

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
Архангельский научный центр
Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики
Институт биогеографии и генетических ресурсов

На правах рукописи

Фролов Артем Андреевич

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

Специальность 03.02.08 – «Экология»

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук
И. Н. Болотов

Архангельск – 2016

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	- 4 -
ГЛАВА 1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О <i>PARNASSIUS MNEMOSYNE</i>	- 10 -
1.1. Бабочки <i>Parnassius</i> , систематика	- 10 -
1.2. Ареал и филогеография мнемозины	- 11 -
1.3. Детали морфологии: внешнее строение	- 13 -
1.4. Структура популяций	- 14 -
1.5. Предпочитаемые местообитания и экология	- 17 -
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	- 22 -
2.1. Материалы	- 22 -
2.2. Методы	- 23 -
ГЛАВА 3. МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АНАЛИЗ И КРИПТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ	- 42 -
3.1. Изменчивость гена <i>COI</i>	- 42 -
3.2. Результаты филогенетического анализа	- 45 -
3.3. Анализ молекулярных часов и обсуждение филогении	- 51 -
3.4. Анализ криптического разнообразия	- 57 -
3.5. Основные выводы к главе 3	- 63 -
ГЛАВА 4. СТРУКТУРА И ЭВОЛЮЦИЯ РЕАЛИЗОВАННОЙ КЛИМАТИЧЕСКОЙ НИШИ	- 64 -
4.1. Квантификация реализованной климатической ниши	- 64 -
4.2. Реконструкция анцестральной ниши	- 71 -
4.3. Реконструкция ареалов последних общих предков основных митохондриальных кластеров <i>P. mnemosyne</i>	- 74 -
4.4. Обсуждение	- 79 -
4.5. Основные выводы к главе 4	- 82 -

ГЛАВА 5. МОДЕЛИРОВАНИЕ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ КЛИМАТИЧЕСКОЙ НИШИ	- 84 -
5.1. Результаты моделирования	- 84 -
5.2. Статистический анализ моделей	- 96 -
5.3. Обсуждение	- 99 -
5.4. Основные выводы к главе 5	- 104 -
ВЫВОДЫ	- 106 -
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	- 108 -
ПРИЛОЖЕНИЕ 1	- 128 -
ПРИЛОЖЕНИЕ 2	- 139 -
ПРИЛОЖЕНИЕ 3	- 150 -

ВВЕДЕНИЕ

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; Татарин, 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).

Цель и задачи исследования

Основная цель данной работы состоит в оценке эволюционной динамики климатической ниши в разных частях ареала *P. tnetosyne* 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 `recline` (доступно по адресу <https://github.com/dissipative/recline>) для языка программирования R.

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

Основные 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).

Публикации

По теме диссертации опубликованы пять 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.

Благодарности

Выражаю искреннюю благодарность всем, кто помогал на разных этапах выполнения данной работы:

Моему научному руководителю – д.б.н. И. Н. Болотову за всестороннюю поддержку и конструктивную критику, когда она была так необходима. К.б.н. В. С. Артамоновой и к.б.н. А. А. Махрову за обучение методам прикладной молекулярной генетики и работы в лаборатории; к.б.н. А. В. Кондакову за помощь в решении проблем, возникавших в ходе выделения ДНК и ПЦР. Н. И. Рубину за предоставленные сборы из Белоруссии, Л. П. Шошину за редчайших бабочек с Зимнего берега, к.б.н. А. Г. Татаринovu и к.б.н. О. И. Кулаковой, приславшим образцы с разных точек центральной России, Урала и Казахстана, д.б.н. В. В. Горбачу за карельских и А. М. Рыкову за пинежских мнемозин. М.н.с И. С. Пальцер за помощь в решении проблемы моей криворукости в некоторых моментах работы с микропрепаратами гениталий и во время расправления бабочек, и всем, с кем я работал в музее.

ГЛАВА 1. ОБЩИЕ СВЕДЕНИЯ О *PARNASSIUS MNEMOSYNE*

1.1. Бабочки *Parnassius*, систематика

Бабочки-аполлоны рода *Parnassius* известны своей высокой индивидуальной и географической изменчивостью. Эти бабочки олицетворяют горные экосистемы, и могут служить не только индикаторами, но и «флаговыми видами» (термин “flagship species” в англоязычной литературе) для своей среды обитания в целом. *P. apollo* был первым видом бабочек, ловля которого была запрещена (в Германии в 1936 г.)

В роду *Parnassius* описано около четырех десятков видов, таксономический статус некоторых из них на данный момент до сих пор находится под вопросом. В разное время в роду было выделено несколько отдельных подродов (многие из них изначально рассматривались как самостоятельные рода): *Driopa* Korshunov, 1988; *Sachaia* Korshunov, 1988; *Kreizbergia* Korshunov, 1988; *Parnassius* Latreille, 1804; *Tadumia* Moore, [1902]; *Kailasius* Moore, [1902]; *Koramius* Moore, [1902]; *Lingamius* Bryk, 1935; *Eukoramius* Bryk, 1935. Некоторые исследователи рассматривают типовой род подсемейства *Parnassius* в качестве единого рода и вместо данной классификации используют внеранговые группировки, близкие по составу к предложенным выше под родам (Nazari и др., 2007; Omoto и др., 2004; Weiss, 1999).

Большинство из представителей аполлонов обитает на территории Средней и Центральной Азии, Тибетское плато считается некоторыми исследователями центром происхождения рода в целом (по данным Омото и соавторов (Omoto и др., 2004) это случилось около 20-30 млн. лет назад). При этом, ареалы подродов *Driopa* и *Parnassius* охватывают территории от запада Европы до востока Северной Америки. Всего три вида аполлонов встречаются в Европе – *P. apollo*, *P. phoebus* (оба принадлежат к подроду *Parnassius*) и *P. mnemosyne* (принадлежит к подроду *Driopa*).

1.2. Ареал и филогеография мнемозины

Подрод *Driopa* известен прежде всего бабочкой черной аполлон – *P. mnemosyne*. Мнемозине характерен широкий ареал – от Пиренеев на западе, до Уральских гор и хребтов Памир и Тянь-Шань в Узбекистане, Таджикистане, Киргизии, восточном Казахстане и западном Китае на востоке, северная граница распространения проходит по Архангельской области и югу Скандинавского полуострова, южная доходит до центрального Ирана и южной Турции (рисунок 1.1). Всего известно около 200 подвидов мнемозины, 48 из них выделены в качестве «сильных» (Weiss, 1999). Также, Вейсс выделил три крупных подгруппы по сочетанию географических и климатических параметров местообитаний и морфологического строения бабочек: (1) “*mnemosyne*” состоит из наибольшего количества таксонов, включающих подвиды, распространенные от Европы до Урала и Кавказа, на части Турции и ближнего Востока, (2) “*nubilosus*” ограничен на ареале от южной Турции до Ирана, (3) “*giganteus*” изолирован в центральной Азии.



Рисунок 1.1. Ареал *P. mnemosyne*.

Ближайшие родственники мнемозины – *P. ariadne* из Казахстана и Алтая, *P. nordmanni* с Кавказа, *P. stubbendorffii* из Сибири, дальнего востока и Китая, *P. glacialis* из Японии и Китая, *P. orleans* из Тибета и Китая, *P. evermanni* и *P. felderi* (= *P. evermanni*) (Захаров, 2001; Michel, Rebourg, 2008; Omoto и др., 2004) из дальневосточной России и Северной Америки, и *P. clodius* с востока Северной Америки.

Систематики-морфологи считали мнемозину ближайшим родственником азиатских видов *P. stubbendorffii* и *P. glacialis* (главным образом, вследствие схожего редуцированного рисунка на крыльях), но ряд молекулярно-филогенетических исследований (Gratton, 2006; Gratton и др., 2008; Michel, Rebourg, 2008; Omoto и др., 2004) показал, что *P. ariadne* является сестринским видом для *P. mnemosyne*, и расхождение с ветвью восточных видов произошло раньше. По оценке Назари и соавторов (Nazari и др., 2007), расхождение между под родами *Driopa* и ближайшим родственным к нему *Kreizbergia* произошло около 8-9 млн. лет назад, однако, в работе Мишеля и Ребура (Michel, Rebourg, 2008) даются несколько иные оценки, и данное событие датируется возрастом в 29-30 млн. лет назад, а время расхождения между *P. mnemosyne* и *P. ariadne* оценивается в 13-14 млн. лет назад (по альтернативной шкале, предложенной теми же авторами, в 2.7-2.9 млн. лет назад). Граттон и соавторы (Gratton и др., 2008) предполагают, что последнее событие могло случиться раньше, около 1-1.5 млн. лет назад. Кроме того, в нескольких исследованиях (Gratton, 2006; Gratton, Sbordoni, 2008; Michel, Rebourg, 2008) зафиксировано существование трех отдельных клад мнемозины в разных частях ее ареала: западно-средиземноморской (*Western Mediterranean*, WM; Gratton, 2006), центральноазиатско-европейской (*Centroasian-European*, CE) и ближневосточной (*Middle East*, ME). Эти три клады были выделены в качестве эволюционно-значимых единиц (Fraser, Bernatchez, 2001; Ryder, 1986; Waples, 1991), для последующей выработки регионо-специфичной стратегии охраны мнемозины в странах Европы и Азии.

Относительно классификации, предложенной Вейссом (см. выше), к подгруппе “*mnemosyne*” относятся бабочки из групп WM и CE, к “*nubilosus*” – клада ME, а подгруппа “*giganteus*” включена в кладу CE и генетически не так сильно отличается от европейских мнемозин, как ожидалось ранее.

Дивергенция между WM и кладами CE и ME, судя по количеству нуклеотидных замен в генах *COI* и *EF-1 α* , должна была произойти примерно в то же время, что и дивергенция между видами *P. mnemosyne* и *P. ariadne* (Gratton, 2006), поэтому исследователями было сделано предположение о существовании ряда криптических видов, объединенных сейчас под именем *P. mnemosyne*.

1.3. Детали морфологии: внешнее строение

Размер от среднего до маленького. Основной цвет крыльев от белого до прозрачно-белого с несильно развитым рисунком (Weiss, 1999):

- на передних крыльях с прозрачным краем, двумя ячеистыми черными пятнами и часто с прозрачной ячейкой над субкостальной жилкой.
- на задних крыльях с серо-грязным основанием, иногда анальная метка и глазок отсутствуют, и, в зависимости от подвида, заменены на одно-два аморфных пятна.

Половой диморфизм от слабо до умеренно выраженного, самки чаще всего меньше окрашены и темнее самцов. тело голое, лоснящееся, с желто-зелеными пятнами на боках. Тело самцов в мягком светлом опушении.

Бабочки, наблюдаемые даже в одной популяции, могут проявлять значительную вариацию рисунка, что говорит о высокой индивидуальной изменчивости. Это затрудняет использование внутривидовой систематики, основанной на морфологических признаках (Некрутенко, 1990; Полумордвинов, Шибяев, 2007). Внешний вид бабочек из разных популяций в сравнении с *P. ariadne* представлен на рисунке 1.2.

На конце слабо опушенного брюшка самок после первого спаривания образуется сфрагис — роговидный придаток. Предназначение сфрагиса — исключение повторного оплодотворения самки другими самцами. Структура

сфрагиса используется для точного определения многих видов рода *Parnassius*, с трудом идентифицируемых по другим внешним признакам. Однако, иногда, в течение жизни он может быть потерян самкой (Vlasanek, Konvicka, 2009).



Рисунок 1.2. Внешний вид и вариации рисунков на крыльях *P. mnemosyne* из западноевропейской (Франция, Пиренеи) (А) и восточноевропейской популяции (Белоруссия, Гродненская область) (В) и *P. ariadne* (С). Материал из Российского музея центров биоразнообразия.

1.4. Структура популяций

Особи мнемозины, как правило, распространены очень локально, отдельные популяции могут быть разделены десятками и сотнями километров, поэтому многие из популяций находятся под угрозой исчезновения, и на большей части ареала вид находится под защитой. Вид полностью исчез в Дании (Weiss, 1999), некоторые популяции зафиксированы как вымершие в Чехии, Венгрии, Германии, Финляндии и Эстонии (Konvička, Kuras, 1999; Liivamägi и др., 2013; Megléczi и др., 1999; Meier и др., 2005; Parmesan и др., 1999; Weiss, 1999). Значительный спад численности обнаружен во Франции и Швеции (Bergström, 2005; Napolitano, Descimon, 1994). В России крайне нестабильными являются периферические популяции на северной (например, ручей Ивовик на Зимнем берегу Белого моря, Архангельская область) и восточной (ст. Ингаир, недалеко от Тобольска,

Тюменская область) границах распространения вида (Volotov и др., 2012; Коршунов, 2002; личные наблюдения). Однако, существуют популяции (главным образом в Прибалтике и восточной Фенноскандии), в которых в последние годы численность особей не только не сократилась, но и наблюдается тенденция к ее увеличению (Keskula, Luig, 1997; Liivamägi и др., 2013; Sarv, Õunap, 2005). Например, в Заонежье мнемозина имеет более широкое распространение и встречается чаще, чем это отмечали в первой половине прошлого века (Горбач, Кабанен, 2009). Также известен пример успешной реинтродукции мнемозины в Финляндии (Kuussaari и др., 2015). Основным риском для стабильных популяций представляет разобщение внутривидовых группировок особей, нарушающее миграцию и обмен генетическим материалом.

В Северной и Центральной Европе *P. mnemosyne* относится к категории уязвимых видов (Heath, 1981), внесена в приложение IV директивы ЕЕС 43/92 и в приложение II Бернской Конвенции (1979), включена в Красные книги Восточной Фенноскандии для Финляндии, для Карелии, для Норвегии, а также в Красные книги Беларуси (2004), Украины (1994). В России мнемозина, как правило, внесена в Красные книги тех регионов, в которых встречается. В общую Красную книгу Российской Федерации она внесена в категорию 2: сокращающийся в численности вид.

Отсутствие крупных скоплений в структуре населения зафиксировано для всех изученных популяций мнемозины (Aagaard, Hanssen, 1989; Hansen, 2006; Konvička, Kuras, 1999; Kuusemets и др., 2005; Väisänen, Somerma, 1985; Välimäki, Itämies, 2003) и, судя по всему, характеризует вид на всем протяжении ареала. Внутри каждой популяции также существует дробление, когда несколько субпопуляций разобщены, что случается вследствие фрагментации местообитаний. Такой тип расселения соответствует классической метапопуляционной модели (Kurdna, Seufert, 1991), при этом между субпопуляциями, как правило, существует поток генов. Это было подтверждено для популяций мнемозины в северо-восточной Венгрии по данным анализа аллозимного и микросателлитного полиморфизма и мечения бабочек с

последующим повторным отловом (Meglécз и др., 1999; Meglécз, Solignac, 1998). Миграционная активность между субпопуляциями была также изучена в Чешской Республике, где максимальная дистанция перемещения самок оказалась примерно вдвое меньше, чем у самцов (и составила соответственно 1.2 км и 2.55 км) (Konvička, Kuras, 1999). В Заонежье отмеченная максимальная дистанция перемещения мнемозин составила 2.68 км, перемещения на длинные дистанции зарегистрированы для 8% бабочек; наиболее интенсивные перемещения наблюдались в зоне 0.3 км (Горбач, Кабанен, 2009). Стоит отметить, что все имеющиеся на данный момент данные о подвижности бабочек получены экспериментально, и на самом деле миграционные способности особей могут быть гораздо выше. Максимальные дистанции разлета имаго практически всегда оказывались ограничены размером исследуемой территории (Горбач, Кабанен, 2009). Известно, что особи одного вида имеют различную способность к миграции. У бабочек расселение связано с однонуклеотидным полиморфизмом гена *Pgi*, отвечающего за выработку фермента фосфоглюкозоизомеразы (Orsini и др., 2009; Watt и др., 1983). Носители аллеля *Pgi-1*, обеспечивающего наиболее быстрое протекание метаболических процессов, чаще попадаются в недавно сформировавшихся, чем в исходных популяциях (Mitikka, Hanski, 2010). Для расселения на длительные дистанции необходимо достаточное число особей – носителей данного генотипа; также важной способностью является возможность основать новую колонию в подходящем местообитании (Välimäki, Itämies, 2003).

Обмен генами между разными метапопуляциями чаще всего затруднен, что проявляется в четкой географической структуре, выявляемой с помощью молекулярно-генетических методов. Данная структура для мнемозины впервые наблюдалась во Франции, где была отмечена низкая тенденция вида к миграциям по данным белкового электрофореза в 24 различных популяциях, однако был зафиксирован достаточно высокий обмен генами между субпопуляциями, находящимися достаточно близко друг от друга (“демами”); кроме того, для французских мнемозин отмечен более низкий обмен генами среди периферических популяций (Descimon и др., 1988; Napolitano, Descimon, 1994).

Интраспецифическая вариация в митохондриальном гене *COI* была изучена европейскими исследователями на 225 особях *P. mnemosyne* из разных частей центральной и восточной Европы (Gratton и др., 2008). Было установлено, что на филогеографическую структуру значительное влияние оказал Плейстоценово-Голоценовый сдвиг климата, при этом восточно-альпийские и балканские популяции имеют наибольшие показатели разнообразия мтДНК, что может говорить о существовании рефугиумов в их местообитаниях в течение многочисленных климатических осцилляций в течение последнего ледникового максимума. Авторы также использовали комбинацию филогеографического паттерна и палеоклиматической информации для получения наиболее подходящей интраспецифической частоты мутаций с помощью коалесцентного байесовского метода, и получили зависимую от времени частоту мутаций, равную 0.096 замен/миллион лет на нуклеотид. На основе этого значения, примерное время дивергенции между балканскими и альпийскими линиями составило около 19 000 лет назад, а время жизни последнего общего предка всего кластера центрально- и восточноевропейских *P. mnemosyne* – около 65 000 лет назад.

