

На правах рукописи

ФРОЛОВ Артем Андреевич

**ЭВОЛЮЦИЯ КЛИМАТИЧЕСКОЙ НИШИ И ДИВЕРГЕНЦИЯ
ПОПУЛЯЦИЙ *PARNASSIUS MNEMOSYNE* L., 1758
(LEPIDOPTERA, PAPILIONIDAE)**

03.02.08 – экология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Сыктывкар – 2016

Работа выполнена в лаборатории молекулярной экологии и биогеографии Института биогеографии и генетических ресурсов Федерального исследовательского центра комплексного изучения Арктики РАН.

Научный руководитель: **Болотов Иван Николаевич**
доктор биологических наук, директор Института биогеографии и генетических ресурсов Федерального исследовательского центра комплексного изучения Арктики РАН

Официальные оппоненты: **Горбач Вячеслав Васильевич**
доктор биологических наук, доцент кафедры зоологии и экологии ФГБОУ ВО Петрозаводского государственного университета

Ведущая организация

Защита состоится _____ в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 004.007.01 в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Институте биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН по адресу: 167982, г. Сыктывкар, ГСП–2, ул. Коммунистическая, 28.

Е-mail: dissovet@ib.komisc.ru

Сайт института: www.ib.komisc.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Коми научного центра Уральского отделения РАН по адресу: 167982, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 24.

Автореферат разослан «__» _____ 2016 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор биологических наук

Алевтина Григорьевна Кудяшева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Охрана биоразнообразия требует сохранения объектов и процессов на масштабах от отдельных генов до целых экосистем. Озабоченность широкой общественности современным кризисом биоразнообразия в течение последних 25 лет стала причиной впечатляющего развития природоохранной биологии как отдельной самостоятельной дисциплины.

Черный аполлон, или мнемозина *Parnassius mnemosyne* Linnaeus 1758 – один из первых видов среди чешуекрылых, который был признан нуждающимся в специальных мерах охраны (Goldmann, 1911). Начиная с 18 века во многих частях разорванного ареала вида *P. mnemosyne* происходило вымирание отдельных популяций, а также общее снижение численности (Горбач, Кабанен, 2009; Татаринов, Долгин, 1999; Aagaard, Hanssen, 1989; Konvicka и др., 2006; Kuussaari и др., 2015), связанное с исчезновением кормовых растений и уменьшением площадей открытых биотопов, происходившим из-за изменения климата и концентрации сельскохозяйственного производства (Väisänen, Somerha, 1985).

Для определения возможностей восстановления исчезающих популяций, а также для разработки путей их защиты, необходимы теоретические представления о характере экологической ниши и адаптационном потенциале мнемозины.

Термин «экологическая ниша» долгое время является центральной концепцией в экологии (Elton, 1927; Grinnell, 1917; Hutchinson, 1957). Несмотря на вариации в точном определении, ниша вида в общем случае является набором биотических и абиотических факторов, позволяющих виду поддерживать жизнеспособную популяцию (Chase, Leibold, 2003; Holt, 2009; Hutchinson, 1957). Экологические ниши видов могут быть формализованы разными способами. Чаще всего ниша определяется через способы, позволяющие редуцировать многомерность факторов, например, ординация сообществ или моделирование ареала вида с помощью полученных значений параметров среды (Phillips и др., 2006; Thuiller и др., 2009). Важные, но реже применяемые методы используют прямые измерения предположительно связанных морфологических и экофизиологических параметров (Dawideit и др., 2009). Моделирование ареала напрямую соотносит широкий диапазон параметров ниши к настоящему или потенциальному ареалу вида (Soberón, Nakamura, 2009). В настоящее время различные методы моделирования широко применяются для понимания пространственных закономерностей разнообразия видов (Svenning и др., 2010; Wiens и др., 2006), а также для реконструкции ареалов видов в прошлом (Hugall и др., 2002; Nogués-Bravo и др., 2008) или будущем (Engler и др., 2011; Pearman и др., 2010).

Реже исследуется динамика ниши во времени. Однако, данная характеристика позволяет определить и прогнозировать адаптивную стратегию вида в быстро меняющихся условиях среды (Hoffmann, Sgro, 2011; Ozgul и др., 2010; Visser, 2008), что наиболее актуально в периоды глобального изменения климата, или при вселении вида в новый ареал (инвазии) (Broennimann и др., 2007; Gallagher и др., 2010).

В последнее десятилетие были разработаны разнообразные модели эволюции качественных (дискретных) и количественных (континуальных) признаков, основанные на сравнительных методах филогенетики (Beaulieu и др., 2012; Butler, King, 2004; Harmon и др., 2010; O'Meara и др., 2006; Revell и др., 2012). Данные модели позволяют определить характер, скорость и направление эволюции ниши. Изучение динамики ниши в родственных группах (в том числе между популяциями) дает возможность как оценки степени дифференциации между ними, так и влияния изменения условий на внутривидовое разнообразие (Crisp и др., 2009; Kozak, Wiens, 2010).

Цели и задачи исследования

Основная цель данной работы состоит в оценке эволюционной динамики климатической ниши в разных частях ареала *P. mnemosyne* со времени среднего плейстоцена.

Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи:

- 1) Сбор тканей особей *P. mnemosyne* из разных частей ареала и выделение их ДНК; проведение ПЦР и секвенирование фрагмента гена субъединицы 1 цитохром *c*-оксидазы (*COI*).
- 2) Реконструкция филогении *P. mnemosyne* на основе полученных нуклеотидных последовательностей.
- 3) Измерение параметров климатической ниши для особей, использованных для получения филогении на основе значений биоклиматических переменных BIOCLIM.
- 4) Расчёт параметров климатических ниш для внутренних узлов полученного филогенетического дерева и определение характера их изменений во времени; реконструкция предковой климатической ниши.
- 5) Моделирование климатической ниши и зоны подходящих местообитаний с помощью метода максимальной энтропии на основе данных о встречаемости особей *P. mnemosyne* из музейных и литературных источников и экспедиций; определение факторов, оказывающих наибольшее влияние на нишу.

Научная новизна

В работе проведена филогенетическая реконструкция эволюционной истории *P. mnemosyne* с помощью наиболее полной выборки образцов последовательностей гена *COI*, полученных из бабочек со всех частей ареала (160 сиквенсов из 127 точек ареала). Впервые осуществлена масштабная датировка событий эволюционной истории мнемозины по молекулярным и палеоклиматическим данным, изучены связи эволюции бабочек и климатических параметров среды, в которой они обитают, определен возможный ареал в Эемском межледниковье (128 000 – 117 000 лет назад) и позднем дриасе (10 730 – 9 700 лет назад), вычислены частоты эволюции и оптимальные значения факторов. Проведено моделирование современного ареала мнемозины (границы фундаментальной климатической ниши) с использованием самых полных данных о распространении вида (3130 точек наблюдений), а также выполнено прогнозирование возможных изменений ареала в середине и второй половине XXI века. Определена совокупность климатических параметров, оказывающая

наибольшее влияние на границы реализованной и фундаментальной ниши у мнемозины.

Теоретическое и практическое значение

Работа представляет исследование экологических и генетических аспектов изменчивости бабочки черной аполлон на территории, охватывающей весь ареал вида. Результаты исследований могут служить основой для разработки природоохранных мероприятий и стратегии сохранения вида в Архангельской области и других частях ареала.

Проведенные исследования динамики климатической ниши в эволюции *P. mnemosyne* имеют высокое значение с точки зрения эволюционной биологии и экологии. Полученные результаты дополняют данные об исключительном значении очагов биоразнообразия в эволюции живых организмов, позволяют оценить уровень адаптационного потенциала вида и границы территорий, пригодных для его обитания. Предложенный метод восстановления предкового ареала таксона по рассчитанным для него биоклиматическим параметрам реализован автором в расширении `rsline` для языка программирования R.

Кроме этого, исследования могут послужить базой для пересмотра внутривидовой систематики изучаемой группы.

Положения, выносимые на защиту:

- 1) Популяции мнемозины имеют четкую филогеографическую структуру, обусловленную процессами расселения в четвертичном периоде. Определенный по молекулярным и палеоклиматическим данным возраст вида (около 366 тыс. лет) намного меньше, чем предложенные ранее оценки.
- 2) На территории России митохондриальный генофонд мнемозины представлен тремя дивергентными группами, заселившими современный ареал в течение голоцена.
- 3) Климатическая ниша мнемозины пластична, она значительно изменялась в течение четвертичного периода и сильно зависит от предпочтений кормовых растений гусениц – хохлаток (*Corydalis* DC).
- 4) Дивергенция, вызванная длительной изоляцией, привела к значительной дифференциации климатических ниш двух крупных митохондриальных кластеров мнемозины: западно-средиземноморского и европейско-азиатского.

