфологических, а уровнем репродуктивной, т.е. генетической, изоляции. Одним из ярких доказательств этого положения служит феномен так называемых видов-двойников, т.е. видов, внешне практически неразличимых, но в то же время явно генетически обособленных [1]. Такие виды, называемые также криптическими ("скрытыми"), естественно, могут выявляться только по неморфологическим признакам, как-то различия в экологии или поведении, в цитогенетике или биохимии. В настоящее время виды-двойники обнаружены во многих группах животных, в том числе среди амфибий. Например, в Европе они были описаны у саламандр рода *Hydromantes*, у бесхвостых амфибий из родов *Alytes*, *Discoglossus*, *Hyla* и *Rana* [2-7]. Встречаемость (и, соответственно, выявляемость) видов-двойников может формировать представления о биоразнообразии, сохранению которого сейчас уделяется огромное внимание. Совершенно ясно, что достоверная оценка реального биоразнообразия невозможна без применения современных цитогенетических и молекулярных методов. Виды-двойники чаще всего должны были бы встречаться в рамках обычных широко распространенных видов, которые обитают в разных экологических условиях и поэтому должны быть генетически разнообразными. Многие виды амфибий Восточной Европы и бывшего СССР как раз и имеют такие

обширные ареалы, пересекающие разные климатические и ландшафтные зоны.

В рамках нашей многолетней программы по изучению внутривидовой изменчивости размера генома у амфибий мы выявили два типа популяций с разным содержанием ядерной ДНК у обыкновенной чесночницы *Pelobates fuscus* (Laurenti, 1768) из семейства *Pelobatidae*. Это весьма характерный вид бесхвостых амфибий Европы, распространенный от Франции до Северного Казахстана. Во многих местах этот вид довольно распространен, и в целом он не вызывал особого интереса со стороны систематиков. Считается, что помимо Северной Италии, где обитает изолированный подвид *P. f. insubricus*, всю остальную гигантскую часть ареала вида занимает номинативный подвид *P. f. fuscus* [8, 9].

В 1986-1999 гг. методом проточной ДНК-цитометрии (детали см. [10]) мы изучили 143 особи из 25 популяций *P. f. fuscus* России, Латвии, Украины и Молдавии (рис. 1). В качестве репера использована периферическая кровь травяной лягушки *Rana temporaria* (Rt), размер генома которой был принят за 1.0. Выяснилось, что по размеру генома все выборки распадаются на две географические группы с достоверно различающимся количеством ядерной ДНК. В "восточной" группе чесночниц размер генома составляет в среднем 0.826 (0.811-0.842) Rt. В "западной" же группе чесночниц размер генома оказался меньше и в среднем равен 0.782 (0.770-0.797) Rt. Как видно, пределы изменчивости у обеих групп даже не перекрываются, и различия по средним составляют около 5.6%. В абсолютных единицах в пересчете через размер генома мыши *Mus musculus* (6.8 пг) количество ядерной ДНК составит 9.32 (9.17-9.43) пг у восточной группы и 8.84 (8.74-8.93) пг у западной группы.

Восточные чесночницы были выявлены нами в Поволжье (Удмуртия, Нижегородская обл.), в черноземных областях России (Белгородская, Воронежская и Тамбовская) и Украины (Харьковская область), а также в центре Европейской



**Рис. 1.** Распространение двух форм *P. fuscus fuscus* в Восточной Европе. Пунктиром показаны границы ареала вида. 1 - западная форма с меньшим размером генома; 2 - восточная форма с большим размером генома.

России (Пензенская и Рязанская области). Западные чесночницы с меньшим размером генома найдены в Латвии, Молдавии, на Украине (Одесская и Черниговская области), а также на северо-западе (Псковская и Ярославская области) и в центре Европейской России (Тульская область).

Совершенно ясно, что эти различия не случайны, так как изученные выборки покрывают весьма заметную часть Восточной Европы от Прибалтики до дельты Дуная и Поволжья, и географическое распределение большего и меньшего геномов подчиняется определенной закономерности, а не хаотично. Кроме того, различия между восточным и западным типом имеют устойчивый характер и были воспроизводимы при анализе выборок в разные годы.

Тем не менее для независимой оценки найденных различий нами с помощью электрофоретического анализа 10 ферментов, кодируемых предположительно 17 локусами, было изучено 87 особей из 8 популяций обеих форм. Средняя гетерозиготность варьировала между 0.116 (Псковская область) и 0.204 (Черниговская область). Генетиче-

ские дистанции (по Нею) между восточными и западными популяциями составили 0.121-0.426, тогда как внутри каждой из форм лишь 0.023-0.118. Таким образом, эти данные подтверждают генетическую обособленность двух форм *P. f. fuscus*, первоначально выявленную нами по размеру генома. Следует отметить, что по мере приближения к зоне возможного контакта обеих форм в центре Европейской части России средняя гетерозиготность увеличивается и в популяциях появляются "чужие" аллели, вероятно, свидетельствующие о возможной интрогрессии.

