

УДК 575.591:599.9

ВНУТРИВИДОВАЯ ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ СИБИРСКОГО УГЛОЗУБА (*SALAMANDRELLA KEYSERLINGII*, AMPHIBIA, CAUDATA) И КРИПТИЧЕСКИЙ ВИД *S. SCHRENCKII* С ЮГО-ВОСТОКА РОССИИ

© 2005 г. Д. И. Берман¹, М. В. Деренко¹, Б. А. Малярчук¹, Т. Гржибовский², А. П. Крюков³, Д. Мишчица-Шлипка²

¹Институт биологических проблем Севера Дальневосточного отделения Российской академии наук, Магадан 685000

²Институт судебной медицины, Медицинская академия им. Л. Рыдыгера, Быдгощ 85-094, Польша

³Биолого-почвенный институт Дальневосточного отделения Российской академии наук, Владивосток 690022

e-mail: aborigen@ibpn.kolyma.ru

Поступила в редакцию 16.03.2005 г.

Проведен анализ изменчивости нуклеотидных последовательностей гена цитохрома *b* митохондриальной ДНК сибирского углозуба, *Salamandrellakeyserlingii* Dybowski 1870, из популяций Урала, Магаданской обл., Чукотки, Сахалина и Приморья. Показано, что у животных из изученных точек, за исключением Приморья, низкому уровню географической изменчивости морфологических признаков соответствует незначительная генетическая изменчивость, составляющая в объединенной (магаданской, сахалинской, чукотской и уральской) выборке 0.38%. Рассматриваются различные сценарии происхождения гомогенной генетически и морфологически гиперпопуляции при очевидной невозможности эффективного генного обмена между краевыми популяциями - быстрое формирование ареала в голоцене, постепенное в плейстоцене; единоподобный на всем ареале стабилизирующий отбор; поддержание одинакового уровня изменчивости за счет перемешивания популяции при расселении молодежи и, возможно, за счет группового оплодотворения. В Приморье у углозубов вопреки малым отличиям морфологии от животных из других регионов выявлена высокая степень дивергенции мтДНК (9.8–11.6%), а также значительная внутривидовая изменчивость (1.86%). Совокупность материалов позволяет восстановить для углозуба из Приморья название *S. schrenckii* (Strauch, 1870), считавшееся младшим синонимом *S. keyserlingii*. По степени дивергенции мтДНК возраст *S. keyserlingii* оценен в 490 тыс. лет, *S. schrenckii* - 2.4 млн. лет. Они соотносятся не как "потомок-предок", а как два разновозрастных вида, отделившихся от предковых ветвей около 14 млн. лет назад.

Сибирский углозуб (*Salamandrella keyserlingii* Dybowski 1870) занимает огромный ареал от тундр до степей и от Тихого океана до северо-запада европейской России. Морфометрические исследования выявили лишь незначительную географическую изменчивость морфологических признаков. Хотя углозубы из-под Екатеринбурга, Якутска и из Приморского края различаются по пропорциям тела и пластическим признакам, уровень различий недостаточен для выделения самостоятельных таксонов, и эти данные свидетельствовали лишь о том, что дальневосточные углозубы имели особенности (Осташко, 1981). Боркин (1994) проанализировал изменчивость восьми признаков (длина тела, хвоста, относительная длина и ширина головы, соотношение размеров конечностей, число пальцев и бороздок по бокам тела) у животных из Екатеринбургской обл., Якутии, Забайкалья, Сахалина и Приморья. Он так-

же пришел к выводу, что "с учетом всех рассмотренных признаков, пожалуй, более других выделяются углозубы с юго-востока ареала..." (стр. 79).

Если Басарукин и Боркин (1984) обратили внимание на возможную значимость для таксономии строения брюшных не спиралевидную форму кладок и признаков, свойственных орской популяции углозубов, то позже Боркин (1994) ссылаясь на неопубликованные материалы Г.П. Сапожникова, счел, что "...некоторые экологические особенности углозубов Приморья выражены не так сильно, как полагали ранее" (стр. 80). В последнее же время идея отличия приморских углозубов от других популяций этой амфибии получила новые подтверждения в работах Воробьевой с соавторами (1999) - по развитию элементов локомоторной системы у личинок, Литвинчука с соавторами (2001) - по размеру генома, Боркина и Литвинчука (Litvinchuk, Bor-

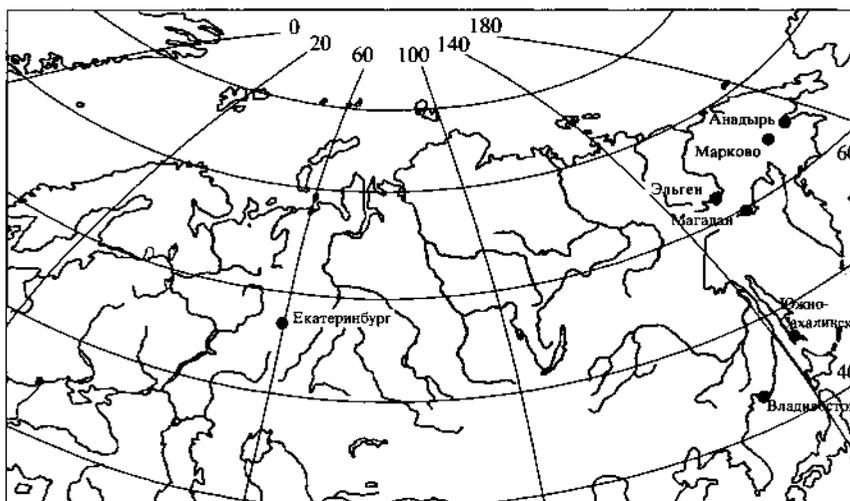


Рис. 1. География использованного в статье материала.

kin, 2003) - по числу позвонков и костальных борозд. Учитывая все сказанное, Литвинчук и соавторы (Litvinchuk et al., 2004) сочли, что приморские экземпляры должны иметь статус отдельного таксона в ранге подвида - *Salamandrella keyserlingii tridactyla* Nikolsky 1906¹. Кузьмин и Маслова (Kuzmin, Maslova, 2003), обсуждая возможные названия приморского углозуба при доказательстве генетической специфичности, предложили именовать его в случае подвида *Salamandrella keyserlingii tridactyla* Nikolsky 1905¹, в случае же подтверждения репродуктивной изоляции - видом *Salamandrella tridactyla* Nikolsky 1905.

Разрешение проблем поразительной морфологической монотонности сибирского углозуба на огромном пространстве ареала и таксономической самостоятельности животных с Юго-востока России с очевидностью требовало применения молекулярно-генетических методов. Слабая географическая изменчивость по фенотипу может маскировать значительный генетический полиморфизм даже криптические виды (Боркини др., 2001; Крюков, Сузуки, 2000; Халтурин и др., 2003; Zink et al., 2002a). Поэтому мы ставили своей целью выявление возможной генетической изменчивости на протяжении широкого ареала сибирского углозуба путем анализа полиморфизма нуклеотидных последовательностей гена цитохрома *b* митохондриальной ДНК (мтДНК). Как известно, мтДНК, наследуемая по материнской линии и без рекомбинаций, характеризуется высоким уровнем изменчивости и служит в связи с этим важнейшим источником молекулярных данных об особенностях эволюции животных, вклю-

чая амфибий (Avice, 1994; Garsia-Paris et al., 2000; Steinfart et al., 2000; Riberon et al., 2000).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В анализ были включены животные (ткани взрослых, личинок или эмбрионов, либо замороженных, либо фиксированных в 70% спирте) из следующих регионов (рис. 1):

- с южного Сахалина (оз. Тунайча) - 9 экз.;
- из окрестностей Владивостока (рис. 2a) - 28 экз. (окрестности Богатинского водохранилища - 2 экз., долина р. Малая Седанка - 7 экз., Ботанический сад - 8 экз., долина р. Большая Седанка - 5 экз., окрестности бухты Лазурной - 6 экз.);
- с северо-востока Азии (рис. 2б) - 41 экз.: Чукотка (пос. Марково - 2 экз., пос. Анадырь - 1 экз.), из бассейнов р. Колыма (окрестности пос. Эльген - 5 экз.), рек Ола, Ойра и Яна (тихоокеанский бассейн, к западу и востоку от Магадана), из озерков ближайших окрестностей Магадана (у вершины "Каменный венец" на п-ве Старицкого) - 33 экз.;
- из окрестностей Екатеринбурга - 8 экз.

Геномную ДНК выделяли с использованием стандартного метода, включающего лизис ткани раствором, содержащим 100 мМ Трис-НСl (pH 8.0), 10 мМ ЭДТА, 100 мМ NaCl, 1% додецилсульфат натрия и протеиназу К (Sigma, USA) в концентрации 0.2 мг/мл при 56°C в течение 12-16 ч с последующей депротенизацией смесью фенола и хлороформа. Качество и количество ДНК оценивали с использованием метода электрофореза в 1% агарозных гелях и детекции ДНК в УФ-свете после окрашивания гелей бромистым этидиумом.

¹ Годы сохранены в написании указанных авторов.