1.5. Предпочитаемые местообитания и экология

По классификации Олсона и соавторов (Olson и др., 2001), используемой Всемирным фондом природы, мнемозина обитает в 7 биомах, характеризующихся следующими типами растительности (рисунок 1.3):

1. Средиземноморские леса, редколесья и кустарники – на юге Европы на Апеннинском и Балканском полуостровах и в Турции;
2. Степи и лесостепи – на юге России, Украины, в Армении и странах Центральной Азии – Киргизии, Узбекистане, Казахстане;
3. Горные луга и кустарники – в Киргизии и Узбекистане;
4. Лиственные и смешанные леса – на большей территории Европы, в Турции, Иране и центральной России;
5. Хвойные леса – в Альпах, в центральной Европе и северной Турции;

6. Бореальные (таежные) леса – в североевропейской части России, в Финляндии, Швеции и Норвегии;
7. Тундра – в некоторых локалитетах западной Норвегии и на больших высотах (альпийская тундра) в горах Центральной Азии.

В Европе *P. mnemosyne* обычно предпочитает горы и субальпийские высоты, может быть встречена как на влажных лугах и пастбищах, так и рядом с границей зоны кустарников и редколесий. Оптимальная высота лежит между 800 и 1500 м. Предпочитает относительно прохладные пространства и может быть обнаружена с большей вероятностью на северных склонах горных массивов. Однако, для бабочки с настолько широким ареалом обитания, местообитания мнемозины варьируются относительно географического местонахождения популяции: в северной Европе это большей частью лесные зоны на высотах от уровня моря до возвышений не больше 700 м, южнее значения высотности возрастают, от 500 до 2000 метров над у. м. на территории остальной части Европы, от 1000 до более чем 3000 м в Азии, с оптимумом в 1500-2500 м (Weiss, 1999).

Популяции в Альпах и в центральной Европе населяют как правило, сенокосные луга, окруженные смешанными и хвойными лесами (с доминирующими родами *Picea*, *Abies* и *Fagus*), на более высотных участках с редколесьями из лиственниц *Larix*. В северной Европе местообитания связаны чаще всего с прибрежными зонами лугов и редких лесов, которые обеспечивают более теплые и укрытые условия (Kuusemets и др., 2005; Meier и др., 2005).

В южных частях Европы, в Турции, Иране, и центральной Азии, *P. mnemosyne* населяет относительно сухие альпийские луга, но в целом экологические предпочтения особей из этих частей ареала изучены слабо (Weiss, 1999). На севере России, периферические популяции мнемозины чаще всего отмечены в разнотравных пойменных лугах (Тюменская область, Республики Коми и Карелия), также, в качестве предпочитаемых местообитаний стоит отметить суходольные разнотравные луга на днищах карстовых логов в бассейнах рек (Архангельская область) (Volotov и др., 2013). Для имаго *P. mnemosyne* также необходимы открытые луга или поляны, которые выступают как места для

питания и размножения. Самцы проводят большую часть дня в медленном полете над высокой травой в поисках самок. Поздние бабочки летают меньше, и часто могут быть замечены греющимися на солнце под высокой травой и питающимися нектаром (Bergström, 2005; Konvička, Kuras, 1999).

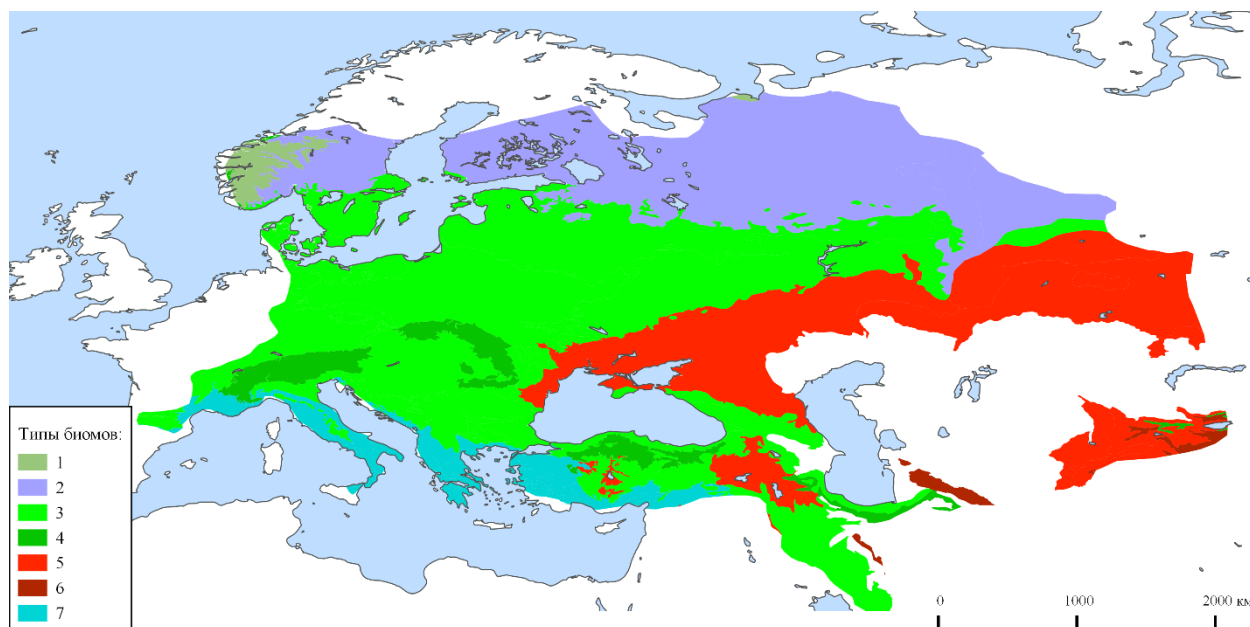


Рисунок 1.3 Биомы, населяемые *P. mnemosyne*: (1) альпийская тундра, (2) тайга, (3) смешанные и лиственные леса, (4) хвойные леса, (5) степи и лесостепи, (6) горные луга и кустарники, (7) средиземноморские леса, редколесья и кустарники.

Личинки *P. mnemosyne* олиготрофны, поэтому во всех случаях, выбор местообитаний бабочек зависит от присутствия кормового растения, разных видов рода хохлатка (*Corydalis*). Для разных частей ареала исследователями было отмечено питание мнемозин разными видами этого рода:

- *C. intermedia* и *C. pumila* (Aagaard, Hanssen, 1989; Franzen, Imby, 2012) - в Швеции и Норвегии;

- *C. solida*, *C. capnoides*, *C. lutea* - в других точках Европы (Татаринов, Долгин, 1999; Aagaard, Hanssen, 1989; Weiss, 1999);

- *C. persica* на Кавказе (А. Крейцберг, цитировано по Вейссу (Weiss, 1999), следующие виды цитированы по тому же источнику);

- *C. fabacea* на Севере;

- *C. sava* в Альпах;

- *C. chionophyla* в Туркмении;
- *C. ledebouriana* и *C. glaucescens* в Центральной Азии.

Трофические предпочтения гусениц мнемозины изучены плохо, и причина выбора того или иного вида хохлатки в биотопах, где произрастают одновременно несколько видов, не ясна до сих пор. Например, в результате многолетних исследований в Европейской части России (Пензенская область) питание гусениц мнемозины было зарегистрировано исключительно на *C. solida*, хотя в тех же биотопах обитают еще *C. marschalliana* и *C. cava* (Полумордвинов, Шибяев, 2007). Вероятно, значимую роль для формирования северных периферических популяций играет прежде всего именно *C. solida* (Bolotov и др., 2013). Исключение составляет маленький участок на крайнем западе ареала, в Западной Фенноскандии, где почти повсеместно распространена *C. intermedia*, а мнемозина представлена единичными локалитетами. В неволе отмечается питание гусениц всеми предлагаемыми видами *Corydalis* (Weiss, 1999).

Кроме того, известны регионы с обильным присутствием одного или нескольких видов хохлаток, в которых мнемозина никогда не селилась – Великобритания, север Франции, Бельгия, Нидерланды, север Норвегии (Weiss, 1999).

Взрослые особи являются полифагами, употребляющими в пищу нектар различных цветковых, в том числе многолетних и медоносных – черемуха обыкновенная *Rodus avium* Mill., чина гороховидная *Lathyrus pisiformis* L., марьянник дубравный *Melampyrum nemorosum* L., подорожник средний *Plantago Media* L., нивяник обыкновенный *Leucanthemum vulgare* Lam., вероника дубравная *Veronica chamaedris* L. и др. (Полумордвинов, Шибяев, 2007).

Мнемозина является ранним видом, лет приходится на конец апреля в наиболее жарких местообитаниях в Азии, и в исключительных случаях, в зависимости от региона и условий года, продолжается до сентября в некоторых горных регионах Европы. И в Европе, и в Азии, оптимальный период для мнемозины это июнь-начало июля, в центральной Европе немного раньше – с середины мая по середину июня (Weiss, 1999). В наиболее северных частях ареала

в Архангельской области (заповедник «Пинежский»; долина реки Сояна) лет имаго продолжается с середины июня по середину августа, 13.VI – 6.VIII (Болотов, 2004; Рыков, 2009).

Белесые яйца, чей размер и количество варьируется в зависимости от популяции, прикреплены к травяной подстилке рядом с поверхностью земли (Freina de, 1994). Мнемозины проводят до 80% своей жизни в стадии яйца (Franzen, Imby, 2012). Чаще всего, гусеница вылупляется к концу зимы, но иногда, выход может произойти осенью, в таких случаях маленькие гусеницы зимуют в спячке. Зрелые гусеницы – матового черного цвета, с полосками от желтого до оранжево-красного цвета по бокам, с маленькими черными наростами-бородавками. Однако, данные характеристики меняются время от времени, существуют популяции с очень светло окрашенными гусеницами с добавочными рисунками. Куколка коричневая, закутана в тонкий белый кокон (Weiss, 1999). Стадия куколки продолжается примерно две недели (Некрутенко, 1990; Татаринев, Долгин, 1999; Коршунов, 2002).

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. В таблице 2.1 представлена информация о музейных образцах, использованных для генетического анализа.

В базе Genbank хранится информация о 168 нуклеотидных последовательностях *P. mnemosyne*, из которых 103 являются последовательностями митохондриального гена *COI*. Некоторые из этих последовательностей были дублированы, так как встречаются у бабочек из разных местообитаний (см. информацию о 228 исходных последовательностях *COI* мнемозины в статье Граттона (Gratton и др., 2008)). Проверив остальные последовательности из базы на наличие указанных координат сбора, в итоговый набор было добавлено по одному гаплотипу из каждой уникальной географической точки, что составило 133 последовательности из Genbank и 27 последовательностей, полученных лабораторно (всего 160 последовательностей из 127 уникальных географических точек, см. приложение 1). Кроме того, в одном из анализов полученные последовательности гена *COI* были дополнены фрагментами последовательностей митохондриальных генов 16S рРНК и *ND1* из

исследования Мишеля и Ребура (Michel, Rebourg, 2008) для соответствующих образцов, позволив покрыть при этом большинство регионов исследования (13 последовательностей, см. приложение 1).

Для моделирования климатической ниши к имеющимся данным были добавлены 139 точек из литературных источников и 2832 точки наблюдений и отловов *P. mnemosyne* после 1950 года из базы GBIF, что составило в совокупности 3130 точек (рисунок 2.1, подробная информация о каждой точке из литературных источников представлена в приложении 2).

Кроме бабочек *P. mnemosyne*, для генетического анализа и исследования структур гениталий были использованы несколько особей близкородственных видов *P. ariadne* и *P. stubbendorfii* из коллекции РМЦБР (этикеточные данные также представлены в таблице 2.1).

2.2. Методы

2.2.1. Выбор молекулярного маркера

Использование локуса, кодирующего первую субъединицу фермента цитохромоксидазы (*COI*) является проверенным способом установления степени родства между близкородственными видами насекомых (Caterino, Sperling, 1999; Farrell, 2001; Lunt, Zhang, 1996; Moran и др., 1999; Sperling и др., 1999; Sperling и др., 1995) и исследования филогеографических процессов (Brower, 1994; DeChaine, Martin, 2004; Vandewoestijne и др., 2004). Фрагмент *COI* длиной около 650 п.н. (Folmer и др., 1994) признан стандартным для использования в ДНК-штрихкодировании беспозвоночных животных и изучении биоразнообразия (Hebert и др., 2003).

Цитохромоксидаза считается одним из наиболее консервативных белков, кодируемых в митохондриальной ДНК у насекомых (Crozier, 1993), поэтому ген *COI*, в контексте теории о нейтральной эволюции (Kimura, 1985), может быть более информативным, чем быстро эволюционирующие последовательности, такие как митохондриальный контрольный регион (Vandewoestijne и др., 2004; Vila, Björklund, 2004).

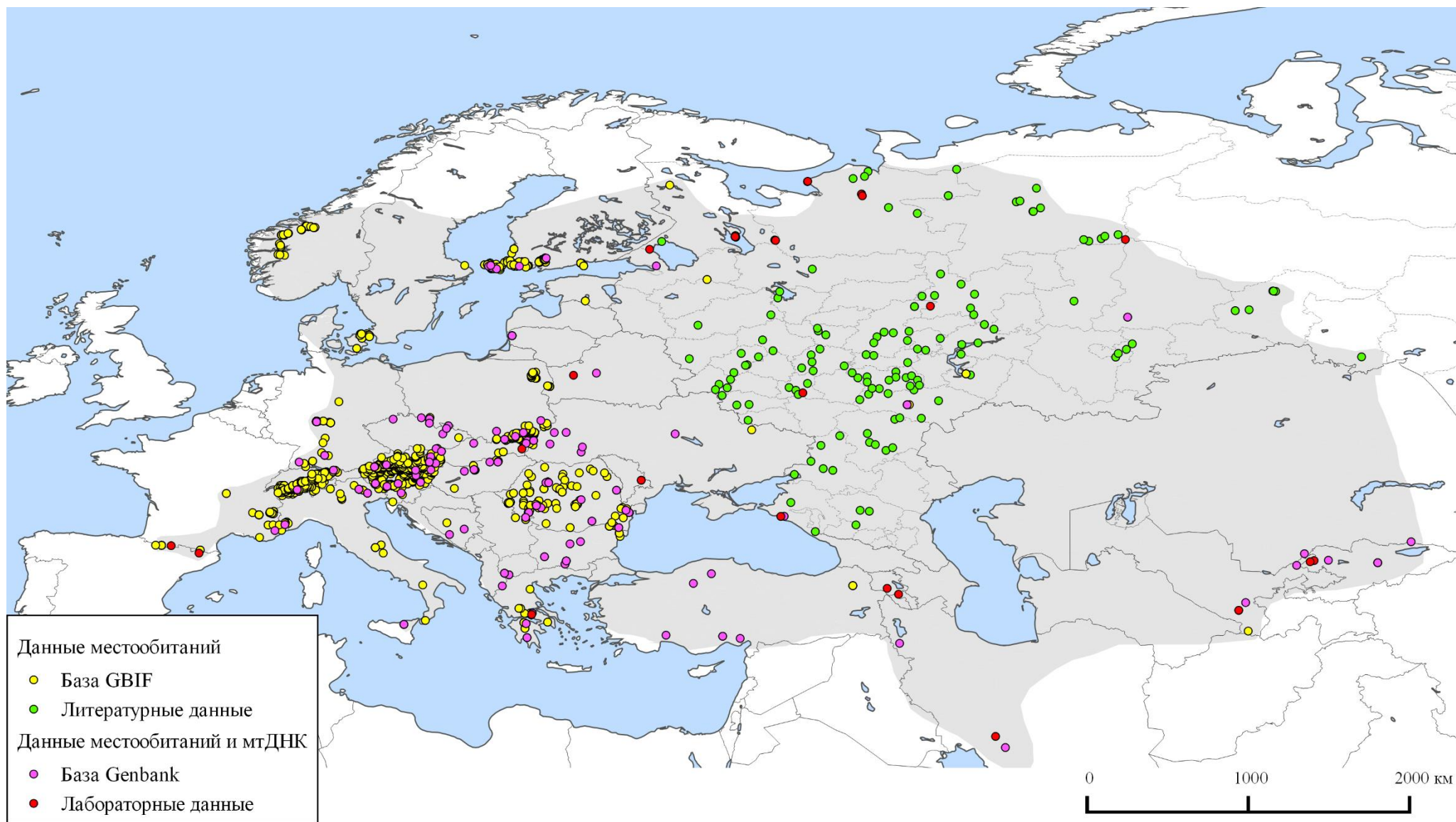


Рисунок 2.1. Основные места сборов материала.

Таблица 2.1.

