

На правах рукописи

ШМЫРОВ

Андрей Александрович

**ГИБРИДИЗАЦИЯ БОЛЬШОГО И ЖЁЛТОГО СУСЛИКОВ
(ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ)**

03.00.08 – зоология

03.00.16 – экология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва

2009

Работа выполнена в Институте проблем экологии и эволюции
им. А.Н. Северцова РАН

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ: доктор биологических наук
А.В. Чабовский
доцент, кандидат биологических наук
С.В. Титов

ОФИЦИАЛЬНЫЕ ОППОНЕНТЫ: доктор биологических наук
М.В. Холодова
кандидат биологических наук
А.А. Банникова

ВЕДУЩАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ: Институт Биологии Развития
им. Н.К. Кольцова РАН

Защита диссертации состоится **17 февраля 2009 г.** в 14 часов на заседании Совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д 002.213.01 при Институте проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН по адресу: 119071, Москва, Ленинский проспект, д. 33

Телефон: (495) 952-35-84, факс: (495) 952-35-84, сайт: <http://www.sevin.ru/>

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Отделения биологических наук РАН по адресу: 119071, Москва, Ленинский проспект, д. 33

Автореферат диссертации разослан **16 января 2009 г.**

Ученый секретарь совета
по защите докторских и кандидатских диссертаций,
к.б.н.

Т.П. Крапивко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Естественная межвидовая гибридизация у млекопитающих долгое время считалась редким явлением, а образование гибридов рассматривалось как негативный результат нарушения изолирующих механизмов, приводящий к «напрасной трате гамет» и (или) к разрушению высоко интегрированных генных комплексов (Майр, 1968). Такой взгляд был основан на безоговорочном признании только аллопатрического механизма видообразования (Майр, 1974). В конце прошлого века, с развитием методов современной генетики, были получены новые данные по генетическим особенностям межвидовой гибридизации, которые показывали, что симпатрическое видообразование, основанное на развитии репродуктивной изоляции и/или экологическом разобщении видов, по своим механизмам незначительно отличается от аллопатрического (Schulter, 2001; Turelli et al., 2001). С другой стороны, очевидно, что межвидовая гибридизация повышает изменчивость природных популяций и, в этом смысле, может играть роль «поставщика» эволюционного материала наравне с естественной наследственной изменчивостью (Крюков и др., 2001), а зоны гибридизации могут рассматриваться как «природные лаборатории» эволюционного процесса (Hewitt, 1988; Barton, Hewitt, 1989; Harrison, 1990; Hewitt, 2001; Barton, 2001). Применение современных цито- и молекулярно-генетических методов для анализа процесса естественной гибридизации позволит получить качественно новую информацию о характере и последствиях взаимодействий гибридизирующих видов, данные о структуре гибридных зон, оценить потоки генов через зоны контактов между видами, а также примерно определить время дивергенции таксонов (Orr, 2001; Barraclough, Nee, 2001).

Удобной моделью для изучения взаимодействия популяций близких видов в зонах парапатрии и симпатрии служат наземные беличьи (Rodentia, Sciuridae, *Spermophilus*), среди которых межвидовая гибридизация – явление достаточно обычное по сравнению с грызунами других таксономических групп и отмечено для многих видов как североамериканских, так и евразийских. До сих пор, однако, при исследовании гибридизации наземных беличьих основное внимание уделяли роли фенотипических и морфологических отличий в межвидовой гибридизации, тогда как другие изолирующие механизмы, а также развитие и динамика взаимоотношений между контактирующими популяциями разных видов, в частности их экологические, поведенческие, демографические и генетические аспекты почти не рассматривались.

Случаи естественной гибридизации большого и жёлтого сусликов отмечены в литературе несколько раз (Огнев, 1947; Бажанов, 1944; Беляев, 1955). Зона симпатрии большого и жёлтого сусликов достаточно широка, однако локализация и размеры возможных гибридных зон между этими близкими видами до сих пор не установлены. В связи с этим поиск гибридных поселений, их локализация, описание и анализ взаимодействия гибридизующих популяций является актуальным.

Цель и задачи исследования. Целью исследования было установление экологических, поведенческих и генетических особенностей процесса естественной гибридизации большого и жёлтого сусликов в Саратовском Заволжье.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Установить локализацию и описать пространственную структуру гибридной зоны большого и жёлтого сусликов;
2. Выявить морфологические, биоакустические и молекулярно-генетические особенности гибридного поселения;
3. Установить закономерности многолетней динамики демографической и пространственной структуры гибридного поселения;
4. Установить структуру репродуктивных отношений и направление скрещивания родительских видов и гибридов в поселении;
5. По результатам популяционных и молекулярно-генетических исследований реконструировать динамику социальной и генетической структуры гибридного поселения в пространстве и во времени;
6. Выявить популяционные механизмы и факторы, способствующие или препятствующие гибридизации, и на основе полученных результатов предсказать судьбу гибридного поселения большого и жёлтого сусликов.

Научная новизна. Впервые на основе многолетних наблюдений и молекулярно-генетической диагностики происхождения особей описано возникновение и становление гибридной популяции сусликов в недавно возникшей зоне контакта. Описаны гибриды большого и жёлтого сусликов, показана их плодовитость и устойчивое преобладание в гибридной популяции. На примере гибридного поселения большого и жёлтого сусликов разработана методология изучения популяционной, социальной и генетической структуры, а также динамики гибридных популяций млекопитающих. Впервые показано, что при возвратных скрещиваниях у гибридов могут формироваться специфические признаки в результате суммации признаков родительских видов. Выявлены основные факторы, способствующие гибридизации у наземных беличьих: депрессивное состояние популяций родительских видов; несбалансированная и неустойчивая социодемографическая структура смешанного поселения, равномерное распределение родительских видов в отсутствие биотопических барьеров. Показано, что исходно нестабильная генетическая структура гибридного поселения по мере накопления в популяции гибридов и увеличения генетической гетерогенности в результате свободного скрещивания особей всех категорий, множественных спариваний и отцовства приближается к состоянию устойчивой панмиксичной популяции.

Теоретическое и практическое значение результатов работы. Полученные результаты имеют важное теоретическое значение для понимания популяционных и генетических механизмов межвидовой гибридизации млекопитающих, в частности механизмов стабилизации демографической и генетической структуры гибридогенной популяции в результате неограниченного скрещивания в условиях депрессивного состояния родительских видов в отсутствие биотопических барьеров. Полученные данные о возможности формирования новых гибридогенных признаков демонстрируют потенциальное значение гибридных популяций в микроэволюционных процессах.

Практическая значимость работы связана с разработкой методологии прижизненной диагностики гибридного происхождения особей и методики анализа микросателлитной ДНК у жёлтых и больших сусликов, что может быть использовано для оценки генетического разнообразия и генетической структуры популяций других видов наземных беличьих. Полученные результаты могут быть использованы в лекционных и практических курсах по популяционной экологии и популяционной генетике.

Апробация работы. Материалы диссертации были представлены на международном совещании «Териофауна России и сопредельных территорий» (Москва, 2007 г.); на международном совещании «Биоресурсы и биоразнообразие экосистем Поволжья: прошлое, настоящие и будущие» (Саратов, 2005); на конференции «Суслики Евразии (роды *Spermophilus* и *Spermophilopsis*): происхождение, систематика, экология, поведение, сохранение видового разнообразия» (Москва, 2005); на 10-ой Пущинской школе молодых ученых РАН (Пущино, 2006); на конференции молодых сотрудников и аспирантов ИПЭЭ РАН «Актуальные проблемы экологии и эволюции в исследованиях молодых ученых» (Москва, 2006, 2008 гг.); на международной конференции по изучению биологии Европейского суслика (Фельштарканы, 2007); на IV Всероссийской конференции по поведению животных (Москва, 2007); на международной конференции «Молекулярно-генетические основы сохранения биоразнообразия млекопитающих Голарктики» (Черноголовка, 2007); на конференции «Современные проблемы биологической эволюции (к 100-летию Дарвиновского музея)» (Москва, 2007). Результаты работы обсуждались на межлабораторных коллоквиумах ИПЭЭ РАН.

Публикации. По материалам работы было опубликовано 18 научных работ, из них 5 – статьи в реферируемых журналах из списка ВАК.

Объем и структура работы. Текст диссертации изложен в рукописи объемом _____ страниц и включает: введение, 5 глав, заключение, выводы и список литературы. Работа иллюстрирована 35 рисунками и 24 таблицами. Список литературы включает 187 источника, в том числе 81 – на иностранных языках.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **Введении** обосновывается актуальность темы, формулируется цель и задачи исследования.

ГЛАВА 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ГИБРИДНОЙ ЗОНЫ БОЛЬШОГО И ЖЁЛТОГО СУСЛИКОВ В САРАТОВСКОМ ЗАВОЛЖЬЕ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

1.1. Межвидовая гибридизация у сусликов: распространенность и особенности. Значительное видовое разнообразие сусликов мировой фауны и ограничение зоны их распространения Голарктической областью, а также сходство биотопических предпочтений и экологии способствуют возникновению между видами рода *Spermophilus* многочисленных зон вторичных контактов. Проведен анализ литературных данных о распространении случаев естественной гибридизации в зонах

контакта среди представителей наземных беличьих Евразии и Нового Света. Несмотря на полувековую историю, исследование этого явления у сусликов до последнего времени было связано в основном с разработкой методов диагностирования гибридов в естественной среде обитания (Бажанов, 1944; Денисов, 1963; Никольский, 1979 и др.), тогда как поведенческие, экологические, социо-демографические и генетические механизмы гибридизации остаются практически не изученными.

