

ОСТРОВНАЯ ИЗОЛЯЦИЯ И ВИДООБРАЗОВАНИЕ У ВРАНОВЫХ ПТИЦ В ВОСТОЧНОЙ АЗИИ

А. П. Крюков, Л. Н. Спиридонова

Острова традиционно служат моделями для изучения эволюционных процессов (Wallace, 1880). Близкие к современным очертания восточной окраины Северной Азии начали формироваться в миоцене в результате возникновения Японской и Курильской островных дуг и острова Сахалин. В плейстоцене происходило чередование ледниковых периодов и межледниковых эпох, сопровождавшееся значительными колебаниями уровня моря, в результате чего Сахалин и крупные японские острова (Хоккайдо, Хонсю, Кюсю и Сикоку) неоднократно то соединялись с материком, то отделялись от него проливами. Считается, что окончательно наземная биота островов Японского моря сформировалась с конца вюрма до голоцена. Именно во время последнего потепления климата, но до резкого поднятия уровня моря происходили интенсивные миграционные процессы между островами и материком. Для датировки этих событий привлекаются разнообразные геологические и биогеографические данные. Удастся провести корреляции времени изоляции и образования островных популяций, а также таких явлений, как расселение, викарирование, гибридизация, вымирание и т.п. В последнее время подобные события исследуются с привлечением молекулярно-генетических данных и методологии филогеографии.

Настоящая работа посвящена выяснению и сопоставлению картин филогеографии у двух широко распространенных в Палеарктике видов птиц со сходными экологическими предпочтениями: черной вороны (*Corvus corone* L., 1758) и большеклювой вороны (*Corvus macrorhynchos* Wagler, 1827). Для этого использовался традиционный молекулярный маркер – ген цитохрома *b* митохондриальной ДНК. Он уже показал хорошую разрешающую способность на меж- и внутривидовом уровне для многих групп организмов и в частности – возможность дифференцировать подвиды и популяции врановых птиц (Крюков, Сузуки, 2000; Iwasa et al., 2002). Кроме того, предпринята попытка проверки гипотез формирования и динамики ареалов обоих видов по демографическим показателям, выведенным из молекулярно-генетических данных.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследованы фиксированные в этаноле образцы мышцы и печени ворон, собранные со значительной части ареалов обоих видов (рис. 1, 2). Всего использовано 160 образцов большеклювой вороны и 56 образцов черной вороны. Последнюю мы рассматриваем здесь как политипический вид *C. corone* s.l. (Dickinson, 2003). ДНК выделяли стандартным фенол-хороформным либо солевым методом. Условия ПЦР-реакции и секвенирования описаны в другой работе (Kryukov et al., in press). В результате получены первичные последовательности ДНК протяженностью 1143 или 1140 пар оснований. Выравнивание и редактирование проведены с помощью программ Staden и BioEdit. Для построения филогенетических связей и деревьев использована программа MEGA 5, для выявления филогеографической структуры построены сети гаплотипов в программе Network ver. 4.6.0.0, расчеты популяционных параметров проведены с помощью DNASP ver. 5.10.