Список энтомологического материала из Российского музея центров биоразнообразия ФИЦКИА РАН, использованного в исследовании

№	Музейный номер	Страна	Место сбора	Год	Leg.
1	IEPN-0644	Армения	Котайк, Гегадир, 15 км СЗ Еревана	14.05.2012	В. Амбарцумян
2	IEPN-0646-1	Армения	Вайоцзорская обл., пригород Ехегнадзора, 140 км от Еревана, 1400 м	22.05.2009	Ю. Шевнин
3	IEPN-0004-1	Беларусь	Гродненская обл., р. Подъяровка, 5 км восточн. д. Руда Яворская, долина реки	10.06.2012	Рубин, Соболевская
4	IEPN-0004-2	Беларусь	Гродненская обл., р. Подъяровка, 5 км восточн. д. Руда Яворская, долина реки	10.06.2012	Рубин, Соболевская
5	IEPN-0004-3	Беларусь	Гродненская обл., р. Подъяровка, 5 км восточн. д. Руда Яворская, долина реки	10.06.2012	Рубин, Соболевская
6	IEPN-0005-2	Беларусь	Гродненская обл., р. Подъяровка, 5 км восточн. д. Руда Яворская, долина реки	10.06.2012	Рубин, Соболевская
7	IEPN-0005-5	Беларусь	Гродненская обл., р. Подъяровка, 5 км восточн. д. Руда Яворская, долина реки	10.06.2012	Рубин, Соболевская
8	IEPN-0005-6	Беларусь	Гродненская обл., р. Подъяровка, 5 км восточн. д. Руда Яворская, долина реки	10.06.2012	Рубин, Соболевская
9	IEPN-0005-7	Беларусь	Гродненская обл., р. Подъяровка, 5 км восточн. д. Руда Яворская, долина реки	10.06.2012	Рубин, Соболевская
10	IEPN-0327	Франция	В. Пиренеи, нац. парк, 1330 м, поляна в хвойном лесу	26.05.2011	И. Болотов
11	IEPN-0328	Франция	В. Пиренеи, нац. парк, 1330 м, поляна в хвойном лесу	26.05.2011	И. Болотов
12	IEPN-0329	Франция	В. Пиренеи, нац. парк, 1330 м, поляна в хвойном лесу	26.05.2011	И. Болотов
13	IEPN-0330	Франция	В. Пиренеи, нац. парк, 1330 м, поляна в хвойном лесу	26.05.2011	И. Болотов
14	IEPN-0331	Франция	В. Пиренеи, нац. парк, 1330 м, поляна в хвойном лесу	26.05.2011	И. Болотов
15	IEPN-0538	Греция	Центральная Греция, горы Парнас, 8 км Ю от Амфиклиа	04.06.2011	Нет данных

Таблица 2.1. (Продолжение)

16	IEPN-0535-3	Иран	Пров. Кохгилуйе и Бойерахмед, окр. Ясудж, 15 км СВ от Сисахта, 2600 м	05.06.2008	Нет данных
17	IEPN-0540-1	Киргизия	Джал-Абадская область, Чандалашский хр., р. Чакмак-суу, 2800 м	06.07.2012	Нет данных
18	IEPN-0540-2	Киргизия	Джал-Абадская область, Чандалашский хр., р. Чакмак-суу, 2800 м	06.07.2012	Нет данных
19	IEPN-0653-1	Киргизия	Джал-Абадская область, Чаткальский р-н., Чандалашский хр., р. Чакмак-суу	10.06.2012	С. Торопов
20	IEPN-0279	Молдова	Новоаненский район, Гырбовецкий лес	21.05.1995	Нет данных
21	IEPN-0280	Молдова	Новоаненский район, Гырбовецкий лес	30.05.1998	Нет данных
22	IEPN-0282	Молдова	Новоаненский район, Гырбовецкий лес	31.05.1998	Нет данных
23	IEPN-0283	Молдова	Новоаненский район, Гырбовецкий лес	01.06.1998	Нет данных
24	IEPN-0284	Молдова	Новоаненский район, Гырбовецкий лес	02.06.1998	Нет данных
25	IEPN-0221-1	Россия	Архангельская обл., Пинежский Заповедник, Северный лог	01.07.2010	А. Рыков
26	IEPN-0221-2	Россия	Архангельская обл., Пинежский Заповедник, Северный лог	01.07.2010	А. Рыков
27	IEPN-0221-3	Россия	Архангельская обл., Пинежский Заповедник, Северный лог	01.07.2010	А. Рыков
28	IEPN-0221-16	Россия	Архангельская обл., Пинежский Заповедник, Мосеев лог	01.07.2010	А. Рыков
29	IEPN-0221-18	Россия	Архангельская обл., Пинежский Заповедник, Мосеев лог	01.07.2010	А. Рыков
30	IEPN-0221-20	Россия	Архангельская обл., Пинежский Заповедник, Мосеев лог	01.07.2010	А. Рыков
31	IEPN-0285	Россия	Архангельская обл., Зимний берег Белого моря, р. Ерга, руч. Ивовик	16.07.2003	Л. Шошин
32	IEPN-0286	Россия	Архангельская обл., Зимний берег Белого моря, р. Ерга, руч. Ивовик	16.07.2003	Л. Шошин

Таблица 2.1. (Продолжение)

33	IEPN-0321	Россия	Липецкая обл., д. Вербилowo	1992	А. Татаринов
34	IEPN-0326	Россия	Республика Коми, Ю г. Отортен, исток р. Унья	2012	А. Татаринов
35	IEPN-0310	Россия	Нижегородская обл., с. Ошминское	1993	А. Татаринов
36	IEPN-0537-1	Россия	Краснодарская обл., окр. Новороссийска, Маркотхский хр.	23.05.2008	Нет данных
37	IEPN-0537-2	Россия	Краснодарская обл., окр. Новороссийска, Маркотхский хр.	23.05.2008	Нет данных
38	IEPN-0265	Россия	Заонежье, Кижский арх., о. Б. Клименецкий, с. Сенная Губа, ур. Любасельга	06.06.2002	В. Горбач
39	IEPN-0266	Россия	Заонежье, Кижский арх., о. Б. Клименецкий, с. Сенная Губа, ур. Любасельга	08.06.2002	В. Горбач
40	IEPN-0267	Россия	Заонежье, Кижский арх., о. Б. Клименецкий, с. Сенная Губа, д. Мигуры	09.06.2002	В. Горбач
41	IEPN-0268	Россия	Заонежье, Кижский арх., о. Б. Клименецкий, с. Сенная Губа, д. Гарницы	07.06.2002	В. Горбач
42	IEPN-0269	Россия	Заонежье, Кижский арх., о. Б. Клименецкий, с. Сенная Губа, ур. Любасельга	08.06.2002	В. Горбач
43	IEPN-0270	Россия	Заонежье, Кижский арх., о. Б. Клименецкий, с. Сенная Губа, д. Петры	09.06.2002	В. Горбач
44	IEPN-0271	Россия	Заонежье, Кижский арх., о. Б. Клименецкий, с. Сенная Губа	18.06.2003	В. Горбач
45	IEPN-0272	Россия	Заонежье, Кижский арх., о. Б. Клименецкий, с. Сенная Губа, д. Мигуры	09.06.2002	В. Горбач
46	IEPN-0273	Россия	Заонежье, Кижский арх., о. Б. Клименецкий, с. Сенная Губа, д. Гарницы	07.06.2002	В. Горбач
47	IEPN-0274	Россия	Вост. Приладожье, д. Щаниковская, 6 км Ю р. Колода, луг	24.06.2009	В. Горбач
48	IEPN-0275	Россия	Приладожье, о. Кильпола, Хильмала	12.06.2011	В. Горбач
49	IEPN-0276	Россия	Вост. Приладожье, д. Щаниковская, 6 км Ю р. Колода, луг	21.06.2009	В. Горбач

Таблица 2.1. (Окончание)

50	IEPN-0332	Словакия	Кошицкий край, Марескова гора, 1 км от Винианск. оз.	19.05.2011	И. Болотов
51	IEPN-0534	Испания	Вост. Испания, Сердания, Ла Молина, 1200 м	22.06.2006	Нет данных
52	IEPN-0532-2	Узбекистан	Кашкадарьинская обл., 3 Гиссарские горы, р. Кызылсу, с. Калтакол	08.06.2007	Нет данных
53	IEPN-0532-4	Узбекистан	Кашкадарьинская обл., 3 Гиссарские горы, р. Кызылсу, с. Калтакол	08.06.2007	Нет данных
54*	IEPN-525	Россия	Ю. Сибирь, С. Алтайские горы, д. Шебалино, 1000 м	15.06.2011	Нет данных
55*	IEPN-526	Россия	Ю. Сибирь, С. Алтайские горы, д. Шебалино, 1000 м	15.06.2011	Нет данных
56*	IEPN-527	Казахстан	Восточно-Казахстанская область, С оз. Зайсан, Букомбайский хр., д. Бажаман	15.06.2007	Нет данных
57*	IEPN-528	Казахстан	Саурский хр., дер. Земиinei	10.06.2007	Нет данных
58**	IEPN-003.1	Россия	О. Сахалин, окр. пгт Тымовский, слияние р. Адамки и Армуданки, пойменный луг	13.06.2012	И. Болотов

* Образцы особей *P. ariadne*** Образец особи *P. stubbendorfi*

Информативность *COI* позволяет также изучать интраспецифическую структуру (Albrecht и др., 2008; Dincă и др., 2013; Hershler, 2006; Rodrigues и др., 2014), в том числе видов рода *Parnassius* (DeChaine, Martin, 2004; Konopinski, 2008; Todisco, Gratton, 2010; Todisco и др., 2012). В наиболее развернутых исследованиях филогеографической структуры популяций *P. mnemosyne* средняя частота эволюции *COI* была рассчитана для европейских популяций с помощью байесовского подхода, и составила 0.096 замен/млн. лет (Gratton, Sbordoni, 2008). Достоверность топологий филогенетических реконструкций на основе *COI* как европейских, так и собранных на протяжении всего ареала *P. mnemosyne* особей была подтверждена ядерными маркером *EF-1 α* (Gratton, 2006), а также в исследовании филогении рода *Parnassius* с использованием четырех митохондриальных генов (Michel, Rebourg, 2008).

В последние десятилетия появились исследования, подтверждающие значительное увеличение точности филогенетического анализа при использовании всей доступной генетической информации даже при ее сильной фрагментированности, например, если только для части особей в анализе присутствуют последовательности двух и более генов (Jiang и др., 2014; Wiens, 2006). Следуя указаниям из данных источников, для части реконструкций набор последовательностей гена *COI* был дополнен тринадцатью частичными последовательностями генов 16S рРНК и *ND1*, впервые использованными в исследовании Мишеля и Ребура (Michel, Rebourg, 2008).

2.2.2. Выделение ДНК

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. Материал гомогенизировали и затем лизировали в NET-буфере с добавлением 1% SDS и 20 мкл протеиназы К с концентрацией 2мг/мл в течение 4 часов при температуре 54°C. Далее ДНК депротеинизировали равным объемом фенола и смесью фенола и хлороформа, после чего промывали смесью хлороформа и изоамилового спирта (24:1). После

каждой промывки проводилось центрифугирование при 14000 g и 4°C в течение 20 минут. Супернатант с ДНК после этого был отобран в новые пробирки и промыт двумя объемами 96% этанола, охлажден до -20°C и осажден центрифугированием с теми же параметрами. После этого промывали осадок в 80% этаноле, снова осаждали ДНК центрифугированием, сливали супернатант и подсушивали осадок при 37°C около 10 минут. Высушенную ДНК разбавляли в 20 мкл очищенной воды. Концентрация нуклеиновых кислот после этого определялась на спектрофотометре NanoDrop.

Часть проб ДНК была выделена с помощью набора реактивов Diatom DNA Prep 200 (ООО «Лаборатория Изоген», Москва) согласно рекомендациям изготовителя.

Длина выделенных этими методами фрагментов ДНК определялась методом горизонтального электрофореза в агарозном геле с использованием маркера λ DNA *Hind*III. Для визуального наблюдения за ходом электрофореза в лунки геля вместе с пробами наносили краситель бромфеноловый синий (0,03% в 40% сахарозе). Объем красителя в сахарозе, применяемой для утяжеления раствора с целью его успешного нанесения в лунки геля, составлял 2 мкл. Электрофорез проводили, в камере для горизонтального электрофореза (SE-2, Хеликон) в течение 60 мин. при $U \sim 100-120$ вольт и $I \leq 100$ мА.

По окончании электрофореза гель окрашивали водным раствором бромиды этидия (0,5 мкг/мл) в течение 10-15 мин. По истечении 15 мин гель дважды промывали дистиллированной водой, а затем просматривали в ультрафиолетовом свете с длиной волны 312 нм с помощью гельдокументирующей системы E-Box VX2 (Vilber Lourmat). Регистрация результатов анализа проводилась путем фотографирования геля.

2.2.3. Методика ПЦР

Аmplификация ДНК проводилась в ходе полимеразной цепной реакции в стандартном объеме реакции 25 мкл, содержащем 12 пкмоль каждого праймера, 0.7-0.8 единиц термостабильной Taq ДНК полимеразы, 2.5 мкл реакционного буфера, 2.5 мкл раствора Σ dNTP (каждый в концентрации 2ммоль), от 0.5 до 3 мкл

раствора ДНК (в зависимости от определенной концентрации нуклеиновых кислот) и деионизированную воду.

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 (рисунок 2.2 и таблица 2.2) (Lunt, Zhang, 1996; Simon и др., 1994). Объединённый амплифицированный фрагмент в итоге покрывает 1065 п.н. гена *COI* (после обрезки праймеров – 1016 п.н.), обрезая его с позиции 222 по 1285 референсной последовательности *Chorthippus parallelus* (Lunt, Zhang, 1996). Условия проведения реакции были следующими: денатурация при 95° в течение 4 минут, 32-40 амплификационных циклов (95° – 45 сек, 50-54° – 40 сек, 72° – 50 сек), финальная элонгация при 72° в течение 5 мин.

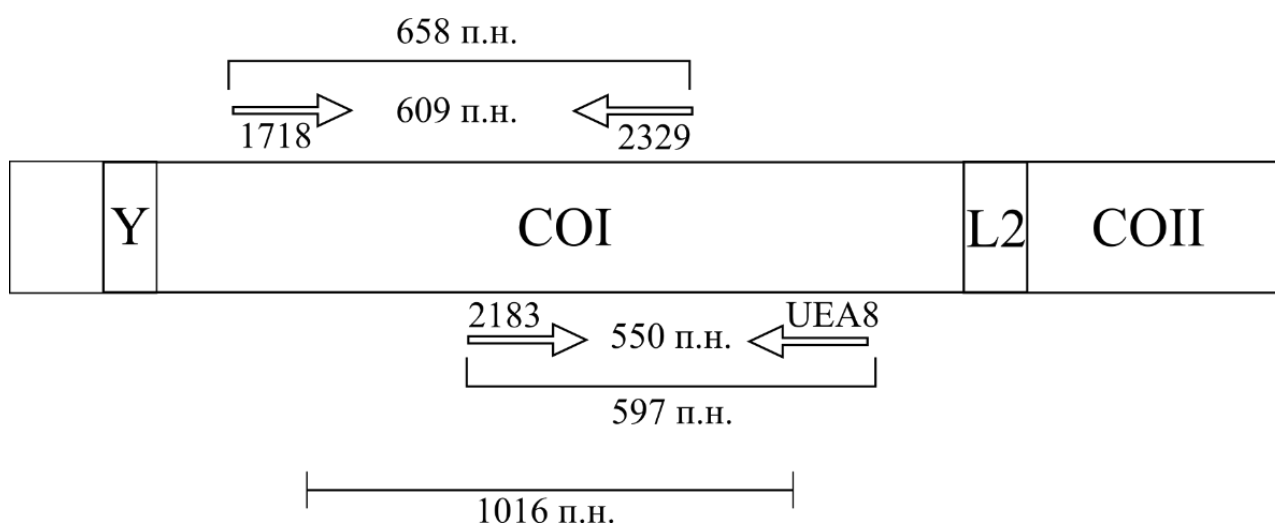


Рисунок 2.2. Схема амплифицированных фрагментов гена *COI* и положение комплиментарных праймеров.

Таблица 2.2.

Использованные праймеры *COI*

Праймер	Последовательность	Источник	Длина амплифицируемого фрагмента
C1-J-1718F	5'-GGA GGA TTT GGA AAT TGA TTA GTT CC-3'	Simon et al. 1994	658 п.н.
C1-N-2329R	3'-ACT GTA AAT ATA TGA TGA GCT CA-5'	Simon et al. 1994	
C1-J-2183F	5'-CAA CAT TTA TTT TGA TTT TTT GG-3'	Simon et al. 1994	597 п.н.
UEA8R	3'-AAA AAT GTT GAG GGA AAA ATG TTA-5'	Lunt et al. 1996	

2.2.4. Подготовка проб к секвенированию

В пробирки 1,5 мл переносили готовый ПЦР-продукт, добавляли 100-200 мкл раствора для переосаждения амплифицированного фрагмента в мягких условиях (ацетат аммония до 125 мМоль, этанола до 70%). Содержимое пробирок перемешивали и оставляли на 20 мин при комнатной температуре. Осадок ДНК формировали центрифугированием (14000 оборотов/мин, +20°C, 20 мин). Надосадочную жидкость удаляли водоструйным насосом, осадок промывали 800 мкл 70% охлажденного этанола. Центрифугировали (14000 оборотов/мин, +20°C, 15 мин), удаляли супернатант, сушили в термостате (10-15 мин. +37°C) до полного высыхания. Осадок растворяли в 10-30 мкл деионизированной воды. Для длительного хранения пробы замораживали при -20°C.

Концентрацию очищенного ПЦР-продукта оценивали путем сравнения интенсивности свечения аликвоты амплификата в ультрафиолете после электрофореза в агарозном геле и окраски бромистым этидием с интенсивностью свечения точно определенных количеств плазмиды pBR 322 (СибЭнзим), линейаризованной рестриктазой *Hind*III (СибЭнзим) в буфере BE-Buffer W B004 (СибЭнзим). В качестве эталонных образцов для сравнения использовали следующие количества линейаризованной плазмиды: 200 нг, 100 нг, 50 нг, 25 нг, 12,5 нг, 6, 25 нг и 3,12 нг. Ход плазмиды в геле около 40 мин, затем в лунки вносили продукт амплификации (2 мкл бромфеноловый синий, 2 мкл деионизированная вода, 2 мкл продукта) и включали на 20 мин.

В чистую среднестенную пробирку объемом 0,5 мл вносили 2 мкл праймера, туда же добавляли переосажденный ПЦР-продукт, рассчитывая нужный объем с конечной массой продукта 15-18 нг. Готовые образцы высушивали в термостате при +65° С.

2.2.5. Чтение и выравнивание сиквенсов

Секвенирование выполняли на базе Межинститутского Центра коллективного пользования «Геном» ИМБ им. В.А. Энгельгардта РАН, при помощи набора реактивов ABI PRISM® BigDye™ Terminator v. 3.1. Анализ продуктов реакции проводили на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 3730 (Applied Biosystems). Полученные попарные риды проверяли на ошибки и ассемблировали в программе BioEdit 7.2.5 (Hall, 1999). Всего было получено 53 последовательности *COI P. mnemosyne* из разных точек ареала (приложение 1), из которых для последующего анализа были отобраны 27 последовательностей, каждая из которых представляла уникальный гаплотип из каждой отдельной точки. К нашим данным были добавлены 133 последовательности *COI P. mnemosyne* из базы NCBI Genbank, имевшие географическую привязку, и отобранные по тому же принципу и 2 последовательности *P. ariadne* для использования в качестве аутгруппы. Выравнивание всего набора данных (162 последовательности) было выполнено с помощью программы ClustalW2 (Larkin и др., 2007) с использованием вычислительной мощности удаленного сервера европейского института биоинформатики EMBL-EBI (<http://ebi.ac.uk>). В общем выравнивании использовались фрагменты *COI* длиной от 600 п.н., длина выравнивания составила 1185 п.н., манипуляций по приведению к минимальной общей длине или удаление неполных последовательностей не проводилось, согласно (Jiang и др., 2014; Wiens, 2006). Длина выравнивания с добавленными последовательностями генов 16S рРНК и *ND1* составила 2183 п.н., средний уровень потерянной информации при этом составил 53.34%.