1.2. Распространение жёлтого и большого сусликов в Поволжье. Приведен обзор исследований исторического ареала и современного состояния популяций *S. fulvus* и *S. major*. Показано частичное восстановление численности жёлтого суслика у северных пределов обитания после депрессии, наблюдавшейся в 60-е годы прошлого века (Ермаков, 1997). Распространение данного вида носит дискретный характер и связано главным образом с мозаичным сочетанием пригодных для обитания биотопов. Большой суслик вследствие своей высокой экологической пластичности значительно расширил свой ареал за последние 30 лет в южном направлении (Ермаков, Титов, 2000; Опарин и др., 2000). Такое активное расселение *S. major* на юг связано с территориями, возникшими под влиянием антропогенного фактора (распашка земель, строительство автомобильных и железных дорог и т.п.), которые наряду с долинами рек являются единственными местообитаниями. Восстановление численности жёлтого суслика на северной границе ареала, с одной стороны, и распространение большого суслика на юг, с другой стороны, способствуют формированию новых зон контакта видов и смешанных поселений в Поволжье

1.3. Гибридная зона большого и жёлтого сусликов. Обобщены факты обнаружения гибридов *S. fulvus* и *S. major* по литературным источникам (Бажанов, 1944; Огнев, 1947; Беляев, 1955; Громов, Ербаева, 1995), указывающие на то, что гибридная зона между этими видами существует уже давно. Современная зона перекрытия ареалов большого и жёлтого сусликов представлена двумя участками – обширным казахским и узким российским на юге Саратовского Заволжья. Исследования зоны симпатрии, проведенные в Казахстане, выявили в поселениях жёлтого суслика следы интрогрессии мтДНК и Y-хромосомы (Ермаков и др., 2007). Активно расселяясь на юге Саратовского Заволжья, большой суслик проник в область распространения аборигенного *S. fulvus* у северных пределов обитания, где и образовалась узкая зона симпатрии. Расселение *S. major* в южном направлении, в частности, вдоль трассы Красный Кут - Дьяковка продолжается и в настоящее время. В результате на ограниченном участке в 2-3 км (окр-ти с. Усатово, Краснокутский р-н, Саратовская обл.) образовалось смешанное поселение с жёлтым сусликом (Шилова и др., 2002). Проведенные молекулярно-генетические исследования сусликов из обнаруженного контактного поселения показали, что большая часть особей являются гибридами, а само поселение может быть признано гибридным (Титов и др., 2005).

Таким образом, обнаруженные в окрестностях с. Усатово Саратовской области совместные поселения большого и жёлтого сусликов дают возможность для изучения популяционных аспектов естественной межвидовой гибридизации, выявления экологических, поведенческих и генетических механизмов сингенеза близкородственных

видов, а также для понимания роли гибридогенных популяций в микроэволюционных процессах у млекопитающих.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследование зоны симпатрии большого и жёлтого сусликов с целью поиска контактных поселений выявило единственное гибридное поселение (Краснокутский р-н, Саратовская обл.) и два поселения большого суслика со следами интрогрессии мтДНК *S. fulvus* (с. Воскресенка, Ровенский р-н, с. Генеральское, Энгельский р-н, Саратовская обл.). Стационарные наблюдения проводились с 2002 по 2008 гг. в гибридном поселении большого и жёлтого сусликов (с. Усатово – 50°46' с.ш., 46°54' в.д.) и двух близлежащих видовых поселений: *S. fulvus* (окрестности с. Дьяковка – 50°43' с.ш., 46°46' в.д.) и *S. major* (разъезд Усатовский – 50°48' с.ш., 46°55' в.д.)

2.1. Объем собранного материала. Основу материала составляют данные ежегодных учетов состава смешанного поселения, начиная с момента его образования, по результатам отловов и индивидуального мечения сусликов родительских видов и межвидовых гибридов, (табл. 1). Происхождение каждой особи, ее видовая принадлежность, а также «генетический паспорт» определялись прижизненно при помощи молекулярно-генетических методов.

Таблица 1. Многолетняя динамика состава смешанного поселения большого и жёлтого сусликов в зоне контакта по данным индивидуального мечения (видовая принадлежность особей приводится по результатам прижизненной диагностики методами молекулярно-генетического анализа)

Годы (<i>n</i> – общая численность населения)	Видовая принадлежность особей		
	<i>S. major</i>	<i>S. fulvus</i>	Гибриды
2002 (<i>n</i> = 7)	1	1	5
2003 (<i>n</i> = 12)	4	-	8
2004 (<i>n</i> = 28)	6	1	21
2005 (<i>n</i> = 17)	1	2	13
2006 (<i>n</i> = 27)	5	-	22
2007 (<i>n</i> = 41)	5	-	36
2008 (<i>n</i> = 37)	5	3	29
Всего	27	7	134

Кроме этого, для сравнительного анализа генетического разнообразия гибридных и чистовидовых популяций было отловлено 87 особей из «чистого» поселения жёлтого суслика, изолированного от контактной зоны рекой Еруслан (окр-ти с. Дьяковка – 50°43'

с.ш., 46°45' в.д.) и 8 особей большого суслика, отловленных по обочинам автодороги на участке с. Усатово – раз. Усатовский вне пределов смешанного поселения.

2.2. Методика полевых исследований и методы обработки данных. Структуру и состав гибридного поселения устанавливали ежегодно и контролировали на протяжении сезона активности на основе отлова всего населения и прижизненного индивидуального мечения. Отлов сусликов проводили на стационарных площадках донскими ловушками и ручными петлями ранней весной, сразу после их выхода из спячки, а также в период появления на поверхности выводков до тех пор, пока все зверьки в поселении не оказывались помечены. Каждый суслик получал пожизненную индивидуальную метку при помощи ампутации пальцев и временную для дистанционного опознавания при помощи окраски шерсти урзолом «Д». Ампутированные фаланги пальцев служили образцами тканей для последующего молекулярно-генетического анализа. При отловах у зверьков определяли пол, возраст, репродуктивный статус (у самок по состоянию сосков, у самцов по состоянию семенников).

В качестве морфологических маркеров родительских видов и гибридов были использованы показатели внешней морфологии тела: длина тела, L (мм), плюсны, Pl (мм), хвоста, C (мм) и живой вес, G (г), а также характеристика окраски шерсти верха головы и спины (поясничной отдел). Для анализа изменчивости окраски шерсти гибридных особей и родительских видов был применен колориметрический метод (Гашеев, 1999). Обработка цифровых фотоснимков головы и поясничного отдела сусликов проводилась при помощи пакета программ *Adobe® Photoshop® ver. 8.0 CS*. Оценочные окрасочные образцы представляли собой участки фотоснимка размером 100×100 пиксель, представленные в формате *.*bmp*. В качестве маркеров окраски использовались 5 показателей: цветонасыщенность (коэффициент отражения) в красной, синей и зеленой части спектра (в % от полного отражения), белизна (средняя величина первых трех показателей) и оттенок (отношение интенсивности красной части спектра к белизне).

Для сравнительного биоакустического анализа родительских видов и их гибридов использовали записи предупреждающих об опасности сигналов сусликов, сделанные при помощи портативного цифрового стерео магнитофона «Marantz PMD 670» и микрофона «SONY ECM737». Для количественного описания структуры сигналов использовали частотные (начальная, максимальная, конечная частота, глубина модуляции - кГц) и временные (длительность сигнала, мс) характеристики, полученные при помощи программ Avisoft-Sonograph и Adobe Audition 1.0. Всего проанализировано 415 сигналов фенотипических *S. major* ($n=11$), 193 сигналов *S. fulvus* ($n=10$) сусликов и 965 сигналов межвидовых гибридов ($n=43$).

Статистическую обработку данных проводили в пакете программ *Statistica for Windows* (StatSoft.® Inc. 1984-2001) с помощью параметрических критериев сравнения и корреляционного анализа, а также дискриминантного и кластерного анализов по всему набору исходных переменных.

Популяционные и этологические исследования в совместном поселении проводились в 2004-2008 гг. с апреля по июль в течение нескольких экспедиционных

выездов сроком от 14 до 30 дней каждый. Всего за период работы в гибридном поселении было проведено около 1200 часов наблюдений за индивидуально опознаваемыми особями.

Состав смешанного поселения оценивали ежегодно по следующим показателям: общая численность населения, плотность населения (особей/га), видовой (соотношение родительских видов и гибридов), половой и возрастной состав. Изменения в составе оседлого населения между годами позволяли оценить динамику численности и состава смешанного поселения, выживаемость и успех размножения для каждой категории особей.