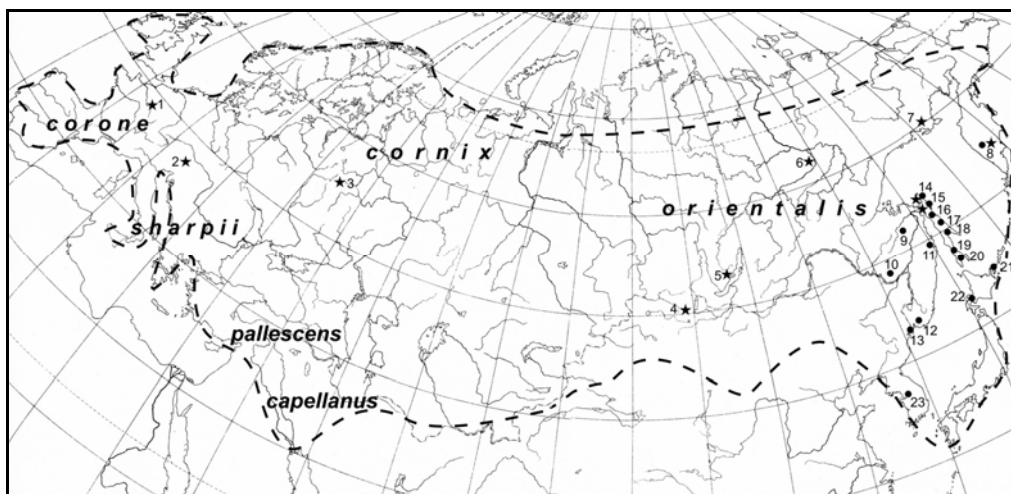


Рис. 1. Ареал вороны *Corvus corone* L., 1758 с точками сбора образцов. Звездочки соответствуют западной группе митохондриальных гаплотипов, кружки – восточной группе.

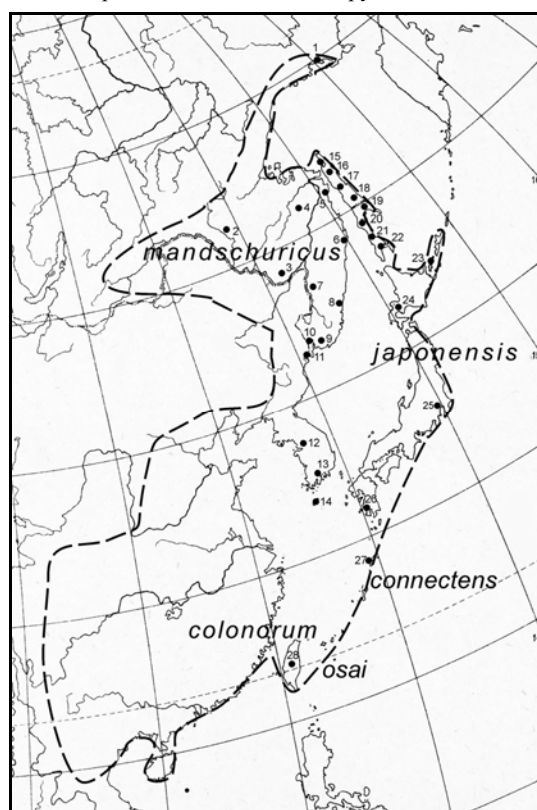


Рис. 2. Ареал большеклювой вороны *Corvus macrorhynchos* Wagler, 1827, группа *japonensis*, с точками сбора образцов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На филогенетических деревьях черной вороны отчетливо выявляются два кластера, обладающих высокой бутстреп-поддержкой (99 %). Один из них включает особей из популяций западной черной вороны *C. corone corone* из Франции и Австрии, серой вороны *C. c. cornix* из европейской России и восточной черной вороны *C. c. orientalis* из популяций от Тувы до Камчатки и Северного Сахалина. Во втором кластере объединены особи из восточной части ареала: Камчатки, Амурской области, Хабаровского и Приморского краев, всего Сахалина, Японских островов и Корейского полуострова. Уровень дивергенции между этими основными кластерами составляет 2.7 % (р-дистанция), в то время как внутри кластеров всего 0.5 и 0.6 %.

