

ОБЩАЯ  
БИОЛОГИЯ

УДК 575.591:599.9

**ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ СИБИРСКОГО УГЛОЗУБА  
(SALAMANDRELLA KEYSERLINGII, CAUDATA, AMPHIBIA) В АРЕАЛЕ  
И КРИПТИЧЕСКИЙ ВИД УГЛОЗУБА S. SCHRENCKII ИЗ ПРИМОРЬЯ**

© 2005 г. Д. И. Берман, М. В. Деренко, Б. А. Малярчук, Т. Гржибовский,  
А. П. Крюков, Д. Мишчицка-Шлипка

Представлено академиком Ю.И. Черновым 10.08.2004 г.

Поступило 13.08.2004 г.

Сибирский углозуб (*Salamandrella keyserlingii* Dybowski, 1870), занимающий огромный ареал от тундр до степей и от Тихого океана до северо-запада европейской России, имеет слабо выраженную географическую изменчивость морфологических признаков и на этом основании считается монотипическим видом. Многократно из разных частей ареала описывались разного уровня таксоны, валидность которых в настоящее время не признается [1]. Однако утвердилось не отраженное в таксономическом статусе мнение о морфологическом и биологическом своеобразии углозубов из Приморья на фоне незначительных различий между популяциями из других мест ареала [1–7]. Приморские углозубы отличаются также от других углозубов по размеру генома [8].

Для выяснения возможной генетической изменчивости в пределах огромного ареала морфологически мономорфного вида мы проанализировали изменчивость нуклеотидных последовательностей гена цитохрома *b* митохондриальной ДНК (мтДНК) у 86 особей сибирского углозуба из пяти регионов: Сахалин, Чукотка, Магаданская область, Приморье и Урал (Свердловская область). Показана высокая степень генетических отличий (9.8–11.6% дивергенции мтДНК) углозубов из Приморья от углозубов из остальных частей ареала. Уровень различий соответствует межвидовому. Это дает основание считать, что при морфологической мономорфности сибирского углозуба существует два таксона: во всех названных точках сбора, кроме юго-востока России, распространен *S. keyserlingii*, в Приморье же обитает другой вид.

Нуклеотидные последовательности участка длиной 825 п. о. (между позициями 14214 и 15308

согласно нумерации нуклеотидов полного митохондриального генома *Ranodon sibiricus* [9] гена цитохрома *b* мтДНК) определены методом автоматического секвенирования с использованием двух пар праймеров: MVZ15L и MVZ18H, MVZ25L и ControlWH, предложенных в [10]. Собственные результаты сопоставлены с нуклеотидными последовательностями гена цитохрома *b* представителей различных видов и родов семейств Hynobiidae и Salamandridae, хранящимися в базе данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez>). В качестве внешней группы во всех видах филогенетического анализа использованы нуклеотидные последовательности гена цитохрома *b* представителей трех видов рода *Euproctus* семейства Salamandridae. Для этого рода, кроме того, есть палеонтологические данные, позволяющие провести калибровку “молекулярных часов”: скорость накопления мутаций в гене цитохрома *b* оценена в 0.77% различий за 1 млн. лет [11].

В исследованной выборке зарегистрировано 15 вариантов (гаплотипов) гена цитохрома *b* (рис. 1), демонстрирующих выраженную географическую дифференциацию. Выявленные у сибирского углозуба гаплотипы группируются в два крупных монофилетических кластера, один из которых сформирован исключительно вариантами мтДНК углозубов из Приморья, второй включает гаплотипы из остальных региональных выборок (рис. 2). Степень дивергенции нуклеотидных последовательностей меняется в диапазоне 0.1–11.6% (от 1 до 96 нуклеотидных различий), но основной вклад (от 9.8 до 11.6% дивергенции) вносят гаплотипы мтДНК углозубов из Приморья, отличающиеся от митохондриальных линий углозубов из других регионов 81–96 мутациями. Приморские углозубы характеризуются и большей внутривидовой изменчивостью (1.86%), значительно превышающей таковую в объединенной магаданской, сахалинской, чукотской и уральской выборках (0.38%).