Апробация работы

Основные положения и результаты диссертационной работы обсуждались и докладывались:

- на II Всероссийской конференции с международным участием «Проблемы изучения и охраны животного мира на Севере» в Институте биологии Коми НЦ УрО РАН (Сыктывкар, 2013);
- на VIII Международной Конференции Зоологов «Современные проблемы охраны и рационального использования животного мира» в Институте Зоологии Академии Наук Молдовы (Кишинев, 2013);
- на 7й Международной Конференции по Биологии Бабочек (7th International Conference on the Biology of Butterflies) в Университете Турку, Финляндия (Турку, 2014).

Личный вклад соискателя. Автор принимал активное участие на всех этапах подготовки диссертационной работы. Лично проводил анализ литературы, планировал исследования, принимал участие в экспедициях в районы обитания мнемозины. В лабораторных условиях выполнял выделение ДНК из образцов тканей бабочек, осуществлял амплификацию и подготовку для секвенирования участков гена *COI*. Лично автором выполнена статистическая обработка данных, осуществлена интерпретация полученных результатов. Доля личного участия в публикациях, выполненных в соавторстве, пропорциональна числу соавторов.

Публикации

По теме диссертации опубликованы 5 печатных работ, из них 2 статьи в рецензируемых журналах перечня ВАК РФ.

Структура диссертации отражает цели и задачи исследования. Диссертация состоит из введения, пяти глав, выводов, списка литературы и приложения. Основной текст изложен на 151 странице, включая 7 таблиц и 31 рисунок. Список литературы содержит 202 работы, из них 167 на иностранных языках.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Общие сведения о *Parnassius mnemosyne*

В главе собраны сведения о систематике и распространении бабочек рода *Parnassius* и вида *P. mnemosyne* (Захаров, 2001; Gratton, 2006; Gratton и др., 2008; Michel, Rebourg, 2008; Nazari и др., 2007; Omoto и др., 2004; Weiss, 1999); деталях морфологии вида (Некрутенко, 1990; Полумордвинов, Шибяев, 2007; Vlasanek, Konvička, 2009); его численности, структуре популяций и миграционных способностях (Горбач, Кабанен, 2009; Коршунов, 2002; Aagaard, Hanssen, 1989; Bolotov и др., 2013; Hansen, 2006; Keskula, Luig, 1997; Konvička, Kuras, 1999; Kuussaari и др., 2015; Liivamägi и др., 2013; Megléczi и др., 1999; Megléczi и др., 1998; Parmesan и др., 1999; Sarv, Őunap, 2005; Väisänen, Somerma, 1985; Välimäki, Itämies, 2003; Weiss, 1999), генофонде (Descimon, Geiger, 1988; Gratton и др., 2008; Napolitano, Descimon, 1994); экологических характеристиках и предпочитаемых местообитаниях (Татаринов, Долгин, 1999; Коршунов, 2002; Bergström, 2005; Bolotov и др., 2013; Franzen, Imby, 2012; Freina de, 1994; Konvička, Kuras, 1999; Kuusemets и др., 2005; Meier и др., 2005; Weiss, 1999).

Глава 2. Материалы и методы исследований

2.1. Материалы

Исследования проводились в 2012-2016 гг. на основе материала УНУ «Российский музей центров биоразнообразия» (РМЦБР) ФИЦКИА РАН; часть расшифрованного генетического материала получена из открытой базы данных Genbank Национального центра биотехнологической информации (*National Center for Biotechnology Information*, <http://ncbi.nlm.nih.gov>), США. Дополнительная информация о наблюдениях и сборах *P. mnemosyne* получена из литературных

данных и из открытой базы данных GBIF (*Global Biodiversity Information Facility*, Информационный фонд глобального биоразнообразия, <http://gbif.org>).

Данные 133 образцов мнемозины из разных частей ареала, хранящихся в РМЦБР, были использованы для картирования ареала и анализа климатической ниши, из них 53 были отобраны для выделения ДНК и последующего секвенирования.

После объединения данных, филогенетический анализ был проведен на выборке в 160 последовательностей из 127 уникальных географических точек. Для моделирования климатической ниши к имеющимся данным были добавлены 139 точек из литературы и 2832 точки наблюдений после 1950 года из базы GBIF, что составило в совокупности 3130 точек. Кроме бабочек *P. mnemosyne*, для генетического анализа и исследования структур гениталий были использованы несколько особей близкородственных видов *P. ariadne* и *P. stubbendorffii* из коллекции РМЦБР.

2.2. Методы

Геномная ДНК была выделена из части ноги или брюшка каждой бабочки, хранившейся в 96% этаноле или в сухом виде. Выделение и очистку ДНК осуществляли с помощью фенола и хлороформа (Sambrook, Russell, 2001), с незначительными модификациями методики.

Аmplification ДНК проводилась в ходе полимеразной цепной реакции в стандартном объеме реакции 25 мкл. Два перекрывающихся сегмента гена *COI* были амплифицированы отдельно в ходе ПЦР с помощью стандартных пар праймеров для беспозвоночных: C1-J-1718F/C1-N-2329R и C1-J-2183F/UEA8R (Lunt, Zhang, 1996; Simon и др., 1994). Объединённый амплифицированный фрагмент в итоге составил 1016 п.н.

Следуя указаниям из некоторых источников (Jiang и др., 2014; Wiens, 2006), для части филогенетических реконструкций набор последовательностей гена *COI* был дополнен 13 частичными последовательностями генов *16S* рРНК и *ND1*, использованными в исследовании Мишеля и Ребура (Michel, Rebourg, 2008).

Для анализа генетической изменчивости использованы программы MEGA6.06 (Tamura и др., 2013) и DnaSP 5.10 (Librado, Rozas, 2009).

Филогенетическая реконструкция проводилась по методу максимального правдоподобия (Felsenstein, 1981) с помощью IQ-TREE 1.0.1 (Minh и др., 2013) и байесовского вывода (Yang, Rannala, 1997) с помощью BEAST 2 (Bouckaert и др., 2014). Калибрационная точка дивергенции между центральноевропейскими и остальными популяциями *P. mnemosyne* (0.065 ± 0.004 млн. лет назад), частота нуклеотидных замен (0.096 замен/млн. лет) и модель молекулярных часов (*strict clock*) были установлены согласно (Gratton и др., 2008).

Для работы с климатической нишей были получены данные 19 биоклиматических переменных из глобальной базы климатических данных WorldClim (Hijmans и др., 2005) с разрешением 2.5 минут дуги для современных условий, а также последнего ледникового максимума (генеральная климатическая модель CCSM) и последнего межледниковья (~120 000 – 140 000 лет назад, Otto-Bliesner, 2006).

Часть филогенетических вычислений и анализ параметров климатической ниши для *P. mnemosyne* проводились с помощью языка программирования для статистической обработки данных R (R Core Team, 2014) и пакетов splits (Fujisawa, Barraclough, 2013), ade4 (Dray, Dufour, 2007), phylotools (Revell, 2012), geiger (Harmon и др., 2008), OUwie (Beaulieu и др., 2012), DISMO (Hijmans и др., 2014). Расчет предковой ниши проводили на 100 филогенетических деревьях, выбранных случайно из результатов реконструкции по методу байесовского вывода. Возможный анцестральный ареал определялся как область перекрытия полученных значений выбранных климатических переменных для предковых узлов. Функции для реализации данного метода обобщены автором в пакете recline (<http://github.com/dissipative/recline>).

Моделирование ниши и определение потенциального ареала проводилось с помощью метода максимальной энтропии (Phillips и др., 2004), реализованного в программе MAXENT 3.3.3k (Phillips и др., 2006). Статистический анализ результатов моделирования проводился в ENMTools (Warren и др., 2010). Для прогнозирования изменения ареала *P. mnemosyne* в ближайшем будущем, использовались сценарии изменения климата при изменении содержания парниковых газов в атмосфере RCP2.6 и RCP8.5 (IPCC) (Moss и др., 2008; Weyant и др., 2000) для 2050 (средние значения для 2041-2060) и 2070 (среднее для 2061-2080) годов.

Глава 3. Молекулярный анализ и криптическое разнообразие

3.1. Изменчивость мтДНК

Изменчивость гена *COI* в разных популяциях *P. mnemosyne* говорит о нейтральном характере большинства мутаций и замен, накопленных в ходе эволюции в изученных последовательностях. Это подтверждается значением теста Таджимы (Tajima, 1989) (значение $D = -1.7561$, $0.10 > P > 0.05$ не отвергает гипотезу о селективной нейтральности), низким уровнем смысловых полиморфизмов (12.12%), и нахождением большинства мутаций в третьей (вырожденной) позиции кодона (81.06%).