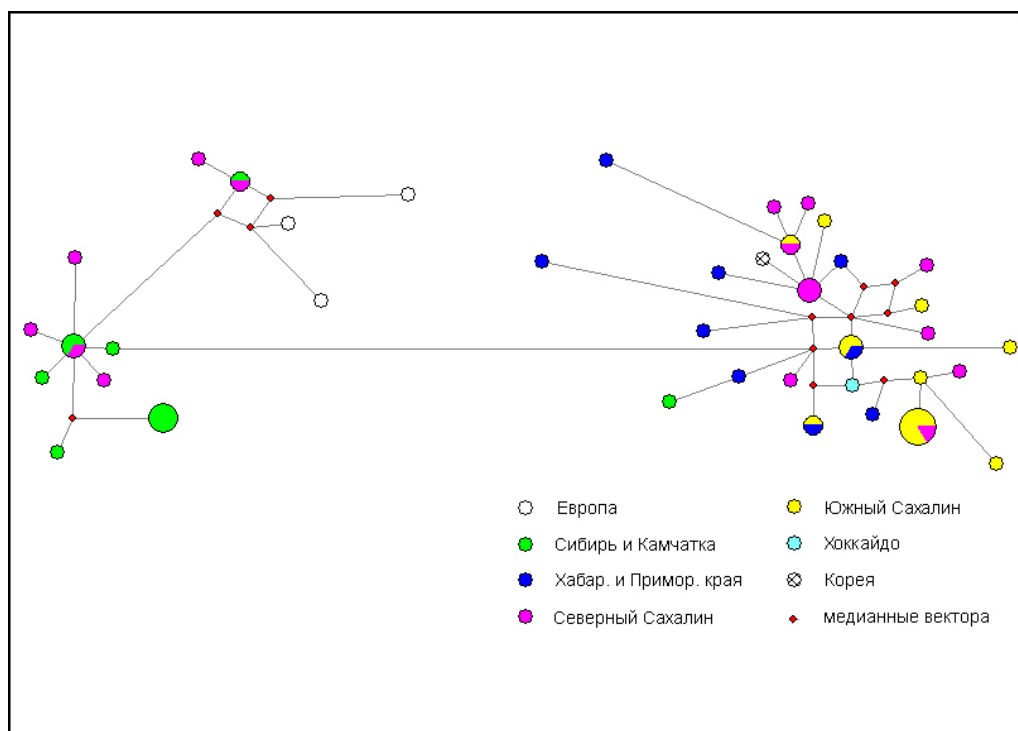


Рис. 3. Медианная сеть гаплотипов вороны *Corvus corone*, основанная на последовательности гена цитохрома *b*.

Для лучшего представления связей между гаплотипами мы прибегли к построению сетей. Сеть гаплотипов черной вороны демонстрирует подразделение на две группы – западную и восточную (рис. 3). Важно отметить, что в двух регионах – на Камчатке и Северном Сахалине – совместно присутствуют гаплотипы из обеих групп. Это можно объяснить вторичным контактом популяций, сформированных в изоляции. Окончательно подтвердить это предположение мог бы анализ ядерных генов.

Филогенетические деревья большеклювой вороны имеют одинаковую топологию независимо от метода их построения. В целом все гаплотипы близки. На ML, NJ и ME деревьях

отдельный кластер образуют гаплотипы птиц с острова Чеджу, при бутстреп-поддержке 90 %. Их р-дистанции от других популяций составляют в среднем 0.55–0.77 %. Остальные гаплотипы, в том числе птиц из Лаоса, не выявляют какой-либо кластеризации.

