

На правах рукописи

МИРОНОВА Татьяна Александровна

**КРАНИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ГЕНОМНЫХ
ФОРМ СЕРЫХ ПОЛЕВОК**

Специальность 03.02.04 – зоология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Москва – 2011

Работа выполнена в Лаборатории микроэволюции млекопитающих
Учреждения Российской академии наук
Института проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН

Научный руководитель: доктор биологических наук, профессор
Н.М. Окулова

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
А.К. Агаджанян

доктор биологических наук
И.А. Васильева

Ведущая организация: Зоологический музей МГУ

Защита диссертации состоится 5 апреля 2011 г. в 14:00 на заседании совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д.002.213.01 при Учреждении Российской академии наук Институте проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН по адресу: 119071, Москва, Ленинский проспект, д.33.

Телефон/факс: (495) 952-35-84; www.sevin.ru, e-mail: admin@sevin.ru.

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

Автореферат разослан 4 марта 2011 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат биологических наук



Е.А. Кацман

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Большинство видов рода *Microtus* характеризуются слабой морфологической обособленностью, поэтому, несмотря на значительный интерес к этой группе со стороны ученых (Elton, 1942; Огнев, 1950; Громов, Поляков, 1977; Малыгин, 1983; Обыкновенная полевка... 1994; Мейер и др., 1996 и др.) таксономический ранг и родственные связи многих форм серых полевок остаются до конца не выясненными и спорными. Современная систематика серых полевок в основном базируется на изучении структуры жевательной поверхности коренных зубов, а прочие признаки остаются почти не рассмотренными. В то же время, для изучения родственных связей таксонов необходимо применять дополнительные методы, которые расширяют наши представления о степени сходства этих видов, позволят уточнить статус новых видов и статус уже известных форм, а также улучшить методы их дифференциации.

При изучении дифференциации видов и форм, основополагающими на настоящее время остаются морфологические методы. В то же время, молекулярно-генетические методы дают информацию о филогенетическом родстве исследуемых групп как внутри вида, так и между разными видами. Палеонтологические методы позволяют оценить картину эволюционного развития *Microtini*. В зависимости от экологической адаптации, генетических преобразований, особенностей исторического развития видов и популяций наблюдается различное соотношение типов изменчивости. Комбинирование классических и современных подходов позволяет всесторонне оценить уровень дивергенции представителей разных таксономических рангов. В связи с проблемой несовпадения темпов геномной и морфологической эволюции (Майр, 1971), значительный интерес представляет комплекс криптологических видов обыкновенной полевки *Microtus arvalis* s. l. Несмотря на наличие четких цитогенетических различий и репродуктивную изоляцию, диагностика симпатрических видов *M. levis* и *Microtus arvalis* s. str. по морфологическим признакам, традиционно используемым в систематике

полевок, пока практически невозможна. Идентифицировать их можно на основе электрофоретического исследования гемоглобина (Доброхотов, Малыгин, 1982; Доброхотов, 1985), кариотипирования (Мейер и др., 1969; 1972а, б; 1985; Орлов, Малыгин, 1969; 1974; Орлов и др., 1983) и молекулярно-генетического анализа (Haynes et al., 2003; Jaarola et al., 2004; Потапов и др., 2007а, б; Lavrenchenko et al., 2008; Лавренченко и др., 2009). Особенности строения кариотипа обыкновенной полевки позволили выделить внутри вида несколько форм, таксономический статус которых до сих пор остается спорным. Однако возможности цитогенетического метода, ограничены (Малыгин, 1983). Поэтому только комплексный анализ позволит дать объективную оценку таксономического статуса исследованных форм.

Цель и задачи. Целью данной работы является комплексный анализ краниологической дифференциации близкородственных таксонов (геномных форм) разного ранга (внутривидовые и надвидовые группы) в пределах рода *Microtus*.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

1. Оценить степень сходства шести геномных форм по краниометрическим и фенетическим данным.
2. Уточнить распространение видов и форм рода *Microtus* в бассейне р. Дон, выявить границу распространения кариоформ обыкновенной полевки *Microtus arvalis* s. str.
3. Оценить влияние возраста и содержания в виварии на характер межвидовых и внутривидовых различий в структуре черепа криптических видов.
4. Изучить разнообразие и сходство морфотипов строения жевательной поверхности коренных зубов, а также формы и расположения швов и отверстий черепа у представителей разных таксономических групп и уточнить картину их гомологической изменчивости.
5. Провести сравнительный анализ изменчивости серых полевок по комплексу признаков.

Научная новизна. Получена комплексная характеристика структуры черепа криптоических видов и форм и в меньшей степени - серых полевок других видов, обитающих в бассейне Дона. Уточнена граница распространения кариоформ «*arvalis*» и «*obscurus*» обыкновенной полевки *Microtus arvalis* s. str. в данном регионе, определен характер их различий в зоне максимального сближения границ ареалов и на удалении от нее. В результате изучения краниометрических и фенетических особенностей обыкновенной (*Microtus arvalis* Pallas, 1778), восточноевропейской (*M. levis* Miller, 1908 (*rossiaemeridionalis* Ognev, 1924), подземной (*M. (Terricola) subterraneus* Selys-Longchamps, 1838), темной полевок (*M. agrestis* Linnaeus, 1761) и полевки-экономки (*M. (Pallasiinus) oeconomus* Pallas, 1776) выявлены их видовые, возрастные и экологические особенности. Комплексный анализ представителей шести таксонов позволил расширить представления об их сходстве и различиях. Показано значительное отличие подземной полевки от остальных изученных видов и форм в некоторых случаях близкое к рангу подсемейств. Установлен факт сходства темной полевки и полевки-экономки по ряду краниологических показателей, по всей видимости, на основе экологической конвергенции этих двух видов.

На основе полученных данных уточнены и дополнены ряды гомологической изменчивости структур жевательной поверхности коренных зубов видов и форм серых полевок. Дальнейшее накопление всесторонних сведений по краниологии полевок позволит уточнить на основе полученных данных, таксономический статус изучаемых форм.

Практическая значимость. Представители рода *Microtus* заселяют обширный ареал на территории России и имеют важное медицинское значение, как носители возбудителей природно-очаговых заболеваний, опасных для человека (туляремии, лептоспироза, и т.д.) и хозяйственное значение, как массовые вредители сельского хозяйства.

Полученные данные представляют собой теоретическую и практическую базу для дальнейшей разработки методов дифференциации группы *Microtus arvalis* s. l.