В 160 сиквенсах *P. mnemosyne* было обнаружено 45 уникальных гаплотипов, отличающихся 132 полиморфными сайтами (11.14%), среднее количество отличий составило 12.01 на последовательность, нуклеотидное разнообразие $\pi = 0.01014$. Индекс разнообразия гаплотипов составил $Hd = 0.798 \pm 0.03$ с дисперсией 0.00093.

Уровень внутривидовых дистанций у мнемозины относительно высок: до 5.2% между отдельными географически удаленными популяциями (последовательности из Франции и Ирана) и до 2.1% между близкорасположенными (некоторые турецкие последовательности).

3.2. Результаты филогенетического анализа

Подтверждены ранее полученные данные о том, что генофонд мнемозины составлен тремя митохондриальными кладами, дивергировавшими до последнего оледенения. Выделенные клады ME и SE симпатричны, а SE и WM разделены на

большей части ареала. Внутри данных клад нами выделено 16 географически связанных групп последовательностей (рисунок 1).

3.3. Анализ молекулярных часов и обсуждение филогении

Результат молекулярной датировки времени основания разных групп мнемозины представлен в таблице 1.

Таблица 1. Байесовские датировки времени существования последних общих предков главных кластеров *P. mnemosyne*, выделенных в ходе анализов филогении по митохондриальным генам *COI*, *16S* рРНК и *ND1*.

Клада		Время жизни последнего общего предка, тыс. лет назад			Клада		Время жизни последнего общего предка, тыс. лет назад			
		95% CI		"лучшее дерево"			95% CI		"лучшее дерево"	
		мин.	макс.				мин.	макс.		
СЕ	Все	75.3	172.9	124.1	ME	Все	98.1	254.5	176.3	
	A	2.7	27.8	15.25		WM	Все	34.8	111.4	73.1
	B	9	31.3	20.15			M	0.5	24.7	12.6
	C	1.3	20	10.65			N	0	7.3	3.65
	D	24.4	51.1	37.75			O	17	68.8	42.9
	E	1.9	12.7	7.3			P	2.3	25.3	13.8
	F	9.1	41.3	25.2						
	H	6.9	42.8	24.85						
	I	25.3	40.9	33.1						
	J	25.3	105.7	65.5						
	K	31	106.7	68.85						
				Все			227.8	526	376.9	

3.3.1. Клада WM

Современное расселение кластера ограничено на северо-западе ареала Альпийским хребтом, периферийные области к югу и западу от которого хорошо известны как возможные рефугиумы во время ледниковых эпох плейстоцена (Rowe и др., 2004; Schmitt, 2007; Schmitt, Varga, 2012; Todisco, Gratton, 2010). Данная группа была отрезана от других вследствие одного из позднеплейстоценовых оледенений. По ранее сделанным предположениям (Gratton, 2006), это могло случиться во время рисского оледенения (230—187 тысяч лет назад), однако новые данные говорят о большей вероятности более поздних событий, во времена последней ледниковой эпохи. При этом, фрагментация подгрупп клады происходила как следствие климатических осцилляций в последние 50 тыс. лет. Скорее всего, расселение бабочек в это время шло с Апеннинского полуострова на юг к Сицилии, где была основана подгруппа M и одновременно на север, где естественным барьером послужили Альпы, а далее на запад, в сторону Франции и Пиренеев.

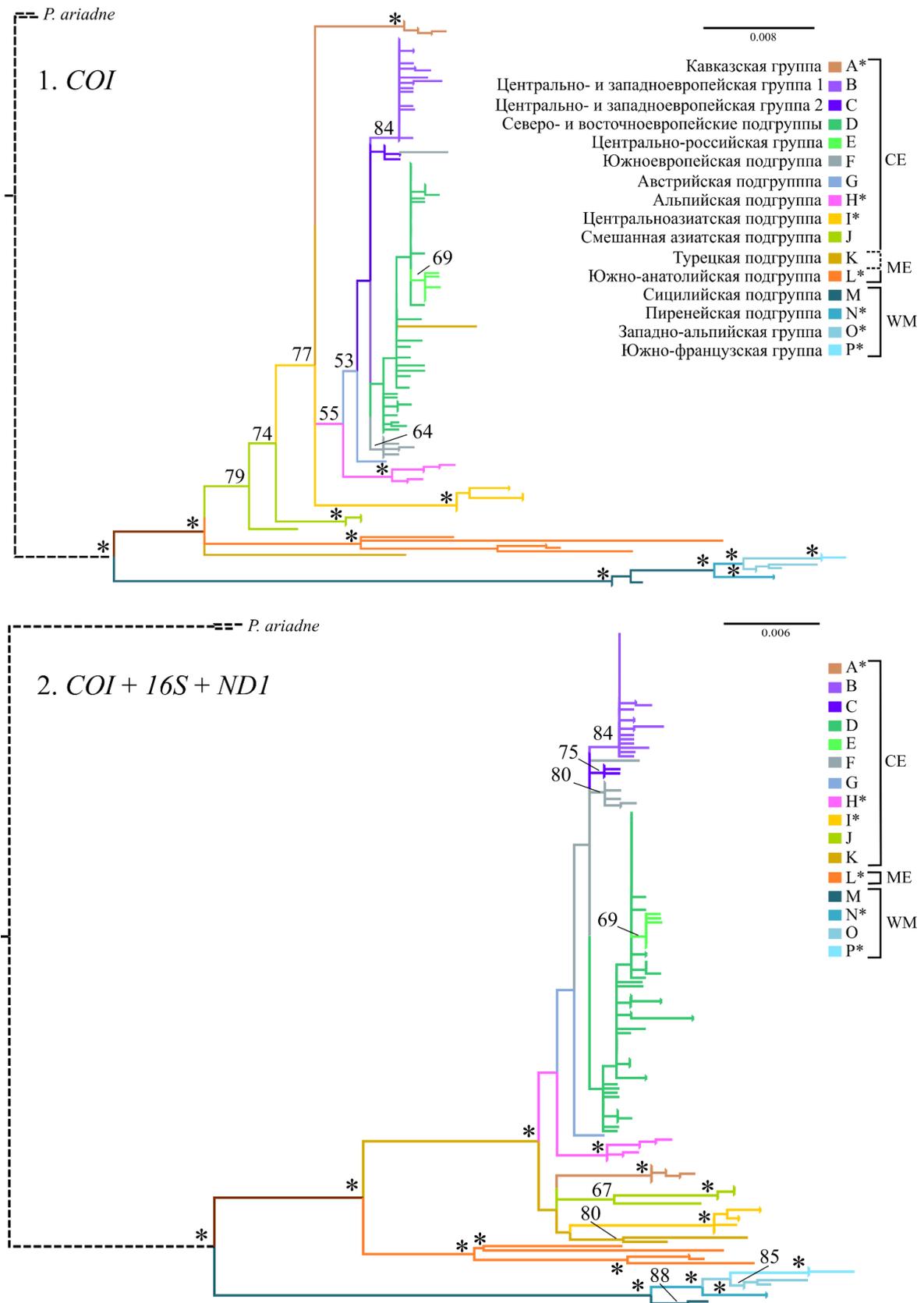


Рисунок 1. Филогенетическое дерево, построенное по алгоритму максимального правдоподобия. Группы сиквенсов, выделенные по условию монофилетичности, отображены разными цветами. Номера последовательностей, представленных в каждой группе, см. в приложении 1. Справа обозначены главные клады (эволюционные единицы) *P. mnetosune*, выделенные в предыдущих исследованиях – CE, ME и WM. Числа над ветвями обозначают значения бутстрэп поддержки > 50 %, звездочками указаны значения > 90 %.

3.3.2. Клада ME

Высокая, относительно других линий, изменчивость мтДНК позволяет заключить, что большинство последовательностей данной клады представляют собой лишь единичные образцы более диверсифицированных подгрупп, для изучения которых необходим дополнительный сбор материала. Другое объяснение сильной дивергенции внутри клады может заключаться в аномально высокой частоте мутаций мтДНК (и сильной переоценке полученных датировок клады вследствие этого) у бабочек из данного региона, что также требует проведения дополнительных исследований. Следует отметить, что данная клада симпатрична с бабочками из группы J кластера SE, исследование процессов возможной гибридизации между ними также представляет научный интерес.

3.3.3. Клада SE

Основатель самой крупной клады, объединяющей бабочек из центральной Азии и Европы, обитал по полученным оценкам во время Эемского (Микулинского) межледникового. Таким образом, причиной последующей дивергенции и дробления групп могло послужить начавшееся позже вюрмское оледенение. Фрагментация местообитаний создала островной эффект, разделивший группы мнемозин, обитающие в центральной Азии. На основе базального положения центральноазиатских групп на дереве клады SE, можно предположить, что последний общий предок всего кластера обитал в данном регионе, и заселение Европы мнемозиной происходило в конце Эемского межледникового и позднее, в коротких межледниковьях вюрма.