Выявленные значительные различия между гаплотипами гена цитохрома *b* углозубов из Приморья и остальных регионов соответствуют межвидовым, что следует из результатов сравнитель-

*Институт биологических проблем Севера  
Дальневосточного отделения  
Российской Академии наук, Магадан  
Институт судебной медицины, Медицинская  
академия им. Л. Рыдыгера, г. Быдгощ, Польша  
Биолого-почвенный институт  
Дальневосточного отделения  
Российской Академии наук, г. Владивосток*

Гаплотип	N	1111111	1112222222	222222222	333333333	333344444	444444444	555555555	666666666	666777777	777777777	88
Sakhalin-1	(2)	TTTACCACA	GCTGTTCCT	TGGCCGTTT	GATAACACG	AAATAATCT	AAATCCTCT	TTCACCCCC	CTTGTACCT	CACATATACA	GACTCTTTT	TGAATAATC CA
Sakhalin-2	(2)	.....A.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Sakhalin-3	(5)	.....A.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Ural-1	(8)	.....A.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Magadan-1	(23)	.....A.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Magadan-2	(2)	.....A.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Magadan-3	(1)	.....A.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Magadan-4	(2)	.....A.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Chukotka-1	(2)	.....A.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....
Vladivostok-1	(13)	CCCTTTGTT	ATCACC.TCC	ACATAAACCC	A.CCCT.TCA	GGASC..CTC	CGCCTTATTC	CCTGGTTTTT	T.CA.C.TTA	T..GC.C..G	ATTC.CC.CC	C.GTC.GGCT TT
Vladivostok-2	(1)	CCCT.T.TT	ATCACC.TTC.	ACATAAACCC	A.CCCT.GCA	.GAG...TC	C.CCTTATT.	.CTGGTTTTT	T...TCGTTA	.GT.C...G	ATTC.C..CC	...T.G.GCT T.
Vladivostok-3	(2)	CCCT.T.TT	ATCA.UTTC.	ACATAAACCC	ATCCT.TCA	.GAG...TC	C.CCTTATT.	.CTGGTTTTT	T...TCGTTA	.GTG...TG	ATTC.C..CC	...T.G.GCT T.
Vladivostok-4	(1)	CCCTTTGTT	ATCACC.TC.	ACATAAACCC	A.CCCT.TCA	GGA.CG.CTC	TGCCTTATTC	CCTGGTTTTT	T.C.TC.TTA	T..GC...G	ATTC.C.CCC	...TC.GGCT TT
Vladivostok-5	(3)	CCCTTTGTT	ATCACC.TC.	ACATAAACCC	A.CCCT.TCA	GGG.CGGCTC	CGCCTTATTC	CCTGGTTTTT	T.CATC.TTA	T..GC...G	ATTC.C..CC	...TC.GGCT TC
Vladivostok-6	(2)	CCCTTTGTT	ATCACC.TCC	ACATAAACCC	A.CCCT.TCA	GGAGC..CTC	CGCCTTATTC	CCTGGTTTTT	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	CGCCTTATTC	CCTGGTTTTT	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	CGCCTTATTC	CCTGGTTTTT	TCA.C.C.TTA	T..GC.C..G	ATTC.CC.CC	..GTC.GGCT TT

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

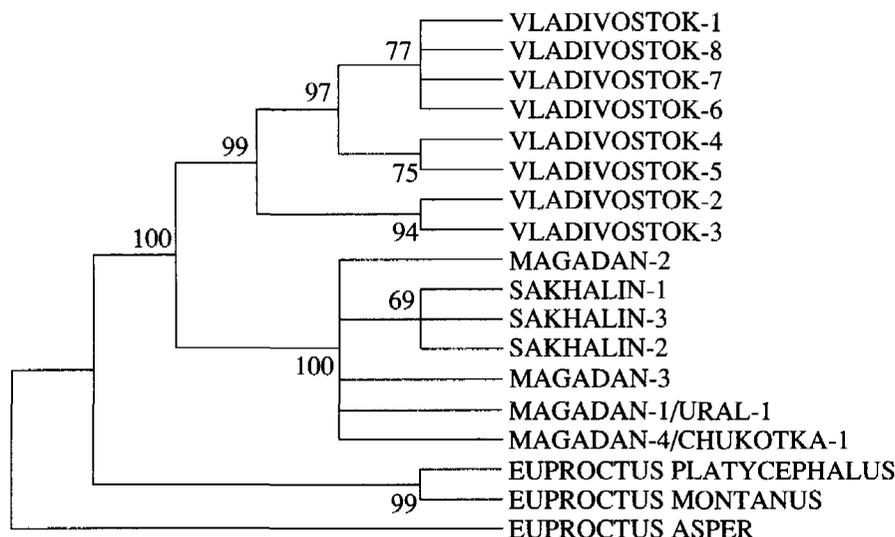


Рис. 2. Филогенетическое дерево гаплотипов гена цитохрома b сибирских углозубов (построено с помощью алгоритма Maximum Parsimony). На ветвях указаны значения бутстрэп-индекса.