Апробация работы. Результаты исследований были представлены на III и IV Конференциях молодых сотрудников и аспирантов ИПЭЭ им. А.Н. Северцова РАН (Москва, 2008, 2010); Международной научной конференции «Чарльз Дарвин и современная биология» (Санкт-Петербург, 2009); Международной школе-конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века» (Пушино, 2009); на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Экология, эволюция и систематика животных» (Рязань, 2009); Всероссийских конференциях молодых ученых ИЭРиЖ УрО РАН (г. Екатеринбург, 2009, 2010); на Конференции «Целостность вида у млекопитающих: изолирующие барьеры и гибридизация» (Петергоф, 2010); на XI международной научно-практической экологической конференции «Видовые популяции и сообщества в антропогенно трансформированных ландшафтах: состояние и методы его диагностики» (Белгород, 2010); на лабораторных коллоквиумах ИПЭЭ РАН.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 18 научных работ (10 статей и 8 тезисов докладов и материалов конференций), из них 2 статьи в журналах списка ВАК.

Структура и объем работы. Текст диссертации изложен на 174 страницах и состоит из введения, семи глав, выводов, списка использованной литературы и трех приложений. Работа иллюстрирована 29 рисунками и 35 таблицами.

Благодарности. Автор выражает искреннюю благодарность научному руководителю диссертационной работы д.б.н., проф. Н.М. Окуловой, а также к.б.н. М.И. Баскевич за предоставление результатов кариологического анализа и помощь в определении криптических видов и форм, ценные советы по некоторым разделам диссертации. Огромная благодарность зав. лаб., д.б.н., проф. В.Н. Орлову и к.б.н. С.Г. Потапову за консультации и совместную работу над отдельными разделами диссертации. Автор

признателен С.Ф. Сапельникову (ВГЗ) за предоставленные краниологические коллекции, обсуждение отдельных аспектов работы и неоценимую помощь при полевой работе. Автор благодарит коллектив лаборатории микроэволюции млекопитающих за постоянную поддержку и предоставление возможности выполнения данной работы, а также доцента кафедры зоологии ИвГУ, к.б.н. А.Д. Майорову и всех студентов-зоологов – членов экспедиционных групп.

Работа выполнена в соответствии с планами лаборатории микроэволюции млекопитающих при поддержке Фонда РФФИ (гранты 05-04-48646, 09-04-00464) и программ Президиума РАН «Динамика генофондов» и «Биологическое разнообразие» (2.6.2 и 2.1.3)

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Введение. Во введении сформулированы актуальность работы, ее теоретическая и практическая значимость, цели и задачи исследования.

Глава 1. Литературный обзор

В разделе изложены современные представления о систематике и эволюции видов рода *Microtus*. Рассматривается проблема криптического видообразования и разбираются вопросы, возникающие при изучении спорных таксонов. Приводятся особенности экологии, распространения и биотопического размещения шести изученных видов и форм. Анализируются особенности морфологической дифференциации криптических и четко выраженных видов.

Глава 2. Материал и методы

Работа выполнена на материалах, собранных автором в 2006-2009 гг. при работе в составе экспедиции ИПЭЭ РАН (рук. д.б.н., проф. Н.М. Окулова) и самостоятельно на территории Центрального Черноземья (Воронежская, Липецкая, Курская, Тамбовская области). Было обследовано 77 пунктов, в 60 из них добыты живые зверьки, видовая принадлежность которых была установлена кариологическим методом. Также в работе были использованы сборы на территории работ за предшествующие годы. Автору

был предоставлен материал из личной коллекции с.н.с. ВГЗ С.Ф. Сапельникова (12 *M. (T.) subterraneus* и 24 *M. agrestis*) и из зоомузея МГУ (21 *M. (P.) oeconomus*). Был изучен 241 череп: 169 - *M. arvalis* s.l. (55 - *M. levis*; 62 - *M. a. arvalis*; 52 - *M. a. obscurus*); 32 - *M. agrestis*; 22 - *M. (P.) oeconomus* и 18 - *M. (T.) subterraneus*. Автор принимал участие в определении фрагментов последовательности митохондриального гена *Cytb* для 35 особей *Microtus arvalis* s. l. (руководитель раздела работы – к.б.н. С.Г. Потапов).

Были исследованы зверьки обоего пола двух возрастных категорий: взрослые (весенне-летняя генерация) и молодые (летне-осенняя генерация). Черепа перезимовавших особей в работе не использовали. Возраст зверьков определяли по комплексу признаков: размерам тела, форме и размерам черепа, развитию гребней. К молодым относили зверьков небольших размеров с развитым тимусом и без выраженных гребней на черепе (Башенина, 1953; Клевезаль, 2007; Карасева и др., 2008; Окулова и др., 2008).

Для анализа краниологической дифференциации представителей шести таксонов рода *Microtus* был использован 241 череп. На каждом измеряли по 35 признаков (Огнев, 1928; Громов, Поляков, 1977; Громов, Ербаева, 1995; Мейер и др., 1996; Окулова, Баскевич, 2007) (табл. 1). На основе полученных данных было рассчитано 83 индекса, представленные двумя группами: 1) относительно кондило-базальной длины черепа (34); 2) признаки, не связанные с кондило-базальной длиной (49). Для сравнительно-фенетического анализа было отобрано 117 морфологических признаков черепа, для которых описано 332 их состояния (фена). Признаки были представлены тремя группами: 1) вариации рисунка жевательной поверхности коренных зубов – 54; 2) форма, расположение и соединение костей черепа – 15; 3) число и расположение отверстий, связанных с выходом кровеносных сосудов и нервов (перфоративные краниологические признаки) – 48. У каждого таксона подсчитывались частоты фенов как отношение числа особей (сторон черепа для билатеральных признаков), у которых данный фен проявился, к общему числу исследованных особей данной группы. Так как

признаков, характеризующих расположение и соединение костей черепа, было мало, мы объединили их с перфоративными признаками.