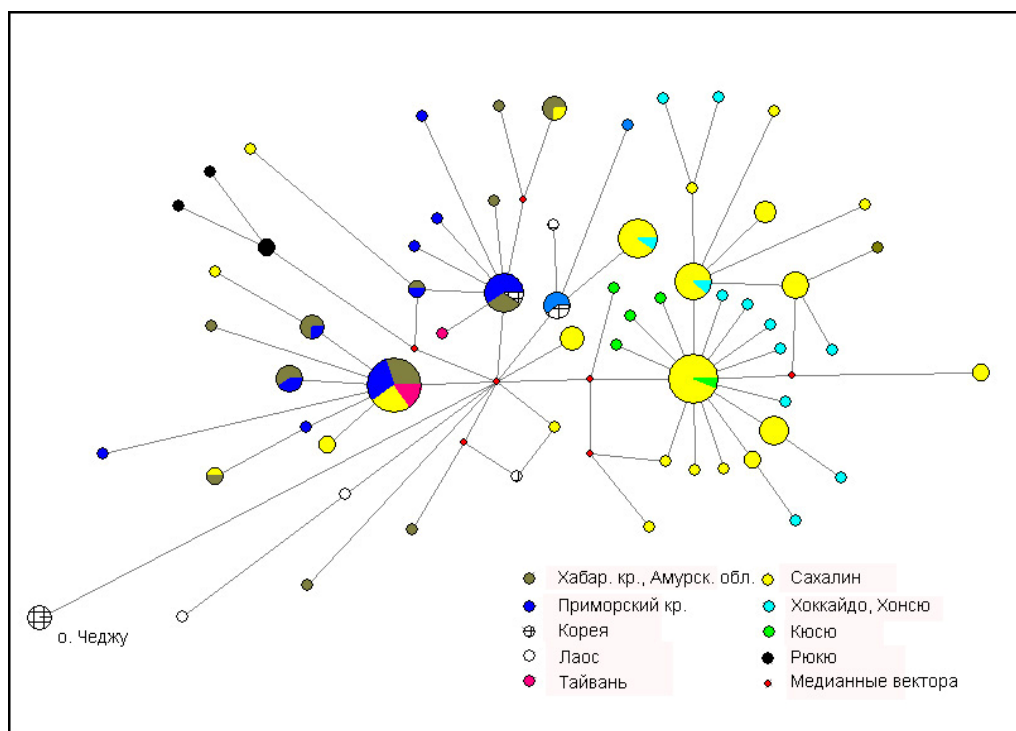


Рис. 4. Медианная сеть гаплотипов вороны *Corvus macrorhynchos*, основанная на последовательности гена цитохрома *b*.

Сеть большешкловой вороны (рис. 4) показывает подразделение на две группы, представляющие в основном островные и материковые популяции, соответственно. Гаплотипы обеих этих групп отделены друг от друга тремя и более заменами. Наибольший набор митохондриальных гаплотипов (20) обнаружен на Сахалине, выборка с которого также максимальна. Самый распространенный гаплотип птиц Сахалина образует центр звездчатой структуры, связанный одной заменой с гаплотипами птиц островов Кюсю, Хонсю, Хоккайдо и другими гаплотипами Сахалина. Другие гаплотипы Хонсю и Хоккайдо отстоят от «центрального» на 2-3 замены. В то же время гаплотипы птиц с архипелага Рюкю и Тайваня явно тяготеют к материковым. Близкие друг другу гаплотипы птиц с Рюкю отстоят от основных материковых на 4-5 замен. Гаплотипы птиц с Тайваня идентичны таковым с российского Дальнего Востока, либо отличаются от них одной заменой. От материковых гаплотипов явно выделяются гаплотипы птиц острова Чеджу, отстоящего от материка всего на 100 км. Все они идентичны и отличаются от основной массы материковых гаплотипов шестью заменами. Однако гаплотипы ворон с материкового юга, центра и севера Республики Корея относительно близки друг другу и гораздо ближе к другим материковым гаплотипам, чем к таковым Чеджу.

В целом, сеть гаплотипов большеклювой вороны образует достаточно сложную картину. Все материковые гаплотипы, представляющие популяции от Магадана на севере до Кореи на юге, оказались сходны. В этой «материковой» группе присутствуют и некоторые островные гаплотипы, что можно объяснить либо общим происхождением, либо дялщимся генетическим обменом. В «островной» группе отчетливо видна близость гаплотипов птиц японских островов Хоккайдо, Хонсю и Кюсю к сахалинским гаплотипам. Последние встречаются также и на материке либо близки к материковым гаплотипам. Судя по этой картине, можно предположить наличие центра видообразования на материке с производным от него вторичным центром на Сахалине, от которого произошли популяции других островов – Курильских, Хоккайдо, Хонсю и Кюсю. Они входят в звездообразную структуру, соответствующую модели расширения ареала.

Популяции птиц островов Рюкю, Тайваня и Чеджу демонстрируют генетическую близость с материковыми. Подвид *C. t. colonorum*, распространенный в Китае и на Тайване, представлен в нашем анализе только тайваньскими образцами. Их близость к другим материковым гаплотипам свидетельствует о недавнем заселении острова, либо об обмене генами с материковыми популяциями. Обособленность гаплотипов птиц с архипелага Рюкю, а именно с острова Амамиосима, не вызывает удивления и соответствует отдельному подвиду *C. t. connectens*, сформировавшемуся в условиях островной изоляции. Судя по структуре сети гаплотипов, его происхождение связано с материком, а не с основным архипелагом японских островов, и заселение происходило с юга. Генетическая обособленность ворон острова Чеджу оказалась неожиданной ввиду близости этого острова к матерiku. Дистанция в 0.6-0.8 % вдвое превышает средние значения для других популяций и предполагает достаточно длительную дивергенцию. Причиной всех трех описанных случаев дивергенции островных популяций может служить оседлость большеклювой вороны на южных островах, тогда как на материке и на северных островах для птиц характерны сезонные миграции.