Полученные данные свидетельствуют о том, что на территории центральной России предки современных популяций мнемозины появились только после окончания оледенения, в раннем голоцене. Судя по кластеризации последовательностей на филогенетических деревьях, заселение восточной территории Русской равнины шло в двух направлениях – миграция из предполагаемого центрально-европейского рефугиума (Gratton и др., 2008) через юго-восточную Европу на север (вплоть до Архангельской области) для группы E и расселение вместе с популяциями, обитающими в северной Европе и Прибалтике (Финляндия, Литва, Эстония) для образцов, собранных в Республике Карелия (группа D). Третья группа, обитающая на юге России, входит в кавказскую группу A, объединяющую бабочек с территорий северного Кавказа и Армении. Их общий предок жил тоже в начале голоцена, примерно 12 тыс. лет назад (2.7-27 тыс. лет).

3.4. Анализ криптического разнообразия

Применяя метод GMYC, выделили три таксономических группы внутри *P. mnetosyne*, которые соответствуют трем крупным кладам, описанным выше и эволюционным единицам, выделенным Граттоном (Gratton, 2006).

Для сравнения морфологических структур были получены изображения гениталий самцов мнемозин из групп SE и WM, а также ближайших видов *P. ariadne* и *P. stubbendorfii*. Найдено несколько отличий, главным из которых было различие в строении края вальвы; также, бабочки из группы WM характеризуются большим углом изгиба эдеагуса; выпрямленный эдеагус обнаружен кроме мнемозин клады SE у других изученных видов. Однако, *P. ariadne* и *P. stubbendorfii* имеют сильные отличия от мнемозины в форме вальвы.

Относительно малое количество различий в структурах гениталий самцов ставит под сомнение возможность возникновения затруднений при спаривании мнемозин из дивергентных групп. Возникшие различия в нуклеотидных последовательностях объясняются тысячами лет изолированной эволюции, в ходе которой шло накопление случайных мутаций в геноме, но не происходило прямого дизруптивного действия факторов на морфологические характеристики.

Глава 4. Структура и эволюция реализованной климатической ниши

4.1. Квантификация реализованной климатической ниши

Для того, чтобы проследить различия между основными митохондриальными линиями мнемозины в занимаемом пространстве ниши, совокупность пространственных данных была разделена на три группы: WM, SE и ME. Первые две группы в данном случае были разделены по пространственному принципу (в качестве границы обитания кластеров использованы восточные Альпы, граница уточнялась по собственным данным и исследованию Граттона (Gratton, 2006)), для отделения ближневосточной группы использована только генетическая информация (см. раздел 3.2). По результатам анализа главных компонент (ГК), информация о реализованной климатической нише мнемозины оказалась в большей степени представлена переменными, отвечающими за количество осадков в местообитаниях (8), чем ответственными за температуру (6). Распределение групп мнемозин на диаграмме первых двух осей ГК показано на рисунке 2.

Средние величины совокупностей точек SE и WM значительно различались на осях ГК1 ($P \ll 0.01$) и ГК3 ($P \ll 0.01$), но не на оси ГК2 ($P = 0.1898$). Вследствие этого, можно заключить, что разница в климатических предпочтениях двух групп объясняется температурами теплых и влажных частей года, суммами осадков во всех частях года и высоте над уровнем моря. Группы имеют схожую толерантность к температурам в холодное и сухое время года, а также к средней годовой температуре. Кроме того, диаграмма рассеяния первых двух ГК климатической ниши хорошо отображает ранее полученную четкую филогеографическую структуру *P. mnetosyne*.

4.2. Реконструкция анцестральной ниши

Расчёт значений филогенетического сигнала Пейджела показал, что оси ГК1, ГК2 и ГК3 имеют значимый уровень филогенетического сигнала для всей использованной выборки деревьев. Так, для ГК1 в 100% случаев была выбрана модель эволюции количественных признаков OU, для ГК2 и ГК3 данная модель была выбрана для 99% деревьев, 1% составила модель VM.

С целью уменьшить возможное искажение в расчетах предковой климатической ниши, вызванное географической неоднородностью сборов, была создана дополнительная выборка деревьев. Использовали следующий принцип: для каждого из 100 случайно отобранных деревьев были созданы по 10 новых деревьев, в которых для каждой из 16 филогеографических групп, выделенных в главе 3, были оставлены по две случайные ветви. В итоге получили новую выборку

из 1000 филогенетических деревьев, которая была уменьшена отбором случайных из них до 100. Образцы в такой выборке несли информацию о всей изменчивости климатической ниши, но были представлены более стохастично.

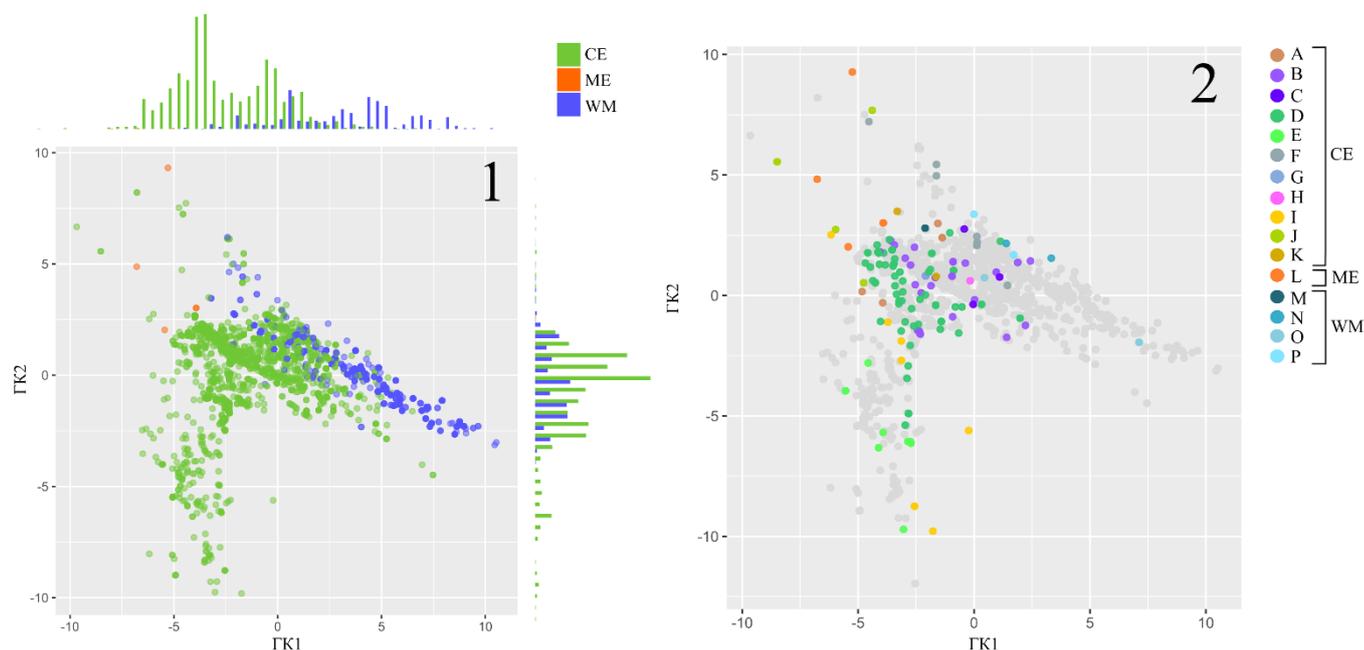


Рисунок 2. Диаграмма рассеяния первых двух осей ГК климатической ниши мнемозины. Совокупность точек разделена на (1) три главные митохондриальные клады; (2) на филогеографические группы, выделенные в главе 3.

Выбранные модели эволюции признаков распределились следующим образом: ГК1 – для 77% деревьев наиболее предпочтительной моделью оказалась ВМ, для 23% оставшихся – ОУ; для ГК2: 94% – ВМ, 6% – ОУ; для ГК3: 92% – ВМ; 8% – ОУ. Положение климатических ниш последних общих предков для каждой клады на фоне современных образцов показано на рисунке 3.