Таблица 1. Перечень промеров черепа серых полевков

Краткое обозначение	Расшифровка
Cbl	кондило-базальная длина
Br	длина мозговой части
Fac	длина лицевой части
Zyg	скуловая ширина
Iob	межглазничное расстояние
Hmax	высота верхней челюсти перед M^1
Lna	длина носовых костей
Vna	ширина носовых костей
D1	длина верхней диастемы
Lm^{1-3}	длина верхнего зубного ряда
Lm^1	длина первого верхнего коренного зуба
Vm^1	ширина первого верхнего коренного зуба
Lm^3	длина третьего верхнего коренного зуба
Vm^3	ширина третьего верхнего коренного зуба
Lbull	длина слухового барабана
Vbull	ширина слухового барабана
Vsca	ширина черепа в области слуховых барабанов
Hsca	высота черепа в области слуховых барабанов
Lfi	длина резцового отверстия
Vfi	ширина резцового отверстия
M^{1-1}	расстояние между первыми верхними коренными зубами
Lpal	длина костного нёба
Pal	длина нёбной кости
Lipar	длина межтеменной кости
Fr	расстояние между наружными краями лобных костей
Post	расстояние между заглазничными выступами
Cond	расстояние между затылочными мышцелками
Lmd	длина нижней челюсти
D2	длина нижней диастемы
Hmd1	высота нижней челюсти перед M_1
Hmd2	максимальная высота нижней челюсти
Lm_{1-3}	длина нижнего зубного ряда
Li	длина верхнего резца
Vi	ширина режущей части верхнего резца
Ti	толщина верхнего резца у основания, вид сбоку

При анализе изменчивости структуры жевательной поверхности коренных зубов мы использовали классификации, предложенные разными авторами (Rörig, Börner, 1905; Ангерманн, 1973; Ларина, Еремина, 1988; Иванов, 2007). При выделении и кодировании перфоративных признаков, а также формы и расположения костей черепа за основу были приняты: каталог основных фенотипов грызунов (Ларина, Еремина, 1988) и каталог фенотипов неметрических признаков черепа грызунов (Васильева, 2005-2006) с дополнениями (Betty, Searle, 1963; Васильев, Васильева, 2009). Определялось соотношение встречаемости фенотипов признаков у изученных видов и форм. Оценка фенетической дивергенции между видами и формами проводилась с помощью показателя дифференциации (MMD) (Betty, 1963; Васильев, 1984; 2005). Рассчитывалось усредненное среднеквадратичное отклонение (MSD) по формуле, предложенной Сьевольдом (Sjøvold, 1977). Различия считали статистически значимыми на уровне $p < 0,05$ при $MMD > 2MSD$.

Были вычислены коэффициенты корреляции Пирсона по частотам встречаемости 116 зубных фенотипов и 216 фенотипов швов и отверстий черепа у всех изученных генотипов форм.

Фрагменты нуклеотидной последовательности митохондриального гена цитохрома *b* (796 п.н.) и ядерного гена *p53* (788 п.н.) были получены для 32 особей обыкновенных полевых *M. arvalis* s.l. Для выделения ДНК применяли стандартную методику экстракции смесью фенол-хлороформ (Mathew, 1984).

Статистическую обработку данных по краниометрической и фенетической изменчивости черепа видов и форм серых полевых проводили с помощью методов одномерной и многомерной статистики с использованием программных пакетов Statistica 7.0; PAST 1.89; Mathcad 14.0 и электронных таблиц Excel. Применяли метод главных компонент, дискриминантный, канонический, корреляционный анализы и многомерное шкалирование. При попарном сравнении видов и форм использовали *t*-критерий Стьюдента и непараметрический критерий Колмогорова-Смирнова. Статистически значимыми принимались различия при $p < 0,05$.

Глава 3. Распространение криптических видов обыкновенной полевки *Microtus arvalis* s.l. в бассейне Дона

Место работ характеризуется тем, что здесь встречаются вместе два криптических вида (*M. levis* и *Microtus arvalis* s. str.) и две кариоформы («*arvalis*» и «*obscurus*»). Предполагалось, что здесь проходит граница кариоформ, до начала наших работ отмеченная лишь единичными находками. Нами было уточнено распространение хромосомных форм обыкновенной полевки в четырех областях Центрального Черноземья (Воронежская, Липецкая, Тамбовская, Курская) на протяжении 140 км. Установлено, что пункты находок различных хромосомных форм *M. a. arvalis* и *M. a. obscurus* сближаются местами на расстояние 1-3 км, в среднем их находки располагаются на расстоянии 15 км.

Глава 4. Дивергенция серых полевок *Microtus Schrank, 1798* на основе краниометрических данных

На основе краниометрических данных исследованные виды и формы можно условно разделить на три группы: 1) виды с крупными размерами черепа: *M. (P.) oeconomus* и *M. agrestis*; 2) виды со средними, или промежуточными, размерами черепа: *M. levis*, *Microtus arvalis* s. str.; и 3) виды с небольшими размерами черепа: *M. (T.) subterraneus*. В связи с такой дифференциацией, наибольший интерес представляют не абсолютные промеры, которые в значительной степени отражают рост и размеры черепа, а значения признаков относительно кондило-базальной длины черепа (Cbl).

4.1. Сравнение шести видов и форм серых полевок по 34 индексам, связанным с кондило-базальной длиной черепа

Из 34 индексов относительно кондило-базальной длины только по шести не было обнаружено статистически значимых отличий между формами (Lna/Cbl , Lm^{1-3}/Cbl ; Vm^3/Cbl , $Hmd2/Cbl$, Li/Cbl , Ti/Cbl). Наибольший вклад в дивергенцию видов и форм внесли 13 признаков (Zyg/Cbl , Iob/Cbl , Vna/Cbl , $D1/Cbl$, $Lbull/Cbl$, $Vbull/Cbl$, Vfi/Cbl , $Vcra/Cbl$,

M^{1-1}/Cbl , Pal/Cbl , Fr/Cbl , $Post/Cbl$, $D2/Cbl$). Из всех перечисленных индексов самым универсальным оказался Vfi/Cbl .

4.2. Сравнение шести видов и форм серых полевок по 49 индексам, не связанным с кондило-базальной длиной черепа

В данном случае наибольший вклад в дифференциацию видов и форм вносят относительные признаки, характеризующие изменчивость резцовых отверстий, межглазничного расстояния, костного нёба, размеров черепа в области слуховых барабанов и относительную изменчивость самих барабанов, размеры нижней челюсти. Подземная полевка лучше дифференцируется по признакам, связанным с пропорциями межглазничного расстояния и слуховых барабанов, а для полевки-экономки характерна сильная вариабельность размеров костного нёба (расстояние между первыми верхними коренными зубами и длина костного нёба), длины и высоты нижней челюсти. Особенности темной полевки связаны с резцовыми отверстиями и размерами черепа в области слуховых барабанов. Восточноевропейская полевка, также как и темная, отличается по пропорциям резцовых отверстий и костного нёба. Для всех видов наибольшая изменчивость присуща индексам, связанным с шириной резцовых отверстий и расстоянием между первыми верхними коренными.

4.3. Особенности морфологии черепа четко выраженных видов серых полевок

Анализ индексов черепа полевок позволил получить следующие видовые характеристики.