Анализ пространственной структуры поселения и распределения особей проводили на основе индивидуальных регистраций, полученных при отловах и визуальных наблюдениях. Точки отловов и визуальных регистраций дистанционно опознаваемых особей картировали при помощи GPS с точностью ± 5 м. На основе распределения индивидуальных регистраций устанавливали индивидуальные участки обитания (УО) методом построения эллипсов с 95% вероятностью обнаружения особи, а также центры активности (ЦА) особей как среднее геометрическое координат всех регистраций. Оценивали взаиморасположение участков кон- и гетероспецифичных особей, дистанции между ЦА, а также характер их распределения, сравнивая со случайным. Для анализа использовали пакеты программ ArcGis 9.0 и OziExplorer 3.95.

Для описания и анализа репродуктивных отношений большого и жёлтого суслика в гибридном поселении выделяли «репродуктивные ячейки» – группы разнополых особей, пространственно обособленных от других подобных агрегаций и определяли их состав. В период гона регистрировали половые контакты самцов и самок, устанавливая индивидуальную и видовую принадлежность потенциальных половых партнеров. Успех размножения оценивали по числу вышедших на поверхность детенышей в выводках, а их отцовство и происхождение устанавливали на основании молекулярно-генетического анализа. Ассортативность спариваний проверяли, сравнивая наблюдаемое их распределение между разными поло-видовыми категориями зверьков с ожидаемым, которое подсчитывали исходя из соотношения родительских видов и гибридов в составе населения.

Биотопические предпочтения сусликов в зоне контакта оценивали по распределению их нор в гибридном поселении и близлежащих видовых поселениях. Растительность и почву описывали в радиусе 10 м от норных отверстий (3 пробные площадки на каждую нору). Из 105 обнаруженных видов растений для анализа использовали фоновые виды или их группировки (луговые злаки, типчак, полынь, тысячелистник, бобовые и разнотравье). При описании оценивали: проективное покрытие (%) растительности (PC), толщину дерна (см), почвы (ТТ), обилие мезофитных злаков (GRM), ксерофитных злаков (FV), полыни (ART), тысячелистника (ACH), бобовых (PAP) и других видов разнотравья (HGR). Предпочтение сусликами микростадий оценивалось по числу норных отверстий в расчете на выдел. Характер связи между отдельными факторами среды оценивался по результатам корреляционного анализа (r), а степень влияния факторов среды на предпочтение сусликами отдельных участков биотопа - по коэффициентам (R_s) ранговой корреляции Спирмена.

2.3. Методы молекулярно-генетического анализа. Молекулярно-генетические исследования были направлены на решение четырех задач: 1) определение видовой принадлежности и выявление возможного гибридного происхождения особей; 2) анализ генетической структуры гибридной популяции; 3) оценку генетического разнообразия и уровня гетерозиготности; 4) определение родства и отцовства на основе анализа микросателлитной ДНК.

В работе были использованы 5 молекулярно-генетических маркеров, специфических для сусликов Поволжья: контрольный регион мтДНК (С-регион, D-loop), наследующийся только по материнской линии, и 4 маркера ядерной ДНК - интрон 6 протоонкогена p53, ответственного за апоптоз, псевдоген (Ψ) гена p53, интрон 5 гена ZfX (zinc-finger gene), локализованного на X-хромосоме, интрон 8 гена SmcY (male-specific histocompatibility antigen), локализованного на Y-хромосоме и позволяющего отслеживать отцовские линии (Ермаков и др., 2002; Ермаков и др., 2006). Для изучения родственных связей особей в гибридном поселении и определения отцовства проводился анализ микросателлитной ДНК по 3 разработанным нами системам: IGS-bp (CAA-повтор), IGS-bm (CAG-повтор), STR1 1 ([GAAA](AGGG)-повтор).

По результатам молекулярно-генетического анализа для каждой особи был составлен генетический паспорт. Гибридное происхождение особи устанавливалось по наличию гетерозиготного состояния молекулярно-генетических маркеров (ядерные и митохондриальные гены) в её генотипе, а также в случае, если отмечалось наличие чужеродных (неспецифичные для этого вида) гаплотипов мтДНК и(или) Y-хромосомы.

Генетическая структура гибридной популяции описывалась по 6 статистическим и динамическим показателям: доле гибридов в поселении, уровню гетерозиготности, соответствию наблюдаемого соотношения генотипов теоретически ожидаемому (соотношение Харди-Вайндберга), частотам мтДНК и видоспецифических Y-хромосом, а также силе потока генов из родительских популяций в гибридную.

ГЛАВА 3. ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ, ПРОСТРАНСТВЕННАЯ И СОЦИАЛЬНО-ДЕМОГРАФИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГИБРИДНОГО ПОСЕЛЕНИЯ БОЛЬШОГО И ЖЁЛТОГО СУСЛИКОВ

3.1. Сравнительный анализ родительских форм и гибридов по морфологическим и биоакустическим признакам.

Морфологические признаки. Сравнительный анализ морфологических параметров *S. major*, *S. fulvus* и *S. major* x *S. fulvus* выявил достоверные различия по длине хвоста между большими и жёлтыми сусликами ($t_d = -3.92, p < 0.001$) и между жёлтыми сусликами и гибридами ($t_d = 4.40, p < 0.001$). По длине тела и лапы достоверных различий у вышеуказанных групп не обнаружено ($0.757 < p < 0.969$). Между большими сусликами и гибридами по всем морфологическим маркерам различия недостоверны ($0.269 < p < 0.899$).

Многофакторный дискриминантный анализ промеров тела выявил достоверные отличия гибридов от особей родительских видов (рис. 1). По оси первой дискриминантной функции (описывает 80.8% общей дисперсии) максимальная факторная нагрузка (-0.924) отмечена для показателя длины хвоста, поэтому расположение эллипсов рассеивания в пространстве этой дискриминантной функции

характеризует уменьшение этого морфологического признака. Центроид области рассеивания морфологических показателей гибридов располагается между центроидами большого и жёлтого сусликов, эллипс рассеивания гибридов охватывает пространство обеих родительских форм, а эллипс рассеивания гибридов первого поколения располагается между эллипсами родительских особей.

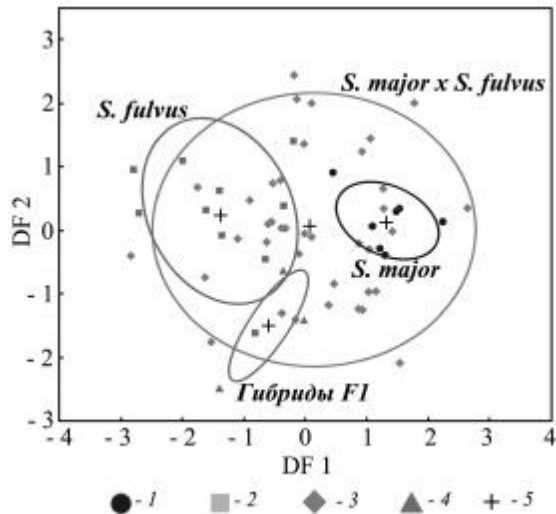


Рис. 1. Результаты дискриминантного анализа выборок морфологических показателей сусликов из гибридного поселения большого и жёлтого сусликов (с. Усатово, Краснокутский р-н, Саратовская обл.). 1 – большой суслик; 2 – жёлтый суслик; 3 – гибриды; 4 – гибриды F1

Все это указывает на *промежуточный* характер наследования гибридами морфологических признаков родительских видов. Широкий размах изменчивости, выявленной в выборке гибридных особей, мы объясняем преобладанием возвратных скрещиваний гибридов с особями родительских видов (в большей степени с *S. major*) над прямыми скрещиваниями.

Сравнительный анализ трех выборок сусликов (родительские виды и гибриды) по 5 окрасочным маркерам показал, что по окраске *верхней части головы* гибриды достоверно отличаются от больших сусликов по 1 показателю из 4 (оттенок красного, $p < 0.001$), а от жёлтых сусликов - по всем использованным маркерам. При сравнении окраски *поясничного отдела* гибриды достоверно отличаются от жёлтых сусликов по всем показателям ($p < 0.001$), а от больших сусликов гибриды не отличаются ни по одному показателю.

Дискриминантный анализ показателей окраски головы (DF1 описывает 87% общей дисперсии и максимально коррелирует с усилением оттенка красного (0.754), т.е. отражает повышение интенсивности темной окраски) и спины (DF1 описывает 96.3% общей дисперсии и связана с усилением яркости окраски меха) показал, что как по окраске «шапочки», так и по окраске спины гибридные особи значительно отличаются от особей родительских видов, а области рассеивания окрасочных признаков гибридов в отличие от морфологических признаков располагаются не между родительскими формами, а *в стороне* от них, занимая крайнее положение по осям первых дискриминантных функций. Это указывает на то, что наследование окраски происходит по *суммирующему* механизму: окраска гибридов является результатом сложения окрасочных показателей особей родительских видов. В случае возвратных скрещиваний

выявлено отклонение признаков гибридов в сторону одного или другого родительского вида или их суммация.

Биоакустические признаки. Сигнал большого суслика представлен длинными (500 мс) *одиночными* криками. Особенностью сигнала является наличие четырех фаз частотной модуляции (Никольский, 1984). Сигнал жёлтого суслика, напротив, организован *в серии* (до 16) коротких (до 100 мс) криков, с нарастанием частоты в начале сигнала и резким ее падением в конце (рис. 2).