Для оценки демографических параметров были определены некоторые показатели генетической изменчивости. Значения D-теста Таджимы оказались отрицательными для всех популяций большеклювой вороны, хотя и недостоверными, за исключением достоверного значения для объединенной выборки с материкового Дальнего Востока. Подсчет попарного распределения нуклеотидных замен показал унимодальную картину для всех выборок этого вида (рис. 5А, В). Эти данные свидетельствуют о недавнем росте популяций. Для черной вороны показатель D недостоверно положителен для северного Сахалина и отрицателен для всех остальных популяций. При этом графики попарных различий унимодальны для южного Сахалина и восточного кластера, что предполагает популяционный рост. Графики имеют мультимодальный характер для западного кластера, где предполагается стабильная численность, и северного Сахалина, где нами отмечено смешение двух резко отличных гаплотипов (рис. 5С, D).

Географическая изменчивость показателей разнообразия среди популяций большеклювой вороны не выражена, однако важно отметить, что наименьшие число полиморфных сайтов (8), низкое нуклеотидное (0.18 %) и гаплотипическое разнообразие (0.74) выявлено именно у крайней северо-западной популяции, расположенной вблизи от границы ареала. При сравнении обобщенных выборок черной и большеклювой ворон из одних и тех же регионов, соответственно, оказалось, что нуклеотидное разнообразие черной вороны существенно больше, чем у большеклювой вороны, а гаплотипическое разнообразие у этих видов не отличается.

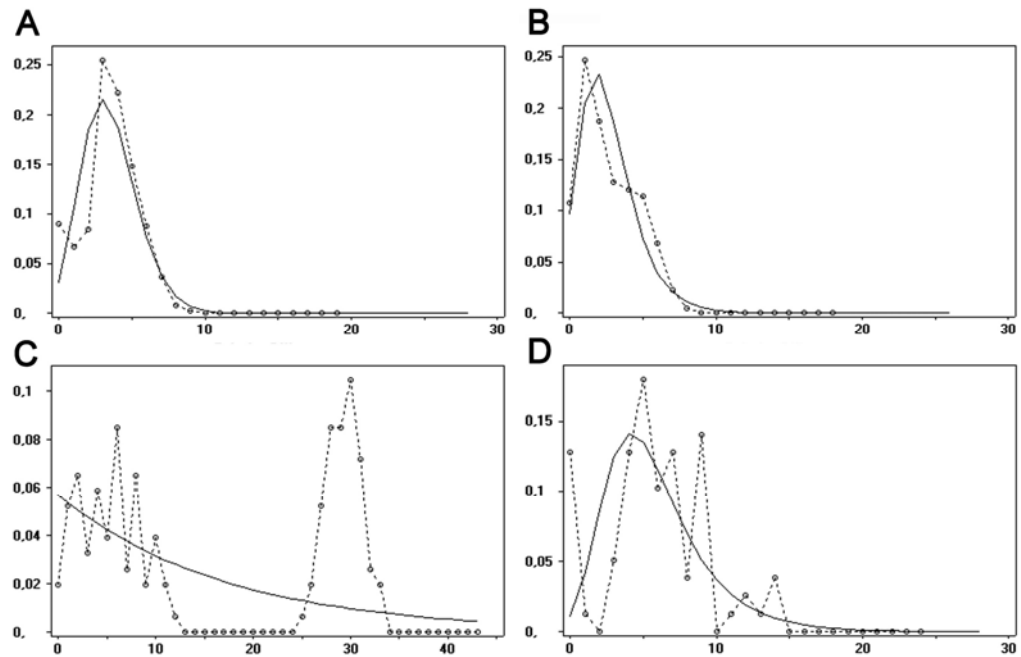


Рис. 5. Парное распределение нуклеотидных различий в популяциях *Corvus macrorhynchos*: Северный Сахалин (А), Южный Сахалин (В); *Corvus corone*: Северный Сахалин (С), Южный Сахалин (D). По оси X – число парных различий между последовательностями, Y – их частота. Сплошная линия – ожидаемое распределение, пунктир – наблюдаемое.