M. (T.) subterraneus. По форме черепа сходна с обыкновенными полемками. Череп небольших размеров, короткий с широкими скуловыми дугами и межглазничным пространством. Мозговая часть широкая, уплощенная сверху с короткими округлыми слуховыми барабанами. Нижняя челюсть небольшая, низкая, со слабо развитым сочленовным отростком.

M. (P.) oeconomus – самый крупный из рассматриваемых представителей рода. Череп высокий и вытянутый вдоль продольной оси

(особенно в области мозговой капсулы) с развитым межглазничным гребнем. Слуховые барабаны небольших размеров, не сильно вздутые. Резцовые отверстия сравнительно небольшие, зауженные в аборальной части. Костное нёбо короткое и широкое. Нижняя челюсть массивная, с длинной диастемой. Зубы длинные и узкие. Лицевая часть черепа вытянутая, а скуловые дуги зауженные как в оральной, так и в средней части.

M. agrestis. Череп высокий, особенно в мозговой части, слуховые барабаны длинные, но вздуты не сильно, затылочное отверстие широкое. Нёбная кость относительно короткая. Резцовые отверстия длинные и широкие, занимают большую часть длины верхней диастемы. Нижняя диастема сравнительно длинная.

По ряду признаков (высокая мозговая часть черепа, слабо вздутые слуховые барабаны, короткая нёбная кость, длинная нижняя диастема) череп темной полевки сходен с черепом полевки-экономки, но отличается более крупными, широкими и менее уплощенными с боков слуховыми барабанами, длинными широкими резцовыми отверстиями, широкими носовыми костями.

4.4. Особенности морфологии черепа криптических видов и форм обыкновенной полевки *Microtus arvalis* s. l.

Статистически значимые различия между криптическими видами и формами были получены по семи признакам: Vna , Vfi , Iob , Pal , $Lipar$, $Lpal$, $Lbull$. При этом у *M. levis* значимо ($p < 0,05$) больше, чем у кариоформ обыкновенной полевки, Vna , Vfi , Iob , Pal . Между формами *M. arvalis* s.st. различия по этим признакам оказались незначимыми. Длина межтеменной кости была максимальной у *M. levis* и минимальна у *M. a. arvalis*. По этому признаку для *M. a. arvalis* были получены значимые различия как от *M. a. obscurus* ($p < 0,05$), так и более значительные – от *M. levis* ($p < 0,001$). Нёбная кость у *M. levis* оказалась значимо длиннее, чем у *M. a. arvalis* ($p < 0,05$). Слуховые барабаны были значимо длиннее у *M. a. obscurus* по сравнению с *M. a. arvalis* ($p < 0,05$).

Была произведена оценка краниометрических различий между кариоформами обыкновенной полевки в зоне максимального сближения их ареалов (расстояние между наиболее удаленными местами находок двух форм – 15 км) и на удалении от нее (расстояние между ближайшими местами находок форм более 15 км). Было показано, что в зоне максимального сближения ареалов в дифференциацию кариоформ наибольший вклад вносят признаки, связанные с размерами мозговой части черепа и слуховых барабанов. На удалении от зоны сближения ареалов вклад этих признаков снижается и возрастает значение признаков, связанных с длиной верхнего и нижнего зубного ряда и длиной диастем.

4.5. Сравнение полевков по комплексу краниометрических признаков

4.5.1. Метод главных компонент

Многомерный анализ краниометрической изменчивости изучаемых форм, проведенный методом главных компонент, показал, что основные различия проявляются вдоль первой главной компоненты, которая описывает размерно-возрастную изменчивость видов, и воспроизводит 54,1% общей дисперсии признаков.

4.5.2. Дискриминантный анализ видов и форм по абсолютным краниометрическим признакам

Дискриминантный анализ показал, что три четко выраженных вида на 100% отличаются друг от друга и от *M. arvalis* s.l. В пределах последней группы не удалось провести разделение форм с вероятностью более 88%. Получено отделение *M. levis* от кариоформ «*arvalis*» и «*obscurus*» более значительное (96%), чем форм *M. arvalis* s. str. друг от друга (83%). Результаты канонического анализа приведены на рисунке 1. Приходящаяся на первые две канонические переменные дисперсия составляет 80% и позволяет адекватно оценить своеобразие сравниваемых форм. Наибольший вклад в первую каноническую ось (КО1) вносят признаки: Zyg , $Vcra$, $Hmax$, M^{1-1} , а во вторую каноническую ось (КО2): Iob , $D1$, Lfi , Vfi , $Lpal$. Видно, что подземная, темная и полевка-экономка четко отличаются от криптических

форм – полигоны рассеивания их ординат смещены на графике вправо и влево от криптических форм. В то же время, полигоны *M. arvalis* s.l. накладываются друг на друга, т.е. различия между ними значительно меньше, чем между ними и четко выраженными видами.