2.2.6. Анализ генетической изменчивости

Частоты нуклеотидов и значения попарных генетических дистанций (Nei, Kumar, 2000) между последовательностями рассчитывались в программе MEGA6.06 (Tamura и др., 2013).

Для выделения гаплотипов и расчёта уровня полиморфизма, гаплотипического разнообразия, показателя Фу (Fu, 1997), а также проведения теста Таджимы на нейтральность (Tajima, 1989), использована DnaSP 5.10 (Librado, Rozas, 2009).

2.2.7. Филогенетическая реконструкция

Филогенетическая реконструкция проводилась по методу максимального правдоподобия (Felsenstein, 1981) и байесовского вывода (Yang, Rannala, 1997).

Подбор оптимальных параметров для дальнейшего филогенетического анализа и построение филогенетического дерева по методу максимального правдоподобия было выполнено в программе IQ-TREE 1.0.1 (Minh и др., 2013) на сервере Центра интегративной биоинформатики Вены (<http://iqtree.cibiv.univie.ac.at>) с одной тысячей сверхбыстрых (*ultrafast*) бутстрэп генераций, четырьмя гамма категориями и эмпирическими частотами положений нуклеотидов. Выбор модели нуклеотидных замен осуществлялся из 88 моделей с помощью критерия Шварца (байесовский информационный критерий, BIC) (Schwarz, 1978).

Байесовская реконструкция филогении и анализ дивергенции клад во времени проводились в BEAST 2 (Bouckaert и др., 2014) с параметрами эволюционной модели, полученными выше. 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 исследованию Граттона (Gratton и др., 2008). Длина Марковской цепи Монте-Карло равнялась 50 000 000, сэмплинг проводился каждые 1000 репликаций, с 20% финальным отжигом от выборки. Оценка значений сходимости цепей и ESS (эффективных размеров выборки) проводилась в Tracer 1.6 (Rambaut и др., 2014).

Обобщенный смешанный Юл-коалесцентный метод (*Generalized mixed Yule-coalescent*, GMYC) применялся с помощью функции `gmyc` в пакете `splits` (Fujisawa, Barraclough, 2013), при этом было использовано датированное филогенетическое дерево, полученное выше.

2.2.8. Преобразование климатических параметров и тестирование на уровень филогенетического сигнала

Вычисление и анализ параметров климатической ниши для *P. mnemosyne* проводилось с помощью языка программирования для статистической обработки данных R (R Core Team, 2014).

Для биоклиматического моделирования были получены данные 19 биоклиматических переменных BIOCLIM из глобальной базы климатических данных WorldClim (Hijmans и др., 2005) с разрешением 2.5 минут дуги. Набор данных BIOCLIM в последнее десятилетие успешно используется в реконструкции климатической ниши и предсказания ареалов различных организмов (Barnagaud и др., 2012; Booth и др., 2014; Cordellier, Pfenninger, 2009; Hawlitschek и др., 2011; Pearman и др., 2014; Peterson и др., 2005; Yesson, Culham, 2006), в том числе бабочек (Engler и др., 2014; Habel и др., 2010), в том числе аполлонов (Todisco и др., 2012; Zinetti и др., 2013) с высокой достоверностью. Манипуляции со слоями ГИС проводились в программах DIVA-GIS (Hijmans, Guarino, 2001) и Quantum GIS (QGIS Development Team, 2009).

Данные по наблюдениям *P. mnemosyne* были объединены в общую матрицу, и для каждого наблюдения были получены величины каждой из биоклиматических переменных с помощью функций из пакета `raster` (Etten van, Hijmans, 2012).

Размерность полученных данных была уменьшена с помощью метода главных компонент (пакет `ade4`) (Dray, Dufour, 2007). Используемые в дальнейшем анализе главные компоненты (ГК) были выбраны с помощью правила сломанной трости (Jackson, 1993). Преобразованные данные выбранных главных компонент были протестированы на наличие филогенетического сигнала λ (Pagel, 1999) – величины, показывающей степень, с которой структура, наблюдаемая в данных,

может быть объяснена их общей эволюционной историей. Величина $\lambda = 1$ указывает на филогенетическую структуру, ожидаемую под влиянием Броуновского движения (нейтральная эволюция), а $\lambda = 0$ указывает на отсутствие филогенетической структуры в данных. Тестирование на наличие филогенетического сигнала проводилось на выборке из ста случайных филогенетических деревьев, выбранных после отбрасывания первых 20% из 50000 деревьев, полученных с помощью BEAST. Данная выборка в сто деревьев была использована и в последующем анализе.

2.2.9. Реконструкция анцестральной реализованной ниши

Для изучения эволюции анцестральных климатических предпочтений главных клад мнемозины, было проведен расчет анцестрального значения главных компонент и наименее коррелирующих, согласно анализу ГК, биоклиматических переменных на выборке датированных филогенетических деревьев. Для проведения вычислений производился подбор одной из трех доступных моделей эволюции континуальных (количественных) признаков:

- 1) Броуновское движение (BM) – описывает эволюцию признака как процесс случайного блуждания, при котором изменение на каждом временном шаге вычисляется из нормального распределения, с центром в нуле, с дисперсией $= \sigma^2$ (параметр частоты процесса броуновского движения).

Выражается дифференциальным уравнением

$$dX(t) = \sigma dB(t),$$

где $dX(t)$ – величина наименьшего изменения признака X за наименьший интервал времени от t до $t + dt$. Параметр $dB(t)$ является «белым шумом», то есть случайные величины $dB(t)$ независимы и идентичны в нормальном распределении со средним в нуле и дисперсией dt .

- 2) Модель Хансена, описывающая процесс Орнштейна-Уленбека (OU) (Beaulieu и др., 2012; Butler, King, 2004; Hansen, 1997), позволяющий аппроксимировать адаптивную эволюцию. Выражается стохастическим дифференциальным уравнением:

$$dX(t) = \alpha[\theta - X(t)]dt + \sigma dB(t).$$

Модель включает в себя также дополнительные параметры, описывающие один или несколько оптимумов в пространстве признака (θ) и параметр силы отбора (α), который сдерживает дрейф признака в сторону от его оптимума. Этот параметр отбора отражает направление эволюционного процесса, которое может быть стабилизирующим, если, например, анцестральная величина признака клады равна его оптимуму, или дизруптивным, когда несколько оптимумов вынуждают кладу эволюционировать разнонаправленно друг от друга и их общих предков.

- 3) Модель «раннего взрыва» (*Early Burst*, EB) (Freckleton, Harvey, 2006; Harmon и др., 2010) – описывает процесс адаптивной радиации в случае высокой изменчивости признака в ранней истории клады, снижающейся в течении времени (что ограничивает возрастание эволюционных изменений). Также эта модель включает масштабирующий параметр (r), который описывает паттерн уменьшения частоты изменений во времени:

$$r(t) = r_0 \times \exp(a \times t),$$

где r_0 – начальная частота, a – параметр изменения частоты, и t это время.

Наиболее подходящая модель эволюции признаков была выбрана с помощью информационного критерия Акайке (AIC) (Akaike, 1974), модифицированного для выборок небольшого размера (AIC_c) (Hurvich, Tsai, 1989). Подбор модели и реконструкция проводились с помощью пакетов *geiger* (Harmon и др., 2008) и *phylotools* (Revell, 2012) для R.

Возможный анцестральный ареал определялся как область перекрывания полученных значений выбранных климатических переменных для предковых узлов. Схема с основными шагами данного метода представлена на рисунке 2.3. Функции для реализации этих шагов обобщены автором в пакете *recline* (<http://github.com/dissipative/recline>) для R.

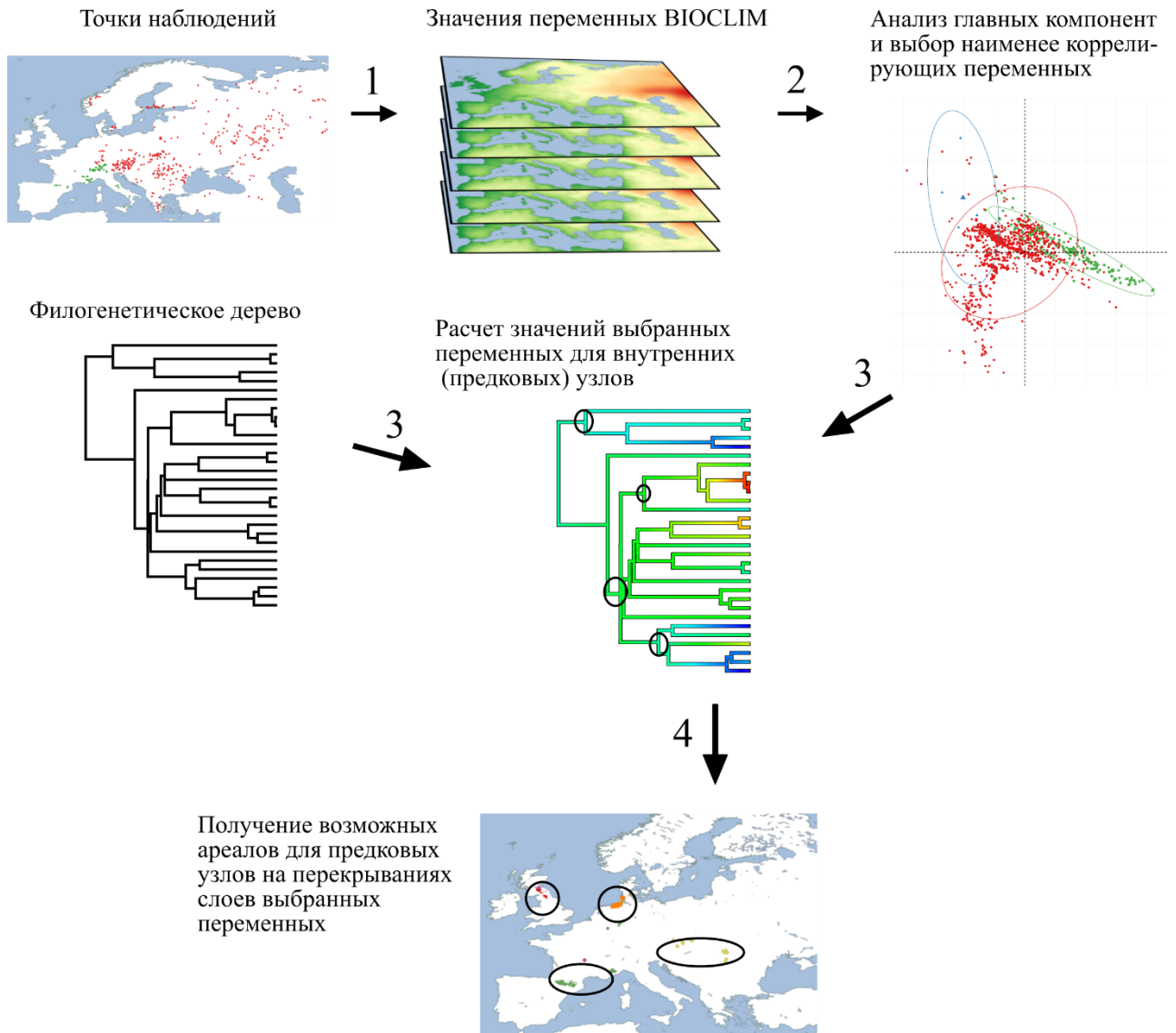


Рисунок 2.3. Схема получения современной и анцестральной реализованной климатической ниши и возможного ареала.

2.2.10. Моделирование климатической ниши и анализ вклада различных факторов в нее

Для моделирования фундаментальной климатической ниши и возможного ареала мнемозины использовались данные биоклиматических переменных, полученные для каждой точки наблюдений (см. выше). Мультиколлинеарность величин переменных устранялась исключением наиболее коррелирующих между собой факторов (значения квадрата коэффициента корреляции Пирсона $R^2 > 0.75$), как было предложено в работе Хабела (Habel и др., 2010).

Учитывая, что различные возможности для наблюдений/отловов для разных областей могут дать ложные сигналы климатических предпочтений (Phillips и др., 2006), данные были редуцированы с помощью применения пространственного фильтра для выбора случайного местообитания в каждой ячейке карты размером 0.5×0.5 градусов, используя для этого функцию `gridSample` из пакета `DISMO` (Hijmans и др., 2014) для R.

Моделирование ниши и определение потенциального ареала проводилось с помощью метода максимальной энтропии (Phillips и др., 2004), реализованного в программе `MAXENT 3.3.3k` (www.cs.princeton.edu/~schapire/maxent) (Phillips и др., 2006) с параметрами, установленными по умолчанию, и отключенными функциями “hinge” для увеличения точности прогноза (Austin, 2007). Метод максимальной энтропии принадлежит к подмножеству техник машинного обучения и является на данный момент самым используемым в моделировании ареалов и экологических ниш.

Моделирование проводилось как для всего ареала мнемозины в целом, так и с разбивкой на группы, соответствующие возможной принадлежности бабочек к двум высокодивергентным линиям (кладам), включающим наибольшее количество точек (Gratton, 2006). В каждом анализе было создано 30 моделей с 1000 максимальных итераций в каждой, качество моделей оценивалось с помощью ROC-кривых (кривых рабочих характеристик приёмника) и значений площади под кривой (AUC). Относительная важность вклада каждой переменной оценивалась значениями «складного ножа» (*jackknife*) в течение последовательного удаления переменных. Пороговые значения между подходящими и неподходящими условиями среды в полученных моделях определялись по значению логистического вывода, находящегося выше 10% точек с наименьшими значениями в процессе тренировки модели (*10 percentile training presence logistic threshold*) (Liu и др., 2005; Liu и др., 2013).

Для статистического анализа результатов моделирования использована программа `ENMTools` (Warren и др., 2010). Пространственное перекрытие ниш измерялось при помощи статистических показателей

Шенера (Shoener's) D и I (Schoener, 1968), полученными на основе расстояния Хеллингера (Warren и др., 2008).

Кроме этого, применялись два теста на статистические гипотезы, включенные в ENMTools. Первый из них – тест на идентичность ниш (*identity test*), позволяющий определить, имеют ли результаты моделирования ниш для двух таксонов (в данном случае митохондриальных линий) статистически значимую разницу. Суть теста заключается в объединении данных двух популяций в общую выборку. Допуская, что популяции взаимозаменяемы в пространстве ниши, выборки случайным образом перемешиваются, и из них формируется две новых выборки исходного размера. Повторяя этот процесс многократно, генерируются псевдорепликации, которые сравниваются позже с пространственным перекрытием ниш (см. выше). Чем меньше перекрытие ниш в сравнении с результатами псевдорепликаций, тем более значима разница между нишами двух сравниваемых популяций. Второй – фоновый тест (*background test*) на проверку нулевой гипотезы о том, что разница климатических ниш двух аллопатричных таксонов может быть объяснена характеристиками среды их обитания. То есть, выяснялось, похожи ли две популяции больше или меньше ожидаемого в фоновых значениях факторов среды их обитания. При проведении теста случайные точки наблюдений одного таксона сравниваются со случайно выбранными в пределах ареала другого таксона точками («фоновыми»), для них строятся модели ниши и сравниваются. Тест проводится в две стороны и наиболее подходит для сравнения ниш двух аллопатрических таксонов. Если пространственное перекрытие ниш значительно выше (или ниже) тестовых значений, то гипотеза о схожести моделей ниш на основании одинаковых значений факторов среды отвергается (Porch, 2010). Фоновые значения были получены с помощью случайного выбора точек внутри полигона, описывающего возможный ареал изучаемой группы, построенного с помощью Quantum GIS (QGIS Development Team, 2009) и пакета raster (Etten van, Hijmans, 2012) для R.

Полученные модели были также спроецированы на слои биоклиматических переменных, содержащие симулированные условия, соответствующие

последнему ледниковому максимуму (генеральная климатическая модель CCSM) и последнему межледниковью (~120 000 – 140 000 лет назад, Otto-Bliesner, 2006), что позволило определить возможный ареал мнемозины в прошлом.

Для прогнозирования изменения ареала в ближайшем будущем, использовались различные сценарии изменения климата при изменении содержания парниковых газов в атмосфере (Репрезентативные пути концентрации) RCP2.6 и RCP8.5, предложенные Межправительственной группой экспертов по изменению климата (IPCC), и названные по возможному диапазону значений радиационного воздействия в 2100 году относительно доиндустриальных значений (2.6 и 8.5 Вт/м², соответственно) (Moss и др., 2008; Weuyant и др., 2000) для 2050 (средние значения для 2041-2060) и 2070 (среднее для 2061-2080) годов. Данные значений биоклиматических переменных с разрешением 2.5 минуты дуги, спрогнозированные для этих сценариев, были получены с веб-сайта <http://worldclim.org>.

2.2.11. Изучение морфологических структур

Препарирование гениталий осуществляли по традиционной методике вывариванием в 10%-ном растворе КОН в течение 20 минут. После тщательного промывания от щелочи и мацерированных тканей, гениталии в расправленном дорсальном виде сохраняли в виде постоянных микропрепаратов с помощью фиксатора “Histofluid”. В процессе подготовки препаратов были сделаны фотографии вентрального и латерального вида гениталий в первоначальном виде, после этого структуры были расправлены. Изображения гениталий получены с помощью стереоскопических микроскопов Leica M165C и Carl Zeiss AxioScope A1. Изображения внешнего вида бабочек получены с помощью цифровой зеркальной фотокамеры Canon EOS 500D. Последующая обработка цифровых изображений проводилась в программе GIMP 2.8.

ГЛАВА 3. МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АНАЛИЗ И КРИПТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ

3.1. Изменчивость гена *COI*

Первичный анализ выравнивания исследуемых участков гена *COI* не выявил делеций и вставок у *P. mnemosyne*. Для 36 из 53 особей удалось получить одновременно два перекрывающихся фрагмента *COI* общей длиной 1016 п.н., для 6 из изучаемых бабочек удалось амплифицировать и получить последовательности только с помощью пары праймеров C1-J-2183F/UEA8R (сиквенсы до 550 п.н.), и для 2 бабочек удалось получить только фрагмент, амплифицируемый праймерами C1-J-1718F/C1-N-2329R (до 609 п.н.). Успешность выделения ДНК и последующего ПЦР насекомых зависит как от условий хранения материала, так и возраста, с увеличением которого ДНК значительно фрагментируется (Konopinski, 2008; Michel, Rebourg, 2008; Omoto и др., 2004).