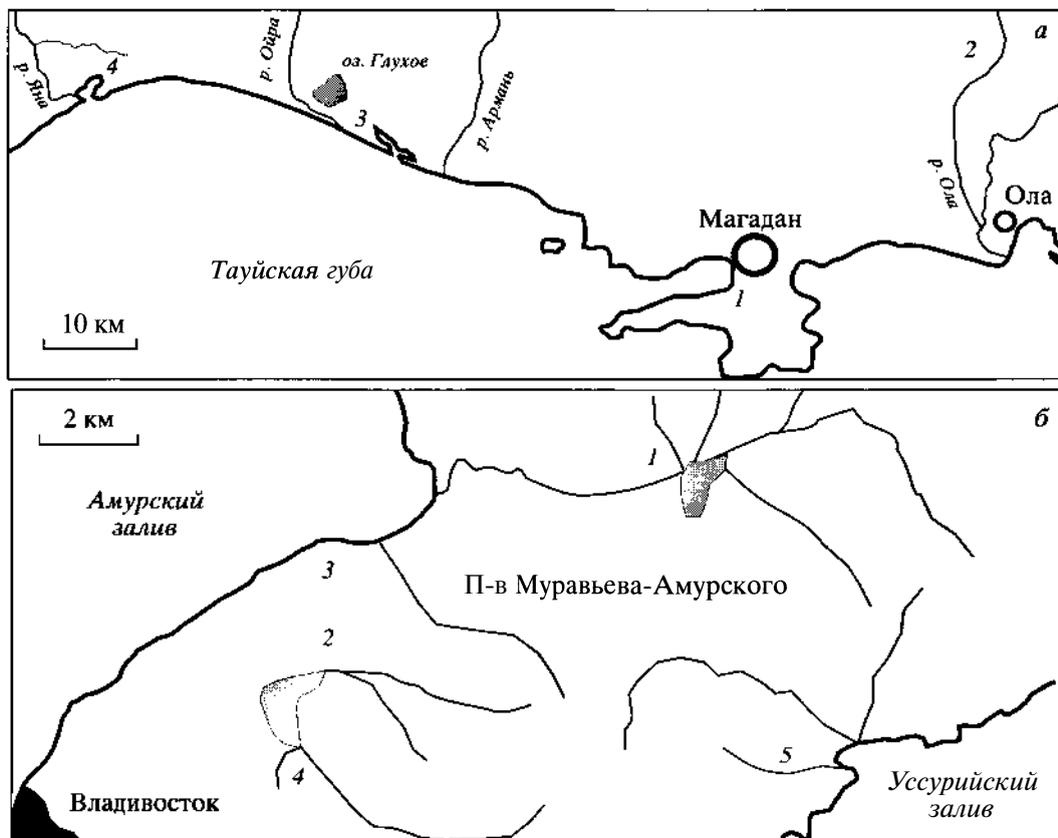


Рис. 2. Пункты взятия образцов: а) в окрестностях Магадана: 1 - оз. Венечное, 2 — окрестности пос. Гадля, 3 — окрестности оз. Глухое, 4 — левобережье. Яна близ устья. б) на п-ве Муравьева-Амурского в окрестностях Владивостока: 1 - близ Богатинского водохранилища; 2 - пойма р. Малая Седанка; 3 — территория Ботанического сада ДВО РАН; 4 - долина р. Большая Седанка; 5 - ручей близ бухты Лазурная.

Ген цитохрома *b* амплифицировали в полимеразной цепной реакции (ПЦР) в виде двух перекрывающихся фрагментов ДНК с использованием пар праймеров MVZ15L и MVZ18H, MVZ25L и ControlWH, предложенных в работе Гебель с соавторами (Goebel et al., 1999). Амплификацию проводили в течение 40 циклов с температурным профилем: 94°C - 1 мин, 46°C - 1 мин 30 с, 72°C - 1 мин 30 с. Продукты ПЦР очищали с помощью ультрафильтрации на колонках Microcon 100 (Amicon, USA).

Секвенирование участков гена цитохрома *b* проводили с помощью автоматического секвенатора ABI Prism™ 377 с использованием набора для геномного секвенирования BigDye Terminator v. 3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) и праймеров MVZ15L и MVZ25L. Для выравнивания и анализа полученных последовательностей применен пакет программ Sequence Navigator (Applied Biosystems), а для филогенетического анализа - пакет филогенетических программ MEGA 2.1 (Kumar et al., 2001). Генетические дистанции (р-дистанции) между индивидуальными последовательностями ДНК рассчитывали, исходя из ко-

личества нуклеотидных замен на позицию при парном сравнении. Для оценки времени дивергенции и эволюционного возраста линий мтДНК использовали скорость накопления мутаций в гене цитохрома *b*, равную 0.77% дивергенции (для транзиций и трансверсий) за 1 млн. лет (Caccone et al., 1997). Это значение получено калибровкой "молекулярных часов" палеонтологическими данными о времени дивергенции между видами рода *Euproctus* (Caccone et al., 1997). Более того, оно согласуется со скоростями дивергенции этого гена (от 0.47 до 1% за 1 млн. лет) для ряда видов саламандрид (см. обзоры Tan, Wake, 1995; Caccone et al., 1997; Riberon et al., 2000).

Филогенетические деревья построены с применением алгоритмов NJ (Neighbour-Joining, метод ближайшего соседа) (Saitou, Nei, 1987), UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic averages, невзвешенный парногрупповой метод) и MP (Maximum Parsimony, метод максимальной экономии) (Nei, 1987). Для сравнительного анализа привлечены данные из GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez>) по нуклеотидным последовательностям гена цитохрома *b* (уча-

Таблица 1. Таксоны из генетического банка данных, использованные для филогенетического сравнительного анализа

| Таксон | N | № в GenBank | Источник |
|-----------------------------------|----|---|----------------------|
| <i>Batrachuperus tibetanus</i> | 13 | AY028756, AY028757, AY028760, AY028761, AY028764–AY028772 | Fu et al., 2001 |
| <i>B. yenyuanensis</i> | 2 | AY028762, AY028763 | Fu et al., 2001 |
| <i>B. taibaiensis</i> | 2 | AY028758, AY028759 | Fu et al., 2001 |
| <i>B. karlschmidti</i> | 2 | AY028754, AY028755 | Fu et al., 2001 |
| <i>B. pinchonii</i> | 4 | AY028749–AY028753 | Fu et al., 2001 |
| <i>B. londongensis</i> | 2 | AY028747, AY028748 | Fu et al., 2001 |
| <i>Pseudohynobius tsinpaensis</i> | 1 | AY372535 | Li, неопубл. |
| <i>P. flavomaculatus</i> | 2 | AY028773, AY028774 | Fu et al., 2001 |
| <i>Hynobius yiwuensis</i> | 7 | AY300153–AY300159 | Fu et al., неопубл. |
| <i>H. amjiensis</i> | 2 | AY300151, AY300152 | Fu et al., неопубл. |
| <i>H. leechii</i> | 1 | AY300150 | Fu et al., неопубл. |
| <i>Liua shihi</i> | 1 | AY028775 | Fu et al., 2001 |
| <i>Ranodon sibiricus</i> | 1 | AJ419960 | Zhang et al., 2003 |
| <i>Euproctus platycephalus</i> | 1 | U55947 | Caccone et al., 1997 |
| <i>E. montanus</i> | 1 | U55946 | Caccone et al., 1997 |
| <i>E. asper</i> | 1 | U55945 | Caccone et al., 1997 |

Примечание. N - число последовательностей.

сток длиной 743 п.н.) представителей различных родов семейства Hynobiidae. В качестве внешней группы для филогенетического анализа использованы нуклеотидные последовательности гена цитохрома *b* трех видов рода *Euproctus* семейства Salamandridae (табл. 1).

Использованные в настоящей работе последовательности гена цитохрома *b* 86 особей сибирского углозуба помещены в GenBank под номерами AY701904–AY701989.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Нуклеотидные последовательности участка длиной 825 пар оснований (между позициями 14214 и 15308 согласно нумерации нуклеотидов полного митохондриального генома *Ranodon sibiricus* (Zhang et al., 2003) гена цитохрома *b* мтДНК определены у 86 особей сибирского углозуба из пяти регионов его обширного ареала. В исследованной выборке зарегистрировано 15 вариантов (гаплотипов или митотипов) гена цитохрома *b*, определяемых 112 полиморфными позициями, 102 из которых филогенетически информативны (т.е. отмечены более чем в одном гаплотипе мтДНК). Большинство мутаций (99) составляют транзиции, лишь в 13 позициях выявлены замены типа трансверсий. В первых позициях кодонов зарегистрировано 19 мутаций, во вторых - 1. Мутации в 9 позициях приводят к заме-

нам аминокислот. Таким образом, большинство мутаций синонимичны (рис. 3).

Наиболее часты в исследованных выборках углозубов гаплотип *Magadan-1*, выявленный у 23 особей из магаданской выборки, и идентичный ему гаплотип *Ural-1*, отражающий генофонд всей уральской выборки. Среди магаданских углозубов с высокой частотой (у 12 из 38 особей) обнаружен гаплотип *Magadan-4*, зарегистрированный также у всех проанализированных нами чукотских углозубов (гаплотип *Chukotka-1*). В приморской же популяции наиболее распространен гаплотип *Vladivostok-1*, выявленный у 14 из 28 особей (рис. 3).