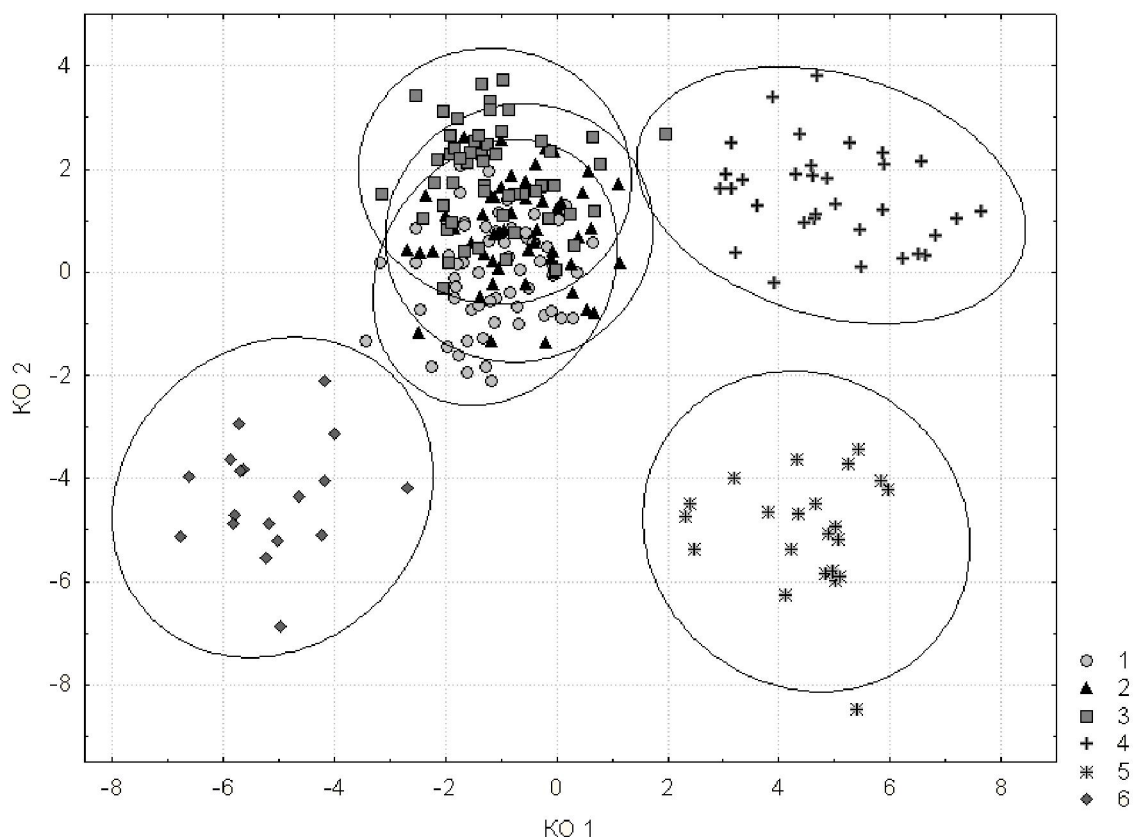


Рис. 1. Канонический анализ шести изученных таксонов серых полевков по 35 абсолютным краниометрическим признакам

1 – *M. a. arvalis*; 2 – *M. a. obscurus*; 3 – *M. levis*; 4 – *M. agrestis*; 5 – *M. (P.) oeconomus*; 6 – *M. (T.) subterraneus*.

Любопытным фактом оказалось то, что сходство между *M. agrestis* и *M. (P.) oeconomus*, обобщенное расстояние Махаланобиса между которыми составило $D^2=25,1$, выражено сильнее, чем между *M. agrestis* и *M. arvalis* s.l. (D^2 от 30,5 до 36,9), относящимися к одному подроду.

4.6. Факторы, влияющие на краниометрическую изменчивость

4.6.1. Влияние пола и возраста

Наши данные показали, что у изученных видов различия между самцами и самками не проявляются ни у одной из возрастных групп.

Многомерный анализ методом главных компонент изученных видов и форм серых полевков по возрасту показал, что наибольший вклад в возрастную изменчивость зверьков вносит первая компонента, которую определяют в основном признаки: Cbl, Hmax, Lm¹⁻³, Lmd. Ряд признаков вносит меньший, но достаточно серьезный вклад: Fac, Br, Lm¹, Lbull, Lfi, Hsra, Hmd1, Hmd2, Lm₁₋₃.

4.6.2. Влияние условий виварного содержания на морфометрические особенности черепа

Обитание зверька в виварии отличается от природных условий, прежде всего обилием ресурсов, что приводит к снижению подвижности и развития навыков поиска пищи и ведет к морфологическим изменениям, связанным с характером пищи. Установлено, что на абсолютные размеры черепа молодых зверьков *M. arvalis* s.str. содержание в виварии почти не оказывает влияния. *M. levis* реагирует на виварные условия гораздо сильнее. У виварных животных значительно увеличивается Zyg, D1, D2, Hsra, Pal, Lmd, Hmd1. Виварные особи *M. levis* оказались крупнее природных, но относительные размеры первого верхнего коренного и нижнего зубного ряда, у этих зверьков уменьшаются. Индексы черепа также наименее подвержены влиянию условий вивария у *M. a. arvalis*, чем у *M. a. obscurus*. У последней различия природных и виварных зверьков оказались высоко значимы по индексам, связанным с изменением длины нижнего зубного ряда, верхней и нижней диастем и максимальной высоты нижней челюсти.

Обращает на себя внимание совпадение ряда признаков у *M. a. obscurus* и *M. levis*. Все они связаны с изменениями относительных размеров нижнего и верхнего зубного рядов, диастем и нижней челюсти. Даже у кариоформы «*arvalis*», которая оказалась наиболее устойчивой к условиям вивария, присутствуют различия по длине верхнего и нижнего зубных рядов. Эти признаки, вероятно, связаны с трофическими адаптациями видов (Воронцов, 1967, 1982; Громов, Поляков, 1977; Окулова, 2000).

4.6.3. Дифференциация видов и форм серых полевков в связи с особенностями их трофических адаптаций

Основным направлением эволюции арвиколин является переход от белкового типа питания через смешанный к исключительно клетчатковому типу питания. Мы сравнили литературные данные по особенностям питания разных видов с полученными нами сравнительными характеристиками группы видов и форм по характеру изменчивости ряда относительных признаков. Используя характеристики черепов «семеноядных» и «зеленоядных» форм, приведенные в литературе (Воронцов, 1967, 1982; Громов, Поляков, 1977; Окулова, 2000), а также рассчитанные ранее различия видов и форм по абсолютным и относительным признакам, мы провели сравнительный анализ индексов, предположительно связанных с питанием полевков (Lna/Cbl ; $D1/Cbl$; Lm^{1-3}/Cbl ; Lm^1/Cbl ; Lm_{1-3}/Cbl ; $D1/Lm^{1-3}$; Lm^1/Lm^{1-3} ; Lm_{1-3}/Lmd ; $D2/Lm_{1-3}$; $D1/Lmd$). По индексам «зеленоядности» над остальными таксонами значимо преобладают *M. a. obscurus* и *M. agrestis*.

Глава 5. Дивергенция серых полевков *Microtus Schrank, 1798* на основе фенетических данных

5.1. Характеристика структуры жевательной поверхности первого нижнего (M_1) и третьего верхнего (M^3) коренных шести видов и форм серых полевков

Сравнение частот фенотипов M_1 у разных видов и форм полевков (за исключением полевки-экономки, у которой данный зуб имеет специфичное строение) показало, что более простые морфотипы (питимисного направления) чаще встречаются у подземной (0,95) и восточноевропейской полевков (0,6), а сложные (арвалисного направления) – у форм обыкновенной (0,6-0,7) и у темной полевки (0,7).

В строении M^3 наблюдается следующее соотношение: более простой морфотип «typica» преобладает у подземной (0,9), темной (0,8) и обыкновенных полевков (0,7-0,8), а у восточноевропейской наблюдается почти равное соотношение морфотипов «typica» и «duplicata» (около 0,5),

тогда как у полевки-экономки преобладают сложные морфотипы «*duplicata*» (0,7) и «*variabilis*» (0,1). Таким образом, по усложнению строения жевательной поверхности M_1 и M^3 шесть форм серых полевок выстраиваются в ряд: 1) более примитивная *M. (T.) subterraneus* по обоим зубам; 2) *M. levis* – простое строение M_1 и среднее – M^3 ; 3) зубы M_1 и M^3 средних и сложных морфотипов характерны *M. arvalis* s.st. и *M. agrestis*; 4) наиболее сложное строение M^3 характеризует *M. (P.) oeconomus*.