По ритмической организации сигналы значительной части гибридных особей (16 из 43, 37%) были представлены только одиночными (что характерно для *большого суслика*) криками, промежуточными по своим частотным и временным характеристикам относительно родительских форм. Сигналы остальных зверьков ($n=27$, 63%), кроме промежуточных криков, включали как одиночные ($n = 13$, 30%), так и серии из двух ($n=8$, 19%), трех ($n=4$, 9%) или четырех и более ($n=2$, 5%) криков *жёлтого суслика*.

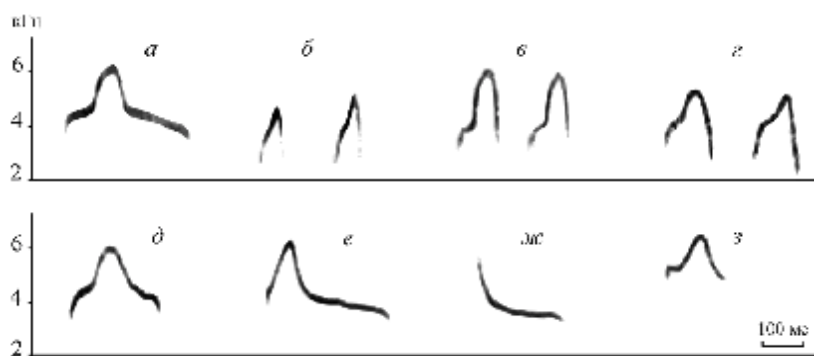


Рис. 2. Сонограммы звуковых сигналов большого (а), жёлтого (б) сусликов и их гибридов (в – з)

Для получения более подробной биоакустической характеристики сигналов гибридов был проведен дискриминантный анализ 6 категорий особей: большие суслики (m), жёлтые суслики (f), гибриды гетерозиготные по 6 интрону гена p53 и его псевдогену p53 (p53-m/f, Чp53-m/f); гибриды после возвратных скрещиваний с большими сусликами (p53-m/m, Чp53-m/f); гибриды после возвратных скрещиваний с жёлтыми сусликами (p53-m/f, Чp53-f/f) и гибриды с мозаичным наследованием генов родительских видов (p53-m/m, Чp53-f/f). Первая дискриминантная функция описывает 81.1% дисперсии, а ее ось – уменьшение глубины частотной модуляции (-0.118) и уменьшение начальной частоты (-0.833) звуковых сигналов. Вторая дискриминантная функция описывает 18.9% общей дисперсии и связана с увеличением начальной частоты (0.161) и конечной частоты (0.507) криков.

Анализ показал, что гибриды гетерозиготные по обоим признакам занимают *промежуточное* положение между областями рассеивания показателей криков родительских видов (рис. 3А). Беккроссы уклоняются от центра пространства признаков в сторону того родительского вида, от скрещивания с которым и были получены. Однако группа гибридов с мозаичным характером наследования генов родительских видов располагается *обособлено* от всех остальных категорий особей, занимая положение на краю пространства признаков.

Кластерный анализ значений координат центроидов эллипсов рассеивания выделенных категорий особей так же показал, что максимальную дистанцию различий

по отношению ко всем остальным категориям имеет выборка гибридов с мозаичным характером наследования, которая и является *внешней* группой для двух достаточно четко обособленных кластеров: больших сусликов с беккроссами и жёлтых сусликов с беккроссами (рис. 3Б).

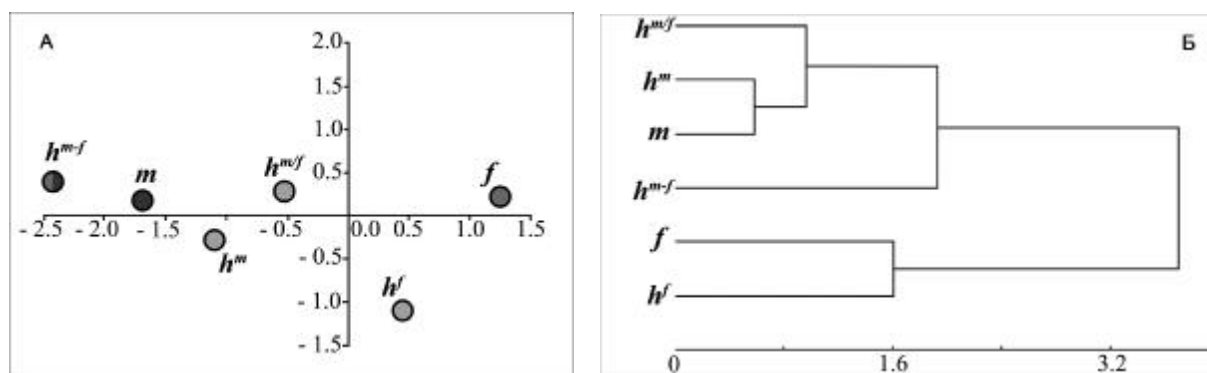


Рис. 3. Результаты анализа показателей звуковых сигналов особей из гибридного поселения большого и жёлтого сусликов (с. Усатово, Краснокутский р-н, Саратовская обл.). *A* – расположение центроидов эллипсов рассеивания в пространстве двух первых дискриминантных функций, *B* – кластерный анализ выборок сравнения, использованных в дискриминантном анализе. h^{m-f} – межвидовые гибриды – полные гетерозиготы, h^m – беккроссы с *S. major*, h^{m-f} – гибриды со сложным характером наследования, m – большие суслики, f – жёлтые суслики, h^f – беккроссы с *S. fulvus*

3.2. Особенности биотопических предпочтений большого и жёлтого сусликов как основа их симпатрии.

Основными местообитаниями жёлтого суслика являются глинистые и лёссовые пустыни и полупустыни, а также закрепленные растительностью пески. Настоящих песчаных пустынь этот вид в значительной мере избегает: заселяют окраины песчаных массивов, долины среди бугристо-грядовых закрепленных песков и котловины выдувания (Орлов, 1929; Слудский, 1969; Дубровский, 1961).

Большой суслик заселяет северные разнотравные, злаково-разнотравные, ковыльные и полынно-типчаковые степи (Огнев, 1947; Попов, 1960; Громов и др., 1965; Слудский и др., 1969; Громов, Ембаева, 1995). Предпочитает легкие почвы: черноземы, лугово-черноземные, темно-каштановые, супесчаные и легкие суглинистые почвы. Характерной чертой биотопического предпочтения большого суслика является тяготение к мезофильным несильно задерненным, увлажненным и песчаным биотопам со злаково-разнотравной растительностью, а также к антропогенным трансформированным степным и полупустынным ландшафтам (свалки, заброшенные фермы, поселковые пастбища для скота и т.д.).

Образование смешанных поселений различных по экологическим требованиям видов свидетельствует об особых условиях местообитания, в котором они формируются. По теоретическим представлениям гомогенность биотопа и отсутствие «разборчивости» в местообитаниях у особей, хотя бы одного из контактирующих видов, должны способствовать гибридизации (Панов, 1989).

Биотопические предпочтения большого и жёлтого сусликов сильно различаются, а в границах зоны симпатрии трудно найти подходящие для формирования контактных

поселений биотопы. Поскольку, кроме того, специфические для видов биотопы распределены в гибридной зоне мозаично, все обнаруженные смешанные поселения большого и жёлтого сусликов приурочены, в основном, к антропогенным трансформированным ландшафтам, богатым рудеральной и интразональной растительностью.

В частности, обнаруженное нами гибридное поселение большого и жёлтого суслика (окр-ти с. Усатово), расположено на заброшенной и заросшей степной растительностью бахче и прилегающих к ней полосах отвода автомобильной дороги. Биотоп характеризуется высоким проективным покрытием, средней толщиной дёрна и высоким обилием типчака в растительных ассоциациях. Среди других элементов растительности в биотопах представлены однолетние и мезофитные злаки, полынь и степное разнотравье (табл. 2).

Таблица 2. Биотопические показатели видовых и гибридного поселений *S. major* и *S. fulvus*

Показатели	Поселение <i>S. major</i> (n = 129)	Гибридное поселение (n = 36)	Поселение <i>S. fulvus</i> (n = 30)
Проективное покрытие, %	63.9 ± 1.4	62.0 ± 1.3	55.3 ± 1.1
Толщина дерна, см	8.7 ± 0.1	7.8 ± 0.1	8.4 ± 0.1
Обилие злаков, %	34.5 ± 2.1	35.7 ± 4.9	63.3 ± 1.6
Обилие типчака, %	28.9 ± 1.8	50.0 ± 5.0	5.3 ± 1.2
Обилие полыни, %	15.1 ± 1.4	5.7 ± 0.9	17.8 ± 1.2
Обилие тысячелистника, %	7.7 ± 0.6	0	4.0 ± 0.9
Обилие бобовых, %	3.8 ± 0.6	0.7 ± 0.2	0.2 ± 0.1
Обилие разнотравья, %	10.1 ± 0.5	4.8 ± 0.8	9.3 ± 0.6

Дискриминантный анализ различий биотопов по 7 показателям растительного покрова в видовых (*S. major* – 129 описаний; *S. fulvus* – 30 описаний) поселениях и гибридной популяции (36 описаний) выявил их значительные отличия друг от друга. По первой дискриминантной функции (DF 1), описывающей 82.2% дисперсии, наблюдается расхождение всех трех эллипсов рассеивания биотопических параметров как видовых, так и гибридного местообитаний. При этом факторные нагрузки биотопических показателей имели отрицательные значения (исключение составляет показатель обилия типчака – 0.298). Полученные данные, на наш взгляд, указывают на ожидаемый характер расположения эллипсов рассеивания биотопических показателей местообитаний сусликов относительно градиентной оси степени «рудеральности» биотопов. Жёлтый суслик тяготеет к естественным местообитаниям, но при этом терпимо относится к рудеральным компонентам, свойственным антропогенным ландшафтам (свалки, открытые биотопы вблизи населенных пунктов). Большой суслик в этом отношении использует больший спектр антропогенных ландшафтов в частности, он часто встречается по обочинам дорог и полосам отвода. Такая «эвритопность» *S. major*, по нашему мнению, объясняет высокую миграционную активность этого вида и, соответственно, возможность расселения и расширения ареала, что приводит к формированию смешанных поселений. Биотопические особенности гибридного поселения значительно отличаются от типичных местообитаний родительских видов. В

результате биотоп контактного поселения выступает для них в роли однородной среды, в одинаковой степени подходящей для обоих видов, что не создает условий для их пространственной сегрегации в условиях симбиотопии.