В распределении гаплотипов гена цитохрома *b* наблюдается выраженная географическая дифференциация, как это отчетливо видно на NJ-филогенетическом дереве, построенном с учетом транзиции и трансверсий (рис. 4). Выделяются два крупных монофилетических кластера, один из которых сформирован только приморскими вариантами мтДНК, а второй включает типы мтДНК, зарегистрированные в остальных исследованных региональных выборках углозуба (Урал, Сахалин, Магаданская область и Чукотка). Сахалинские линии мтДНК занимают во втором кластере обособленное положение, формируя отдельный субкластер. Не менее выраженная гетерогенность наблюдается в приморской группе митохондриальных линий: четко отделяются от остальных

| | | IIIIII | 1112222222 | 2222222222 | 3333333333 | 3333444444 | 4444444444 | 5555555555 | 6666666666 | 6667777777 | 7777777777 | 88 | |
|---------------|------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|------------|------------|-------------|------------|-------|
| | N | 113334668 | 8890022446 | 6790001222 | 2355567789 | 0122345667 | 7889012333 | 44666778991 | 2224556778 | 0111446667 | 8990123445 | 5566778899 | 12 |
| | | 2032479172 | 6824947256 | 9293585036 | 9267954735 | 1923568170 | 3287691036 | 5736254067 | 1464095140 | 4036361476 | 5154943581 | 5803584704 | 20 |
| Sakhalin-1 | (2) | TTTTACCACA | GCTGTCCTT | GTGCCGGTTT | GATAACACTG | AATATAATCT | AATTCCTCCT | TTCAACCCCC | CTTGTACCT | CACATATACA | GACTCTTTTT | TGAATAAATC | CA |
| Sakhalin-2 | (2) | | | | | | | | | | | | |
| Sakhalin-3 | (5) | | | | | | | | | | | | |
| Ural-1 | (8) | | | | | | | | | | | | |
| Magadan-1 | (23) | | | | | | | | | | | | |
| Magadan-2 | (1) | | | | | | | | | | | | |
| Magadan-3 | (1) | | | | | | | | | | | | |
| Magadan-4 | (12) | | | | | | | | | | | | |
| Chukotka-1 | (3) | | | | | | | | | | | | |
| Vladivostok-1 | (13) | CCCTTTGTT | ATCACC.TCC | ACATAAACCC | A.CCCT.TCA | GGAGC.CTC | CGCCTTATC | CCTGGTTTT | T.CA.C.TTA | T.GC.C.. | GATTC.CC.CC | C.GTC.GGCT | TT |
| Vladivostok-2 | (1) | CCCT.T.TT | ATCACC.TTC | ACATAAACCC | A.CCCTGTCA | .GAG—TCC | .CCTTATT. | .CTGGTTTT | T...TCGTTA | .GT.C...G | ATTC.C..CC | ...T.G.GCT | T. |
| Vladivostok-3 | (1) | CCCT.T.TT | ATCACC.TTC | ACATAAACCC | ATCCCT.TCA | .GAG—TC | C.CCTTATT. | .CTGGTTTT | T...TCGTTA | .GTG...TG | ATTC.C..CC | ...T.G.GCT | T. |
| Vladivostok-4 | (1) | CCCTTTGTT | ATCACC.TC | ACATAAACCC | A.CCCT.TCA | GGA.CG.CTC | TGCCTTATC | CCTGGTTTT | T.C.TC.TTA | T.GC...G | ATTC.C..CC | ...TC.GGCT | TT |
| Vladivostok-5 | (3) | CCCTTTGTT | ATCACC.TC | ACATAAACCC | A.CCCT.TCA | GGA.CG.CTC | CGCCTTATC | CCTGGTTTT | T.CATC.TTA | T.GC..G | ATTC.C..CC | ...TC.GGCT | TC |
| Vladivostok-6 | (2) | CCCTTTGTT | ATCACC.TCC | ACATAAACCC | A.CCCT.TCA | GGAGC.CTC | CGCCTTATC | CCTGGTTTT | T.CA.C.TTA | T.GC.C..G | ATTC.CC.CC | CAGTC.GGCT | TT |
| Vladivostok-7 | (4) | CCCTTTGTT | ATCACC.TCC | ACATAAACCC | A.CCCT.TCA | GGAGC.CTC | CGCCTTATC | CCTGGTTTT | T.CA.C.TTA | T.GC.C..G | ATTC.CC.CC | ..GTC.GGCT | TT |
| Vladivostok-8 | (2) | CCCTTTGTT | ATCACC.TCC | ACATAAACCC | A.CCCT.TCA | GGAGC.CTC | CGCCTTATC | CCTGGTTTT | TCCA.C.TTA | T.GC.C..G | ATTC.CC.CC | ..GTC.GGCT | TT |

Рис. 3. Гаплотипы гена цитохрома *b* мтДНК сибирского углозуба. Позиции варибельных нуклеотидов приведены в сравнении с нуклеотидной последовательностью гаплотипа "Sakhalin-1". *N* – количество особей с определенным гаплотипом. Тонировкой выделены идентичные гаплотипы, обнаруженные в различных региональных группах углозубов.

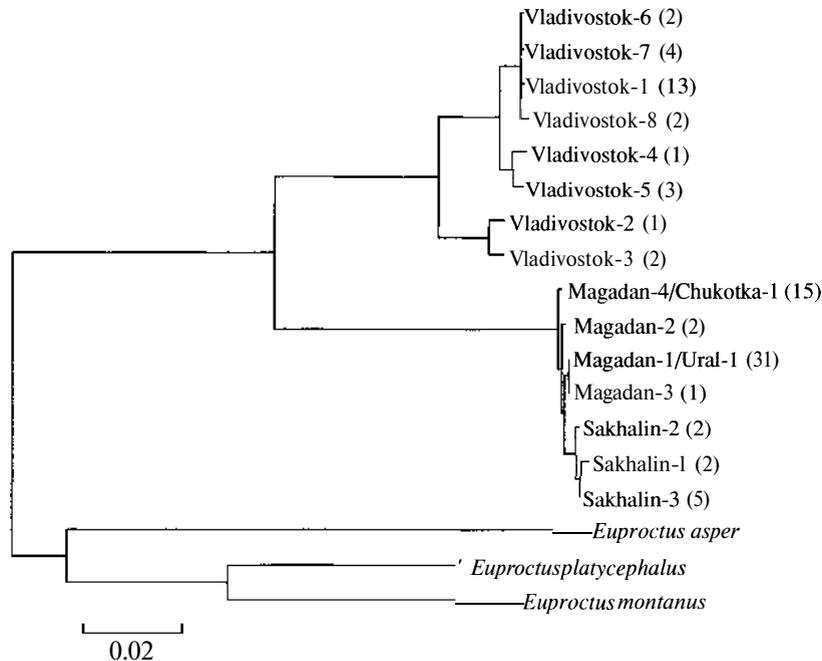


Рис. 4. NJ-дендрограмма *p*-расстояний между гаплотипами гена цитохрома *b* у сибирских углозубов. Обозначения гаплотипов мтДНК как на рис. 3. Нуклеотидные последовательности мтДНК представителей рода *Euproctus* использованы в качестве внешней группы. В скобках приводится количество особей, характеризующихся определенным гаплотипом мтДНК.

типы Vladivostok-2 и Vladivostok-3. Подчеркнем, что описанная топология филогенетического дерева сохраняется и при использовании других алгоритмов анализа (UPGMA и MP).

Степень дивергенции нуклеотидных последовательностей между выявленными типами гена цитохрома *b* при попарных сравнениях меняется в широком диапазоне - от 0.1 до 11.6%, что соответствует диапазону нуклеотидных замен от 1 до 96 (табл. 2). Основной вклад в наблюдаемую дивергенцию вносят типы мтДНК приморских углозубов, которые отличаются от митохондриаль-

ных линий углозубов из других регионов 81-96 мутациями (9.8–11.6% дивергенции). Внутрипопуляционная изменчивость приморских углозубов (1.86%) на порядок превышает таковую в других региональных выборках - 0.16% для сахалинской и 0.18% для объединенной магаданской, чукотской и уральской (табл. 3). Более того, степень внутривидовой дивергенции приморских типов мтДНК в кластерах первого разбиения (см. рис. 4), составляет 0.84 и 0.61%, что также существенно превышает значения этого показателя для других региональных выборок сибирского углозуба.

Таблица 2. Различия между гаплотипами гена цитохрома *b* сибирского углозуба, выраженные в количестве нуклеотидных замен (под диагональю) и в процентах дивергенции (над диагональю)

| Гаплотипы гена цитохрома <i>b</i> | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 |
|-----------------------------------|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Sakhalin-1 | – | 0.2 | 0.1 | 0.5 | 0.6 | 0.6 | 0.6 | 11.5 | 9.9 | 11.6 | 11.4 | 11.0 | 10.1 | 11.5 | 11.3 |
| Sakhalin-2 | 2 | – | 0.1 | 0.5 | 0.6 | 0.6 | 0.6 | 11.3 | 9.9 | 11.4 | 11.2 | 10.8 | 10.1 | 11.3 | 11.0 |
| Sakhalin-3 | 1 | 1 | – | 0.4 | 0.5 | 0.5 | 0.5 | 11.4 | 9.8 | 11.5 | 11.3 | 10.9 | 9.9 | 11.4 | 11.2 |
| Magadan-1/Ural-1 | 4 | 4 | 3 | – | 0.1 | 0.1 | 0.1 | 11.3 | 9.9 | 11.4 | 11.2 | 10.8 | 10.1 | 11.3 | 11.0 |
| Magadan-2 | 5 | 5 | 4 | 1 | – | 0.2 | 0.2 | 11.2 | 10.1 | 11.3 | 11.0 | 10.9 | 10.2 | 11.2 | 10.9 |
| Magadan-3 | 5 | 5 | 4 | 1 | 2 | – | 0.2 | 11.4 | 10.1 | 11.5 | 11.3 | 10.9 | 10.2 | 11.4 | 11.2 |
| Magadan-4/Chukotka-1 | 5 | 5 | 4 | 1 | 2 | 2 | – | 11.2 | 9.8 | 11.3 | 11.0 | 10.7 | 9.9 | 11.2 | 10.9 |
| Vladivostok-1 | 95 | 93 | 94 | 93 | 92 | 94 | 92 | – | 3.3 | 0.1 | 0.1 | 1.3 | 3.4 | 0.2 | 1.3 |
| Vladivostok-2 | 82 | 82 | 81 | 82 | 83 | 83 | 81 | 27 | – | 3.4 | 3.2 | 2.9 | 0.6 | 3.3 | 3.0 |
| Vladivostok-6 | 96 | 94 | 95 | 94 | 93 | 95 | 93 | 1 | 28 | – | 0.2 | 1.5 | 3.5 | 0.4 | 1.5 |
| Vladivostok-7 | 94 | 92 | 93 | 92 | 91 | 93 | 91 | 1 | 26 | 2 | – | 1.2 | 3.3 | 0.1 | 1.2 |
| Vladivostok-4 | 91 | 89 | 90 | 89 | 90 | 90 | 88 | 11 | 24 | 12 | 10 | – | 3.0 | 1.3 | 0.7 |
| Vladivostok-3 | 83 | 83 | 82 | 83 | 84 | 84 | 82 | 28 | 5 | 29 | 27 | 25 | – | 3.4 | 3.2 |
| Vladivostok-8 | 95 | 93 | 94 | 93 | 92 | 94 | 92 | 2 | 27 | 3 | 1 | 11 | 28 | – | 1.3 |
| Vladivostok-5 | 93 | 91 | 92 | 91 | 90 | 92 | 90 | 11 | 25 | 12 | 10 | 6 | 26 | 11 | – |