5.2. Гомологическая изменчивость второго верхнего коренного (M^2)

M. agrestis характеризуется сложным строением M^2 , на жевательной поверхности которого имеется пятая дополнительная внутренняя петля, тогда как у остальных изученных видов и форм полевок их всего четыре. Считается, что строение M^2 является самым важным признаком для идентификации темной полевки. Однако исключения неоднократно регистрировались в литературе (Rörig, Börner, 1905; Zimmermann, 1956; Reichstein, Reise, 1965; Diensce, 1969).

Была изучена изменчивость второго верхнего коренного зуба у шести таксонов серых полевок (рис. 2). Среди *M. arvalis* s.l., *M. (P.) oeconomus* и *M. (T.) subterraneus* особей с хорошо развитой пятой петлей мало. Только у 3,5% *M. a. obscurus* было отмечено пять замкнутых петель на M^2 (морфотипы H, I, 2), в то время как среди *M. agrestis* их было 73,5%.

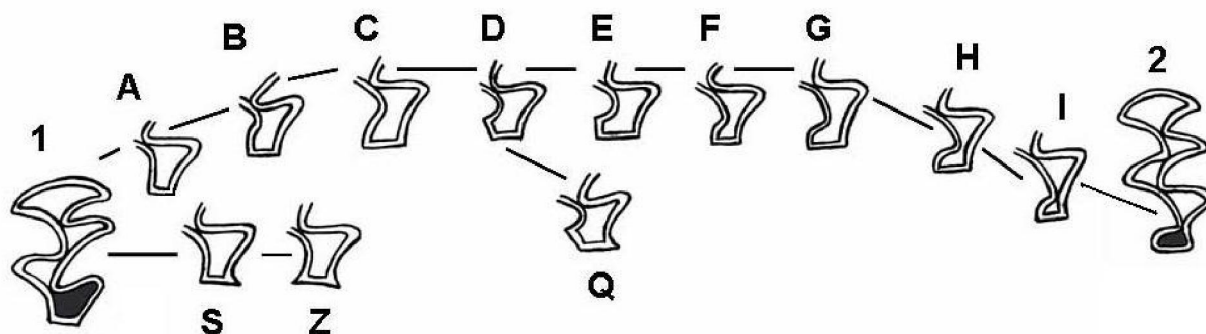


Рис. 2. Гомологическая изменчивость M^2 в ряду *arvalis-agrestis*.

1 – зуб с четырьмя замкнутыми пространствами; 2 - зуб с пятью замкнутыми пространствами; A-Z – зубы с промежуточным строением аборальной петли.

Также 15,2% *M. agrestis* имели хорошо развитую пятую петлю, но полностью не изолированную от четвертой (F, G); 9,1% имели промежуточное строение M^2 (D, E, Q), а у 2,2% петля была выражена очень слабо (B, C). Четыре замкнутых пространства на втором верхнем коренном (1, A) имеют: 100% *M. (P.) oeconomus*; 78% *M. (T.) subterraneus*; 52,6% *M. a. obscurus*; 66,7% *M. levis* и 78,1% *M. a. arvalis*; промежуточное строение (B, C, D, E, S, Z, Q) имеют соответственно 0%; 22%; 43,9%; 28,6%; 21,9%.

5.3. Анализ эпигенетических связей между таксонами

5.3.1. Корреляционный анализ

При сравнении форм разного уровня дивергенции отмечается уменьшение коэффициентов корреляции частот признаков по мере повышения ранга сравниваемых таксонов (табл. 2). В ряде случаев величина коэффициентов корреляции оказалась связанной с особенностями признаков. Так, по признакам швов и отверстий черепа виды и формы оказались скоррелированы слабее, чем по признакам вариаций рисунка жевательной поверхности коренных зубов. Исключение составила подземная полевка, только у нее отмечается снижение коэффициентов корреляции по частотам зубных признаков. Это подтверждает значительную обособленность этого вида по строению коренных зубов (т.е. данный вид в эпигенетическом отношении наиболее удален от остальных рассматриваемых видов и форм). Максимально коррелируют частоты признаков у кариоформ обыкновенной полевки: *M. a. arvalis* и *M. a. obscurus*, значения этих коэффициентов варьируют в узком диапазоне (0,99-0,95).

У криптических видов - *M. levis* и *Microtus arvalis* s. st. корреляция несколько меньше и отмечаются случаи отсутствия отдельных признаков у одного и наличия у другого вида и формы. Судя по корреляциям, темная полевка эпигенетически ближе к криптическим видам, чем полевка-экономка. Наименьшие коэффициенты корреляции с другими формами отмечены для *M. (T.) subterraneus*, их значения по двум группам признаков

Табл. 2. Значение коэффициентов корреляции Пирсона (r) по частотам встречаемости фенотипов швов и отверстий (над диагональю) и вариаций рисунка жевательной поверхности коренных зубов (под диагональю)

	<i>M. a. arvalis</i>	<i>M. a. obscurus</i>	<i>M. levis</i>	<i>M. agrestis</i>	<i>M. (P.) oeconomus</i>	<i>M. (T.) subterraneus</i>
<i>M. a. arvalis</i>	-	0,95	0,93	0,85	0,78	0,75
<i>M. a. obscurus</i>	0,99	-	0,89	0,85	0,77	0,73
<i>M. levis</i>	0,98	0,98	-	0,85	0,73	0,74
<i>M. agrestis</i>	0,93	0,93	0,91	-	0,73	0,67
<i>M. (P.) oeconomus</i>	0,84	0,83	0,85	0,79	-	0,73
<i>M. (T.) subterraneus</i>	0,67	0,67	0,66	0,63	0,59	-

колеблются в пределах от 0,75 до 0,59. При этом максимальные значения коэффициентов корреляции (0,75-0,66) отмечаются при сравнении этого вида с *Microtus arvalis* s. l., а минимальные значения при сравнении *M. (T.) subterraneus* с *M. agrestis* (0,67-0,63) и *M. (P.) oeconomus* (0,73-0,59).

5.3.2. Фенетический анализ

Анализ фенетических дистанций (MMD) был проведен на основе исследования 322 фенотипов. Значения MMD оказались связаны с рангом сравниваемых таксонов, причем фенетические дистанции закономерно возрастают по мере роста дивергенции таксонов (табл. 3). Наименьшие значения MMD были получены при сравнении кариоформ обыкновенной полевки, а наибольшие – при сравнении четко различающихся видов: *M. (T.) subterraneus*; *M. agrestis*; *M. (P.) oeconomus*.