Таксономические заключения на основании исключительно молекулярных данных обычно несостоятельны и требуют привлечения морфологических, экологических и прочих сведений. Поэтому здесь мы можем говорить лишь о генетических свидетельствах в пользу той или иной точки зрения. Так, для большеклювой вороны дивергенция гаплотипов птиц с островов Рюкю подтверждает правомочность наличия подвида *C. m. connectens*. Значительная обособленность гаплотипа вороны острова Чеджу свидетельствует об их длительной изоляции от материковых популяций и в случае подтверждения дивергенции по другим признакам может привести к необходимости выделения отдельного подвида. Обособление популяций Чеджу описано и для других животных. Например, для полевой мыши *Apodemus agrarius* дивергенция достигла видового уровня (Yoon et al., 2004).

Все изученные нами материковые популяции большеклювой вороны – от Магадана до Кореи, а также Тайваня – обладают сходными гаплотипами, *C. m. mandshuricus*, что противоречит выделению южного (китайского) подвида *C. m. colonorum*. Однако за неимением образцов из материкового Китая этот вопрос нельзя считать решенным. Общность гаплотипов птиц Сахалина, Хоккайдо, Хонсю и Курильских островов подтверждает генетическое единство этих популяций, принадлежащих к единому подвиду *C. m. japonensis*. В то же время, генетическая близость их с материковыми популяциями не противоречит предположению о наличии на Сахалине также и другого подвида – *C. m. mandshuricus*, отличающегося размерами (Нечаев, 1991). И нуклеотидное, и гаплотипическое разнообразие на Сахалине в целом не превышает соответствующих показателей для отдельных небольших популяций, что предполагает достаточно большой поток генов внутри острова.

Близкое родство генотипов птиц Сахалина и Хабаровского края подтверждается наблюдениями орнитологов, отмечавших на реках Верхней Удому и Хунгари птиц с крупными клювами, соответствующих описаниям для *C. m. japonensis* (Спангенберг, 1960).

В случае черной вороны дивергенция на две резко отличные группы гаплотипов обнаружены нами в пределах подвида *C. corone orientalis*, рассматриваемого многими зоологами в составе единого вида *C. corone* (Dickinson, 2003, и др.). Дивергенция этих групп превышает подвидовой уровень, однако области распространения носителей этих гаплотипов перекрываются на Северном Сахалине и Камчатке, что не позволяет пока рассматривать их как представителей разных подвидов. Для прояснения ситуации необходим сравнительный морфологический анализ. Повышенное нуклеотидное разнообразие черной вороны по сравнению с большеклювой в популяциях, сравнимых по размерам, при равном гаплотипическом разнообразии свидетельствует о накоплении мутаций из-за большего возраста первого вида.