ного анализа нуклеотидных последовательностей этого гена у представителей 16 видов различных родов семейств Hynobiidae и Salamandridae. Так, межвидовым различиям в роде 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%. На долю межвидовых различий в роде Euproctus (три вида) приходится от 10.7 до 21% дивергенции.

Филогенетические взаимоотношения таксонов семейств Hynobiidae и Salamandridae, для которых известны последовательности гена цитохрома b, выявлены нами с помощью метода максимальной экономии (maximum parsimony) и с оценкой статистической значимости кластеров методом бутстрэп-анализа. Результаты анализа подтверждают оправданность выделения Salamandrella в качестве самостоятельного рода.

Представители Salamandrella обособляются от других родов семейства Hynobiidae дивергенцией в 15.5 – 18.8%, т.е. близких для других родов этого же

семейства значениях: Pseudohynobius 14.4 – 18.1%, Hynobius 14.4 – 20%, Batrachuperus 14.3 – 18.9%, Ranodon 20%, Liua 19.4% (по схеме род очень близок к Pseudohynobius). Виды рода Euproctus (семейство Salamandridae) отличаются от родов семейства Hynobiidae большой дивергенцией (18.9–25.7%). Исследованная нами выборка на этом дереве отчетливо подразделяется на два кластера, что еще раз свидетельствует о существовании в пределах рода Salamandrella двух видов, различающихся наборами гаплотипов.

Соответствие низких уровней морфологической и генетической изменчивостей *S. keyserlingii* на огромном ареале может быть следствием относительно быстрого формирования ареала в голоцене. Подобное быстрое расселение по Евразии в послеледниковые продемонстрировано по результатам исследований филогеографической структуры большого пестрого дятла [12] и других птиц. С другой стороны, потребность в небольшом количестве тепла для жизнедеятельности (летом и зимой) не препятствовала постепенному формированию ареала еще в плейстоцене [13],

что вполне позволяет возраст этого вида, оцененный нами (по степени внутривидовой дивергенции мтДНК) в 490 тыс. лет.

Возраст углозубов из Приморья, оцененный таким же способом и имеющий много большую, чем сибирский углозуб, внутривидовую генетическую изменчивость, составляет 2.4 млн. лет. Эта цифра свидетельствует о давнем существовании углозубов в регионе. Повышенная изменчивость мтДНК обнаружена также у мыши *Arodemus peninsulae* именно в Приморье [14] – регионе-рефугиуме, известном относительной стабильностью природных условий. В четвертичном периоде его территория не подвергалась катастрофам, характерным для остальной части бореальной Палеарктики.

Отдавая отчет в условности приводимых оценок возрастов видов и времени дивергенции и ориентируясь только на порядки и соотношения полученных значений, можно заключить, что *S. keyserlingii* и приморский углозуб соотносятся не как “потомок – предок”, а как два разновозрастных вида, предки которых отделились от общей ветви около 14 млн. назад (оценка дивергенции также по принятой в работе калибровке).

Выявленные генетические различия *S. keyserlingii* и популяции углозубов из Приморья согласуются с выводами наших предшественников о своеобразии последних (см. ссылки выше). Совокупность всех материалов дает основание рассматривать приморских углозубов в качестве отдельного вида и восстановить для него название *S. schrenckii*, считавшееся младшим синонимом *S. keyserlingii* [15].

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

*Isodactylium schrenckii* Strauch, 1870: 56.

Лектотип (обозначен здесь): экземпляр с этикетками “№ 115. *Isodactylium Schrenckii* Str. Agdeki ad Ussuri. Dr. L. v. Schrenck. 1855”, “№ 115. Trdet. O. Гумилевский. Нупония *keyserlingii* (Dyb). Ogdeki Ussuri 1855. Leg.: Шренк”. Хранится в коллекции Зоологического института РАН, Санкт-Петербург. Лектотип происходит из окрестностей населенного пункта Agdeki (= Кукалево Хабаровского края), находящегося южнее устья р. Подхоренок.