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенный анализ показал, что для всех изученных популяций сибирского углозуба (Урал, Магаданская обл., Чукотка и Сахалин), кроме Приморья, незначительная географическая изменчивость морфологических признаков вполне соответствует слабой генетической изменчивости по изученному гену митохондриального генома. Таким образом, сибирский углозуб на громадном занимаемом им пространстве (повторимся - кроме Приморья) представляет собой генетически монолитный вид. Лишь сахалинские линии мтДНК формируют субкластер. Его таксономический смысл пока трудно обсуждать и из-за недостаточности выборки, и из-за не очень высоких значений выявленных отличий (0.54%, табл. 3). Следует иметь в виду, что с юга Сахалина был описан вид *Salamandrella cristata* Anderson 1917, сведенный в синонимы *S. keyserlingii* (Боркин, 1994). В этой связи крайне желательно расширить выборку животных, поскольку 9 проанализированных отсюда кладок икры, взятых из одного водоема, представлены тремя различными типами гена цитохрома *b*. Весьма вероятно, что степень дивергенции популяции сибирского углозуба с южного Сахалина относительно популяций с материка может быть большей, нежели выявлена сейчас.

Незначительная морфологическая обособленность приморских углозубов маскировала присутствие популяции с весьма крупными генетическими отличиями (10.8%) от всех остальных изученных популяций. Для выяснения возможного

таксономического значения уровня различий мы провели сравнительный филогенетический анализ нуклеотидных последовательностей гена цитохрома *b* у 13 видов различных родов семейства Hynobiidae (табл. 4). Выяснилось, что межвидовым различиям в пределах рода *Batrachuperus* (при сравнении шести видов) соответствует 4.4–9.3% дивергенции нуклеотидных последовательностей, в роде *Pseudohynobius* (два вида) - 15.5%, в роде *Hynobius* (три вида) - 10.7–12.7%. Межвидовые различия в роде *Euproctus* (три вида), относящиеся к семейству Salamandridae и служащем в нашем анализе “внешней группой”, дивергенция еще значительнее - 10.7–21%. Таким образом, дивергенция в 10.8% между двумя кластерами углозубов исследованных выборок находится в диапазоне значений межвидовой дивергенции, наблю-

Таблица 3. Внутрорегиональная (на диагонали) и межрегиональная (под диагональю) дифференциация мтДНК углозубов (в % дивергенции)

| Регион | 1 | 2 | 3 | 4 |
|------------------------|-------|-------|------|------|
| Сахалин | 0.16 | | | |
| Магадан, Урал, Чукотка | 0.54 | 0.18 | | |
| Приморье-1* | 11.27 | 11.13 | 0.84 | |
| Приморье-2** | 9.96 | 10.03 | 3.23 | 0.61 |

Примечание. Приморье-1* - гаплотипы мтДНК "Vladivostok-2" и "Vladivostok-3"; Приморье-2** - остальные гаплотипы мтДНК из Приморья.

Таблица 4. Степень дивергенции (в %) гена цитохрома *b* между различными видами семейств *Hynobiidae* и *Salamandridae*

| № | Таксон | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 |
|----|-------------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 1 | <i>Batrachuperus tibetanus</i> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 2 | <i>B. yenyuaensis</i> | 7.3 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 3 | <i>B. taibaiensis</i> | 9.0 | 8.6 | | | | | | | | | | | | | | | |
| 4 | <i>B. karlschmidti</i> | 7.6 | 7.7 | 7.6 | | | | | | | | | | | | | | |
| 5 | <i>B. pinchonii</i> | 7.1 | 6.0 | 8.3 | 4.4 | | | | | | | | | | | | | |
| 6 | <i>B. londongensis</i> | 7.8 | 7.8 | 8.9 | 9.3 | 8.8 | | | | | | | | | | | | |
| 7 | <i>Pseudohynobius tsinpaensis</i> | 17.0 | 15.2 | 17.9 | 18.1 | 17.0 | 14.5 | | | | | | | | | | | |
| 8 | <i>P. flavomaculatus</i> | 16.0 | 14.4 | 16.1 | 17.0 | 15.8 | 14.6 | 15.5 | | | | | | | | | | |
| 9 | <i>Hynobius yiwuensis</i> | 14.6 | 14.4 | 15.9 | 16.3 | 15.2 | 15.1 | 17.4 | 18.1 | | | | | | | | | |
| 10 | <i>H. amjiensis</i> | 16.1 | 16.3 | 17.1 | 16.9 | 16.4 | 16.5 | 18.9 | 18.0 | 11.1 | | | | | | | | |
| 11 | <i>H. leechii</i> | 15.9 | 16.0 | 15.6 | 15.7 | 16.0 | 16.6 | 17.6 | 18.8 | 10.7 | 12.7 | | | | | | | |
| 12 | <i>Salamandrella keyserlingii-1</i> | 16.7 | 16.1 | 15.7 | 17.0 | 16.8 | 15.9 | 16.8 | 16.9 | 16.2 | 16.9 | 15.5 | | | | | | |
| 13 | <i>S. keyserlingii-2</i> | 16.4 | 15.9 | 15.7 | 16.6 | 16.3 | 15.6 | 17.2 | 19.3 | 16.8 | 17.8 | 16.2 | 11.0 | | | | | |
| 14 | <i>Liua shihi</i> | 16.8 | 16.6 | 16.7 | 18.9 | 17.6 | 16.1 | 11.9 | 18.1 | 18.3 | 19.4 | 18.0 | 18.8 | 18.8 | | | | |
| 15 | <i>Ranodon sibiricus</i> | 15.4 | 15.0 | 14.8 | 17.3 | 16.3 | 14.3 | 18.0 | 16.8 | 16.4 | 20.0 | 18.0 | 16.4 | 14.9 | 17.2 | | | |
| 16 | <i>Euproctus platycephalus</i> | 21.7 | 19.7 | 21.8 | 21.5 | 21.1 | 20.5 | 22.9 | 23.0 | 21.6 | 21.5 | 18.9 | 20.2 | 19.4 | 21.8 | 20.2 | | |
| 17 | <i>E. montanus</i> | 20.9 | 20.5 | 20.8 | 21.9 | 21.9 | 20.7 | 25.0 | 22.4 | 22.1 | 21.5 | 21.0 | 20.8 | 20.8 | 23.4 | 21.1 | 10.7 | |
| 18 | <i>E. asper</i> | 24.7 | 24.6 | 25.7 | 25.0 | 24.8 | 24.4 | 23.7 | 23.9 | 21.7 | 23.3 | 24.9 | 23.6 | 21.7 | 25.4 | 22.0 | 17.7 | 21.0 |

Примечание. *Salamandrella keyserlingii-1* - объединенная выборка уральских, магаданских, чукотских и сахалинских углозубов; *Salamandrella keyserlingii-2* - углозубы из Приморья.

даемых и в нескольких родах в пределах *Hynobiidae*, и в роде *Euproctus*.

Это заключение подкрепляет выводы наших предшественников о своеобразии углозубов из Приморья, основанные на упомянутых выше отличиях морфологии, биологии и размера генома (Осташко, 1981; Басарукин, Боркин, 1984; Боркин, 1994; Воробьева и др., 1999; Литвинчук и др., 2001; Litvinchuk, Borkin, 2003; Litvinchuk et al., 2004; Kuzmin, Maslova, 2003). Совокупность всех материалов дает безусловное основание рассматривать углозубов из Приморья в качестве отдельного вида и восстановить для него название *S. schrenckii* (Strauch, 1870) (Берман и др., 2005), считавшееся младшим синонимом *S. keyserlingii* (см. обзор: Боркин, 1994). Оно было дано А. Штраухом на 35 лет раньше названия *Salamandrella keyserlingii* var. *tridactyla*, предложенного Никольским (1905), оговорившим условность выделения им этой формы. Приведем полностью текст А.М. Никольского.