Полученные нами демографические параметры – отрицательные значения индекса D и унимодальный характер попарного распределения нуклеотидных различий – свидетельствуют о росте популяций большеклювой вороны. Это подтверждается рядом наблюдений зоологов. Численность популяций большеклювой вороны повсеместно растет, расширяется и ее ареал. В последние годы впервые отмечено ее гнездование в Магаданской области в районе пос. Ола (Г.И. Атрашкевич, персональное сообщение о добыче двух молодых самок 18.IX и 1.X 2009). Кроме того, там же добыт предположительно гибрид между черной и большеклювой вороной, молодой самец с промежуточными признаками. Далее, этот вид был отмечен в качестве залётного 11.IV 1951 в пос. Кроноки на Камчатке (Артюхин и др., 2000). На западе граница ареала большеклювой вороны также расширяется. Взрослая птица добыта 1.VI 1961 в районе г. Свободный, между реками Зея и Селемджа (В.А. Нечаев, персональное сообщение), где она обнаружена в гнездовой период впервые после нескольких лет специальных маршрутных наблюдений. Это место указывает Степанян (2003) в качестве западной точки ареала. В 1997 г. она встречена в долине р. Газимур, 119°09' в.д. (Горошко, 2004). В 2009 г. впервые отмечено гнездование самца большеклювой вороны в г. Чита, т.е. на 40 км к западу (О. Горошко, персональное сообщение). В паре с черной вороной они отложили 5 яиц и успешно вывели 4 птенцов. К сожалению, судьбу птенцов проследить не удалось, а на следующий год этот самец отмечен не был. Таким образом, наблюдения орнитологов соответствуют нашим молекулярно-демографическим данным о недавнем росте популяции, продолжающемся и теперь. Более того, отмеченная нами пониженная генетическая изменчивость в краевой северо-западной популяции большеклювой вороны соответствует представлениям о расширяющейся границе ареала, приводящей к потере аллелей (Hewitt, 2000).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Молекулярная филогеография помогает понять историю формирования видов. Большеклювая ворона испытала в недавнем прошлом рост численности и продолжает расширять свой ареал. Об этом свидетельствует гомогенность гаплотипического состава популяций на протяжении ареала и наименьшая нуклеотидная изменчивость именно в краевой северо-западной популяции. Кроме того, отрицательные значения D-критерия и унимодальное распределение нуклеотидных различий, вместе с наблюдениями зоологов, также свидетельствуют о популяционном росте. Полученные картины генетической внутривидовой изменчивости позволяют высказать следующую гипотезу. Заселение большеклювой вороной

островов с материковой части юго-востока Евразии шло двумя путями. Ранее всего был заселен остров Чеджу, где сформировался уникальный генотип. Затем были заселены острова Тайвань и Рюкю, позже – север материковой части, откуда последовательно Сахалин, южные Курильские острова, Хоккайдо, Хонсю и Кюсю (рис. 6). Черная ворона демонстрирует большую внутрипопуляционную нуклеотидную изменчивость, что вместе с наличием двух резко дифференцированных кластеров мтДНК предполагает длительную дивергенцию в условиях изоляции. В целом, история ареалов обоих видов ворон оказалась различной. Расширение сбора образцов и дальнейший анализ с привлечением ядерных генов может детализировать картину эволюции этих видов и, кроме того, решит сложный вопрос об их таксономической структуре.

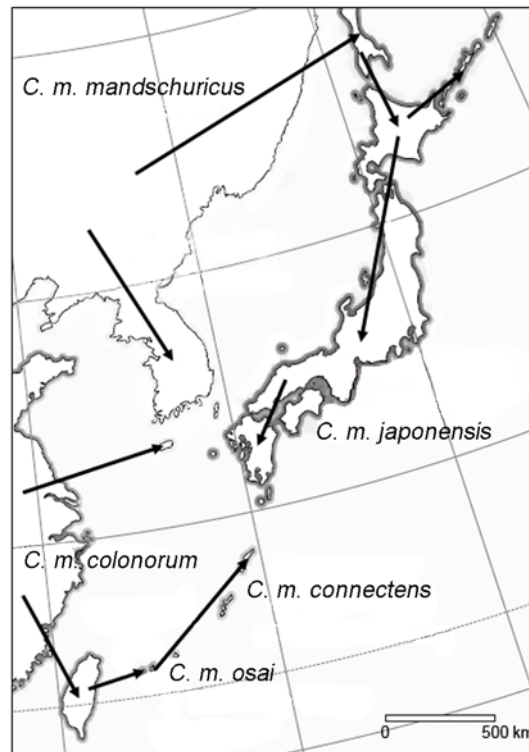


Рис. 6. Гипотетическая схема заселения ареала большеклювой вороны, построенная по молекулярно-генетическим данным.

БЛАГОДАРНОСТИ

Мы признательны Н. Suzuki, М. Iwasa и М. Tomozawa за участие в проведении анализов. Авторы благодарят S. Nakamura, Н. Lee, Yao Cheng-Te, E. Pasquet, И. Тиунова, И. Картавцеву, Н. Колобаева, С. Елсукова, Н. Павлова, И. Ганицкого, О. Уфыркину, Д. Янушковского, Я. Редькина, А. Рубцова, Г. Боескорова, Н. Докучаева, Г. Атрашкевича, Н. Терентьева, П. Фисенко и В. Сотникова за предоставление образцов тканей. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 11-04-00034а и грантов Дальневосточного отделения РАН № 12-И-П6-02 и 12-И-ОБН-01.