4.3. Реконструкция ареалов последних общих предков основных митохондриальных кластеров *P. tnetosyne*

Для восстановления возможного ареала предков трех основных групп *P. tnetosyne* использовали наименее коррелирующие между собой переменные, выбранные на основе анализа главных компонент: ВЮ2, ВЮ11, ВЮ12, ВЮ15. Для каждой переменной был рассчитан уровень филогенетического сигнала в обеих выборках деревьев. При уровне меньше значимого, филогенетическое дерево не участвовало в дальнейшем анализе. Для всех переменных в выборке 1 наиболее подходящей моделью эволюции признаков оказалась ОУ, в выборке 2 – для ВЮ2: 84% ВМ, 16% ОУ; ВЮ11: 79% ВМ, 21% ОУ; ВЮ12: 72% ВМ, 28% ОУ; ВЮ15: 84% ВМ, 15% ОУ. Возможный ареал реконструировали для последних общих предков клад СЕ, МЕ и ВМ как в современных климатических условиях, так и соответствующих последнему межледниковью (симуляция Otto-Bliesner, 2006) (рисунок 4). В слоях условий межледниковья не были найдены точки с точным соответствием полученным значениям факторов, поэтому на их основе был сформирован диапазон $\pm 5\%$ для значений каждого фактора, увеличивающий колебание границ климатической ниши.

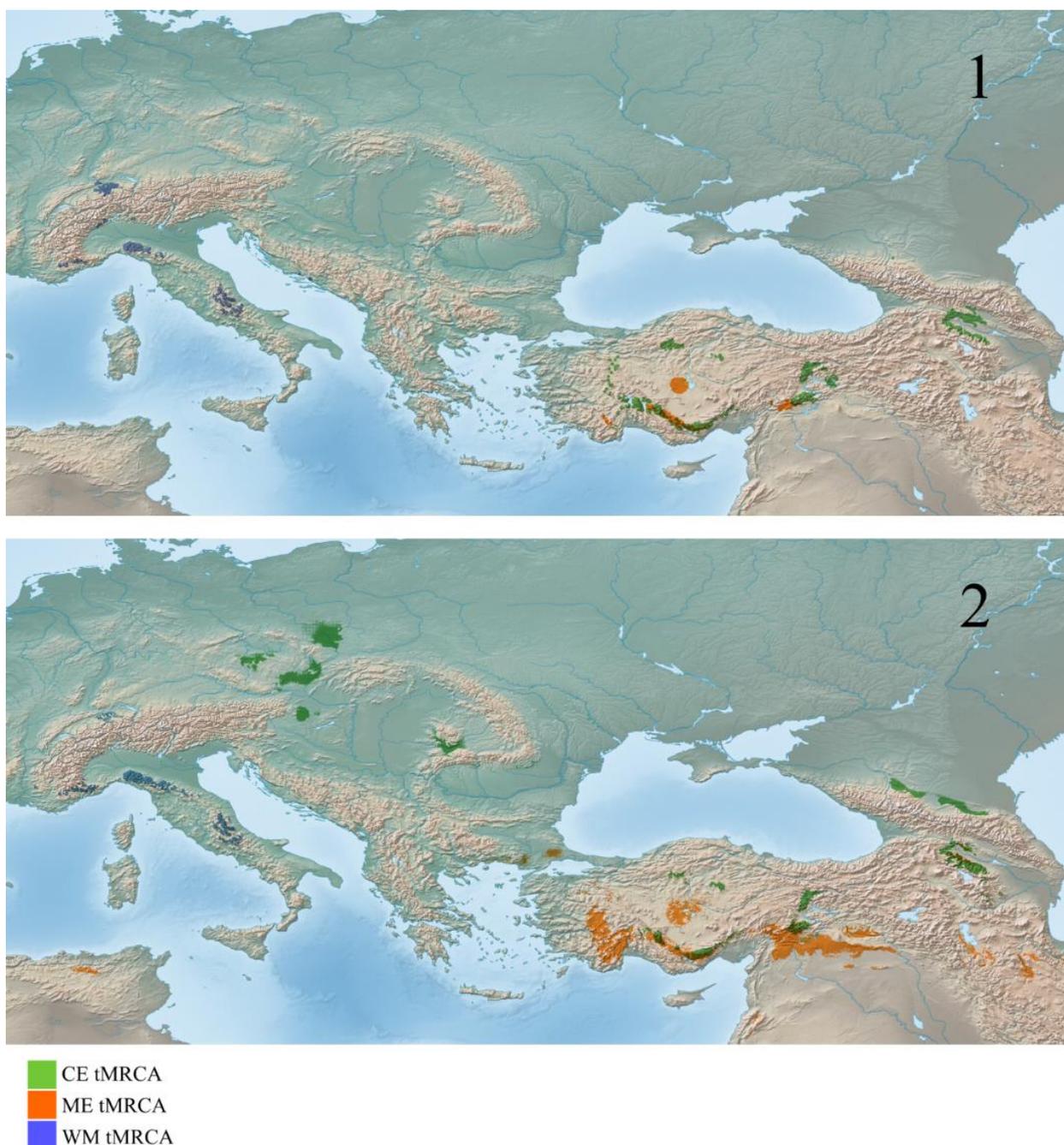


Рисунок 3. Вариация рассчитанных значений предковых климатических ниш в пространстве главных компонент ниши современной мнемозины. Диаграммы 1-3 соответствуют значениям, полученным на основе выборки 1, 4-6 – значениям, полученным на основе выборки 2 (см. текст).

4.4. Обсуждение

В реализованной нише преобладает вклад факторов, связанных с влажностью, сезонностью, а также оставляют свой отпечаток условия средиземноморского климата, в которых обитает часть популяций. Изменчивость мнемозины по отношению к факторам в пространстве климатической ниши позволяет заключить, что крупные части ареала в Центральной и Средней Азии, в России, а также в Западных Альпах лежат в областях, где значения факторов близки к лимитирующим, и бабочки обитают там на границе зоны оптимума. Мнемозины, живущие на территории России (группа E), Киргизии и Казахстана (группа I), и значительно удаленные в пространстве ниши от остальных, имеют лишь

небольшие различия в мтДНК от других групп (Е от D, I от А, J), живущих в более теплых условиях, что позволяет предполагать широкие границы фундаментальной ниши.

Толерантность к факторам, заключенным в ГК1 и ГК3 разделяет пространства климатической ниши клад SE и WM. В возможной зоне гибридизации этих двух групп в Восточных Альпах особи из обеих клад обитают в сходных условиях, что говорит о вероятной конкуренции этих двух групп в данных локалитетах (Gratton, 2006).

Полученные реконструкции позволяют проследить развитие климатической ниши изучаемых групп мнемозины. Ниша группы SE диверсифицировалась в сторону более холодного и влажного климата, ME – сухого и засушливого. При этом, в настоящее время представители группы SE достаточно эвритопны, и обитают в условиях, характерных для ME, но не наоборот. Однако, наблюдаемые узкие границы толерантности группы ME могут быть лишь следствием ограниченной выборки.