После попарного сравнения, идентичные последовательности для каждого места отлова были удалены. Короткие (т.е. в случае получения только одного фрагмента гена для образца) последовательности в таком случае сравнивались с длинными на перекрывающемся фрагменте, и при совпадении также удалялись. После добавления последовательностей из Genbank, общее выравнивание было проанализировано на изменчивость. Нуклеотидный состав сиквенсов показал сильное смещение в сторону аденина и тимина (A/T), что характерно для митохондриальных геномов насекомых (Simon и др., 1994). Были получены следующие частоты нуклеотидов, A: 0.3145 ± 0.002 , T: 0.4054 ± 0.004 , G: 0.1414 ± 0.003 и C: 0.1387 ± 0.004 . Эти данные не расходятся больше чем на 1 процент с результатами, полученными ранее (Gratton, 2006).

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. Значение теста Таджимы на нейтральность (Tajima, 1989) $D = -1.7561$, $0.10 > P > 0.05$ не отвергает гипотезу о селективной нейтральности. Статистический показатель Фу (Fu, 1997) $F_s = -32.83$, $P < 0.001$ и показатель Рамоса-Онсиса и Розаса (Ramos-Onsins, Rozas, 2002) $R_2 = 0.036$, $P = 0.023$ обнаруживают сигнал демографической экспансии в прошлом.

Исследуемый участок гена кодирует 394 аминокислоты в составе первой субъединицы белка цитохром *c*-оксидазы. В 160 сиквенсах было обнаружено 16 мутаций, приводящих к изменениям в аминокислотных последовательностях (12.12% из общего количества полиморфных сайтов).

Для оценки полиморфизма нуклеотидных последовательностей попарно были рассчитаны значения генетических дистанций (Nei, Kumar, 2000). Сравнение показало высокий уровень полиморфизма для некоторых последовательностей, уровень дистанций варьировался в пределах до 5.2 % в случае сравнений некоторых экземпляров из географически удаленных местообитаний (Франции и Ирана) друг с другом (FRANCE01 и IRAN03) и до 2.1% при сравнении разных экземпляров из близких точек (на территории Турции) друг с другом (например, TURK03 и TURK06), при этом при сравнении уровня дистанций в отдельных позициях кодирующих кодонов, наибольшее количество отличий зафиксировано в третьей позиции, но в этой позиции их значения существенно ниже (до 1.56 %) (рисунок 3.1). Высокая доля замен в третьей позиции кодонов, учитывая вырожденность генетического кода по отношению к нему, говорит в пользу консервативности большинства мутаций и нейтральной эволюции выбранного маркера.

Как известно, вид *P. mnemosyne* сформирован тремя генетически удаленными друг от друга кладами, и различия между ними в некоторых случаях превышают отметку в 2.7%, которая считается пороговым значением для разделения видов животных в методике ДНК-штрихкодирования с помощью гена *COI* (Hebert и др., 2003). Высокий уровень дистанций у *P. mnemosyne* является одной из причин появления гипотез о принадлежности выявленных клад к

различным криптическим видам, однако высокие значения интраспецифических дистанций гена *COI* характерны для многих видов организмов, что служит поводом для продолжающихся дискуссий (Baker и др., 2003; Casiraghi и др., 2010; Kvist, 2013; Mwabvu и др., 2013).

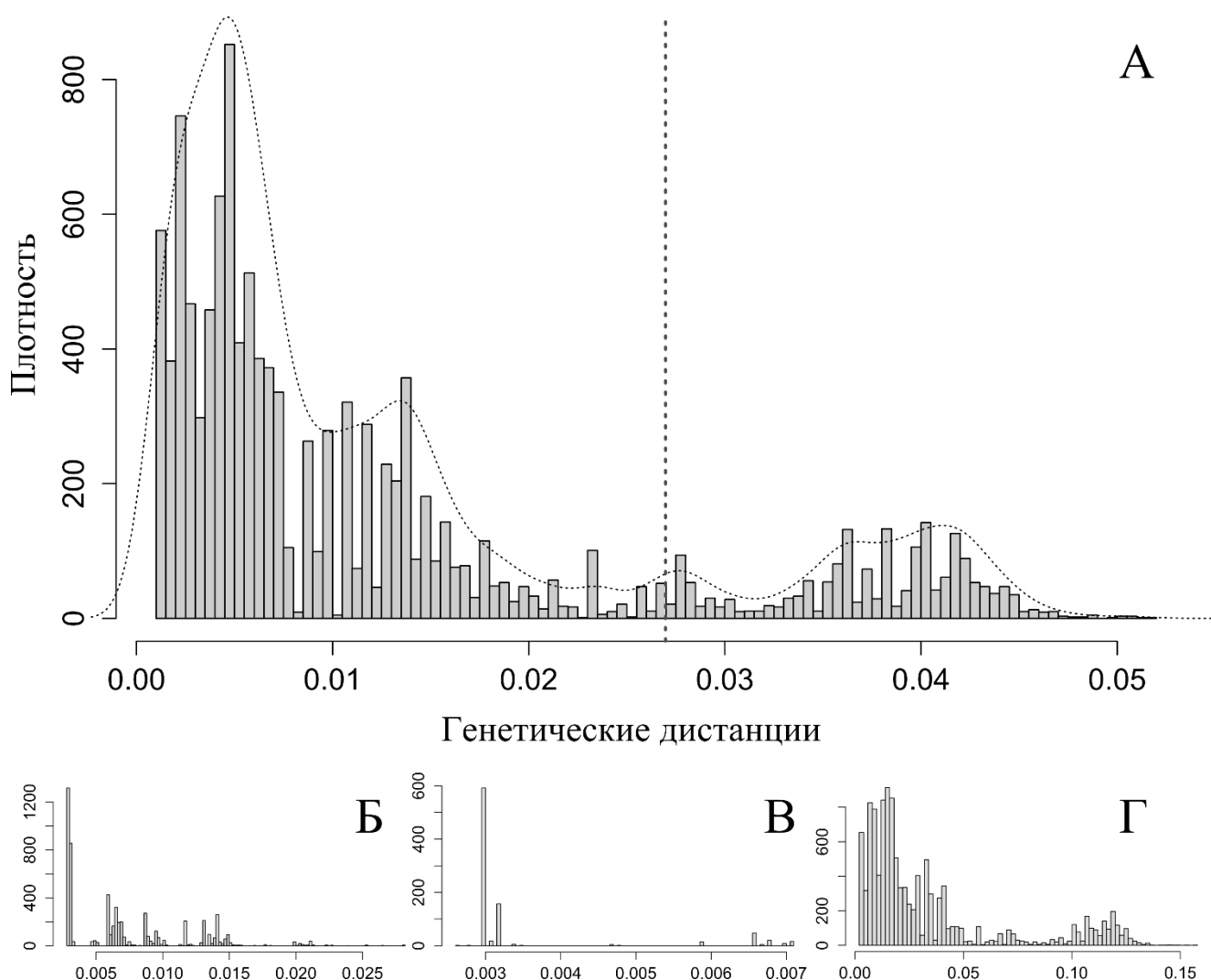


Рисунок 3.1. Гистограммы плотности значений попарных генетических дистанций исследованного участка гена *COI* для 160 последовательностей *P. mnetosune* с использованием всех позиций нуклеотидов в кодоне (А), только первой позиции (Б), только второй позиции (В), и только третьей позиции (Г). Стандартная позиция «межвидового порога», равная 2.7 % показана на диаграмме А прерывистой линией.

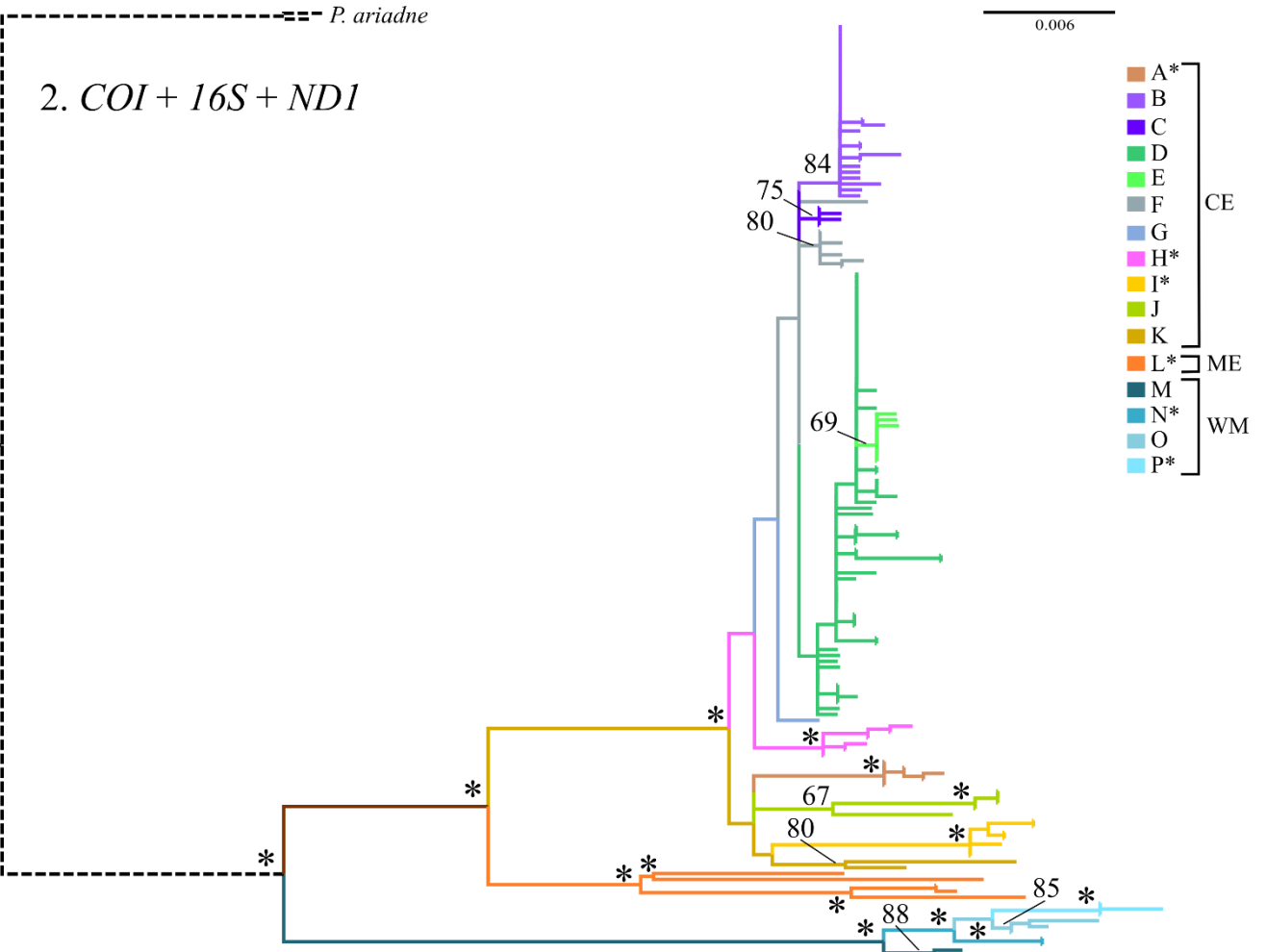
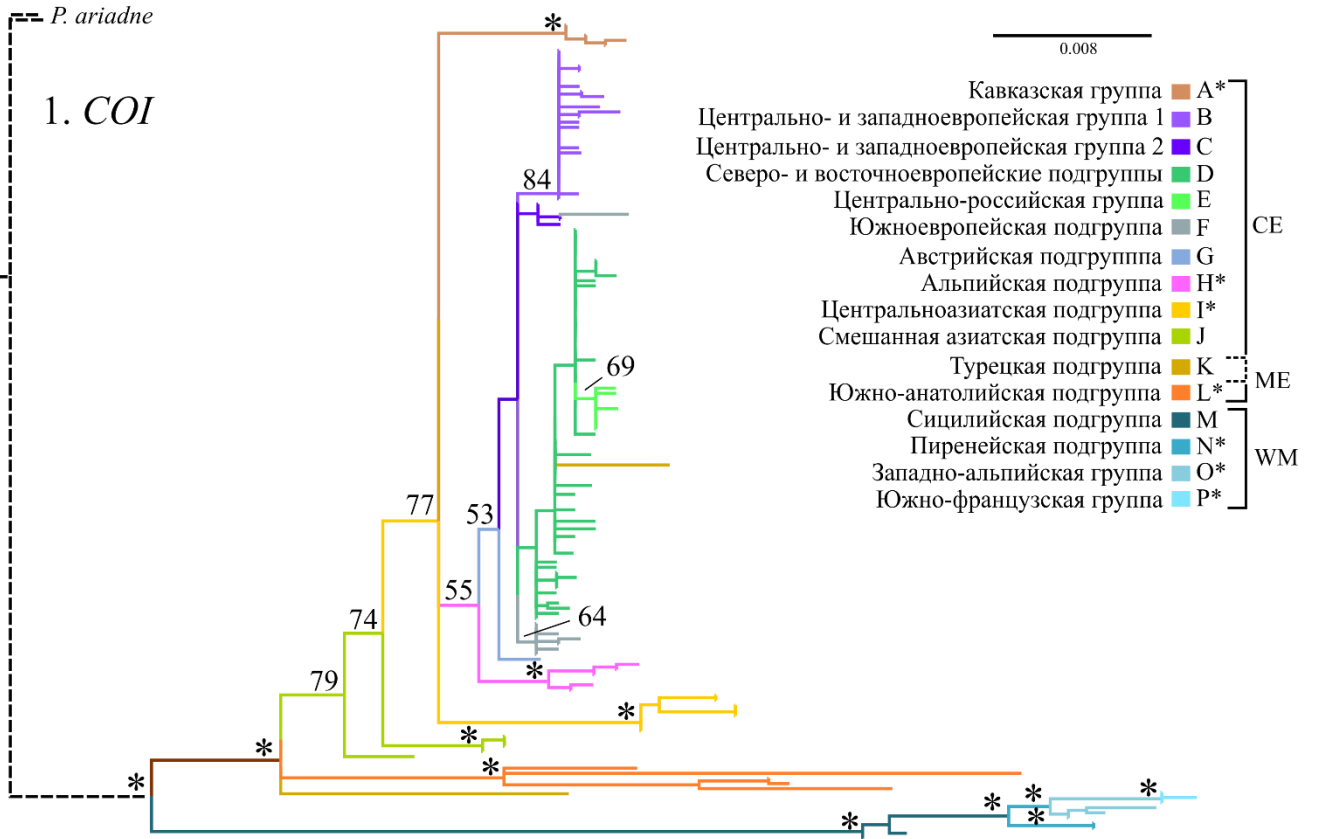
3.2. Результаты филогенетического анализа

Для получения наиболее достоверных результатов, анализ филогении мнемозины был проведен четырьмя разными способами: методом максимального правдоподобия отдельно для последовательностей гена *COI* (1) и совокупности последовательностей *COI* + 16S рРНК + *ND1* (2), байесовским методом для *COI* (3) и совокупности генов *COI* + 16S рРНК + *ND1* (4). Результаты анализов 1 и 2 представлены в виде филогенетических деревьев на рисунке 3.2, анализа 4 - на рисунке 3.4. Результат анализа 3 не показан, но участвует в дальнейшем обсуждении. Метод байесовского вывода включает в себя молекулярную датировку дерева, подробно обсуждаемую в разделе 3.3. На рисунке 3.3 показана карта с местами отловов бабочек, принадлежащих к разным группам сиквенсов в соответствии с цветами, использованными для обозначений на полученных деревьях.

Несмотря на высокую долю отсутствующей информации для последовательностей 16S рРНК и *ND1*, анализы 2 и 4 имеют в целом бóльшую статистическую поддержку крупных клад, и большее разрешение деревьев по сравнению с анализами на основе одного гена.

Все полученные филогенетические деревья подтверждают ранее определенные три крупных клады (или эволюционных единицы): центральноазиатско-европейскую СЕ, ближневосточную МЕ (или южно-анатолийскую) и западно-средиземноморскую WM.

Рисунок 3.2. 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. mnemosyne*, выделенные в предыдущих исследованиях – СЕ, МЕ и WM. Числа над ветвями обозначают значения бутстрэп поддержки > 50 %, звездочками указаны значения > 90 %.



В каждой из этих крупных клад также можно выделить ряд небольших монофилетичных (в большей части анализов) географически связанных групп последовательностей, а также несколько отдельных сиквенсов, не вошедших ни в одну такую группу. Всего выделено 16 таких групп, обозначенных на рисунках латинскими буквами от А до Р и разными цветами.

3.2.1 Клада СЕ

Включает в себя наибольшее количество групп - 11.

Базальная часть кластера представлена группами А, I, J, К, бабочки из которых обитают в Малой и Средней Азии и на Кавказе.

Группа А образована последовательностями, собранными на территории российского Кавказа и Армении. Во всех анализах имеет высокие поддержки 97 - 100%, говорящие о четкой монофилетичности. Внутри разделяется на две подгруппы – образованную только из армянских и только из российских последовательностей. В анализе 2 объединена в один мета-кластер со средне- и центральноазиатскими подгруппами – I, J, К, который, однако, статистически малодостоверен (< 50%). В других анализах в порядке ветвления находится рядом с данными группами, но не образует общей клады.

Центральноазиатская группа I также характеризуется достоверной монофилетичностью во всех анализах (99 – 100%). Образована последовательностями бабочек из Киргизии, Казахстана и Узбекистана. Внутри разделена на три подгруппы, внутри которых, однако, не усматривается филогеографическая закономерность.

В смешанную азиатскую подгруппу J входят главным образом сиквенсы из Узбекистана, разбавленные одной Иранской и одной Турецкой последовательностями. При этом, во всех анализах клада строго монофилетична при исключении Турецкой последовательности TURK03 (98 – 100%), и имеет меньший уровень поддержки при включении ее в анализах 2 и 4 (67 – 88%). В анализах по одному локусу (*COI*) данная последовательность не входит в общий кластер, но базальна по отношению к нему, и на этом основании «близости» включена в группу.