3.3. Структура поселения большого и жёлтого сусликов. Пространственную структуру гибридного поселения большого и жёлтого сусликов изучали как по месту дислокации отдельных зверьков, так и по расположению и составу их группировок.

Сравнение дистанций между особями различных категорий (по видовой принадлежности и полу) не выявило достоверных различий (тест Манна-Уитни (U), $p > 0.05$), что указывает на то, что распределение особей относительно друг друга в пространстве гибридного поселения не зависит от их половой или видовой принадлежности. Распределение особей в пространстве поселения демонстрировало тенденцию к агрегированному.

Мы выделяли пространственные группировки, разделенные дистанцией 120 м, которые относили к двум типам: полигинные группы и группировки самцов и самок. Первый тип, обычно характерный для видовых поселений большого суслика, объединяет одного самца и агрегацию обитающих по соседству друг с другом самок (M:FF). Другой тип, в большей степени характерный для видовых поселений жёлтого суслика, представляет собой группировку, объединяющую самцов (>1) и одну или несколько самок (MM:FF).

Полигинные группы являются устойчивыми пространственными группировками, включающими от 3 до 6 особей. Из 7 таких групп в 6 соотношение полов (самцы:самки) было 1:2, а в одной группе – 1:4. Группировки самцов и самок образованы непостоянными по числу компактными группами самцов и обитающими поблизости самками. В среднем соотношение полов в таких группировках составляет 1:1. Из 9 изученных групп в 8 соотношение разнополых особей было 1:1. Только в одной группировке нами было отмечено незначительное превосходство самцов – 1.5:1. Количество особей в группировках самцов и самок колеблется от 2 до 5.

Самцы больших сусликов входили в состав только полигинных групп, самцы гибридов – в группировки обоих типов. Самки больших сусликов и самки гибридов участвовали в обоих типах группировок. Ни одна из группировок обоих типов не была конспецифичной: все они включали либо гетероспецифичных самцов и самок, либо гибридов, что указывает на отсутствие ассортативности в выборе партнеров при формировании репродуктивных ячеек ($\chi^2 = 0.001 - 2.42$, $df = 1$, $0.120 < p < 0.973$) (табл. 3).

Таблица 3. Наблюдаемые (*H*) и ожидаемые (*O*) частоты объединений особей родительских видов и гибридов в полигинные группы и группировки самцов и самок (2004-2004 гг.)

Агрегации особей	2004 г.		2005 г.		2006 г.		2007 г.		2008 г.	
	<i>H</i>	<i>O</i>	<i>H</i>	<i>O</i>	<i>H</i>	<i>O</i>	<i>H</i>	<i>O</i>	<i>H</i>	<i>O</i>
Полигинные группы	0	0.27	1	0.26	0	0.42	2	2.04	2	0.96
Группировки самцов и самок	1	0.73	1	1.74	2	1.58	4	3.96	1	2.04

В полигинных группах дистанция между самками составляла 118.7 ± 11.5 ($n=10$) и не отличалась (тест Манна-Уитни, $U=41.5$, $Z=-1.22$, $p=0.223$) от дистанции между ними и единственным входящим в группу самцом (94.80 ± 16.3 , $n=12$). Дистанция от самца до самок из «чужой» группы была достоверно выше (282.3 ± 31.5 , $n=12$; тест Манна-Уитни, $U=2.7$, $Z=-2.67$, $p=0.007$). Сходные результаты получены и для группировок самцов и самок: дистанция между особями внутри группировок (88.2 ± 9.4 , $n=25$) достоверно отличалась (тест Манна-Уитни, $U=5.0$, $Z=-3.22$, $p=0.001$) от дистанций между особями из разных группировок (412.9 ± 89.1 , $n=7$).

Анализ многолетней динамики соотношения пространственных группировок двух типов и соотношения полов во всем поселении показал, что при уменьшении доли самцов в населении ниже 50% уровня (начиная с 2007 г) и увеличении доли самцов большого суслика в населении (с 0 в 2006 г до 40% в 2008), отмечается заметный рост доли полигинных пространственных группировок (с 0 в 2006 до 70% в 2008). Так как для *S. major* характерен полигинный тип репродуктивных отношений, то именно вселяющиеся самцы большого суслика и образуют новые полигинные группировки в гибридном поселении, объединяясь с агрегациями филопатричных не расселяющихся самок (в основном, гибридных).

3.4. Динамика пространственной и популяционной структуры поселения.

Начиная с момента образования и в последующие годы наблюдений численность колонии неуклонно росла, а доля гибридов в поселении оставалась постоянно высокой (рис. 4).

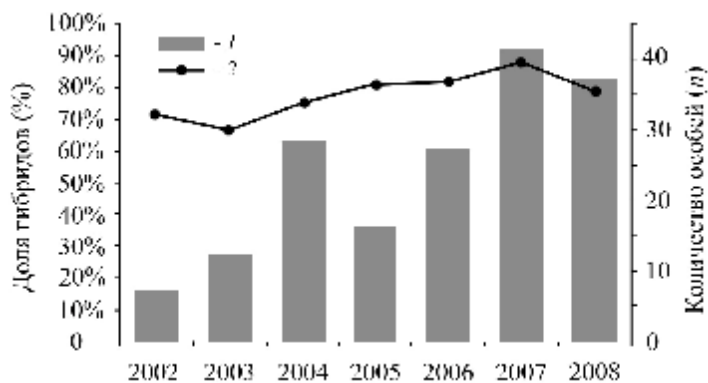


Рис. 4. Динамика численности населения (I) и доля гибридов (II) в гибридном поселении большого и жёлтого сусликов (с. Усатово, Краснокутский р-н, Саратовская обл.)

Демографическая структура гибридного поселения большого и жёлтого сусликов была подвержена постоянным изменениям, которые обусловлены низкой сохранностью как взрослых особей (не более 30% повторных отловов), так и прибылых зверьков (из-за низкой выживаемости молодых сусликов – не более 20% повторных отловов), и, возможно, миграционной активностью одного из родительских видов (преимущественно *S. major*, вследствие его высокой способности к расселению).

Видовой состав поселения, несмотря на постоянное значительное преобладание гибридных особей, был также подвержен ежегодным изменениям. Начиная уже со второго года после возникновения гибридного поселения в 2001 г., среди населения преобладали гибриды (от 67% до 88%, среднее многолетнее – 77.3%). Относительная численность большого суслика в среднем за все годы составляла 27.4% и значительно

превосходила численность жёлтого суслика, которая на протяжении всех лет наблюдений оставалась постоянно низкой (среднее многолетнее – 6.8%). Возможно, это связано, прежде всего, с активным вселением *S. major* в популяцию аборигенного жёлтого суслика.

Половой состав в гибридном поселении большого и жёлтого суслика был также не постоянен и до 2005 года характеризовался устойчивым ростом доли самок в поселении (2002-2003 гг. – $\chi^2=39.30$, $p<0.0001$; F(two-tailed) – $p<0.0002$ и 2003-2004 гг. – $\chi^2=14.30$, $p<0.0002$; F(two-tailed) – $p<0.0002$). Начиная с 2005 года, наблюдается стабилизация половой структуры поселения, которое выражается в приближении соотношения полов к 1:1 с незначительными ежегодными флуктуациями ($\chi^2=0.32-3.93$, $p=0.047-0.517$; F(two-tailed) – $p=0.065-0.672$).

Таким образом, численность смешанного поселения, начиная с начала возникновения, неуклонно увеличивается, прежде всего за счет увеличения числа гибридных особей, которые во все годы значительно преобладают над родительскими видами. Демографическая структура поселения на фоне общего преобладания гибридных особей, подвержена ежегодным изменениям, что связано с периодическим и непостоянным по масштабу вселением самцов большого суслика в гибридную популяцию, но в последние годы демонстрирует тенденцию к стабилизации. Гибридное поселение большого и жёлтого сусликов характеризуется интеграцией пространственных структур видовых популяций, проявляющейся в формировании полигинных групп (свойственных большому суслику) и группировок самцов и самок (свойственных жёлтому суслику), объединяющих кон- и гетероспецифичных особей. По мере развития колонии доля устойчивых полигинных групп увеличивается.