Литература

- Артюхин Ю.Б., Герасимов Ю.Н., Лобков Е.Г. 2000.** Класс Aves – Птицы // Каталог позвоночных Камчатки и сопредельных морских акваторий. Петропавловск-Камчатский: Камчатский печатный двор. С. 73–99.
- Горошко О.А. 2004.** Большеклювая ворона в Забайкалье // Орнитология. Вып. 31. М.: МГУ. С. 216–217.
- Крюков А.П., Сузуки Х. 2000.** Филогеография черной, серой и большеклювой ворон (Aves, Corvidae) по данным частичного секвенирования гена цитохрома *b* митохондриальной ДНК // Генетика. Т. 36, № 8. С. 1111–1118.
- Нечаев В.А. 1991.** Птицы острова Сахалин. Владивосток: ДВО АН СССР. 748 с.
- Спангенберг Е.П. 1960.** О редких и интересных птицах среднего течения Хунгари и верхней Удому // Охрана природы и озеленение. Вып. 4. С. 135–143.
- Степанян Л.С. 2003.** Конспект орнитологической фауны России и сопредельных территорий (в границах СССР как исторической области). М.: ИКЦ Академкнига. 808 с.
- Dickinson E.C. (Ed.) 2003.** The Howard & Moore complete checklist of the birds of the World. 3rd ed. C. Helm, London.
- Hewitt G. 2000.** The genetic legacy of the Quaternary ice ages // Nature. Vol. 405. P. 907–913.
- Iwasa M., Kryukov A., Kakizawa R., Suzuki H. 2002.** Differentiation of mitochondrial gene of Jungle crow *Corvus macrorhynchos* (Corvidae) in East and South Asia // J. Yamashina Inst. Ornithol. Vol. 34. P. 66–72.
- Kryukov A., Spiridonova L., Nakamura S., Haring E., Suzuki H.** Comparative phylogeography of the two crow species, Jungle crow *Corvus macrorhynchos* and Carrion crow *Corvus corone* // Zoological Science. (In press).
- Wallace A.R. 1880.** Island life. Macmillan, London.
- Yoon M.-H., Phillips C.J., Kim I., Oh H.S. 2004.** Biogeography, genetic structure and speciation in the striped field mouse, *Apodemus agrarius*, in Southern Korea // Korean J. Genetics. Vol. 26. P. 15–28.

ISLAND ISOLATION AND SPECIATION IN CORVID BIRDS FROM EAST ASIA

A. P. Kryukov, L. N. Spiridonova

Island isolation traditionally serves as a model for microevolutionary studies. Approaches of modern molecular genetics and methodology of comparative phylogeography possess to reveal links between population processes and regional patterns of biodiversity. Jungle crow *Corvus macrorhynchos* Wagler, 1827, and Carrion crow *Corvus corone* L., 1758 are two related bird species; both occupying similar habitats and being widely distributed in the Palearctic. We studied patterns of their genetic variation by using sequences of the mitochondrial *cytochrome b* gene. *C. macrorhynchos* demonstrates a low level of variation and differentiation throughout its range, except for a highly diverged population of Cheju Island (Korea). The haplotype network shows two haplogroups. The “island group” comprises populations of Sakhalin, Hokkaido, Honshu and Kyushu, while the haplotypes of Taiwan and Ryukyu Islands proved to be closer to the “mainland group”, which also includes populations from Primorye, Khabarovsk, Amur and Magadan regions in the Russian Far East. This pattern allowed us to develop a phylogeographic hypothesis regarding different ways of settling the island populations, i.e. from South and North. Concerning *C. corone*, the presence of two distinct haplogroups was confirmed within the range of *C. c. orientalis*. Representatives of the both haplogroups are found within the same populations in Kamchatka and North Sakhalin which implies secondary contacts there. Populations of *C. corone* are found to be rather stable in the western parts of its range, while in the Far East populations experienced recent growth, as was observed for *C. macrorhynchos* in general. In total, the two species appear to have passed different evolutionary scenarios.