"Зоологический музей Имп. Академии Наук прислал мне для просмотра один экземпляр этого вида из Владивостока, экземпляр, у которого на обеих передних конечностях только по три пальца, причем пальцы эти на обеих конечностях совершенно одинаково развиты; из 4 пальцев нор-

мальной ноги не достает третьего. На основании этого единственного экземпляра нельзя решить, представляет ли этот экземпляр разновидность или это случайная аномалия; на случай, если эта особенность дает возможность установить разновидность, я называю ее var. *tridactyla*" (стр. 491).

Последующие исследования сибирского углозуба показали, что доля трехпалых особей в среднем по всему ареалу составляет 17%, достигая в Приморье 37% (на передних конечностях); несмотря на это, подобные особи справедливо оценивались, как аномальные (Боркин, 1994) и не выделялись в качестве отдельных таксонов.

И более приоритетное по времени, и предложенное для неаномальных животных название *S. schrenckii* представляется нам предпочтительнее *S. tridactyla*, которое мы могли бы использовать, подняв таксономический ранг животных из Приморья с подвида *Salamandrella keyserlingii tridactyla* (Litvinchuk et al., 2004).

Несколько выходя за рамки статьи, подчеркнем, что полученные данные подтверждают справедливость выделения *Salamandrella* из *Hynobius* в отдельный род. Из табл. 4 следует, что оба кластера исследованной выборки сибирского углозуба отличаются от 13 видов других родов семейства *Hynobiidae*, используемых нами для сравнения,

15.5–18.8% дивергенции, тогда как виды рода *Pseudohynobius* - на 14.4–18.1%, *Hynobius* - 14.4–20%, *Batrachuperus* - 14.3–18.9%, *Ranodon* - 20%, *Liua* - 19.4%. Естественно, что виды рода *Euproctus*, как представители другого семейства, отличаются от тех же 13 видов более высокими значениями дивергенции - 18.9–25.7%.

Обособленное положение *Salamandrella* в качестве отдельного рода отчетливо видно на дендрограмме, построенной с помощью метода максимальной экономии (maximum parsimony) и с оценкой статистической значимости кластеров методом бутстрэп-анализа (рис. 5). Как видно, род *Salamandrella* формирует в дереве монофилетический кластер с высоким значением бутстрэп-индекса (92%). С еще более высокой надежностью (99%) в пределах этого кластера выделяются две группы линий мтДНК, которые соответствуют двум видам углозуба - *S. keyserlingii* и *S. schrenckii*.

Дополнения к описанию *S. schrenckii*

Salamandrella schrenckii (Strauch, 1870), sp. dist. - углозуб Шренка.

Isodactylum schrenckii Strauch, 1870: 56.

Salamandrella keyserlingii var. *tridactyla* Nikol'sky, 1905: 491.

Salamandrella keyserlingii var. *kalinowskiana* Dybowski, 1928: 1080.

Salamandrella keyserlingii tridactyla: Litvinchuk, Bor'kin, Rosanov, 2004: 282.

Salamandrella schrenckii: Берман и др., 2005.

Лектотип (Берман и др., 2005): экземпляр с этикетками “№ 115. *Isodactylum schrenckii* Str. Agdeki ad Ussuri. Dr. L. v. Schrenck. 1855”, “№ 115. Trdet. O. Гумилевский. *Hynobius keyserlingii* (Dyb). Ogdeki Ussuri 1855. Leg.: Шренк”. Хранится в коллекции Зоологического института РАН, С.-Петербург. Лектотип происходит из окрестностей населенного пункта Agdeki (=Куколево Хабаровского края), расположенного на р. Уссури южнее устья р. Подхоренок (менее 20 км от ж/д станции Дормидонтовка).

Штраух описал вид по нескольким экземплярам. Их число и точные этикетки он не привел, указав лишь “Habitat. Ost-Sibirien, am Ussuri, an der Schilka und am Baikal-See” (Strauch, 1870, стр. 57). В старой регистрационной книге отделения герпетологии ЗИН под названием “*Isodactylum schrenckii* Str.” числятся 12 экземпляров:

№ 110 и 111: *Kunstkamer*

№ 112 (2 экз.), 113 и 114: fl. Schilka, Popoff, 1854

№ 115: Agdeki ad Ussuri, N 187, Dr. L. v. Schrenck, 1855

№ 116 (2 экз.): *Sibiria orient.*, Radde

№ 117: Fl. Schilka, Maack, 1855

№ 118 (помечен как var.): Lac Baikal, Maack, 1855

№ 119 (помечен как var.): Des. Kirgis.??, Mutschulsky

Поскольку все указанные экземпляры собраны до 1870 г. и их этикетки не противоречат указанным в первоначальном описании местностям (см. ниже), есть основания полагать, что все они входили в состав типовой серии. Экземпляры из кунсткамеры были собраны до 1830 г. и, вероятно, не в Приморском или Хабаровском крае, исследования которых начались позднее. Г.И. Радде собирал в 1855 г. на Байкале, в 1856 г. - в восточном Забайкалье и в 1856–1858 гг. - в Приамурье на территории нынешней Еврейской АО (Русский, 1937). Мочульский в своем путешествии 1839–1840 гг. достиг Байкала и западного Забайкалья (Motchoulski, 1844), и, скорее всего, его экземпляр собран там, а не в степях Казахстана (Desertis Kirgisorum), как с двумя вопросительными знаками указано в регистрационной книге. Из перечисленного в ЗИН сохранились экземпляры с номерами 111–113, 115 (обозначенный нами выше как лектотип) и 116. Принадлежность экземпляров с Байкала и Шилки к *S. schrenckii* сомнительна, ибо именно с Байкала описан *S. keyserlingii*.

Выше было отмечено, что все проанализированные нами животные из Приморья (28 особей) принадлежат по мтДНК исключительно *S. schrenckii*. Поэтому совокупность имеющихся отсюда сведений по углозубам мы считаем возможным отнести к названному виду⁴.

S. schrenckii отличается от *S. keyserlingii*:

- иным, не перекрывающимся с сибирским углозубом набором гаплотипов (11.6% дивергенции мтДНК);

- размером генома; по количеству ядерной ДНК углозубы из-под Владивостока достоверно отличались (3.1%) от собранных в Якутии, Нижегородской, Томской, Камчатской и Сахалинской обл. (Литвинчук и др., 2001);

² На карте маршрута Шренка, помещенной в монографии (Strauch, 1870), указано Agdiki, на оригинальной этикетке типового экземпляра под № 115 (как и в старой регистрационной книге, см. ниже) - Agdeki, на этикетке с определением О. Гумилевского - Ogdeki. Поселок Кукалево на некоторых картах называется Кукелево.

³ Во время подготовки статьи к печати Н.Е. Докучаев по нашей просьбе собрал пять углозубов в окрестностях пос. Георгиевка (юг Хабаровского края, среднее течение р. Кия, правый приток Уссури), находящегося менее чем в 50 км по прямой от пос. Кукалево (около 25 км севернее по широте), т.е. фактически в пределах terra typica углозуба Шренка. Все они оказались по мтДНК принадлежащими именно к этому виду.