Группа К состоит из двух Турецких сиквенсов (TURK05 и TURK06) небольшой длины (*COI*: 614 п.н.), в анализах 1 и 3 не образующих общего кластера. При добавлении последовательностей дополнительных участков ДНК, группа кластеризуется монофилетично в анализе 2 (поддержка 80%) или последовательности в ней занимают базальную позицию один по отношению к другому (анализ 4). При этом, группа оказывается сестринской либо к кластеру А, либо кластеру I (образуя клады с низкой достоверностью < 50%). Таким образом, топология этих двух последовательностей остается неразрешенной окончательно. В анализе 1 последовательность TURK05 оказывается наиболее близкой к группе L, что говорит о возможной близости и с кладой ME.

Остальные группы данной клады по географическому положению условно можно разделить на западноевропейские В, С, G, H и восточноевропейские D, E, F (подобное разделение предложено и в работе, посвященной филогеографии европейских мнемозин – Gratton и др., 2008)

Группа В имеет 84% поддержки в анализах по методу максимального правдоподобия, и 97 – 98% в байесовских. Состоит из образцов, собранных на территории Германии, Австрии, Северной Италии, Польши, Венгрии и Финляндии (Аландские острова). Близкое распространение имеет ее сестринская группа С (Австрия, Словения, Италия, см. рисунок 3.3), также монофилетичная во всех анализах (75-96% поддержки).

Базальной по отношению к этим двум группам и всем остальным европейским мнемозинам является монофилетичная группа H (96 – 100%), представляющая сборы из северо-восточных Альп. Группа G представлена всего одним дивергентным сиквенсом, собранным в горной местности на территории западной Австрии.

Самой многочисленной по сборам и разрозненной по структуре является группа D – в нее входят последовательности, собранные на территории от Румынии и Польши на юге и западе, до Финляндии и России на севере и востоке.

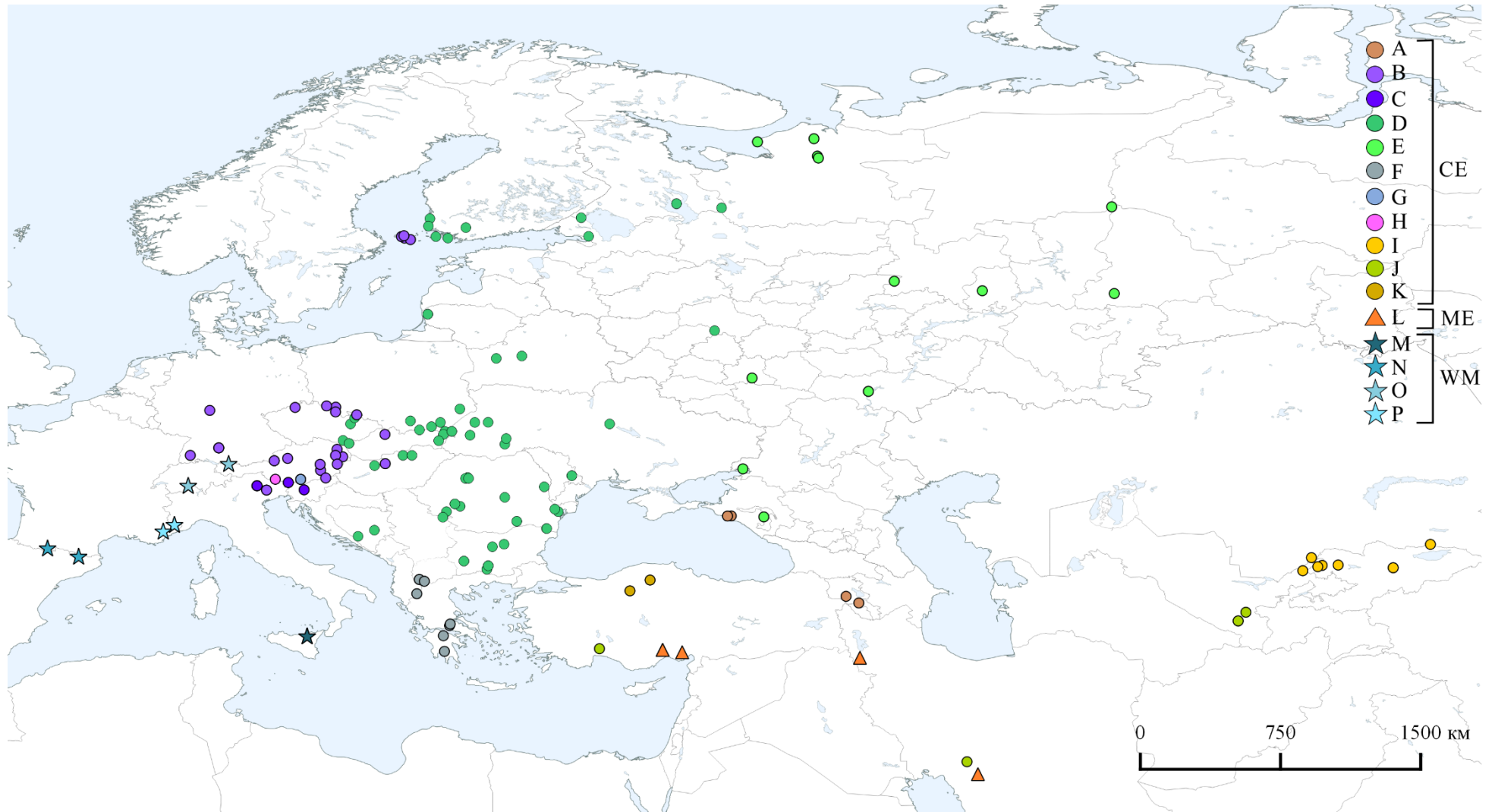


Рисунок 3.3. Карта точек сбора исследованных образцов генетического материала *P. mnemosyne*. Разными геометрическими формами показаны местообитания дивергентных клад мнемозины. Цвета точек соответствуют цветам групп сиквенсов на рис. 3.2. и 3.4.

По результатам анализа 2 – группа монофилетичная, но не имеет достоверной поддержки; по результатам других анализов, некоторые последовательности могут быть как исключены из группы, так и наоборот, добавлены в нее. Так, в анализе 1 в группу входит «кочующий» сиквенс TURK05, а в анализе 4 из нее исключены центральноевропейские образцы CZECH03 и SLOVAK03.

Группа E выделена внутри предыдущей, как самая крупная из монофилетичных и единственная с достаточно высоким уровнем поддержки (69 – 83%). В нее входят последовательности из центральной России (Саратовская, Оренбургская, Нижегородская области), а также с восточной (Урал) и северной границы распространения – Архангельской области и Республики Коми. По количеству замен, гаплотипы, включенные в этот узел, наиболее близки к украинским и восточно-европейским образцам.

Южноевропейский кластер F не является монофилетичным во всех проведенных анализах: базальная последовательность GREECE04, подобно нескольким рассмотренным ранее, занимает разное положение на дереве в зависимости от использованного метода. В анализах по методу максимального правдоподобия сиквенс занимает отдельное положение в группе C либо обособленно от других групп, в байесовских – занимает базальную позицию относительно других южноевропейских образцов, однако сама клада имеет низкий уровень поддержки. При исключении данной последовательности группа монофилетична (64 – 93%).

3.2.2 Клада ME

Среди южноанатолийских мнемозин наиболее сильно выражена неоднородность, индикатором чего служат высокие длины ветвей в этой части деревьев. В данной кладе выделена одна группа – L, подтверждаемая на высоком уровне во всех анализах (96 – 100% поддержки). При этом в анализе 1 к группе наиболее близок сиквенс TURK05 из группы K, не включенный в нее по результатам других исследований. Внутри клады L можно выделить два кластера, турецкий и иранский, последовательности в которых имеют также высокое

количество отличий друг от друга. Однако, из-за небольшой выборки образцов и больших отличий между ними, отдельные группы в кладе выделены не были.

3.2.3. Клада WM

Западно-средиземноморская клада имеет наибольшее количество отличий от двух других и включает в себя 4 географических группы, две из которых монофилетичны во всех четырех анализах.

Сицилийская группа М является базальной для всей клады, монофилетична во всех анализах, кроме первого (88 – 100% поддержки). Данная группа представляет типичный пример островной изоляции. Пиренейская группа N имеет поддержки 98 – 100% и населяет западную границу ареала клады и мнемозины как вида.

Группа O распространена в западных Альпах и предположительно может гибридизовываться с бабочками из клады SE, что подтверждается анализом генотипов ядерного гена *EF-1 α* (Gratton, 2006). Монофилетична во всех анализах, кроме четвертого (78 – 97%). Южно-французский кластер P подтверждается во всех анализах с самым высоким уровнем поддержки (100%).

3.3. Анализ молекулярных часов и обсуждение филогении

Филогенетическая реконструкция по методу байесовского вывода во многом подтвердила топологию деревьев, полученных с помощью максимального правдоподобия. Оценка возраста событий, произошедших в эволюционной истории *P. mnemosyne* проводилась с использованием мутационной частоты гена *COI*, зависимой от времени, равной 0.096 заменам/млн лет (Gratton и др., 2008) и калибровочной точки, определенной по времени жизни последнего общего предка центральноевропейских мнемозин в 65 тыс. лет назад на филогенетическом дереве, построенном на основе последовательностей митохондриальных генов *COI*, *16S* рРНК и *ND1*. Результат молекулярной датировки времени основания разных групп мнемозины представлен в таблице 3.1.

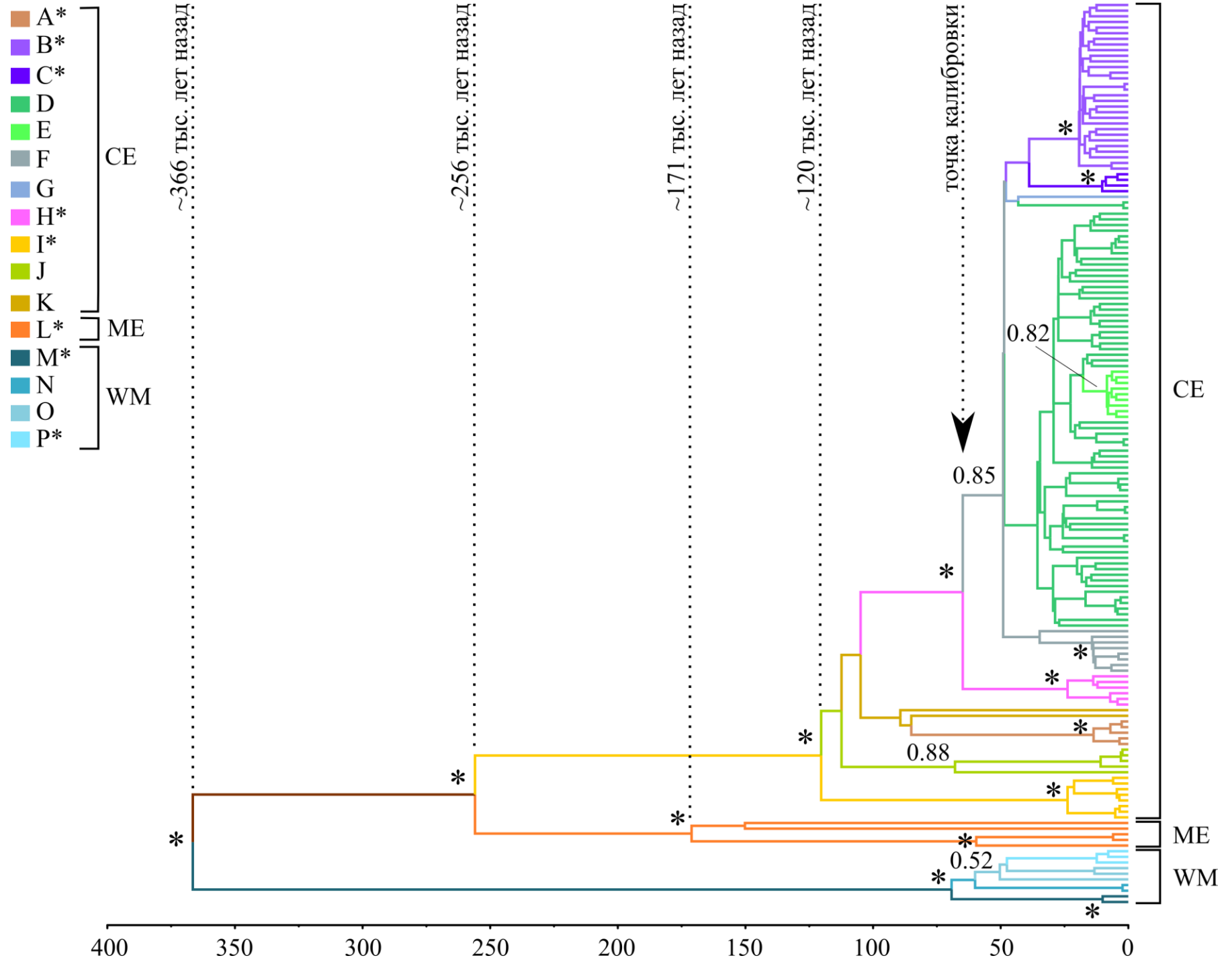
Таблица 3.1.

Байесовские датировки времени существования последних общих предков главных кластеров *P. mnetosyne*, 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.			
CE	Все	75.3	172.9	124.1	ME	Все	98.1	254.5	176.3	
	A	2.7	27.8	15.25						
	B	9	31.3	20.15		WM	Все	34.8	111.4	73.1
	C	1.3	20	10.65			M	0.5	24.7	12.6
	D	24.4	51.1	37.75			N	0	7.3	3.65
	E	1.9	12.7	7.3			O	17	68.8	42.9
	F	9.1	41.3	25.2			P	2.3	25.3	13.8
	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			

Возраст последнего общего предка всех популяций мнемозины оценен нами в 376.9 тыс. лет назад (с 95% доверительным интервалом 227.8 – 526 тыс. лет; далее в скобках после датировок – аналогично), что является наименьшей оценкой из всех предложенных ранее (1.5 – 2 млн. лет назад по Граттону (Gratton, 2006); 2.3 – 10.1 млн. лет назад по Мишелю и Ребуру (Michel, Rebourg, 2008)). Однако, французские авторы признают возможность того, что их датировки могут быть завышены, применяя разные временные шкалы.

Рисунок 3.4. Датированное филогенетическое дерево, полученное с помощью программы BEAST. Цвета обозначают подгруппы сиквенсов (см. рис. 3.2 и приложение 1). Цифры в узлах равны значениям байесовских постериорных вероятностей > 0.5, звездочками (*) отмечены значения > 0.9.



3.3.1. Клада WM

Кластер WM был изолирован от других линий мнемозины раньше всех, около 377 тыс. лет назад. Судя по всему, это случилось вскоре после отделения мнемозины от сестринского вида – *P. ariadne*. Время жизни последнего общего предка западно-средиземноморской клады при этом составило около 73 тыс. лет назад, что говорит о сравнительно недавнем, по сравнению с первой датой, бутылочном горлышке, сквозь которое прошли предки этих популяций. Учитывая современный ареал *P. ariadne*, который включает горные хребты Алтая, восточного Казахстана и северо-западного Китая, предполагается, что центром происхождения мнемозины являются горные системы Центральной Азии (Gratton, 2006; Katoh и др., 2005; Michel, Rebourg, 2008; Omoto и др., 2004), где могло произойти и ранее расхождение ее митохондриальных линий. После этого, из-за последовавшего в позднем плейстоцене сокращения генофонда, длинный промежуток эволюционной истории клады остается невыясненным. 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). На основе этого можно сделать вывод о том, что 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.

3.3.2. Клада ME

Согласно полученным оценкам, расхождение центральноазиатско-европейской и ближневосточной линий произошло в районе 256 (157 – 370) тыс. лет назад, через сто тысяч лет после дивергенции с западно-средиземноморской линией. После этого, общий предок клады ME жил около 176 тыс. лет назад. Данная линия образована крайне вариативными последовательностями, что может быть вызвано скрытым разнообразием, до сих пор малоизученным из-за малодоступности сборов в населенных этими бабочками регионах. Так, при дальнейшем разделении клады, два иранских сиквенса имели общего предка между собой около 134 (75 – 215) тыс. лет назад, а турецкие – 59 (14 – 116) тыс. лет назад. 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 и исследование процессов возможной гибридизации между ними также представляет научный интерес.

3.3.3. Клада SE

Детальное исследование истории центрально- и восточноевропейских линий мнемозины с результатами, близкими к полученным нами, приводится в статье Граттона с соавторами (Gratton и др., 2008). Далее обсуждается эволюционная история среднеазиатских и российских групп данной клады, малоизученных ранее.

Основатель самой крупной клады, объединяющей бабочек из центральной Азии и Европы, обитал по полученным оценкам, около 124 (75.3

– 172.9) тыс. лет назад, что можно отнести ко времени Эемского (Микулинского) межледниковья (128 – 117 тыс. лет назад). 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. В данный момент большинство из популяций, представленных в этом регионе, обитают в условиях высотной поясности (от 1500 до 3000 м над у.м.) (Weiss, 1999), также обуславливающей увеличение количества отличий. На основе базального положения центральноазиатских групп на дереве клады СЕ, можно предположить, что последний общий предок всего кластера обитал в данном регионе, и заселение Европы мнемозиной происходило в конце Эемского межледниковья и позднее, в коротких межледниковьях вюрма. При этом, вероятнее всего, подходящие территории Европы могли быть заселены в то время бабочками из протокластеров WM и СЕ.

Полученные данные свидетельствуют о том, что на территории центральной России предки современных популяций мнемозины появились только после окончания оледенения, в раннем голоцене, о чем говорит низкая изменчивость последовательностей *COI* и оценка времени жизни общего предка в 6.4 (1.9 – 12.7) тыс. лет назад для центрально- и северно-российских особей (группа Е), и 5.7 – 4.6 тыс. лет назад для особей из Республики Карелия и Ленинградской области, принадлежащих к двум кластерам внутри североевропейской клады. При этом для всех североевропейских мнемозин этот показатель равен около 16 (6.2 – 27) тыс. лет назад. 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 Е и расселение вместе с популяциями, обитающими в северной Европе и Прибалтике (Финляндия, Литва, Эстония) для образцов, собранных в

Республике Карелия. При этом стоит отметить, что последовательность *COI*, полученная из одной из бабочек, пойманных в Архангельской области на Зимнем берегу Белого моря (RUSSIA03) всего на одну замену отличается как от центрально-российских, так и от карельских сиквенсов. Однако, одна последовательность может быть результатом погрешности выборки, и для определения точных миграционных путей северных популяций необходимо проведение дополнительных исследований. Третья группа, встречающаяся на территории России, в южной ее части, входит в кавказскую группу А, объединяющую бабочек с территориями северного Кавказа и Армении. Их общий предок жил, согласно расчетам, также в начале голоцена, примерно 12 тыс. лет назад (2.7-27 тыс. лет).