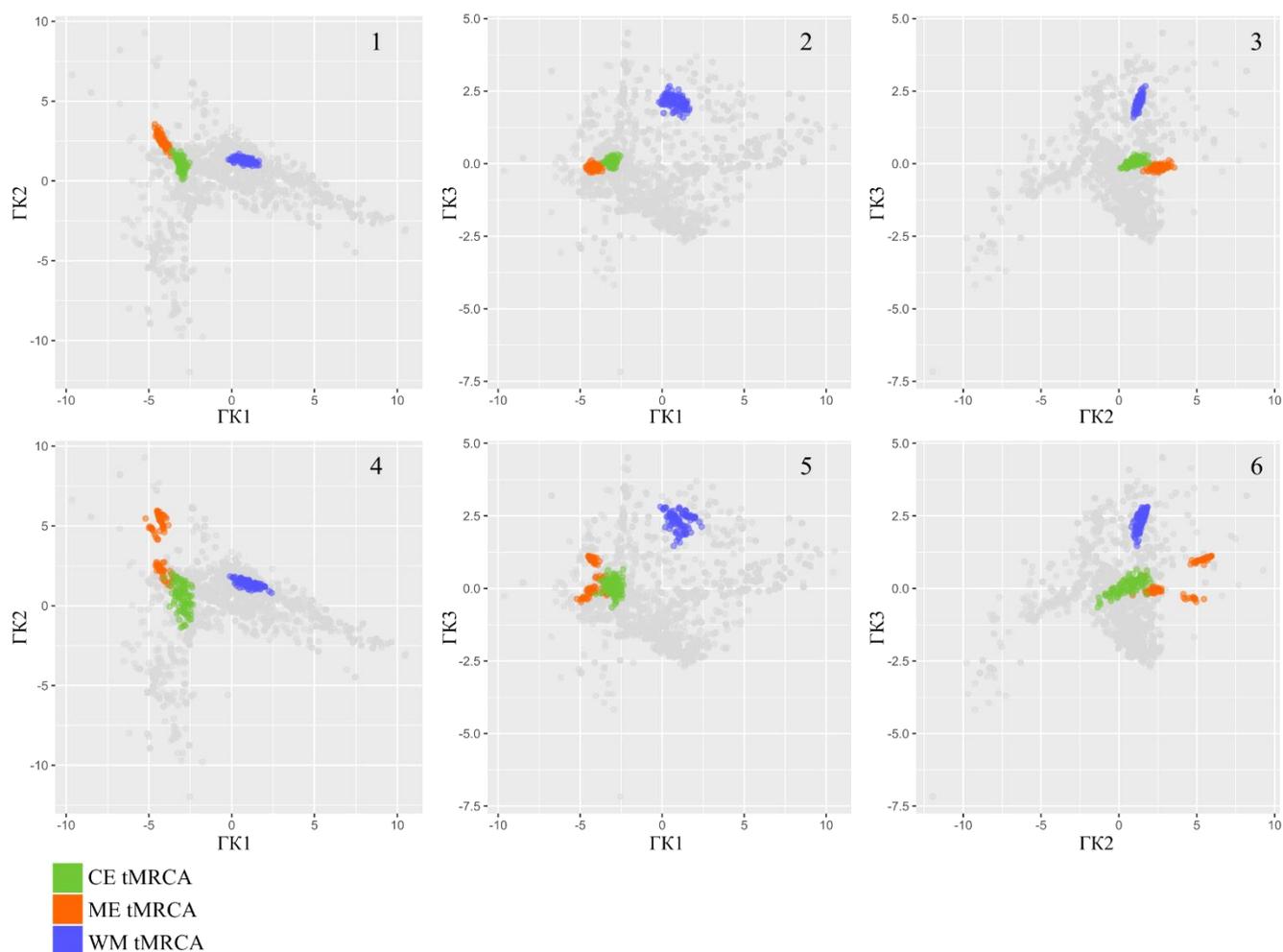


Рисунок 4. Карты подходящих условий обитания основателей митохондриальных кластеров SE, ME и WM в последнем межледниковье (около 128 – 117 тыс. лет назад). Цифрами обозначены филогенетические выборки, на основе которых получены анцестральные значения переменных среды.

Ниша основателя кластера WM отделена от ниш основателей других групп из-за пройденного ее предками в плейстоцене «бутылочного горлышка» (см. раздел 3.3). Развитие ниши данного кластера шло как в сторону приспособления к влажным прибрежным регионам, так и в сторону расширения границ условий в горных регионах; частичная обособленность современного занимаемого климатического пространства обусловлена главным образом пространственным барьером – Альпийским хребтом на северо-восточной границе ареала данной группы.

Полученные зоны возможного обитания согласуются с гипотезами расселения мнемозины на основе генетических данных: клада WM дивергировала раньше других, но ее основатель обитал значительно позже (см. раздел 3.3) и следы ее возможного разнообразия стерты плейстоценовыми оледенениями; предок современных бабочек данной клады обитал в зоне к югу от Альп, впоследствии ставшей рефугиумом для многих видов данного региона (Schmitt, Varga, 2012). Основатели клады ME могли быть распространены в пределах ареала, соответствовавшем современному, а основатели группы SE с наибольшей вероятностью обитали в зоне к югу от Кавказа, также ставшей рефугиумом в течение вюрмского оледенения (Seddon и др., 2002). Восстановленные ареалы этих групп частично перекрываются, что говорит об их локальной симпатричности с момента разделения. Дизъюнктивные зоны ареала кластера на востоке – на территории Узбекистана, Киргизии и Казахстана, по данной гипотезе могли быть заселены заново ближе к началу голоцена мигрантами из закавказско-ближневосточного рефугиума.

Глава 5. Моделирование фундаментальной климатической ниши

5.1. Результаты моделирования

Перед моделированием, точки из ареалов разных групп разделяли, как описано в разделе 4.1; координаты сборов мнемозин, входящие по генетическим данным в кластер ME (4 уникальных точки) не представляли достаточную выборку для моделирования отдельной ниши и поэтому не были использованы отдельно. На основе общего набора данных были определены наиболее скореллированные переменные, выбранные для анализа вклада условий среды в модель. Итоговые модели были получены путем усреднения 30 повторностей, выполненных для каждого набора данных.

Средние значения показателя площади под кривой AUC составили 0.896 ± 0.022 для общего ареала, 0.893 ± 0.031 для группы SE и 0.989 ± 0.014 для WM, что говорит о хорошем качестве полученных моделей (Fielding, Bell, 1997). Значения вклада всех переменных в полученные модели представлены в таблице 2.

Кривые зависимости уровня предсказываемой степени пригодности местообитания от значения переменных сходны для моделей общего ареала и группы SE в отношении трех переменных, вносящих наибольший вклад (BIO12, BIO6, BIO4). Для большей части ареала мнемозины уровень пригодности растет нелинейно с увеличением количества годовых осадков и уменьшением минимальной температуры самого холодного месяца на значениях от -50° до -23°C ,

с резким скачком, уменьшающем пригодность на диапазоне от 22° до -18°С. Для модели ниши группы WM зависимость пригодности обитаний от температуры самого холодного месяца похожа на кривую нормального распределения с оптимумом в диапазоне 0 ... -10°С. Также для группы WM характерны обитания с меньшими значениями стандартного отклонения температур BIO4. Карты с уровнями пригодности современных климатических условий согласно полученным моделям, показаны на рисунке 5. Проекция полученных моделей на сценарии климатических условий прошлого показаны на рисунках 6 (Эемское межледниковье) и 7 (последний ледниковый максимум).

Проекция моделей на возможные условия 2050 года предсказывают увеличение пригодных площадей на 15.7% для сценария RCP 2.6 и уменьшение на 11.5% в сценарии RCP 8.5. Проекция моделей на условия 2070 года прогнозируют общее увеличение (в сравнении с современными) пригодных площадей для обоих сценариев – на 15.2% в случае RCP 2.6, на 9.6% для RCP 8.5.

Таблица 2. Вклад переменных в модели климатической ниши мнемозины.

Переменная	Общий ареал		Группа SE		Группа WM	
	Процент вклада	Важность при пермутации	Процент вклада	Важность при пермутации	Процент вклада	Важность при пермутации
BIO1	8.2	15.8	8.8	11	0	0
BIO2	6.4	4.6	9.5	4.2	9.4	0.6
BIO3	5.2	1.1	1.5	1.2	0.9	0.1
BIO4	13.8	26.6	14.7	18.1	16.4	5.3
BIO5	0.2	0.7	0.9	1	0	0
BIO6	19.6	6.6	21.9	18.9	2.1	53.4
BIO8	0.8	0.7	0.6	1.5	0.6	0.8
BIO9	2.3	2.7	3.5	2.9	0	0
BIO12	38.6	33.3	35.4	33.9	34	0.8
BIO15	0.5	1	0.8	2.8	9.1	13
Высота над у.м.	4.5	6.9	2.5	4.7	27.4	25.9

5.2. Статистический анализ моделей

Измеренное пространственное перекрытие моделей ниш групп SE и WM равно $I = 0.486$ и $D = 0.197$. На основании результата теста на идентичность, нулевая гипотеза об идентичности ниш была отвергнута ($P < 0.01$). В фоновом тесте нулевая гипотеза о том, что различия в климатических нишах могут быть объяснены разницей в доступных условиях среды, была также отвергнута во всех случаях.

Для сравнения провели тесты на совпадение ниш двух групп мнемозины в сравнении с *P. ariadne*. Пространственное перекрытие ниш составило $I = 0.413$ и $D = 0.108$ для *P. ariadne* и группы SE, $I = 0.329$ и $D = 0.021$ для ариадны и группы WM, что меньше соответствующих значений при сравнении двух групп мнемозины между собой. Результаты тестов на идентичность также отвергли нулевую гипотезу о высоком сходстве двух ниш ($P > 0.01$). Значения фонового теста подтвердили значимое различие ниш во всех восьми случаях ($P > 0.01$).