У Штрауха в типовой серии были еще экземпляры с Байкала и Шилки. Принадлежность их к *S. schrenckii* весьма сомнительна, ибо именно с Байкала описан *S. keyserlingii*.

*S. schrenckii* отличается от *S. keyserlingii* иным набором гаплотипов (11.6% дивергенции мтДНК), размером генома [8], средним числом позвонков и костальных борозд [7], формой кладки и некоторыми другими биологическими особенностями [5, 6], отсутствием брачных танцев [3]; последнее нуждается в проверке. Морфологически виды трудно различимы, не каждая особь в настоящее время может быть идентифицирована без использования биохимических методов. Это обстоятельство оправдывает применение в отношении углозуба Шренка понятия “криптический вид”.

Во время подготовки статьи к печати были проанализированы пять углозубов, собранных по нашей просьбе Н.Е. Докучаевым в окрестностях поселка Георгиевка (юг Хабаровского края, среднее течение р. Кия, правый приток Уссури). Этот пункт находится менее чем в 50 км по прямой от места сбора Шренком типового экземпляра. Все животные по мтДНК оказались принадлежащими к *S. schrenckii*. Таким образом, распространение углозуба Шренка к северу ныне достоверно известно в бассейне Уссури почти вплоть до 48-й параллели. Весьма вероятно присутствие этого углозуба в бассейне р. Немта, правого притока Амура (несколько севернее 48-й параллели).

Авторы выражают искреннюю признательность П.А. Гудкову, Н.Е. Докучаеву, В.Г. Ищенко, А.Н. Лейрих 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 (грант 04-04-48187-а.), ДВО РАН (грант 04-3-А-06-009) и Медицинской академии им. Л. Рыдыгера (грант ВВ 59/05).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Боркин Л.Я. В кн.: Сибирский углозуб: Зоогеография, систематика, морфология. М.: Наука, 1994. С. 54–80.
2. Осташко Н.Г. В сб.: Вопросы герпетологии. Авторефераты докладов V Всесоюзной герпетологической конференции Л.: Наука, 1981. С. 98.
3. Коротков Ю.М. // Зоол. журн. 1977. Т. 56. № 8. С. 1258–1260.
4. Сапожников Г.П. // Тр. Зоол. ин-та АН СССР. 1990. Т. 213. С. 75–90.
5. Басарукин А.М., Боркин Л.Я. В сб.: Экология и фаунистика амфибий и рептилий СССР и сопредельных стран. Л.: Зоол. ин-т АН СССР, 1984. С. 12–54.
6. Воробьева Э.И., Антипенкова Т.П., Хинчлифф Дж.Р. // ДАН. 1999. Т. 364. № 1. С. 130–133.
7. Litvinchuk S.N., Borkin L.J. // *Contribut. Zoology*. 2003. V. 72. № 4. P. 195–209.
8. Литвинчук С.Н., Розанов Ю.М., Боркин Л.Я. и др. В сб.: Вопросы герпетологии. Пушино; М., 2001. С. 168–170.
9. Zhang P., Chen Y.Q., Zhou H. et al. // *Mol. Phylogenet. Evolut.* 2003. V. 28. P. 620–626.
10. Goebel A.M., Donnelly J.M., Atz M.E. // *Mol. Phylogenet. Evolut.* 1999. V. 11. P. 163–199.
11. Caccione A., Milinkovitch M.C., Sbordoni V., Powell J.R. // *Syst. Biol.* 1997. V. 46. P. 126–144.
12. Zink R.M., Drovetski S.V., Rohwer S. // *J. Avian Biol.* 2002. V. 33. P. 175–178.
13. Берман Д.И. В кн.: Российская наука: Природой здесь нам суждено... М.: Октопус, 2003. С. 184–200.
14. Serizawa K., Suzuki H., Iwasa M. et al. // *Biochem. Genet.* 2002. V. 40. № 5 / 6. P. 149–161.
15. Strauch A. Revision der Salamandriden-Gattungen nebst Beschreibung einiger oder weniger bekannten Arten dieser Familie // *Mem. Acad. Imp. Sci. St.-Petersbourg*. 1870. T. 16. № 4. P. 1–110.