3.4. Анализ криптического разнообразия

В разделе 3.1 была определена величина генетической дистанции, используемая, в некоторых случаях, в качестве порогового критерия при видовой дифференциации. Однако, существует другой подход к определению видов-двойников с использованием одиночного молекулярного маркера, который состоит в выявлении переключения типа ветвления датированного филогенетического дерева с Юловского процесса видообразования (Yule, 1925) на процесс популяционной коалесценции (Kingman, 1982). Применяя метод GMYC, нами было определено изменение типа ветвления датированного дерева мнемозины в точке -0.1161 (=116.1 тыс. лет назад). Согласно этому порогу выделено три таксономических группы внутри *P. mnemosyne*, которые соответствуют трем крупным кладам, описанным выше и эволюционным единицам, выделенным Граттоном (Gratton, 2006).

В ходе данного анализа, сиквенс IRAN03 не вошел ни в одну группу, так как его дивергенция с ближайшими родственными последовательностями произошла до порога, определенного алгоритмом и теоретически может представлять собой четвертый криптический вид (рис. 3.5). Однако, данные, основанные на выборке в одну последовательность не представляют значимой ценности и в дальнейшем обсуждении не участвуют.

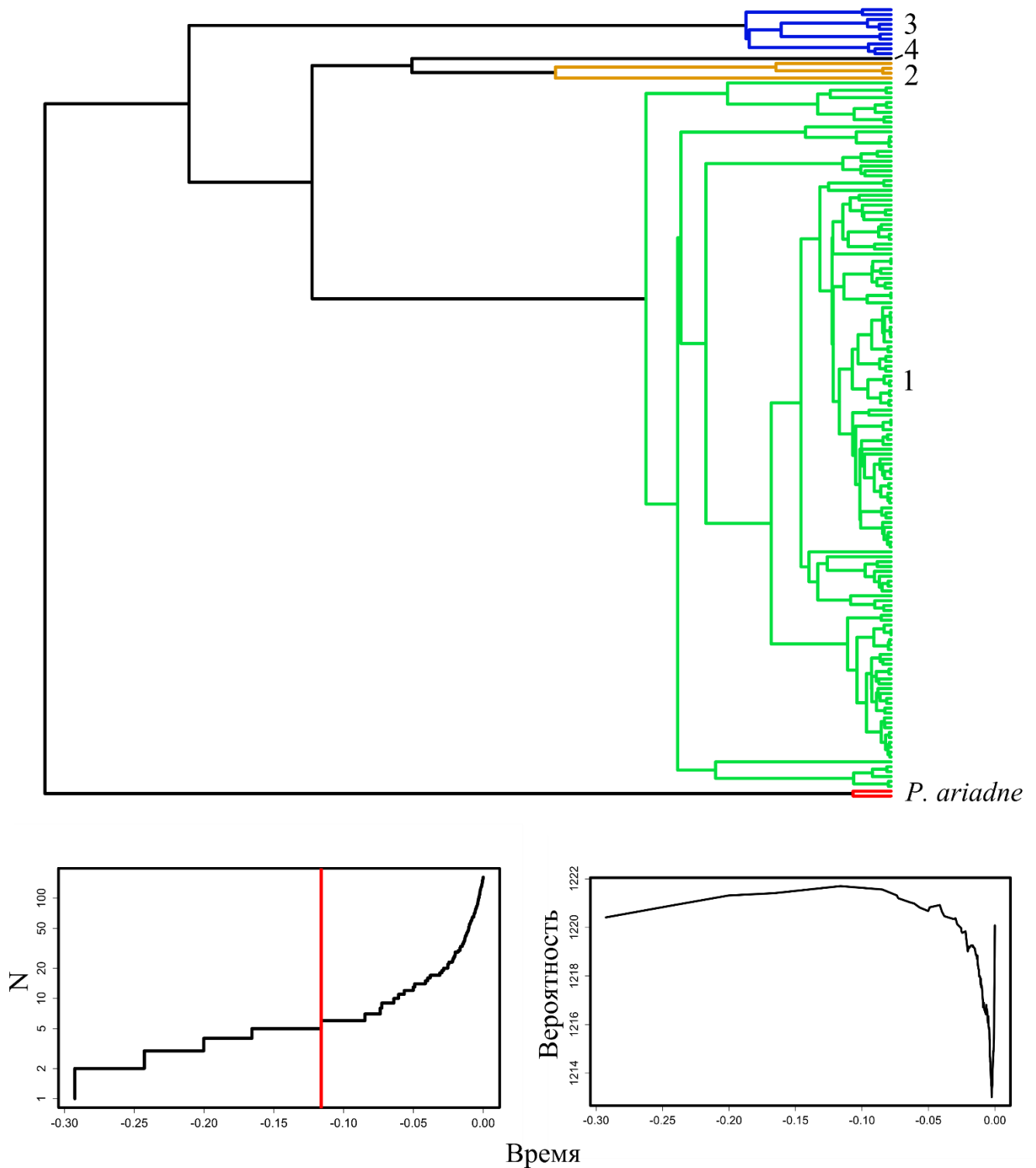


Рисунок 3.5. Результат применения метода GMYC к полученному филогенетическому дереву. Разными цветами на дендрограмме показаны возможные виды. (1) соответствует центральноазиатско-европейской кладе (CE), (2) – среднеазиатской кладе (ME) (частично), (3) – западно-средиземноморской кладе (WM), (4) – отдельный сиквенс IRAN03. Внизу представлены графики изменения количества таксонов и функции вероятности во времени.

Имея доступ к музейным образцам особей, принадлежащих к двум удаленным на генетическом и географическом уровнях группам мнемозин (из клады WM – с Пиренейского полуострова, из клады SE – из Восточной Европы, более подробная информация в таблице 2.1), а также к особям двух ближайших видов *P. ariadne* и *P. stubbendorffii*, были получены изображения гениталий самцов для сравнения морфологических структур (рисунок 3.6). Визуальный анализ выявил сходство большинства деталей строения гениталий мнемозин из разных местообитаний. При этом, наблюдалось несколько малозначимых отличий, главным из которых было различие в строении края вальвы: у бабочек из клады WM присутствует вырост на ее вершине, рядом с каудальным отростком, не обнаруженный ни у одной из изученных особей из клады SE (отображено стрелками на рисунке 3.6).

Кроме этого, бабочки из первой группы характеризуются большим углом изгиба эдеагуса; выпрямленный эдеагус обнаружен кроме мнемозин клады SE у других изученных видов аполлонов – ариадны и Штуббендорфа. Однако, эти два вида имеют сильные отличия от мнемозины в другом аспекте строения – у особей из обеих клад WM и SE форма вальвы наиболее широкая, тупоконическая, по виду ближе к равнобедренному треугольнику, в то время как вальва ариадны намного уже; самая же узкая она у аполлона Штуббендорфа, симметрично приплюснутая с каудального и костального краев.

Таким образом, относительно малое количество различий (вырост у вершины вальвы и угол сгиба эдеагуса) и значительное сходство в структурах гениталий самцов ставит под сомнение возможность возникновения затруднений при спаривании мнемозин, относящихся к разным филогенетическим кладам. Возникшие различия в нуклеотидных последовательностях объясняются тысячами лет изолированной эволюции, в ходе которой шло накопление случайных мутаций в геноме бабочек, но не происходило прямого дизруптивного действия факторов на морфологические параметры.

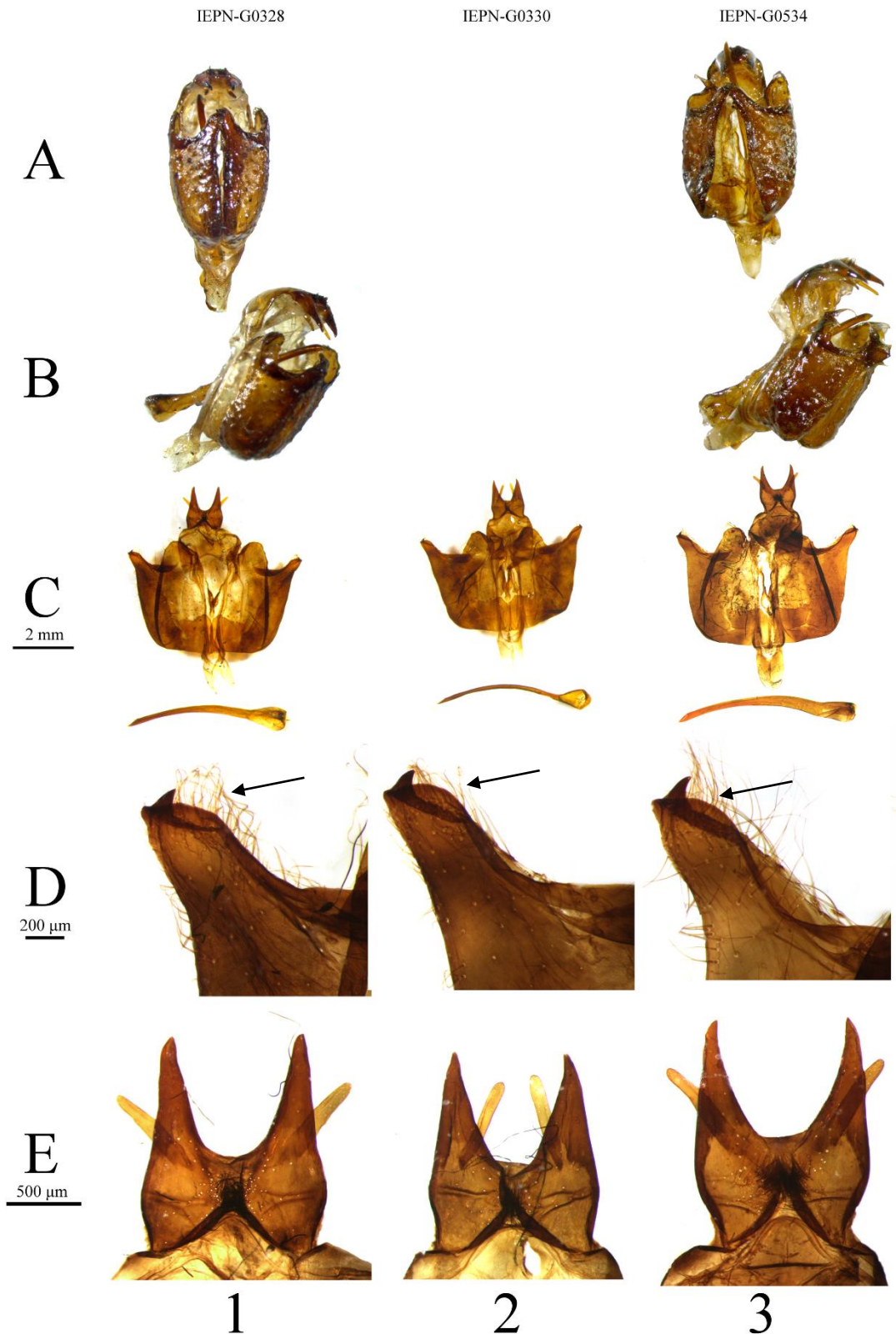


Рисунок 3.6. Микропрепараты гениталий самцов особей *P. mnemosyne* и близкородственных видов. Обозначения: А – общий вид снизу, В – общий вид сбоку, С – вид сверху и эдеагус (отдельно), D – часть вальвы (стрелками показаны наличие/отсутствие выроста, отличающего кладу мнемозины), E – тегумен и ункус, вид сверху, увеличенный. Цифры: 1-3: особи, принадлежащие к западно-средиземноморской группе (WM), 4-6: особи из центральноазиатско-европейкой группы (CE), 7-8: особи *P. ariadne*, 9: особь *P. stubbendorffi*.

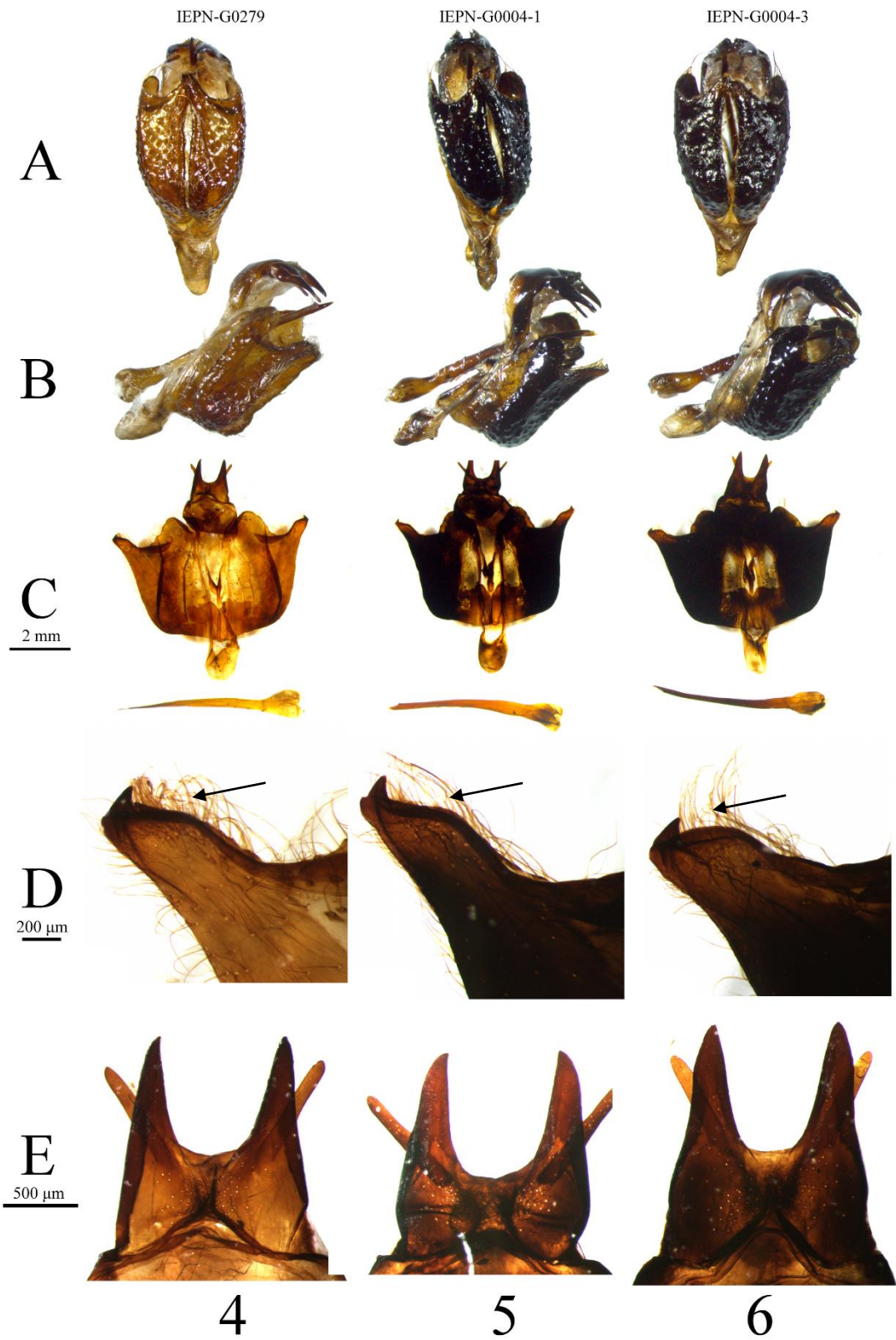


Рисунок 3.6. Продолжение.

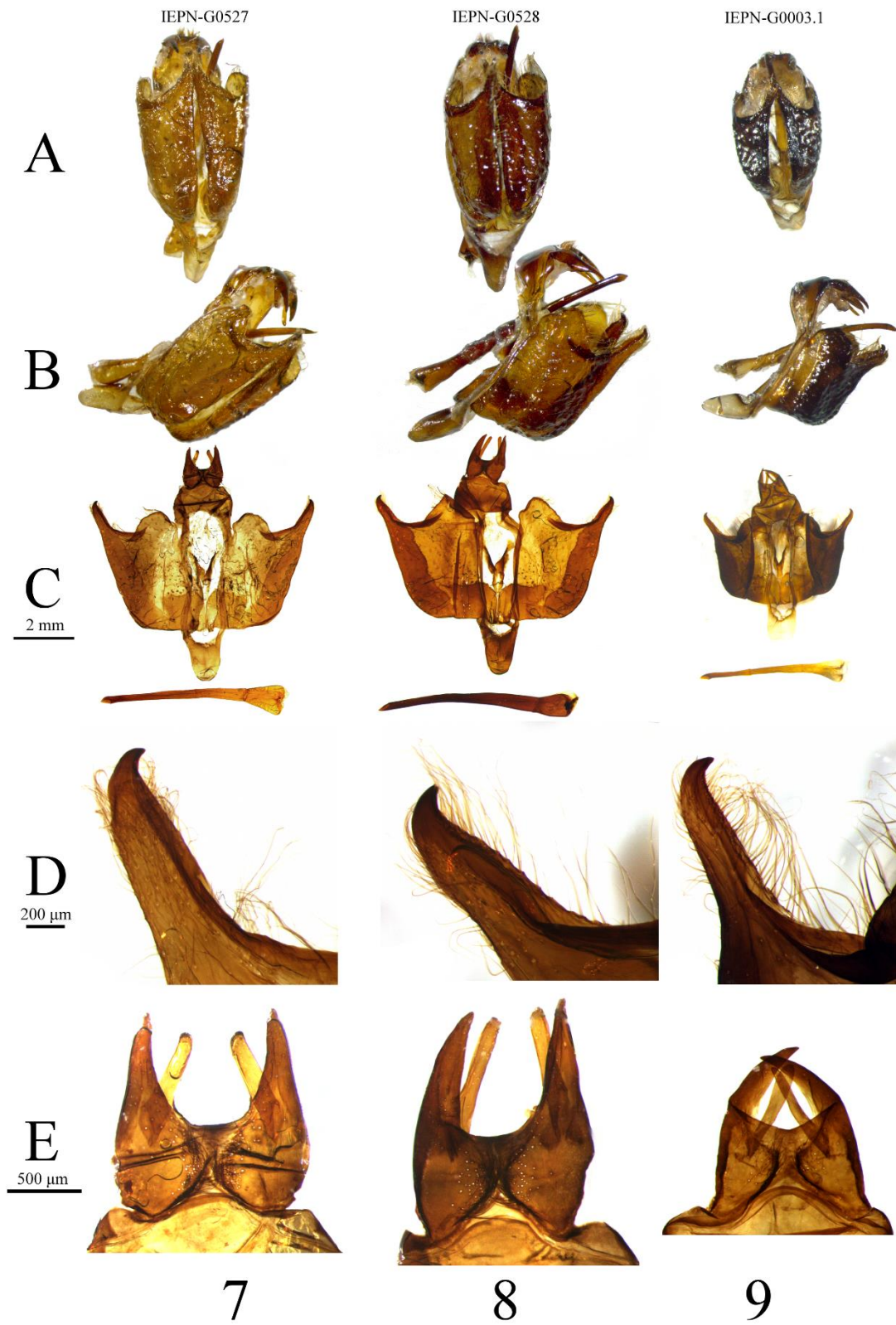


Рисунок 3.6. Продолжение.