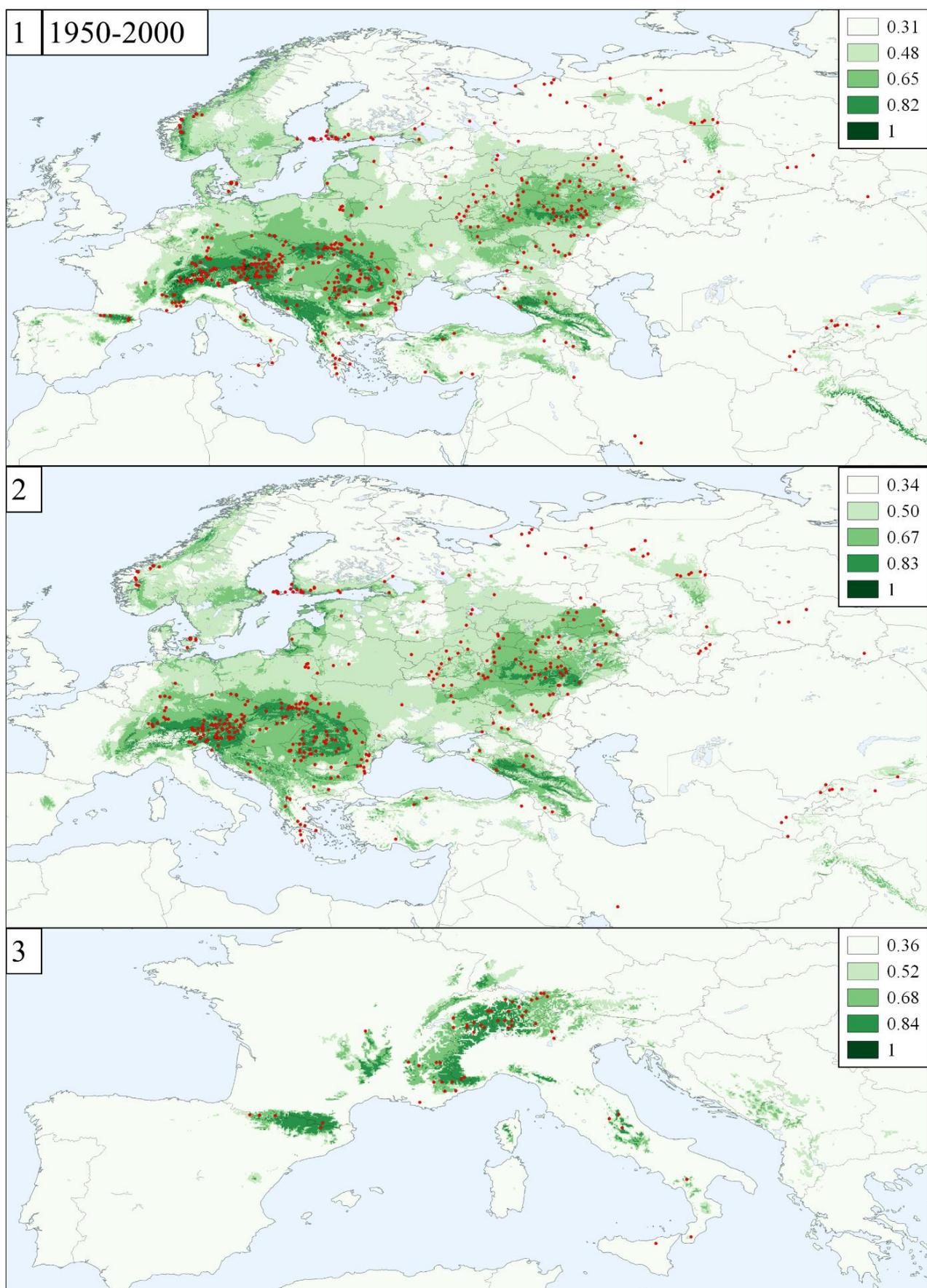


Рисунок 5. Модели климатической ниши мнемозины в современных условиях. Точки отображают места наблюдений и сборов, шкала – вероятность пригодности местообитаний выше определенного порога. Цифрами обозначены модели для общего ареала (1), ареала группы SE (2), ареала группы WM (3).

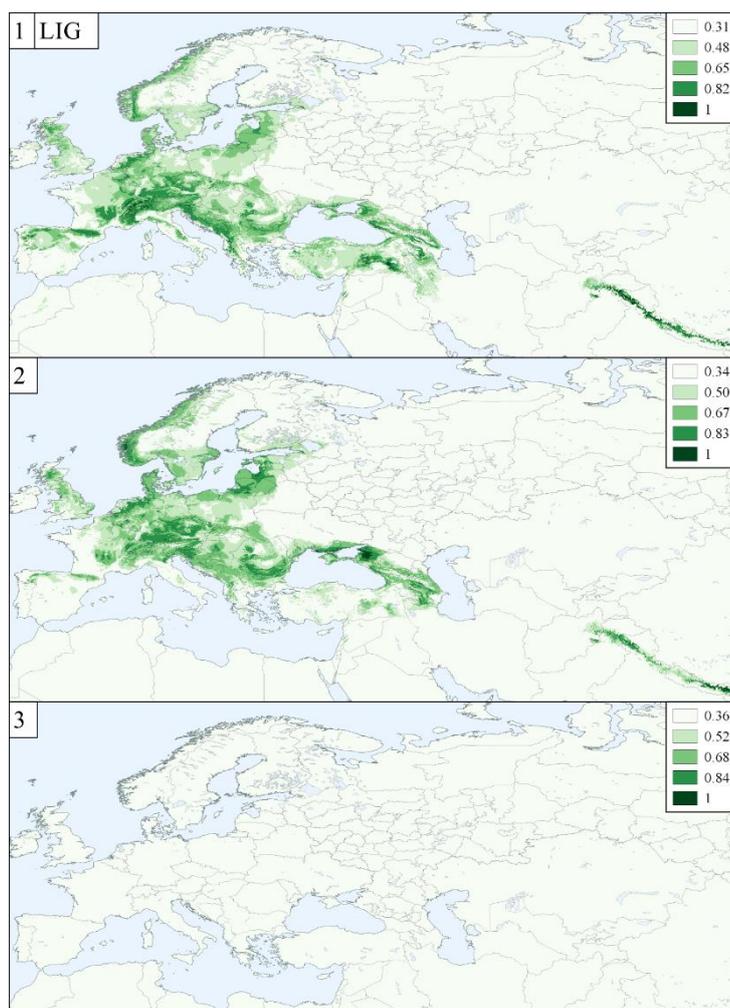


Рисунок 6. Проекция моделей климатической ниши мнемозины на условия Эемского межледниковья (~120 тыс. лет назад). На шкале отмечена вероятность пригодности местообитаний выше определенного порога. Цифрами обозначены модели для общего ареала (1), ареала группы SE (2), ареала группы WM (3).

5.3. Обсуждение

Все три полученные модели достаточно хорошо описывают климатическую нишу, однако при делении ареала на две группы, модели для каждой из них не способны восстановить картину полной ниши. Данный эффект может означать не только сильную дивергенцию, но и разную доступность условий: из-за каких либо исторических причин организмы вынуждены селиться вдали от оптимальных значений

среды, что может исказить результаты моделирования (Porch, 2010).

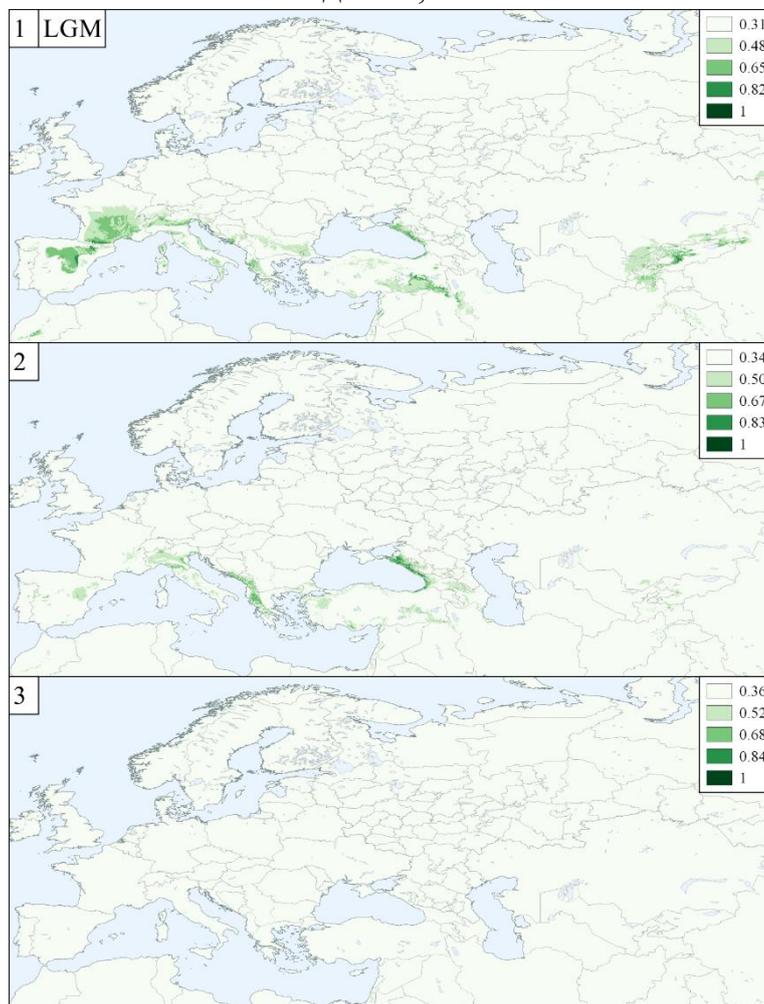
Однако, результаты фоновых тестов говорят о том, что группа WM имеет в своем ареале значительные зоны с климатом, более похожем на условия, в которых обитает большинство представителей группы SE, но не предпочитает в них селиться. Климат в границах ареала группы SE наоборот, отличается от предпочтений бабочек WM сильнее, чем действительно занимаемые ими обитания. Это доказывает, в сочетании с результатами теста на идентичность ниш, что климатические предпочтения двух групп действительно расходятся.