По фенотипам жевательной поверхности коренных зубов наиболее сходными оказались криптические виды обыкновенной полевки, причем значения фенетических дистанций были очень низкие (на уровне подвидов), тогда как у *M. agrestis* и *M. (P.) oeconomus* эти дистанции оказались близки к тем, которые были получены при анализе швов и отверстий черепа, а у *M. (T.) subterraneus* произошло резкое возрастание значений фенетических дистанций, которые достигают уровня, свойственного представителям

Табл. 3. Фенетические дистанции (MMD) по 54 зубным признакам (над диагональю) и по 63 признакам швов и отверстий черепа (под диагональю)

	<i>M. a. arvalis</i>	<i>M. a. obscurus</i>	<i>M. levis</i>	<i>M. agrestis</i>	<i>M. (P.) oeconomus</i>	<i>M. (T.) subterraneus</i>
<i>M. a. arvalis</i>	-	0,012	0,033	0,158	0,348	0,807
<i>M. a. obscurus</i>	0,067	-	0,045	0,150	0,372	0,807
<i>M. levis</i>	0,090	0,146	-	0,209	0,332	0,806
<i>M. agrestis</i>	0,199	0,203	0,218	-	0,487	0,885
<i>M. (P.) oeconomus</i>	0,309	0,298	0,318	0,332	-	0,923
<i>M. (T.) subterraneus</i>	0,317	0,346	0,340	0,422	0,353	-

разных подсемейств. Это свидетельствует о том, что *M. (T.) subterraneus* – вид, наиболее отличающийся от остальных форм по строению зубов.

Следует отметить различие между картинами связи форм, полученными по двум типам фенев. По зубам *M. (T.) subterraneus* наиболее удалена от *M. (P.) oeconomus*, по фенам швов и отверстий черепа – от *M. agrestis*. По зубам, швам и отверстиям черепа *M. levis* ближе к *M. a. arvalis*, чем к *M. a. obscurus*. По обеим группам признаков *M. agrestis* ближе к *M. arvalis* s.l., чем к *M. (P.) oeconomus*.

Глава 6. Молекулярно-генетические особенности криптических видов обыкновенной полевки *Microtus arvalis* s.l.

По результатам секвенирования фрагмента митохондриального гена цитохрома b были подобраны специфические праймеры для ПЦР-типирования всех трех криптических форм:

cbMA842F (5'-GGGGTTTACTATGGCTCA-3'),

cbMO604F (5'-CCTTCCACTTTATTCTACCT-3'),

cbMR469F (5'-CAGTCAAAGACTTCTTAGGG-3').

Для ПЦР-типирования использовали смесь всех трех праймеров с обратным праймером H15915-SP. При этом у особей формы «*arvalis*» амплифицируется фрагмент митохондриального гена цитохрома b размером 842 пар нуклеотидов, у особей формы «*obscurus*» - 604 п. н., а у *M. levis* – 469 п. н.

Для сравнения были использованы три нуклеотидных последовательности из Генбанка (Jaarola et al., 2004).

Основным результатом данной работы стало то, что на молекулярно-генетическом уровне могут быть дифференцированы все криптические формы обыкновенной полевки, что соответствует литературным данным (Потапов и др., 2007а, б; Lavrenchenko et al., 2008; Лавренченко и др., 2009).

Глава 7. Комплексная оценка изменчивости видов

Данные по различным типам изменчивости серых полевок были проанализированы в комплексе с использованием краниометрического, фенетического и молекулярно-генетического подходов. Наиболее удаленной от остальных сравниваемых видов и форм оказалась подземная полевка. По краниометрическим и фенетическим признакам в ряде случаев отмечено сходство между темной полевкой и полевкой-экономкой. Мы предполагаем, что это сходство носит конвергентный характер. Оценка таксономических отношений криптических видов подтвердила существующую дифференциацию на два вида: *M. levis* и *M. arvalis*, а степень сходства кариоформ соответствует скорее подвидовому уровню. Показано, что при общем сходстве результатов анализа по метрическим и фенетическим признакам, иногда наблюдаются и существенные различия. Отметим, что фенетические признаки по нашим наблюдениям, вслед за И.А. Васильевой (2006) более четко отражают исторические связи форм, чем краниометрические, более подверженные влиянию экологических условий.

Выводы

1. Уточнена и охарактеризована на протяжении 140 км граница кариоформ «*arvalis*» и «*obscurus*» вида *Microtus arvalis* s. str. Установлено, что ширина пограничной полосы местами составляет 1-3 км, в среднем 15 км.
2. Сравнение шести таксонов серых полевок по всем краниологическим признакам показало наибольшее сходство внутри группы *M. arvalis* s.l. Наиболее удаленной от всех оказалась подземная полевка, а полевка-экономка и темная полевка занимают промежуточное положение.

3. Сравнение показало, что *M. agrestis* помимо сходства с *M. arvalis* s.l. имеет большое, по всей видимости, конвергентное, сходство с *M. (P.) oesopotus* по ряду краниологических показателей.
4. Содержание в виварии и возраст зверьков оказывают влияние на пропорции черепа полевок. Роль виварного содержания прослеживается главным образом по признакам, характеризующим размеры верхнего и нижнего зубных рядов и длину диастем. Влияние возраста сказывается на базовых характеристиках размеров черепа (рост черепа в длину).
5. Сравнение пропорций черепа кариоформ *Microtus arvalis* s. str. в зоне максимального сближения ареалов и на удалении от нее показало, что величина вклада разных признаков в дифференциацию форм изменяется при движении от границы ареала к его центру.
6. Молекулярно-генетический анализ подтвердил представления о диагностических различиях трех форм обыкновенной полевки по митохондриальным (Cytb) и ядерным (p53) маркерам.
7. Комплексный анализ сходства форм по краниометрическим, фенетическим и молекулярно-генетическим показателям позволил оценить различия и заключить о сходном, в целом, масштабе изменений при переходе от внутривидовых форм к криптическим видам, от них – к близким, затем – к отдаленным и наиболее далеким видам.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Журналы из перечня изданий, рекомендованных ВАК:

1. Баскевич М.И., Потапов С.Г., Окулова Н.М., Сапельников С.Ф., Власов А.А., Опарин М.Л., **Миронова Т.А.**, Авилова Е.А. К распространению и изменчивости видов-двойников *Microtus arvalis* s.l. (Rodentia, Arvicolinae) в Центральном Черноземье по хромосомным и молекулярно-генетическим данным // Зоологический журнал. 2009. Т. 88. В. 4. С. 473-487.