ГЛАВА 4. РЕПРОДУКТИВНЫЕ ОТНОШЕНИЯ БОЛЬШОГО И ЖЁЛТОГО СУСЛИКОВ В ГИБРИДНОМ ПОСЕЛЕНИИ.

4.1. Репродуктивные взаимоотношения в гибридном поселении.

Как большому, так и жёлтому суслику свойственна полигиния, организованная по различному принципу (Титов, 2004; Чабовский, устн. сообщ.). Однако, в депрессивных или разреженных поселениях оба вида переходят к промискуитету. Беспорядочные сексуальные отношения, которые могут возникать в условиях популяционной нестабильности – ситуации, которую мы наблюдаем в смешанном поселении (неустойчивый состав, численность, соотношение полов, формирование группировок самцов и самок) – являются важным фактором, способствующим межвидовой гибридизации.

Другой особенностью репродуктивных отношений в гибридном поселении большого и жёлтого сусликов является активный поиск самками партнеров, который возможно связан с тем, что у самок сусликов эструс наступает сразу после выхода из зимней спячки на поверхность и длится всего несколько часов, что вероятно, снижает требования к выбору полового партнера (в частности его видовой принадлежности) в условиях депрессивного состояния популяции и дефицита самцов-конспецификов. С другой стороны, значительное преобладание репродуктивно активных самцов над асинхронно выходящими из спячки эструсными самками приводит к острой

конкуренции между самцами за каждую готовую к размножению самку, что, возможно, также снижает требования к выбору конспецифичного полового партнера.

Активный поиск самками партнеров, неустойчивое соотношение полов кон- и гетероспецификов, высокая межсамцовая конкуренция в условиях дефицита самок (в том числе, конспецифичных), несегрегированность видов в смешанном поселении и наличие непостоянных по составу группировок самцов и самок могут способствовать снижению требований к выбору полового партнера и промискуитетным отношениям.

4.2. Характеристика репродуктивных группировок и выводков. Ежегодно фиксируемые сезоны размножения в гибридном поселении большого и жёлтого сусликов (2004-2008 гг.) имели свои характерные особенности, поэтому в разделе приводятся отдельные описания каждого репродуктивного периода: видовой и половой состав размножающихся особей группировки и прибылых зверьков, схемы наблюдаемых скрещиваний и типы спариваний самок, количество выводков, выживаемость молодых сусликов и взрослых особей в следующем репродуктивном сезоне. Анализ изменчивости полученных показателей репродуктивных отношений приводится в следующем разделе.

4.3. Успех размножения и направление скрещивания родительских видов и гибридных особей в поселении. Успех размножения является важным показателем, как приспособленности отдельной особи, так и устойчивости и жизнеспособности популяции в целом. В исследованиях гибридных популяций млекопитающих использование данных о репродуктивном успехе особи особенно актуально, поскольку позволяет оценить приспособленность особей разного происхождения, проследить вклад разных категорий особей в генетическую и демографическую структуру смешанной популяции и определить направление и характер происходящей гибридизации. Анализ изменчивости репродуктивного успеха особей и ее последствий облегчается тем, что генотип каждой особи в гибридной популяции уникален вследствие различных вариантов сочетания генов родительских видов.

У большей части размножавшихся самок отмечены многосамцовые спаривания (56%, $n=16$). При такой особенности половых контактов следует ожидать множественного отцовства в выводках. Действительно, доля гетероспермных выводков оказалась достаточно высокой и составляет за четыре года наблюдений (2004, 2006-2008 гг.) в среднем 37.3 ± 9.8 (%). Как показывает результаты анализа микросателлитной ДНК, в случае многосамцовых спариваний, в среднем 69.6 ± 10.1 (%) детенышей в выводках ($n=5$) принадлежит одному из самцов. В целом, множественное отцовство является довольно распространенным явлением (в 7 из 16 выводков, 44%). Степень гетероспермности выводков изменяется от 13 до 50% и в среднем составляет 35%.

Изменчивость репродуктивной активности и репродуктивного успеха особей в гибридном поселении большого и жёлтого суслика оказалась высокой. При этом успешность чаще спаривающихся самцов почти в два раза выше успешности самок, участвующих в многосамцовых спариваниях. Максимальный репродуктивный успех отмечен в годы с наименьшей плотностью населения, как у самцов, так и у самок, большая часть которых является гибридами (86%), что доказывает фертильность гибридных особей обоих полов, вопреки бытующему мнению о стерильности гибридов

S. fulvus и *S. major* (Громов, Ербаева, 1995). Однако данные по среднему числу сусят в выводках (2.14 ± 0.28 , $n=29$) указывают на пониженный репродуктивный потенциал гибридных особей, так как этот показатель достоверно ниже по сравнению с особями родительских видов: 7 – 14 у *S. major* (Титов, 2003а), 4 – 14 у *S. fulvus* (Миронов, 1986). При этом выживаемость гибридного потомства оказалась не ниже выживаемости «чистых» детенышей (44% ($n=32$) и 29% ($n=7$), соответственно; $\chi^2=0.55$; $p>0.1$).

Ассортативности скрещиваний в смешанном поселении не выявлено: наблюдаемые частоты спариваний различных по видовой принадлежности особей не отличались от ожидаемых при случайном скрещивании ($\chi^2=0.27 - 3.51$, $df=5$, $p>0.622$).

Таким образом, репродуктивные отношения большого и жёлтого сусликов в гибридном поселении являются панмиксичными. Они характеризуются отсутствием ассортативности скрещиваний, наличием многосамцовых спариваний самок и выраженной гетероспермностью выводков. Характер размножения и плодовитость особей определяется исключительно популяционными условиями и не имеет никаких конкурентных ограничений и отличается несбалансированным участием особей симпатрических видов, а также низким репродуктивным потенциалом.

ГЛАВА 5. ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ГИБРИДНОГО ПОСЕЛЕНИЯ.

5.1. Динамика генетической структуры. Сила генного потока и уровень интрогрессии (по ядерным и митохондриальным маркерам). Начало межвидовой гибридизации в контактном поселении *S. major* и *S. fulvus* приходится на момент депрессии численности одной или одновременно обеих популяций родительских видов и, в первую очередь, связано с сильным дефицитом конспецифических половых партнеров в период размножения. На этом начальном этапе генетическая структура смешанного поселения представляет собой простую сумму генетических структур родительских популяций, а видоспецифические маркерные генотипы находятся в гомозиготном состоянии (m/m, f/f). В результате гибридизации в смешанном поселении появляются гетерозиготные генотипы (m/f) и происходит динамическое развитие возникшей генетической структуры смешанного поселения, которая теоретически должна характеризоваться увеличением доли гибридов. При этом соотношение гомо- и гетерозиготных генотипов должно изменяться в соответствии с законом Харди-Вайнберга. Выявление фактов несоответствия этому закону свидетельствует о действии на автономные внутривидовые процессы дестабилизирующих факторов (дисбаланс кон- и гетероспецификов, полового состава) или ассортативности скрещивания.

Анализ уровня гетерозиготности популяции по 6 интрону гена p53 выявил устойчивый ее рост на начальных этапах гибридизации в изученном гибридном поселении. На момент образования поселения ожидаемая гетерозиготность (H_e) при свободном скрещивании по закону Харди-Вайнберга имела высокое значение – 0.500 и достоверно превышала наблюдаемую гетерозиготность ($\chi^2=3.19$, $0.05 > p > 0.01$), что предполагает действие барьерных факторов. В последующие годы вследствие периодического вселения особей большого суслика наблюдались связанные с ним заметные колебания значений гетерозиготности. Процесс формирования устойчивой

генетической структуры заканчивается на 4-5 год одновременно со стабилизацией демографической структуры поселения. Именно к этому моменту, когда доля гибридных особей составляет основную часть всего населения, наблюдалось выравнивание значений ожидаемой и наблюдаемой гетерозиготности популяции ($\chi^2=1.37$, $0.8 > p > 0.7$), что указывает на то, что сама генетическая структура эффективно поддерживается автономными популяционными механизмами в соответствии с законом Харди – Вайнберга и в итоге смешанное поселение характеризуется генетической сбалансированностью.

При исследовании материнских (мтДНК, С-регион) и отцовских линий (интрон 8 гена SmcY, Y-хромосома) в гибридном поселении большого и жёлтого сусликов также была выявлена связь изменений генетической структуры популяции с силой миграционной активности одного из родительских видов – большого суслика. На начальных этапах формирования поселения происходит скачкообразное увеличение доли зверьков, несущих специфические для большого суслика митотипы и быстрое накопление в популяции его Y-хромосомы (рис. 5). Однако доля митотипов жёлтого суслика остается достаточно высокой на протяжении всего периода исследований и передается в качестве генетического маркера в череде последующих поколений по материнской линии.