Проекция моделей современного климата на условия прошлых эпох характеризуют динамику ниши мнемозины во времени. При отдельном моделировании, для группы WM практически не обнаружено подходящих условий как в климате последнего ледникового максимума, так и в климате Эемского межледниковья, что свидетельствует об относительно недавнем приспособлении к данному типу климата (менее 21 тыс. лет назад). Предсказанные зоны обитания предков главных митохондриальных кластеров вписываются в проекцию общей модели ниши на условия межледниковья (раздел 4.3).

Найденные различия в нишах двух групп не обязательно говорят об их принадлежности к разным видам. Так, самые северные локалитеты мнемозины частично лежат за пределами всех полученных моделей и ранее было доказано, что

их распространение обусловлено в большей части распространением кормовых растений, чем климатом (Bolotov и др., 2013). В разных частях ареала мнемозина может питаться растениями разных видов рода хохлатка (*Corydalis*) (Татаринов, Долгин, 1999; Aagaard, Hanssen, 1989; Franzen, Imby, 2012; Luoto и др., 2001), кроме того известно, что пространственная организованность популяций мнемозины может быть привязана к локальным популяциям хохлатки (Горбач, Кабанен, 2009). Из этого следует, что большой вклад в различия групп SE и WM в занимаемом пространстве климатических факторов вносят различия в предпочтениях кормовых растений, чье распространение может быть ограничено многими факторами среды кроме климата, например, составом почвы и биотическими связями. С другой стороны, следует учитывать, что растения *Corydalis* в Западной и Северной Европе распространены гораздо шире, чем черный аполлон. Многие области на севере Западной Европы, Великобритания и север Норвегии, где хохлатка встречается в изобилии, никогда не были известны в качестве мест обитания мнемозины (Franzen, Imby, 2012; Weiss, 1999).

На территории северо-западной части России находится одна из самых молодых частей ареала, в Архангельской области популяциям возможно 2500-3500 лет (Bolotov и др., 2013). Часть данных популяций обитает в зоне климатических предпочтений ниже порога обитания вида для полученных моделей. Эта зона находится большей своей частью на территории центральной и южной Архангельской области, и включает в себя точки сбора и наблюдений бабочек в Пинежском заповеднике, Соянском заказнике, и Зимнем берегу Белого моря (Рыков, 2009).



Популяции мнемозины сохранились здесь со времен присутствия широколиственных лесов в среднем-позднем голоцене, а последующие колебания климата вели к смещению границ и возникающей фрагментации биома, выраженной в современной мозаичности ареала (Смирнова, Турубанова, 2004; Татаринов, Кулакова, 2010).

Рисунок 7. Проекция моделей климатической ниши мнемозины на условия последнего ледникового максимума (LGM, ~21 тыс. лет назад). На шкале отмечена вероятность пригодности местообитаний выше определенного порога. Цифрами обозначены модели для общего ареала (1), ареала группы SE (2), ареала группы WM (3).

Полученные зависимости, такие как рост уровня пригодности местообитаний с увеличением количества годовых осадков и уменьшением минимальной температуры самого холодного месяца, говорят о свойстве яиц и зимующих личинок переносить очень низкие температуры (до -50°) в холодный период, поэтому они не являются лимитирующим фактором для бабочек. Кроме того, присутствие мнемозины связано с повышенной влажностью и умеренно-прохладным климатом. Температура значима для мнемозины только в сочетании с другими выявленными важными факторами – годовой суммой осадков и амплитудой температур.

По всем сценариям изменения климата в 21 веке, вырастет уровень пригодности северных территорий (в том числе в российской части ареала) для обитания мнемозины. Полученные результаты говорят о высоком потенциале северных популяций мнемозины в будущем, однако в настоящее время низкая численность некоторых из них обусловлена прежде всего деградацией местообитаний их кормового растения – растений рода *Corydalis*, вызванной прекращением сельскохозяйственной деятельности и зарастанием лесных лугов мелколесьем. В качестве меры контроля рекомендуется отслеживание зон локального произрастания хохлатки; при появлении таковых, согласно полученной нами модели, к середине 21 века возможна станет интродукция бабочек в новые и покинутые местообитания. Успешный пример транслокации популяции известен из Финляндии (Kuussaari и др., 2015), где увеличение численности перенесенной популяции согласуется с результатами моделирования ареала в прогнозируемых изменениях климата (Araújo, Luoto, 2007; ESKILDSEN и др., 2013).

ВЫВОДЫ

1. Митохондриальный генофонд мнемозины представлен тремя крупнымикладами, одна из которых (WM – западно-средиземноморская) аллопатрична по отношению к двум другим (центральноазиатско-европейской SE и ближневосточной ME). Существующие различия в генетике, морфологии и климатической нише групп SE и WM лишь немногим меньше различий с ближайшим к мнемозине видом – *P. ariadne*, однако они не обеспечивают полную репродуктивную изоляцию вида, что свидетельствует о неоконченном процессе видообразования.

2. Внутри трех крупных кластеров нами выделено 16 групп гаплотипов. На территории России генетическое разнообразие представлено тремя группами, заселившимися в течение голоцена: кавказской, североевропейской и центрально-русской.

3. По результатам молекулярного датирования, последний общий предок всех мнемозин обитал около 377 тыс. лет назад. Три крупных клады мнемозины основаны в зонах рефугиумов во время последнего плейстоценового оледенения: средиземноморском (кластер WM) и ближневосточно-закавказском (кластеры SE и ME).

4. Мнемозина очень пластична по отношению к климатическим факторам и способна относительно быстро приспосабливаться к меняющимся условиям.

Различие между нишами самых дивергентных групп СЕ и WM возникло в течение последних 22 тыс. лет. В настоящее время наиболее нехарактерными зонами обитания, на общем фоне, для бабочек являются регионы Центральной Азии, Ирана, северного Урала и Архангельской области. Для самых северных популяций лимитирующим фактором расселения является наличие кормового растения для личинок – представителей рода хохлатка (*Corydalis*).

5. Установлено, что наибольшее влияние на климатическую нишу мнемозины оказывают факторы, связанные с влажностью. На протяжении почти всего ареала бабочки предпочитают заселять территории с большим количеством годовых осадков, умеренными температурами, достаточно холодными зимами и средними значениями амплитуды годовых температур. Часть этих факторов может оказывать влияние косвенно, через кормовые растения.

6. Во второй половине 21 века возможно увеличение количества пригодных для обитания мнемозины территорий на севере Европы. Учитывая лимитирующие факторы локальных популяций, рекомендуется отслеживание зон произрастания кормовых растений бабочек. По полученным прогнозам, к 2050 году значительно увеличится вероятность успешной интродукции бабочек в новые и покинутые ранее местообитания на севере Урала и в Архангельской области.

СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ:

1. Bolotov I.N. Northern boundary of the range of the Clouded Apollo butterfly *Parnassius mnemosyne* (L.) (Papilionidae): climate influence or degradation of larval host plants? [Текст] / М.У. Gofarov, А.М. Rykov, **А.А. Frolov**, Y.E. Kogut // *Nota Lepidopterologica* 2012. – Т. 36. – № 1. С. 19–33.
2. Болотов И.Н., **Фролов А.А.** Моделирование ареала и анализ вклада факторов в климатическую нишу *Parnassius mnemosyne* L. 1758 (Lepidoptera, Papilionidae) [Текст] // Вестник Северного (Арктического) Федерального Университета. Серия: естественные науки. 2015. – № 1.

В прочих изданиях:

1. **Фролов А.А.**, Болотов И.Н. Молекулярная филогения и филогеография аполлонов подрода *Driopa* (Lepidoptera, Papilionidae: Parnassiinae) на основе 4 генов из базы NCBI Genbank // Проблемы изучения и охраны животного мира на Севере. Сыктывкар: Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, 2013. С. 213.
2. **Frolov A.A.**, Bolotov I.N. Molecular phylogeny and problem of cryptic species in *Parnassius* (Lepidoptera: Papilionidae) butterflies: a cluster network approach. // Actual problems of protection and sustainable use of the animal world diversity. Chisinau, Moldova: Zoological Institute, 2013. С. 129.
3. **Frolov A.A.**, Bolotov I.N. Cryptic diversity in *Driopa* (Lepidoptera: Papilionidae: Parnassiinae) butterflies // 7th International Conference on the Biology of Butterflies. Turku, Finland: University of Turku, 2014. С. 81.