2. Окулова Н.М., Баскевич М.И., Сапельников С.Ф., **Миронова Т.А.**, Майорова А.Д., Опарин М.Л., Варшавский А.А., Калинкина Е.В. Новые данные о распространении видов и внутривидовых форм обыкновенной полёвки *Microtus arvalis* sensu lato (Rodentia, Arvicolinae) в Центральном Черноземье // Бюлл. МОИП. Отд. биол. 2010. Т. 115. В. 2. С. 3-8.

Другие издания:

3. Баскевич М.И., Потапов С.Г., Окулова Н.М., Власов А.А., Соколенко О.В., Опарин М.Л., Малыгин В.М., Хляп Л.А., Черепанова Е.В., **Миронова Т.А.**, Авилова Е.А. Хромосомная и молекулярно-генетическая маркировка новых находок *Microtus arvalis* s.l. в Восточной Европе // Матер. междунар. совещ. «Териофауна России и сопредельных территорий». М., 2007. С. 41.
4. **Миронова Т.А.** Сравнительная краниометрическая характеристика видов-двойников *Microtus arvalis* s.l. из Саратовской области // Актуальные проблемы экологии и эволюции в исследованиях молодых ученых. Матер. конф. молодых сотрудников и аспирантов ИПЭЭ им. А.Н. Северцова. М., 2008 г. С. 243-250.
5. Окулова Н.М., Сапельников С.Ф., Баскевич М.И., Власов О.П., Майорова А.Д., Егоров С.В., **Миронова Т.А.**, Сарычев В.П. Сравнительная экология трёх форм обыкновенных полёвок *Microtus arvalis* sensu lato в Центральном Черноземье // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия Естественные науки. В. 6. № 3 (43). Белгород, 2008. С. 128-139.
6. **Миронова Т.А.**, Сапельников С.Ф. Сравнительная изменчивость краниологических признаков тёмной (*Microtus agrestis*) и форм обыкновенной полёвки (*Microtus arvalis* s.l.) // Чарльз Дарвин и современная наука. Сборник тезисов междунар. научн. конф. «Чарльз Дарвин и современная биология» и «Теория эволюции: между наукой и идеологией. Историко-научные и философско-методологические проблемы эволюционизма». СПб., 2009. С. 65-67.

7. **Миронова Т.А.** Сравнительная изменчивость неметрических признаков черепа видов-двойников обыкновенной полёвки // Биология – наука XXI века: 13-я Пущинская междунар. школа-конференция молодых ученых. Сборник тезисов. Пущино, 2009. С. 237.
8. **Миронова Т.А.** Влияние содержания в виварии на пропорции черепа грызунов (на примере полёвок рода *Microtus*) // Эволюционная и популяционная экология. Назад в будущее. Всероссийская конференция молодых ученых, посвященная 90-летию со дня рождения академика С.С. Шварца. Екатеринбург, 2009. С. 123-128.
9. **Миронова Т.А.,** Окулова Н.М., Баскевич М.И. Изменчивость коренных зубов видов-двойников обыкновенной полёвки (*Microtus arvalis* s.l.) из Центрального Черноземья // Экология, эволюция и систематика животных. Всероссийская научно-практич. конф. с междунар. участием. Рязань, 2009. С. 319-320.
10. Баскевич М.И., Потапов С.Г., Окулова Н.М., **Миронова Т.А.,** Сапельников С.Ф., Власов А.А., Егоров С.В. Генетические подходы в изучении фауны и экологии грызунов (Rodentia, Mammalia) Курской области // Экология, эволюция и систематика животных. Всероссийская научно-практич. конф. с междунар. участием. Рязань, 2009. С. 176-177.
11. Баскевич М.И., Окулова Н.М., Сапельников С.Ф., **Миронова Т.А.,** Авилова Е.А. Закономерности формирования хромосомной изменчивости у обыкновенных полёвок (*Microtus arvalis* s.l.) в Восточной Европе // Съезд генетиков и селекционеров, посвященный 200-летию со дня рождения Чарльза Дарвина. V съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров. М., 2009. С. 227.
12. **Миронова Т.А.,** Окулова Н.М., Баскевич М.И., Сапельников С.Ф. Фенетический анализ внутривидовой дифференциации видов-двойников обыкновенной полёвки (*Microtus arvalis*) // Матер. конф. «Целостность вида и гибридизация». М., 2010. С. 59.

13. Баскевич М.И., Окулова Н.М., Потапов С.Г., **Миронова Т.А.**, Сапельников С.Ф., Егоров С.В., Власов А.А. К вопросу о гибридизации 46-хромосомных форм в *Microtus arvalis* s.l. Центральном Черноземье // Матер. конф. «Целостность вида и гибридизация». М., 2010. С. 12.
14. **Миронова Т.А.**, Баскевич М.И., Окулова Н.М., Сапельников С.Ф. Анализ изменчивости морфологических структур черепа подземной полевки (*Microtus (Terricola) subterraneus* Pallas, 1778) в восточной части ареала // Матер. XI междунар. экол. конф. «Видовые популяции и сообщества в антропогенно трансформированных ландшафтах: состояние и методы диагностики. Белгород, 2010. С. 114-115.
15. **Миронова Т.А.**, Сапельников С.Ф. Сравнительная изменчивость краниологических признаков тёмной (*Microtus agrestis*) и форм обыкновенной полевки (*Microtus arvalis* s.l.) // Чарльз Дарвин и современная биология. Труды Междунар. научн. конф. «Чарльз Дарвин и современная биология». СПб.: Нестор-История, 2010. С. 162-169.
16. **Миронова Т.А.** Сравнительный анализ морфотипической изменчивости М² видов-двойников обыкновенной полевки (*Microtus arvalis* s. l.) // Экология от южных гор до северных морей. Матер. конф. молодых ученых. Екатеринбург, 2010. С. 115-119.
17. **Миронова Т.А.** Оценка флуктуирующей асимметрии морфотипов коренных зубов видов-двойников обыкновенной полевки (*Microtus arvalis* s.l.) // Актуальные проблемы экологии и эволюции в исследованиях молодых ученых. Матер. конф. молодых сотрудников и аспирантов ИПЭЭ им. А.Н. Северцова. М., 2010. С. 213-218.
18. **Миронова Т.А.** Географическая изменчивость коренных зубов тёмной полевки (*Microtus agrestis*) // Проблемы экологии: чтения памяти проф. М.М. Кожова: тез. докл. Междунар. научн. конф. и междунар. школы для молодых ученых. Иркутск, 2010. С. 252.