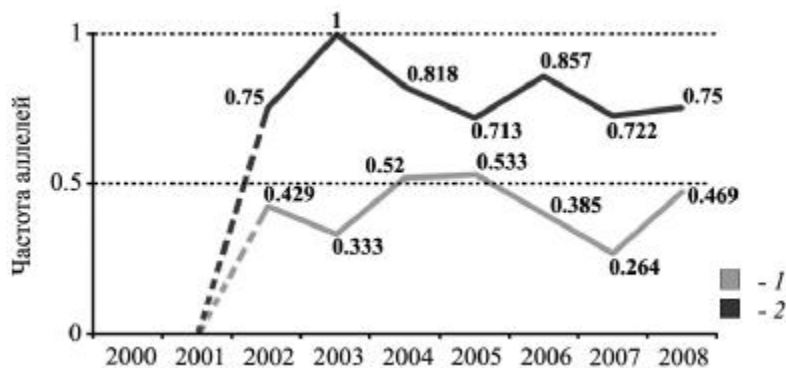


Рис. 5. Изменения частоты специфических для большого суслика митотипов (1) и Y-хромосомы (2) в гибридном поселении большого и жёлтого сусликов (с. Усатово, Краснокутский р-н, Саратовская обл.)

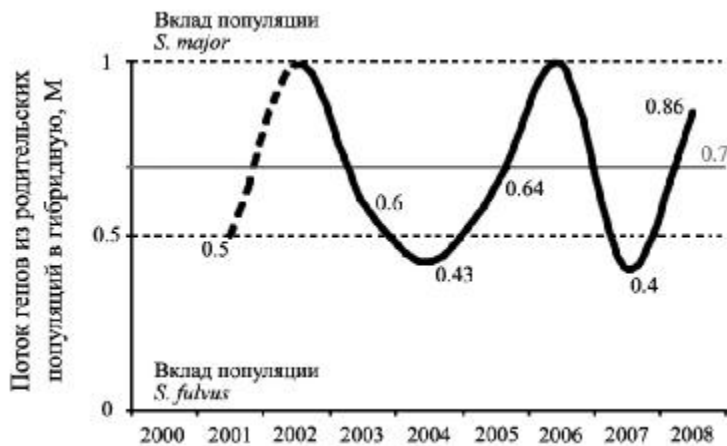


Рис. 6. Динамика потока генов (М) из родительских популяций в смешанное поселение большого и жёлтого сусликов (с. Усатово, Краснокутский р-н, Саратовская обл.). Область выше значения 0.5 – вклад популяции *S. major*, ниже – вклад популяции *S. fulvus*. Сплошная линия – средний многолетний вклад *S. major*

Анализ потока видоспецифических генов (*S. major* – M_m , *S. fulvus* – M_f) из родительских популяций в гибридную показал, что больший вклад вносит популяция вселяющегося вида – *S. Major* (рис. 6). При этом наблюдается характерная смена стадий падения и роста этого показателя за все годы наблюдений, но в среднем в гибридном поселении интенсивность потока генов большого суслика ($M_m - 0.7$) преобладает над таковой жёлтого суслика ($M_f - 0.3$) и напрямую зависит от масштаба вселения одного из гибридирующих видов в смешанное поселение ($r=0.986$, $n=4$, $p=0.014$).

5.2. Особенности генетической структуры по данным анализа микросателлитной ДНК. Устойчивость популяций связана с уровнем генетического разнообразия образующих ее особей. В условиях смешанного поселения, образованного депрессивными популяциями родительских видов, изначально характеризующимися низким генетическим разнообразием, межвидовое скрещивание будет вести к его увеличению и к стабилизации гибридной популяции в целом. Микросателлитный анализ выборок больших и жёлтых сусликов из чистых видовых поселений по двум системам IGS-br (на CAG-повтор) и IGS-bm (на CAA-повтор) выявил богатый полиморфизм этих микросателлитных маркеров (14 и 5 аллелей, соответственно). Вследствие депрессивного состояния популяции аборигенного вида (*S. fulvus*) и миграционного характера формирования популяции второго вида, гибридное поселение характеризуется низким полиморфизмом микросателлитных локусов у особей родительских видов. Для популяции жёлтого суслика были отмечены только 3 аллели этого генетического маркера – br4, br6 и br7. Все остальные аллели, обнаруженные в гибридном поселении привнесены вселяющимися большими сусликами - br1- br3, br5, br8. При скрещивании, полученное гибридное потомство обладало большим генетическим разнообразием и характеризовалось более широким аллельным спектром, что в конечном итоге определило устойчивость самой гибридной группировки особей и гибридного поселения в целом.

Для воссоздания истории образования гибридных поселений и развития в них популяционной ситуации была использована высоко полиморфная система STR1 1, по которой в гибридном поселении большого и жёлтого сусликов были выявлены 9 аллелей (st2-st10) и 25 вариантов зигот. При формировании гибридного поселения большого и жёлтого сусликов при постоянной миграции *S. major* постепенно увеличивалось количество аллелей (от 3 до 9). Наиболее часто встречаемыми аллелями в поселении являются st4, st5 и st8. При этом в контактном поселении первый аллель является привнесённым в гибридную популяцию большим сусликом, второй является общим для особей обоих родительских видов, а третий характерен в большей степени жёлтому суслику и вследствие интрогрессивного характера гибридизации, наблюдается снижение частоты этой аллели.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ:

Межвидовая гибридизация сусликов является не столь редким явлением, как этого следовало бы ожидать, учитывая общепринятое мнение о незначительной роли сингенеза в видообразовании млекопитающих. Устойчивое существование в природе гибридных популяций дает уникальную возможность для изучения механизмов

гибридизации в естественных условиях, а также для анализа причин возникновения и условий стабильного существования таких популяций. Несмотря на многочисленность работ, посвященных гибридной сусликов, до сих пор изучению поведенческих, экологических, социо-демографических, генетических механизмов межвидовой гибридной и изоляции симпатрических видов, не уделялось должного внимания.

В результате активного расселения большого суслика в область распространения *S. fulvus* в настоящее время сформировалась узкая зона симпатрии этих двух видов. Обнаруженное гибридное поселение большого и жёлтого сусликов (Краснокутский р-н, Саратовская обл.) позволило изучить популяционные и генетические аспекты естественной межвидовой гибридной, выявить экологические, поведенческие и генетические механизмы сингенеза близкородственных видов, а также оценить роль гибридогенных популяций в микроэволюционных процессах.

По морфологическим характеристикам гибриды занимают промежуточное положение относительно родительских видов, тогда как наследование окрасочных показателей гибридными особями происходит по суммирующему механизму: окраска гибридов ярче и является результатом сложения окрасочных показателей особей родительских видов. Особенности звуковой сигнализации гибридов и родительских видов свидетельствуют о мозаичном механизме наследования этих признаков, что может приводить к возникновению специфических сигналов у гибридных особей.

Смешанные поселения большого и жёлтого сусликов приурочены, в основном, к антропогенным трансформированным ландшафтам, богатым рудеральной и интразональной растительностью, а биотопические особенности гибридного поселения значительно отличаются от типичных местообитаний родительских видов. В результате биотоп контактного поселения выступает для них в роли однородной среды, в одинаковой степени подходящей для обоих видов, что не создает условий для их пространственной сегрегации в условиях симбиотопии.

Гибридное поселение большого и жёлтого сусликов характеризуется интеграцией пространственных структур видовых популяций *S. major* и *S. fulvus*, проявляющейся в формировании полигинных групп и группировок самцов и самок, включающих кон- и гетероспецификов, а также гибридов. Приток самцов большого суслика и постепенное увеличение их доли в населении ведет к повышению количества устойчивых полигинных групп, свойственных этому виду. Репродуктивные отношения большого и жёлтого сусликов в гибридном поселении являются панмиксичными. Они характеризуются отсутствием ассортативности скрещиваний, наличием многосамцовых спариваний самок, высокой долей гетероспермных выводков, низкой плодовитостью.

В процессе гибридной в поселении большого и жёлтого сусликов вследствие ослабления действия барьерных факторов формируется особая генетическая структура, эффективно поддерживаемая автономными популяционными механизмами в соответствии с законом Харди – Вайнберга. Формирование генетической структуры поселения проходит в течение 4-5 поколений и выражается в выравнивании значений ожидаемой и наблюдаемой гетерозиготности популяции. Изменения генетической структуры гибридных популяций в значительной степени зависимы от миграционной активности одного из родительских видов. Результатом периодически повторяющихся

миграций симпатрического *S major* в поселение аборигенного *S. fulvus* является увеличение частоты митотипов и Y-хромосомы и интенсивности генного потока большого суслика.

Таким образом, исследования гибридизации большого и жёлтого сусликов выявили возможность устойчивого существования гибридогенных популяций млекопитающих, а зарегистрированные случаи новых морфологических формообразований в результате гибридизации показали потенциальное значение гибридогенных популяций в микроэволюционных процессах.

Благодарности. В первую очередь я хочу выразить искреннюю благодарность моим руководителям: С.В.Титову, который на протяжении многих лет руководил моей работой и оказывал безграничную помощь в проведении исследований и написании диссертации, а также А.В. Чабовскому за помощь в организации исследования, подготовке результатов и рукописи. Отдельное спасибо С.А. Шиловой обнаружившей смешанные поселения большого и жёлтого сусликов, за поддержку и помощь в организации работ. Я благодарен Ан.А. Кузьмину, Ал.А. Кузьмину и всем, с кем мне посчастливилось работать при изучении гибридного поселения. Спасибо сотрудникам и аспирантам лаборатории популяционной экологии – за интерес к этой работе, поддержку и критику. Спасибо родным и близким за поддержку и терпение.