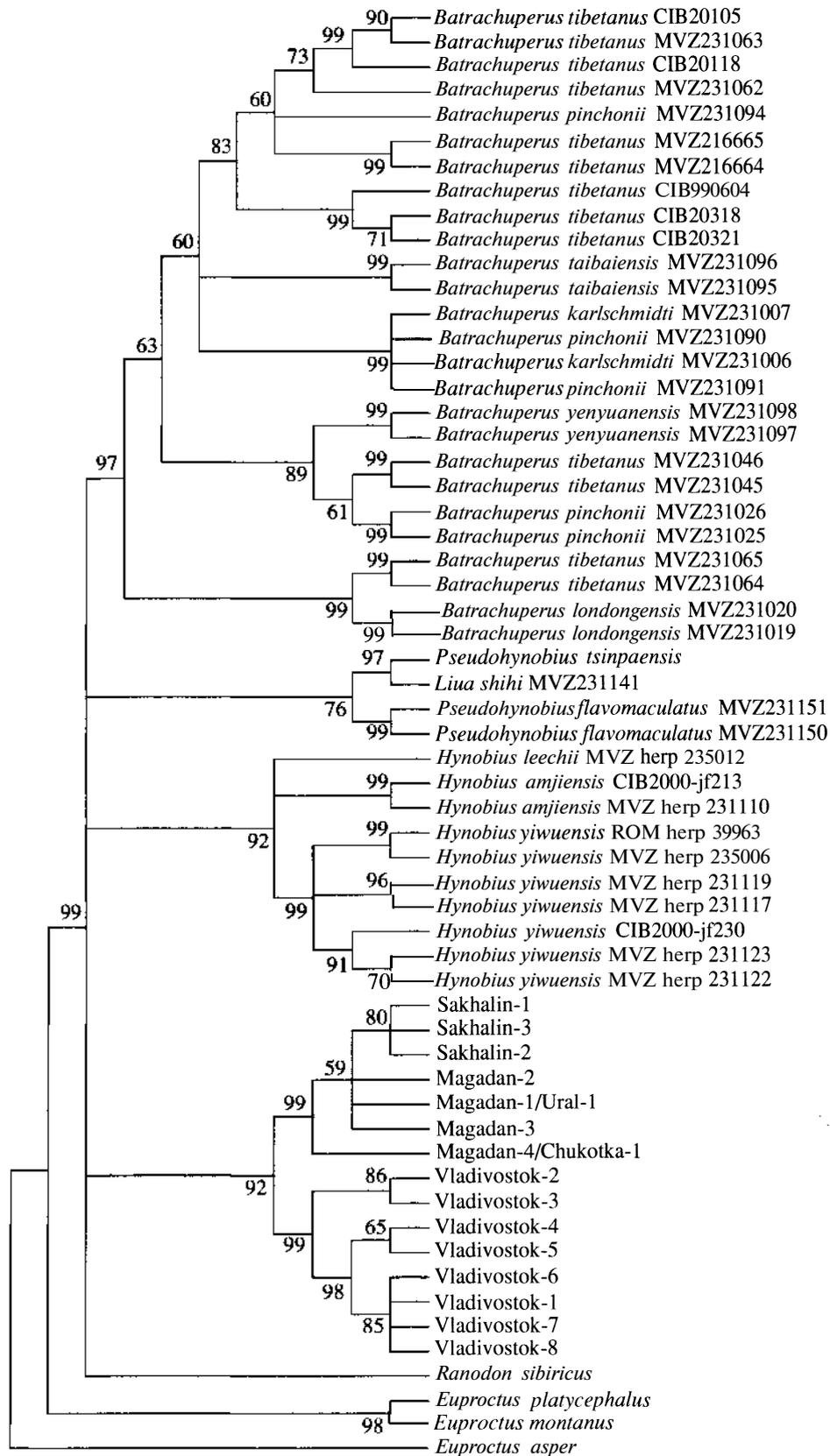


Рис. 5. Филогенетические взаимоотношения некоторых видов из семейств Hynobiidae и Salamandridae по данным анализа нуклеотидных последовательностей гена цитохрома *b* (Maximum Parsimony-дендрограмма). На ветвях указаны значения бутстрэп-индекса. Нуклеотидные последовательности мтДНК представителей рода *Euproctus* использованы в качестве внешней группы.

- средним числом позвонков и костальных борозд: у приморских углозубов первых менее 16.5, вторых - менее 11.5, тогда как у углозубов из других частей ареала их количество выше указанных значений (Осташко, 1981; Litvinchuk, Borkin, 2003);

- особенностями развития конечностей и других элементов локомоторной системы личинок, которые в основном сводятся к гетерохрониям (Воробьева и др., 1999). Однако, по мнению авторов, все различия носят ценогенетический характер и в известной мере связаны с разными условиями личиночного развития на Урале (в прогреваемых водоемах) и в Приморье (в горных холодных ручьях⁴).

- более ранним временем завершения метаморфоза и выхода на сушу (Сапожников, 1990). Этот момент нуждается в дополнительном исследовании, поскольку в других южных регионах подобные тщательные работы с личинками сибирского углозуба не проводились;

- формой и размерами кладки; кладки могут быть не только спиралевидные, как у сибирского углозуба во всех частях ареала, но и прямые - мешковидные (Коротков, 1977; Черничко, 1982; Регель, устное сообщение, по: Басарукин, Боркин, 1984; Сапожников, устное сообщение, по: Боркин, 1994). Мешки хорошо изученных углозубов уральской популяции закручены в 1-4 витка (Сытина и др., 1987), у углозуба Шренка - только в 0.5-1.5 витка; в Приморье средняя длина мешков в 2 раза (86.0 ± 1.0 мм против 180 ± 5.1), а средняя толщина (диаметр поперечного сечения) в 1.5 раза меньше, чем на Урале (Сапожников Г.П., личное сообщение). По мнению того же автора, число витков в основном обусловлено длиной мешка: средняя длина мешков, закрученных в 0.5 витка, - 75.0 ± 2.4 мм; в 1 виток - 87.9 ± 2.6 мм; в 1.5 витка - 106.4 ± 5.5 мм; степень закрученности кладок в Приморье не зависит от количества эмбрионов. Относительно плодовитости углозубов из Приморья мнения противоречивы: среднее число эмбрионов в кладке по данным Бромля и др. (1977) составляет 140-160, по данным Короткова (1977) - до 132, а по данным Сапожникова (устное сообщение) - 106.2 ± 1.4 . Вполне вероятно, что приведенные цифры не артефакт, а результат измерения кладок в водоемах с различной возрастной и размерной структурой популяций.

В Уссурийском заповеднике кладки в виде прямых мешков преобладают, их было три четверти среди 212 просмотренных Г.П. Сапожниковым; они составляли от 50 до 97% в конкретных водо-

емах (устное сообщение). Местами здесь встречаются только прямые мешки (С.М. Ляпков, устное сообщение, по: Ищенко и др., 1995; Kuzmin, Maslova, 2003). Прямые кладки отмечены также юго-восточнее Хабаровска в районе имени Лазо у пос. Сидима (устное сообщение Н.Е. Докучаева), что находится примерно в 100 км северо-восточнее типовой местности, в верховьях р. Немта, правого притока Амура. В окрестностях Комсомольска-на-Амуре среди массы обычных по форме для сибирского углозуба (спирализованных) кладок прямых не было (устное сообщение В.А. Мутина). Напротив, в Центральной Якутии "...неоднократно встречали кладки сибирских углозубов в виде небольших конусовидных мешков" (Белимов, Седалищев, 1983, стр. 42) в Заречной группе районов на аласах (личное сообщение В.Т. Седалищева). К сожалению, сопоставить детали формы приморских и якутских прямых кладок сейчас не представляется возможным. Известны единичные случаи находок прямых кладок и на Урале (Ищенко и др., 1995). Таким образом, большая часть характеристик кладок двух видов тоже перекрывается. Пока что единственным признаком, отличающим спиральные кладки углозуба Шренка, служит их значительно меньший размер, точнее - длина и толщина мешков; однако и этот признак нуждается в проверке.

Добавим, что отличительной чертой углозубов из Приморья считалось отсутствие "брачных танцев", подобных таковым сибирского углозуба (Коротков, 1977; Басарукин, Боркин, 1984; Боркин, 1994). Между тем, ярко выраженный ток самцов, идентичный описанному нами на Верхней Колыме, наблюдал Г.П. Сапожников; он считает, что в Приморье тока редки днем, и, возможно, ночью активность самцов повышается (личное сообщение). Мы видели в водоемах, в которых все кладки были "прямые" (тем самым, несомненно, принадлежащие *S. schrenckii*), только вяло токующих самцов, и не нашли различий с токами сибирских углозубов. Нуждается также в проверке уникальное описание Ю.Б. Пукинского (по: Григорьев О.В., 1981) своеобразных брачных "хороводов" углозубов в Приморье. Упомянем, что приморские углозубы размножаются в постоянных и временных ручьях чаще, чем в других частях ареала (Кузьмин, 1999).

S. schrenckii, по полученным нами молекулярным данным, распадается на два подкластера, генетическая дистанция между которыми весьма велика - в среднем 3.2%, максимально - 3.5%

⁴ Все прочие приводимые в настоящей статье литературные и собственные материалы по приморским углозубам касаются углозубов и их кладок, собранных исключительно в небольших стоячих водоемах.

⁵ В период подготовки статьи к печати мы проанализировали мтДНК кладок из Уссурийского заповедника. Все 22 кладки разной спирализации оказались принадлежащими *S. schrenckii*. Связь между формой кладки и вариантом гаплотипа не выявлена.

(табл. 2); подчеркнем, что оба гаплотипа встречаются вместе. Формально различия такого масштаба соответствуют подвидовому рангу, однако сравнительные данные о внутривидовой структуре у представителей различных родов *Hypobiiidae* пока отсутствуют.

О причинах незначительной географической изменчивости сибирского углозуба

Выявленный низкий уровень генетической изменчивости в разных природных условиях огромного ареала сибирского углозуба нуждается в объяснении. Генетическая однородность исследованных географических популяций столь велика, что позволяет говорить о единой гиперпопуляции (за исключением упомянутых выше сахалинских углозубов). Феномен этот удивителен, прежде всего, в силу очевидной невозможности эффективного обмена генами между краевыми популяциями, как механизма, обеспечивающего однородность.

Наиболее простое объяснение незначительной географической изменчивости (и морфологической, и генетической) может быть связано с молодостью ареала, сформировавшегося, например, в один из максимально влажных периодов голоцена. Генетическая однородность гиперпопуляции предполагает быстрое расселение одного гаплотипа. Подобный феномен показан по молекулярно-генетическим данным для трехпалого (Zink et al., 2002b) и большого пестрого дятлов (Zink et al., 2002a), колонизовавших Евразию в послеледниковье при восстановлении лесов. Углозуб обладает, очевидно, значительно меньшими (относительно птиц) возможностями расселения, ограниченными привязанностью к водоемам для размножения и увлажненным местообитаниям в остальное время. Поразительная для амфибий способность жить при небольших летних температурах (свидетельство тому - благополучное существование в подзоне южных тундр) позволяет предполагать, что не тепло, а обводненность, точнее - наличие многочисленных небольших водоемов разных типов могло быть обстоятельством, благоприятствующим успешному расселению сибирского углозуба. Заметим, что на северо-востоке Азии водоразделы высотой до 1000 м над уровнем моря, занятые лесом или горной тундрой, не служат препятствием для его расселения (Берман, Сапожников, 1994).

В принципе, правдоподобно допустить не только быстрое, но и постепенное формирование ареала даже в холодные эпохи плейстоцена. Этому могла способствовать феноменальная холодостойчивость сибирского углозуба: он переносит без ущерба во время зимовки до -40°C (Берман

и др., 1984). Не противоречит сказанному и возраст вида, оцененный нами по степени изменчивости мтДНК в 490 тыс. лет. Однако в пользу стремительного недавнего расселения свидетельствует упоминавшееся выше очевидное отсутствие генного обмена между краевыми популяциями в реальные сроки.