Среди более чем 8000 генетических дистанций (по Нею), подсчитанных в разных группах растений и животных, в 98% внутривидовые дистанции были меньше 0.10, а межвидовые - больше 0.15 [11]. Последнее подтверждается также анализом 510 генетических дистанций у амфибий [12]. Для видов-двойников в разных группах животных, включая амфибий, они варьируют от 0.012 до 1.116 [2-7, 11, 13]. Биохимический анализ по 32 локусам двух морфологически сходных видов чесночниц, обитающих по разные стороны Гибрал-

тарского пролива на северо-западе Африки (*P. varaldii*) и на Пиренейском полуострове (*P. cultipes*), показал, что средняя гетерозиготность у них составляла 0.016 и 0.044 соответственно, а генетическая дистанция по Нею - 0.791 [14]. Наши данные укладываются в указанный диапазон межвидовых дистанций, хотя и меньше, чем у средиземноморских чесночниц (в отличие от средней гетерозиготности).

Таким образом, признаваемый всеми в течение более чем 230 лет подвид *P. f. fuscus* в Восточной Европе представлен по крайней мере двумя формами. Нам не удалось найти между ними каких-либо заметных различий по внешнеморфологическим признакам или по окраске тела. Было бы также преждевременно утверждать, что найденные нами восточная и западная формы представляют собой самостоятельные биологические виды. Для окончательного решения этого вопроса необходимо дополнительное исследование чесночниц в зоне вероятного контакта обеих форм, которое может показать наличие или отсутствие репродуктивной изоляции между этими формами.

Однако следует отметить, что наличие трех диагностических биохимических локусов (из 17) указывает на достаточно высокий уровень дивергенции между восточной и западной формами. Судя по электрофоретическим данным, время дивергенции между ними может быть ориентировочно оценено в 3.6 млн. лет, т.е. плиоценом, что соответствует эволюционному возрасту многих современных видов амфибий Европы [15]. Для сравнения укажем также, что время дивергенции между марокканской *P. varaldii* и испанской *P. cultipes* оценивается от 5.5-7.0 млн. лет (по геологическим данным) до 8-11 млн. лет (по молекулярным данным). Однако эта пара видов различается по 15 из 32 локусов [14].

Следовательно, мы можем констатировать, что в случае *P. f. fuscus* мы определенно имеем дело с так называемым криптическим видообразо-

ванием, завершенность (или незавершенность) которого еще предстоит оценить, используя комплекс разных методов. Насколько нам известно, такой модус видообразования обнаружен у амфибий Восточной Европы впервые. Наши данные подтверждают также, что эволюционный стазис, выражаемый в удивительном консерватизме внешнеморфологических признаков [14], по-видимому, очень характерен для рода *Pelobates*.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Майр Э.* Популяции, виды и эволюция. М.: Мир, 1974. 460с.
2. *Arntzen J.W., Garcia-Paris M.* // *Contr. Zool. Amsterdam*, 1995. V. 65. № 1. P. 5-34.
3. *Nascetti G., Cimmaruta R., Lanza B., Bullini L.* // *J. Herpetol.* 1996. V. 30. P. 161-183.
4. *Veith M.* // *Amphibia-Reptilia.* 1996. V. 17. P. 303-314.
5. *Lanza B., Nascetti G., Capula M., Bullini L.* // *Monit. Zool. Ital.* 1984. № 5. V. 18. P. 133-152.
6. *Nascetti G., Lanza B., Bullini L.* // *Amphibia-Reptilia.* 1995. V. 16. P. 215-227.
7. *Beerli P.* Genetic Isolation and Calibration of an Average Protein Clock in Western Palearctic Water Frogs of the Aegean Region. Inaug. Diss. Zurich: Univ. Zurich, 1990. 91 p.
8. *Nollert A.* Die Knoblauchkrote. 2. Aufl. Wittenberg; Litherstadt: A. Ziemsen, 1990. 144 S.
9. *Боркин Л.Я., Ананьева Н.Б. и др.* Амфибии и рептилии. М., 1998. С. 19-174.
10. *Vinogradov A.E., Borkin L.J., Gunther R., Rosanov J.M.* // *Genome.* 1990. V. 33. P. 619-627.
11. *Hedges S.B., Thomas R.* // *Herpetologia.* 1991. V. 47. № 4. P. 448-459.
12. *Avise J.C., Aquadro C.F.* // *Evolut. Biol.* 1982. V. 15. P. 151-185.
13. *Воронцов Н.Н.* Развитие эволюционных идей в биологии. М.: Изд-во МГУ, 1999. 640 с.
14. *Busack S.D., Maxson L.R., Wilson M.A.* // *Copeia.* 1985. № 1. P. 107-112.
15. *Боркин Л.Я.* // *Тр. Зоол. ин-та АН СССР.* 1984. Т. 124. С. 55-88.