Исследования, положенные в основу диссертации, были поддержаны грантами РФФИ (№ 03-04-48814, № 06-04-48957, № 07-04-00721) и Фондом содействия отечественной науке.

ВЫВОДЫ:

1. В зоне симпатрии большого и жёлтого сусликов формируется мозаичная гибридная зона, состоящая из поселений с высокой долей плодовитых гибридов (более 70%), устойчиво преобладающими над родительскими формами.
2. Гибриды имеют промежуточные относительно родительских видов морфологические и биоакустические признаки; в случае возвратных скрещиваний выявлено отклонение признаков гибридов в сторону одного или другого родительского вида или их суммация, приводящая к возникновению специфических для гибридов признаков.
3. Особенностью генетической структуры гибридного поселения является преобладание митотипов и Y-хромосомы большого суслика, что указывает на интрогрессивный характер гибридизации.
4. В смешанном поселении гибриды и родительские виды образуют единую пространственную структуру. Исходно неравновесная и изменчивая половозрастная структура с течением времени стабилизируется, а нестабильные группировки самцов и самок сменяются устойчивыми полигинными группами.
5. Репродуктивные отношения сусликов в гибридном поселении характеризуются неассортативным и неограниченным скрещиванием, множественными спариваниями и отцовством, в том числе гетероспецифичным.

6. На начальных этапах формирования поселения характеризуется нестабильным уровнем гетерозиготности, который по мере накопления в популяции гибридов приближается к состоянию панмиксичной популяции.
7. Факторами, способствующими гибридизации большого и жёлтого сусликов, являются: депрессивное состояние популяций родительских видов; несбалансированная и неустойчивая социо-демографическая структура смешанного поселения, равномерное распределение в пространстве родительских видов и гибридов в отсутствие биотопических барьеров; агрегированное распределение самок.
8. Механизмом стабилизации гибридной популяции является повышение общей гетерогенности популяции вследствие свободного скрещивания особей всех категорий и многосамцового типа спаривания до уровня, обеспечивающего проявление автономных генетических процессов.

Основные публикации по теме диссертации:

Статьи в журналах из списка ВАК:

1. *Титов, С.В., Ермаков, О.А., Сурин, В.Л., Формозов, Н.А., Касаткин, М.В., Шилова, С.А., Шмыров, А.А.* 2005. Молекулярно-генетическая и биоакустическая диагностика больших (*Spermophilus major* Pallas, 1778) и жёлтых (*S. fulvus* Lichtenstein, 1823) сусликов из совместного поселения // Бюлл. Моск. о-ва испытателей природы. Отд. Биол. Т. 110. Вып. 4. С. 72-77.
2. *Шмыров, А.А.* 2006. Репродуктивные отношения большого (*Spermophilus major*) и жёлтого (*S. fulvus*) сусликов в гибридном поселении // Бюлл. Моск. о-ва испытателей природы. Отд. Биол. Т. 111. Вып. 5. С. 45-46.
3. *Титов, С.В., Ермаков, О.А., Шмыров, А.А., Кузьмин, А.А., Сурин, В.Л., Формозов, Н.А.* 2006. Популяционные особенности межвидовой гибридизации сусликов (*Spermophilus: Rodentia, Sciuridae*) // Бюлл. Моск. об-ва испытателей природы. Отдел биол. Т. 111. Вып. 5. С. 36-41.
4. *Титов, С.В., Ермаков, О.А., Шмыров, А.А., Кузьмин, А.А.* 2007. Агонистическое поведение крапчатого суслика (*Spermophilus suslicus*) в Поволжье // Зоологический журнал. Т. 86. № 3. С. 349-359.
5. *Титов, С.В., Шмыров, А.А., Кузьмин, А.А., Ермаков, О.А.* 2008. Агонистическое поведение большого суслика (*Spermophilus major, Rodentia, Sciuridae*) // Зоологический журнал. Т. 87. № 9. С. 1124-1133.

Статьи в сборниках и журналах (не входящих в перечень ВАК):

6. *Титов, С.В., Ермаков, О.А., Сурин, В.Л., Формозов, Н.А., Шмыров, А.А.* 2005. Молекулярно-генетический анализ выводов сусликов из совместного поселения *Spermophilus fulvus* и *S. major* (*Rodentia, Sciuridae*) // Мат. междунар. совещ. «Биоресурсы и биоразнообразие экосистем Поволжья: прошлое, настоящие и будущие». Саратов: СГУ. С. 188-190.
7. *Титов, С.В., Ермаков, О.А., Шмыров, А.А., Сурин, В.Л., Формозов, Н.А.* 2005. Популяционные аспекты межвидовой гибридизации сусликов // Мат. рос. научн. конферен. «Суслики Евразии (Роды *Spermophilus, Spermophilopsis*): происхождение, систематика, экология, поведение, сохранение видового разнообразия». М.: ТНИ КМК. С. 110-112.

8. **Шмыров, А.А., Титов, С.В.** 2006. Изучение гибридного поселения большого и жёлтого сусликов // Мат. конферен. молодых сотрудников и аспирантов ИПЭЭ РАН «Актуальные проблемы экологии и эволюции в исследованиях молодых ученых». М.: ИПЭЭ РАН. С. 331-337.
9. **Титов, С.В., Кузьмин, А.А., Шмыров, А.А.** 2007. Репродуктивная стратегия как фактор межвидовой гибридизации и изоляции симпатрических видов сусликов // Мат. конферен. «Современные проблемы биологической эволюции (к 100-летию Дарвиновского музея)». М.: ГДМ. С. 255-257.
10. **Титов, С.В., Шмыров, А.А., Кузьмин, А.А., Ермаков, О.А., Сурин, В.Л., Формозов, Н.А.** 2007. Особенности динамики генетической структуры гибридных популяций млекопитающих (на примере р. *Spermophilus*) // Мат. междунар. конферен. «Молекулярно-генетические основы сохранения биоразнообразия млекопитающих Голарктики». М.: ТНИ КМК. С. 258-269.
11. **Шмыров, А.А., Титов, С.В.** 2008. Характеристика гибридного поселения большого (*Spermophilus major*) и жёлтого (*S. fulvus*) сусликов по морфологическим, биоакустическим и молекулярно-генетическим маркерам // Мат. конферен. молодых сотрудников и аспирантов ИПЭЭ РАН «Актуальные проблемы экологии и эволюции в исследованиях молодых ученых». М.: ИПЭЭ РАН. С. 421.

Тезисы конференций и совещаний:

12. **Титов, С.В., Ермаков, О.А., Сурин, В.Л., Формозов, Н.А., Шмыров, А.А.** 2005. Молекулярно-генетический анализ выводков сусликов из совместного поселения *Spermophilus fulvus* и *S. major* (Rodentia, Sciuridae) // Мат. междунар. совещ. «Биоресурсы и биоразнообразие экосистем Поволжья: прошлое, настоящие и будущие». Саратов: СГУ. С. 188-190.
13. **Титов, С.В., Ермаков, О.А., Шмыров, А.А., Сурин, В.Л., Формозов, Н.А.** 2005. Популяционные аспекты межвидовой гибридизации сусликов // Мат. рос. научн. конферен. «Суслики Евразии (Роды *Spermophilus*, *Spermophilopsis*): происхождение, систематика, экология, поведение, сохранение видового разнообразия». М.: ТНИ КМК. С. 110-112.
14. **Шмыров, А.А.** 2006. Репродуктивные отношения большого (*Spermophilus major*) и жёлтого (*S. fulvus*) сусликов в смешанном поселении // Биология – наука XXI века: 10-я Пущинская шк.- конферен. молодых ученых, посвящен. 50-летию Пущинского научного центра РАН (Пушино, 17-21 апреля 2006 г.). С. 338-339.
15. **Titov, S., Ermakov, O., Shmyrov, A., Kuzmin, A., Surin, V., Formozov, N.** 2006. Population aspects of interspecific hybridization of ground squirrel // 1st European Ground Squirrel Meeting. Book of programme and abstracts. Felsotarkany, Hungary, 20-24 October 2006. P. 55.
16. **Шмыров, А.А.** 2007. Характеристика гибридного поселения большого (*Spermophilus major*) и жёлтого (*S. fulvus*) сусликов // Мат. междунар. совещ. «Териофауна России и сопредельных территорий (VIII съезд Териол. общ-ва)» (Москва, 31 января – 2 февраля 2007 г.). М.: ТНИ КМК. С. 559.
17. **Титов, С.В., Шмыров, А.А., Кузьмин, А.А., Ермаков, О.А., Сурин, В.Л., Формозов, Н.А.** 2007. Популяционные особенности межвидовой гибридизации млекопитающих (на примере р. *Spermophilus*) // Мат. междунар. совещ. «Териофауна России и сопредельных территорий» (VIII съезд Териол. общ-ва). М.: ТНИ КМК. С. 493.
18. **Шмыров, А.А.** 2007. Биоакустическая характеристика совместного поселения большого и жёлтого сусликов // IV всеросс. конферен. по поведению животных (29 октября -1 ноября 2007 г.). М.: ТНИ КМК. С. 235-236.