Другое объяснение генетической однородности в сочетании со слабой морфологической изменчивостью сибирского углозуба на всем пространстве материковой части ареала мы пытались найти в биологических и экологических механизмах поддержания одинакового уровня изменчивости в каждой из локальных популяций на всем пространстве ареала (Берман, 2003). Географическая изменчивость, казалось бы, не может не проявиться при таком обширном ареале, ибо абиотическая составляющая естественного отбора за счет колоссальной разницы природных условий в крайних географических зонах должна сказываться. Правда, весной условия в разных природных зонах относительно выровнены за счет главного фактора - перехода температур воздуха через 0°C ; поэтому влияние климата весной приглушено. Но летом и осенью оно должно быть значимым за счет разницы климатического тепла и его биоценологических следствий. Влияние климата, в частности, крайне велико на сеголеток: продолжительность времени от выхода на сушу до наступления холодов, сказывающееся на скорости роста, размерах и т.д., увеличивается от немногих дней в холодные годы в северной тайге (верховья Колымы) до 1.5-2 мес. в южной тайге (Новосибирск) и лесостепях (Бараба).

Существуют и другие, ординарные источники возникновения неоднородности в популяциях, например, разная степень благоприятности для роста, развития, размножения и т.д. в различных и водных, и наземных местообитаниях. Начальные этапы обособления локальных популяций (Ищенко, 1989; Сибирский углозуб, 1995) протекают быстро, вероятно, в течение жизни одного поколения. Однако начавшаяся дифференциация далеко не заходит, индивидуальность популяций размывается, благодаря групповому оплодотворению самок⁶, и широкому - веерному - расселению молоди, ведущему к постоянному перемешиванию популяции. Оба фактора, вероятно, способствуют поглощению уклоняющихся форм, что обеспечивает поддержанию популяционного морфологического стандарта и, в конце концов, предотвращает возникновение географической изменчивости (Берман, 2003).

⁶ Групповое оплодотворение у сибирского углозуба поставлено под сомнение Савельевым с соавторами (1993).

Интуитивно понятно, что отсутствие географической изменчивости - следствие единого направленного (по всему ареалу) стабилизирующего отбора. Таким единым направлением может быть, например, поддержание адаптации к зимним климатическим условиям, которые крайне жестки практически на всем пространстве громадного ареала сибирского углозуба. Вопреки зональности и благодаря особенностям расположения Сибирского антициклона (убыванию значений январских изотерм не с севера на юг, а с запада на восток) происходит выравнивание температур зимовки от тундр до степей (Алфимов, 2005). Наиболее жесткие условия создаются на южной границе ареала в Сибири, где низкие температуры воздуха сочетаются с отсутствием снежного покрова (Берман, 2003). К сожалению, конкретный механизм отбора мы предложить не можем.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ⁷

Проведенная работа подтверждает филогеографическую структурированность широких палеарктических ареалов, в пределах которых на фоне генетической однородности подавляющей части популяций четко выделяются популяции с Юго-востока. Подобный феномен ранее был показан на черной вороне, *Corvus corone*, у которой выделен гаплотип мтДНК популяций из юго-восточной части ее ареала: Приморья и южного Сахалина (Крюков, Сузуки, 2000). Аналогичное подразделение продемонстрировано для большого пестрого дятла, *Dendrocopos major*: один из кластеров мтДНК приурочен к юго-восточной части ареала - Сахалину, Приморью и Хоккайдо, тогда как другой - к остальной части ареала в северной Евразии (Zink et al., 2002a). Секвенирование двух митохондриальных генов сороки, *Pica pica*, обнаружило также деление ареала на две части с границей между ними предположительно по Амуру (Крюков et al., 2004). Повышенная вариабельность мтДНК обнаружена при широких географических исследованиях изменчивости у мыши *Apodemus peninsulae* также именно в популяции Приморья (Serizawa et al., 2002). Описанная в статье ситуация с углозубами, а также приведенные примеры имеют очевидную общую причину. Приморье - регион-рефугиум, известен наибольшей стабильностью природных условий, по край-

⁷ За время подготовки статьи к публикации выборка материалов по мтДНК углозубов Шренка и сибирского была расширена примерно вдвое (с 86 экземпляров до 160) за счет новых пунктов сбора животных (в южном Приморье, на юге Хабаровского края, в низовьях Колымы, верховьях Индигирки, окрестностях Томска) и увеличения числа повторностей. Все выводы настоящей публикации получили подтверждение.

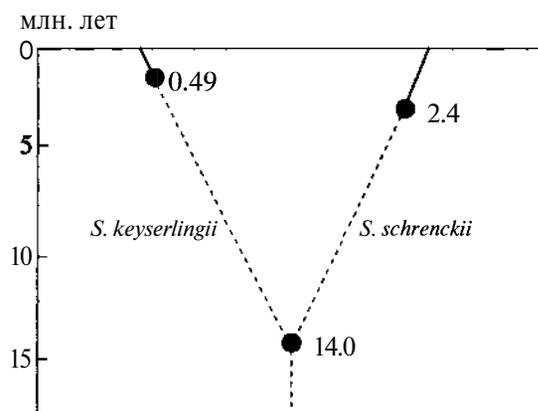


Рис. 6. Соотношение возрастов и времени дивергенции двух видов углозубов.

ней мере, в позднее четвертичное время; он не испытал катастрофических перерывов в развитии (Колесников, 1969; Назаренко, 1990), подобных ледниковым периодам в остальной части бореальной Палеарктики. Поэтому много больший, чем у сибирского углозуба, возраст *S. schrenckii* (вычисленный таким же способом, как и для сибирского углозуба) представляется вполне ожидаемым. Он составляет 2.4 млн. лет, что позволяет рассматривать *S. schrenckii* в качестве коренного обитателя Приморья. С большим возрастом мы связываем и отмеченное выше существование двух гаплотипов *S. schrenckii*, максимальная генетическая дистанция между которыми достигает 3.5%.

Отдавая отчет в известной условности приводимых оценок возрастов видов углозубов и ориентируясь только на порядки величин и соотношения полученных значений, можно заключить, что *S. keyserlingii* и *S. schrenckii* соотносятся не как "потомок-предок", а как два разновозрастных, относительно молодых вида, предковые ветви которых разошлись около 14 млн. назад (оценка дивергенции также по принятой в работе калибровке). Схема соотношения возрастов и времени дивергенции обсуждаемых видов отображена на рис. 6. Вычисленные порядки величин представляются вполне правдоподобными, ибо имеющиеся работы по оценке дивергенции хвостатых амфибий в пределах рода (в частности, в использованном нами в качестве внешней группы роде *Euproctus*) оперируют близкими временами (Tan, Wake, 1995; Caccione et al., 1997; Riberon et al., 2000).

Высокий уровень генетических различий углозубов из Приморья и из всех других регионов не оставляет сомнений в существовании двух видов. Однако морфологически они трудно различимы. Не каждая особь в настоящее время может быть идентифицирована без использования молекулярно-генетических методов, что оправдывает

применение в отношении углозуба Шренка понятия "критический вид". В этой связи важно выяснить ареал *S. schrenckii*, особенно северную его границу, область контакта и взаимоотношения двух видов. Сейчас распространение углозуба Шренка к северу маркируется, повторяется, двумя точками - окрестностями поселков Георгиевка и Сидима Хабаровского края, находящихся соответственно немногими десятками километров южнее и севернее 48 параллели.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают искреннюю признательность Н.Б. Ананьевой и В.Ф. Орловой за возможность использования герпетологических коллекций Зоологического института РАН и Зоологического музея МГУ, П.А. Гудкову, Н.Е. Докучаеву, В.Г. Ищенко, А.Н. Лейрих, Г.П. Сапожникову за предоставленные материалы, И.М. Кержнеру за консультации по таксономии, Я. Чарному, М. Возняку, Е. Левандовской и Е. Мещеряковой за помощь в проведении лабораторных исследований.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (04-04-48187-а), ДВО РАН (04-3-А-06-009) и Медицинской академии им. Л. Рыдыгера (ВВ 59/05).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алфимов А.В., 2005. Распределение минимальных температур в поверхностном слое почвы под снегом в северной Евразии // Почвоведение. № 4. С. 438–445.
- Басарукина А.М., Боркин Л.Я., 1984. Распространение, экология и морфологическая изменчивость сибирского углозуба, *Hynobius keyserlingii* Dub., на острове Сахалин // Экология и фаунистика амфибий и рептилий СССР и сопредельных стран. Л.: Изд. Зоологического института АН СССР. С. 12–54.
- Белимов Г.Т., Седалищев В.Т., 1983. К экологии сибирского углозуба (*Hynobius keyserlingii* Dub.) в Центральной Якутии // Биологические науки. № 10. С. 37–43.
- Берман Д.И., 2003. Идеальный приспособленец или адаптивная стратегия сибирского углозуба / Ред. Скулачев В.П. Российская наука: Природой здесь нам суждено... М.: Октопус. С. 184–200.
- Берман Д.И., Деренко М.В., Малярчук Б.А., Гржибовский Т., Крюков А.П., Мишчицка-Шлипка Д., 2005. Генетический полиморфизм сибирского углозуба (*Salamandrella keyserlingii*, Caudata, Amphibia) в ареале и криптический вид углозуба *S. schrenckii* из Приморья // Докл. РАН. Т. 403. № 3.
- Берман Д.И., Лейрих А.Н., Михайлова Е.И., 1984. О зимовке сибирского углозуба (*Hynobius keyserlingii* Dub.) на верхней Колыме // Журн. эволюционной биохим. и физиол. Т. 20. № 3. С. 323–327.
- Берман Д.И., Сапожников Г.П., 1994. Пространственная структура популяций сибирского углозуба в бассейне верхней Колымы // Экол. № 2. С. 79–88.
- Боркин Л.Я., 1994. Систематика / Ред. Воробьева Е.И. Сибирский углозуб: Зоогеография, систематика, морфология. М.: Наука. С. 54–80.
- Боркин Л.Я., Литвинчук С.Н., Мильто К.Д., Розанов Ю.М., Халтурин М.Д., 2001. Криптическое видообразование у *Pelobates fuscus* (Amphibia, Pelobatidae): цитометрические и биохимические доказательства // Докл. РАН. Т. 376. № 5. С. 707–709.
- Бромлей Г.Ф., Васильев Н.Г., Харкевич С.С., Нечаев В.А., 1977. Растительный и животный мир Уссурийского заповедника. М.: Наука. 175 с.
- Воробьева Э.И., Антипенкова Т.П., Хинчлифф Дж.Р., 1999. Особенности развития конечностей у дальневосточной популяции сибирского углозуба (*Salamandrella keyserlingii*, Hynobiidae, Caudata) // Докл. РАН. Т. 364. № 1. С. 130–133.
- Григорьев О.В., 1981. Брачные танцы сибирского углозуба // Природа. № 3. С. 104–105.
- Ищенко В.Г., 1989. Экологические механизмы обеспечения стабильности популяций амфибий // Экол. № 2. С. 12–19.
- Ищенко В.Г., Леденцов А.В., Година Л.Б., Кузьмин С.Я., 1995. Развитие и рост / Ред. Воробьева Е.И. Сибирский углозуб: Экология, поведение, охрана. М.: Наука. С. 103–123.
- Колесников Б.П., 1969. Растительность // Южная часть Дальнего Востока. М.: Наука. С. 206–250.
- Короткое Ю.М., 1977. К экологии когтистого тритона (*Onychodactylus fischeri*) и сибирского углозуба (*Hynobius keyserlingii*) в Приморском крае // Зоол. журн. Т. 56. № 8. С. 1258–1260.
- 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.
- Кузьмин С.Л., 1999. Земноводные бывшего СССР. М.: Товарищество научных изданий КМК. 298 с.
- Литвинчук С.Н., Розанов Ю.М., Боркин Л.Я., Халтурин М.Д., Тимофеев Б.И. и др., 2001. Размер генома и проблемы систематики хвостатых земноводных (на примере Salamandridae и Hynobiidae) // Вопр. герпетол. Пушино-Москва. С. 168–170.
- Назаренко А.А., 1990. Орнитофаунистический обмен между южной и северной Евразией на восточной периферии континента: последний ледниково-межледниковый цикл // Журн. общей биол. Т. 51. № 1. С. 89–106.
- Никольский А.М., 1905 (1906). Пресмыкающиеся и земноводные Российской империи // Зап. Имп. АН. Сер. физ.-мат. Т. 17. № 1. С. 1–518.
- Осташко Н.Г., 1981. О географической изменчивости сибирского углозуба *Hynobius keyserlingii* // Вопр. герпетол. Автореф. докл. V Всесоюз. герпетолог. конф. Л.: Наука. С. 98.

- Рузский М.Д., 1937. Густав Радде - как пионер-исследователь Сибири // Тр. Биологического научно-исследовательского института Томского государственного университета. Т. 4. С. 310–311.
- Савельев С.В., Куранова В.Н., Бесова Н.Б., 1993. Размножение сибирского углозуба *Salamandrella keyserlingii* // Зоол. журн. Т. 72. № 8. С. 59–69.
- Сапожников Г.П., 1990. Некоторые особенности развития и роста личинок сибирского углозуба *Salamandrella keyserlingii* // Тр. ЗИН АН СССР. Т. 213. С. 75–90.
- Сибирский углозуб: Экология, поведение, охрана. 1995 / Ред. Воробьева Э.И. М.: Наука. 240 с.
- Сытина Л.А., Медведева И.М., Година Л.Б., 1987. Развитие сибирского углозуба. М.: Наука. С. 1–87.
- Черничко И.А., 1982. Амфибии и рептилии // Растительный и животный мир Сихотэ-Алинского заповедника. М.: Наука. С. 191–195.
- Халтурин М.Д., Литвинчук С.Н., Боркин Л.Я., Розанов Ю.М., Мильто К.Д., 2003. Генетическая изменчивость у двух форм обыкновенной чесночницы *Pelobates fuscus* (Pelobatidae, Anura, Amphibia), различающихся по размеру генома // Цитол. Т. 45. № 3. С. 308–323.
- Avise J.C., 1994. Molecular markers, natural history and evolution. Chapman and Hall. An International Thomson Publishing Company. P. 1–482.
- Caccone A., Milinkovitch M.C., Sbordoni V., Powell J.R., 1997. Mitochondrial DNA rates and biogeography in European newts (genus *Euproctus*) // Syst. Biol. V. 46. P. 126–144.
- Dybowski B., 1928 [1927]. Über die Urodelen Ostsibiriens // Bul. de l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres Classe des Sciences Mathématiques et Naturelles, Série B: Sciences Naturelles, Cracovie. V. 8/10. P. 1073–1081.
- Fu J., Wang Y., Zeng X., Liu Z., Zheng Y., 2001. Genetic diversity of eastern *Batrachuperus* (Caudata: Hynobius) // Copeia. V. 4. P. 1100–1107.
- Garsia-Paris M., Good D.A., Parra-Olea G., Wake D.B., 2000. Biodiversity of Costa Rican salamanders: Implications of high levels of genetic differentiation and phylogeographic structure for species formation // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. V. 97. P. 1640–1647.
- Goebel A.M., Donnelly J.M., Atz M.E., 1999. PCR primers and amplification methods for 12S ribosomal DNA, the control region, cytochrome oxidase I, and cytochrome *b* in bufonids and other frogs, and an overview of PCR primers which have amplified DNA in amphibians successfully // Mol. Phylogenet. Evol. V. 11. P. 163–199.
- Kryukov A., Iwasa M.A., Kakizawa R., Suzuki H., Pinsker W., Haring E., 2004. Synchronic east-west divergence in azure-winged magpies (*Cyanopicyanus*) and magpies (*Pica pica*) // J. Zool. Syst. Evol. Research. V. 42. P. 342–351.
- Kumar S., Tamura K., Jakobsen I.B., Nei M., 2001. MEGA2: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software, Arizona State University, Tempe, Arizona, USA.
- Kuzmin S.L., Maslova I.V., 2003. The amphibians of the Russian Far East. Sofia-M.: Pensoft. 464 p.
- Litvinchuk S.N., Borkin L.J., 2003. Variation in number of trunk vertebrae and in count of costal grooves in salamanders of the family Hynobiidae // Contributions to Zoology. SPB Academic Publishing by the Hague. V. 72. № 4. P. 195–209.
- Litvinchuk S.N., Borkin L.J., Rosanov J.M., 2004. Intra- and interspecific genome size variation in hynobiid salamanders of Russia and Kazakhstan: determination by flow cytometry // Asiatic Herpetological Research. № 10. P. 282–294.
- Motchoulski V., 1844. Insectes de la Sibérie rapports d'un voyage fait en 1839 et 1840 // Mem. Imp. Acad. Sci. St. Pétersbourg, Mem. Savants Etrangers. V. 5. 274 + 15 p.
- Nei M., 1987. Molecular evolutionary genetics. N.Y.: Columbia University Press. 763 p.
- Riberon A., Miaud C., Grossenbacher K., Taberlet P., 2000. Phylogeography of the Alpine salamander, *Salamandra atra* (Salamandridae) and the influence of the Pleistocene climatic oscillations on population divergence // Mol. Ecol. V. 10. P. 2555–2560.
- Saitou N., Nei M., 1987. The neighbour-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees // Mol. Biol. Evol. V. 4. P. 406–425.
- Serizawa K., Suzuki H., Iwasa M.A., Tsuchiya K., Pavlenko M.V. et al., 2002. A spatial aspect on mitochondrial DNA genealogy in *Apodemus peninsulae* from East Asia // Biochem. Genet. V. 40. № 5/6. P. 149–161.
- Steinfartz S., Veith M., Tautz D., 2000. Mitochondrial sequence analysis of *Salamandra* taxa suggests old splits of major lineages and postglacial recolonizations of Central Europe from distinct source populations of *Salamandra salamandra* // Mol. Ecol. V. 9. P. 397–410.
- Strauch A., 1870. Revision der Salamandriden-Gattungen nebst Beschreibung einiger oder weniger bekannten Arten dieser Familie // Mem. Acad. Imp. Sci. St.-Petersbourg. V. 16. № 4. P. 1–110.
- Tan A.M., Wake D.B., 1995. MtDNA phylogeography of the California newt, *Taricha torosa* (Caudata, Salamandridae) // Mol. Phylogenet. Evol. V. 4. P. 384–394.
- Zhang P., Chen Y.Q., Zhou H., Wang X.L., Qu L.H., 2003. The complete mitochondrial genome of a relic salamander, *Ranodon sibiricus* (Amphibia: Caudata) and implications for amphibian phylogeny // Mol. Phylogenet. Evol. V. 28. P. 620–626.
- Zink R.M., Drovetski S.V., Rohwer S., 2002a. Phylogeographic patterns in the great spotted woodpecker *Dendrocopos major* across Eurasia // J. Avian Biology. V. 33. P. 175–178.
- Zink R.M., Rohwer S., Drovetski S., Blackwell-Rago R.C., Farrell S.L., 2002b. Holarctic phylogeography and species limits of three-toed woodpeckers // Condor. V. 104. P. 167–170.