Однако, для таксономических целей, мы считаем, что необходимо как увеличить выборку изучаемого материала (особенно для дивергентных особей из Ирана и Турции) для получения статистически значимых результатов анализа комплексных морфологических структур, так и использовать расширенные методы анализа, например, изучение полногеномных последовательностей и процессов гибридизации между представителями удаленных популяций в лабораторных условиях.

3.5. Основные выводы к главе 3

Таким образом, на данном этапе исследования были 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 могут гибридизовываться только на ограниченной территории. Величины дистанций между последовательностями митохондриального маркера *COI* и результаты применения метода GMYC говорят в пользу выделения этих трех кластеров как отдельных видов, однако морфологические характеристики (изученные гениталии самцов бабочек) в двух кладах не имеют глубоких отличий, как например у *P. mnemosyne* и *P. ariadne*.

Установлено, что виду *P. mnemosyne* около 377 тыс. лет, и, хотя данная оценка меньше предложенных ранее, она согласуется с определенной до этого частотой эволюции маркера *COI* и климатическими событиями плейстоцена-голоцена. Также определено, что три крупных митохондриальных кластера мнемозины состоят из 16 более мелких групп, каждой из которых соответствует определенная область ареала. На территории России генетическое разнообразие мнемозины представлено тремя такими дивергентными группами, заселившими современный ареал в течение голоцена.

ГЛАВА 4. СТРУКТУРА И ЭВОЛЮЦИЯ РЕАЛИЗОВАННОЙ КЛИМАТИЧЕСКОЙ НИШИ

4.1. Квантификация реализованной климатической ниши

Для квантификации реализованной климатической ниши мнемозины использовались 19 слоев переменных BIOCLIM (коды и расшифровка для каждой переменной см. в таблице 4.1) и информация о пространственном положении 3130 точек местообитаний бабочек. Каждая точка была использована для получения информации о климатических факторах и высоте над у.м., точки с неполной информации удалялись, оставив в результате 3112 наблюдений.

Таблица 4.1. Переменные BIOCLIM

Код	Биоклиматический параметр
BIO1	Средняя годовая температура
BIO2	Средняя суточная амплитуда температуры за каждый месяц
BIO3	Изотермичность (BIO1/BIO7) * 100
BIO4	Стандартное отклонение температур
BIO5	Максимальная температура самого тёплого месяца года
BIO6	Минимальная температура самого холодного месяца года
BIO7	Годовая амплитуда температуры (BIO5-BIO6)
BIO8	Средняя температура самой влажной четверти года
BIO9	Средняя температура самой сухой четверти года
BIO10	Средняя температура самой тёплой четверти года
BIO11	Средняя температура самой холодной четверти года
BIO12	Годовая сумма осадков
BIO13	Сумма осадков в самом влажном месяце года
BIO14	Сумма осадков в самом сухом месяце года
BIO15	Коэффициент вариации осадков
BIO16	Сумма осадков во влажной четверти года
BIO17	Сумма осадков в сухой четверти года
BIO18	Сумма осадков в самой тёплой четверти года
BIO19	Сумма осадков в самой холодной четверти года

Общая совокупность точек была разбита на три группы по принципу разделения на три главные митохондриальные клады (раздел 3.2):

- в группу ME включены точки, попадающие в соответствующий кластер по генетическим данным (так как группы ME и SE симпатричны и различаются только проверкой последовательностей мтДНК);
- в группу WM включены точки соответствующей клады по результатам филогенетического анализа и точки местообитаний, лежащие в предположительном ареале бабочек данной клады. Граница в восточных Альпах, где может происходить перекрытие ареала с кластером SE уточнялась также по картам из исследования Граттона (Gratton, 2006) (рисунок 4.1);
- в группу SE вошли все остальные точки местообитаний, лежащие внутри предполагаемого ареала бабочек данной клады.

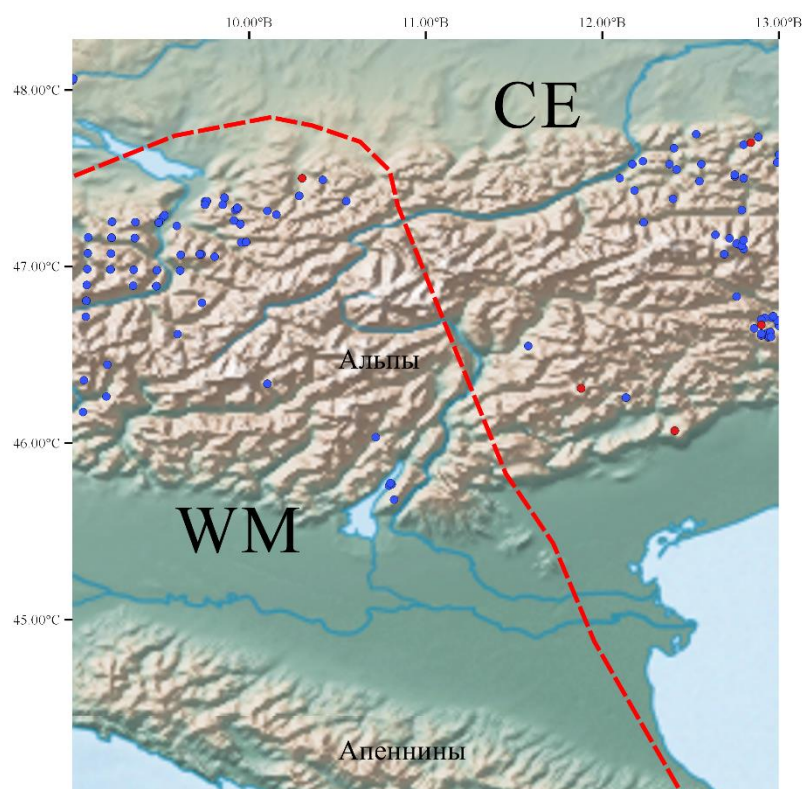


Рисунок 4.1. Предполагаемая граница между ареалами кластеров SE и WM, использованная в исследовании. Синим цветом отмечены точки наблюдений и отловов, красным – точки с доступной генетической информацией.

Метод главных компонент был использован для преобразования 20-мерного (BIOCLIM + высота над у.м.) факторного пространства ниши. Применяя правило «сломанной трости», были выбраны главные компоненты, несущие наибольшую долю информации (полезный сигнал) о климатической нише: главная компонента 1 (ГК1) – 53.6% дисперсии, ГК2 – 21.3%, ГК3 – 11.8% (рис. 4.2). Доля информации, заключенной в первых трех ГК, использованных для дальнейшего анализа, составила 86.7%. Вклад использованных переменных в первые три оси ГК показан в таблице (матрица нагрузок) 4.2. На диаграмме 4.4 (часть 3) отображен общий вклад переменных в анализ.

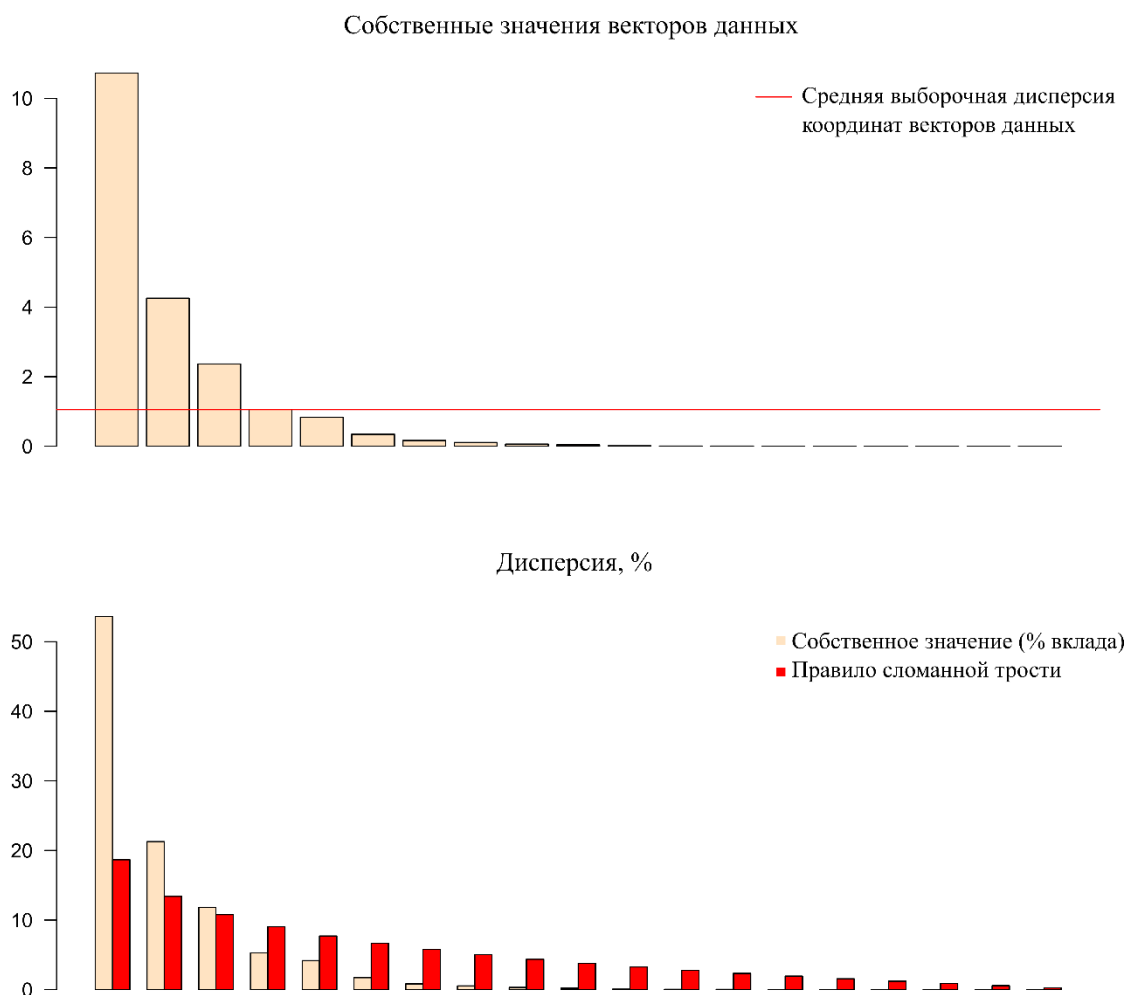


Рисунок 4.2. Собственные значения векторов данных и валидация значимых осей ГК с помощью правила сломанной трости. На оси X – главные компоненты 1-19.

Таким образом, в самую важную ГК1 наибольший вклад внесли в положительной части – переменные, отвечающие за температуру, в отрицательной – переменные, отвечающие за осадки. При этом наиболее скорелированными между собой оказались значения температур теплой части года (ВІО10, ВІО5) и амплитуда (ВІО7, ВІО4) для отрицательной части, и осадки для холодной и сухой части года (ВІО19, ВІО14, ВІО17), а также годовая сумма осадков (ВІО12) для положительной части. В первые три оси анализа ГК, кроме перечисленных факторов, значительный вклад внесли также переменные, перечисленные в порядке убывания вклада: относящиеся к осадкам ВІО11, ВІО16, ВІО13, ВІО18; к температуре ВІО1, ВІО6. В итоге, 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 значений первых трех осей ГК среди точек на карте показано на рисунке 4.3.

Таблица 4.2. Матрица нагрузок анализа главных компонент

Переменная	ГК1	ГК2	ГК3
ВІО1	-0.2047	-0.34375	-0.01986
ВІО2	-0.14711	-0.19898	-0.42116
ВІО3	0.073611	-0.39234	-0.24323
ВІО4	-0.22617	0.261182	-0.16683
ВІО5	-0.27113	-0.15198	-0.14496
ВІО6	-0.0115	-0.44652	0.189909
ВІО7	-0.23767	0.1714	-0.26279
ВІО8	-0.19836	-0.05419	-0.30565
ВІО9	-0.01367	-0.31871	0.31618
ВІО10	-0.27669	-0.149	-0.07682
ВІО11	-0.04616	-0.46111	0.121227
ВІО12	0.292145	-0.05475	-0.14176
ВІО13	0.257308	-0.09377	-0.29618
ВІО14	0.290353	-0.02012	-0.05218
ВІО15	-0.19025	-0.03392	-0.24275
ВІО16	0.258026	-0.09486	-0.29735
ВІО17	0.291593	-0.02637	-0.04877
ВІО18	0.236693	-0.05905	-0.36517
ВІО19	0.282644	-0.04658	0.036271
Высота над у.м.	0.268254	0.014594	-0.0137

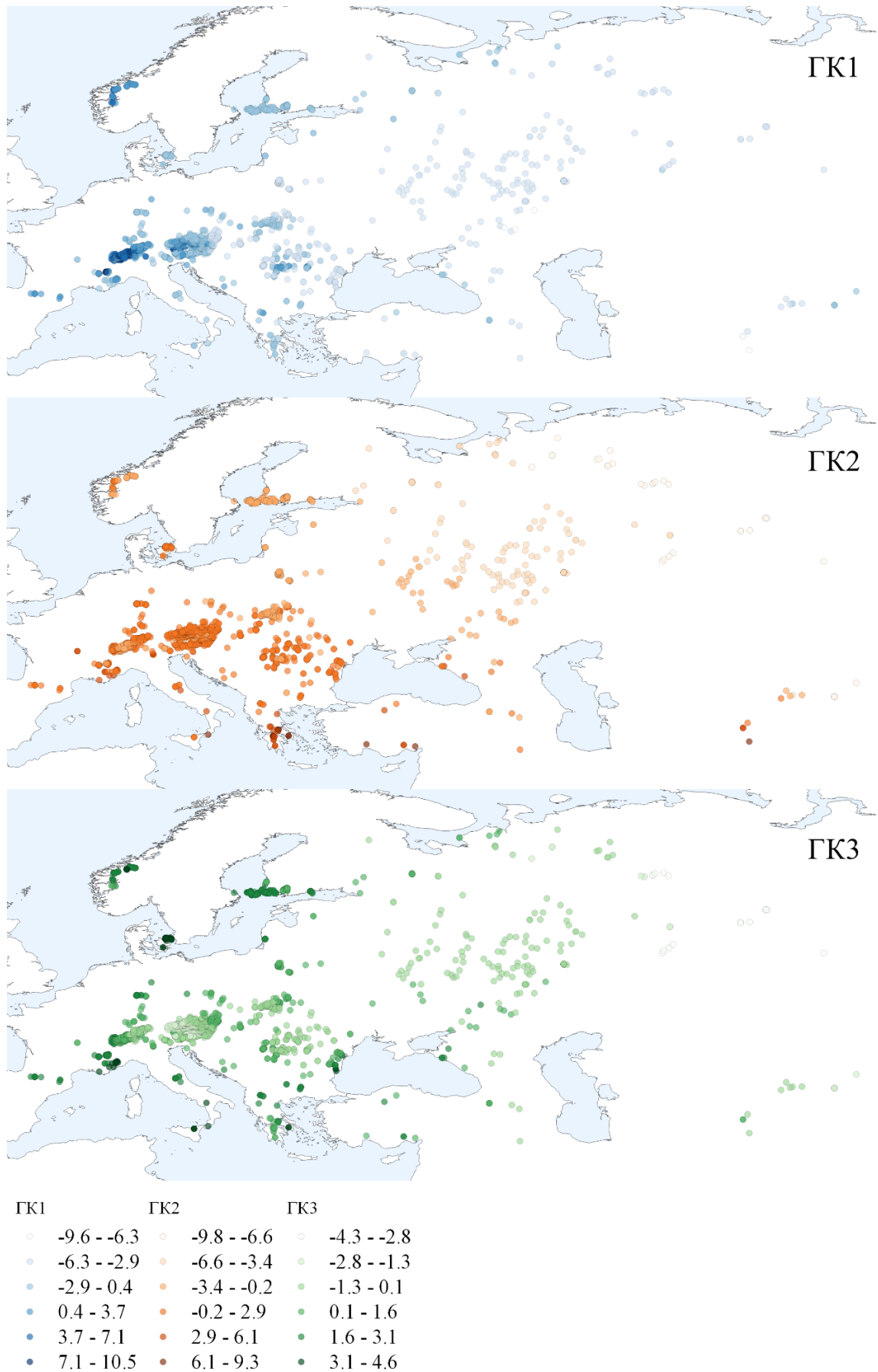


Рисунок 4.8. Распределение значений первых трех главных компонент среди точек местообитаний мнемозины на карте. Градиент показывает изменения значений осей от отрицательных к положительным

Диаграмма рассеяния местообитаний мнемозины на двух первых осях анализа ГК показана на рисунке 4.4 (часть 1). Выделенные группы мнемозин разделились на диаграмме следующим образом: группа CE занимает наибольшую площадь, с максимальным скоплением в центральной части, разреженным скоплением в четвертой четверти и отдельным «хвостом» в третьей четверти; WM распределилась по диагонали со второй четверти по направлению к четвертой, с наибольшим скоплением в первой и второй четвертях; немногочисленные точки группы ME лежат только в четвертой четверти диаграммы.

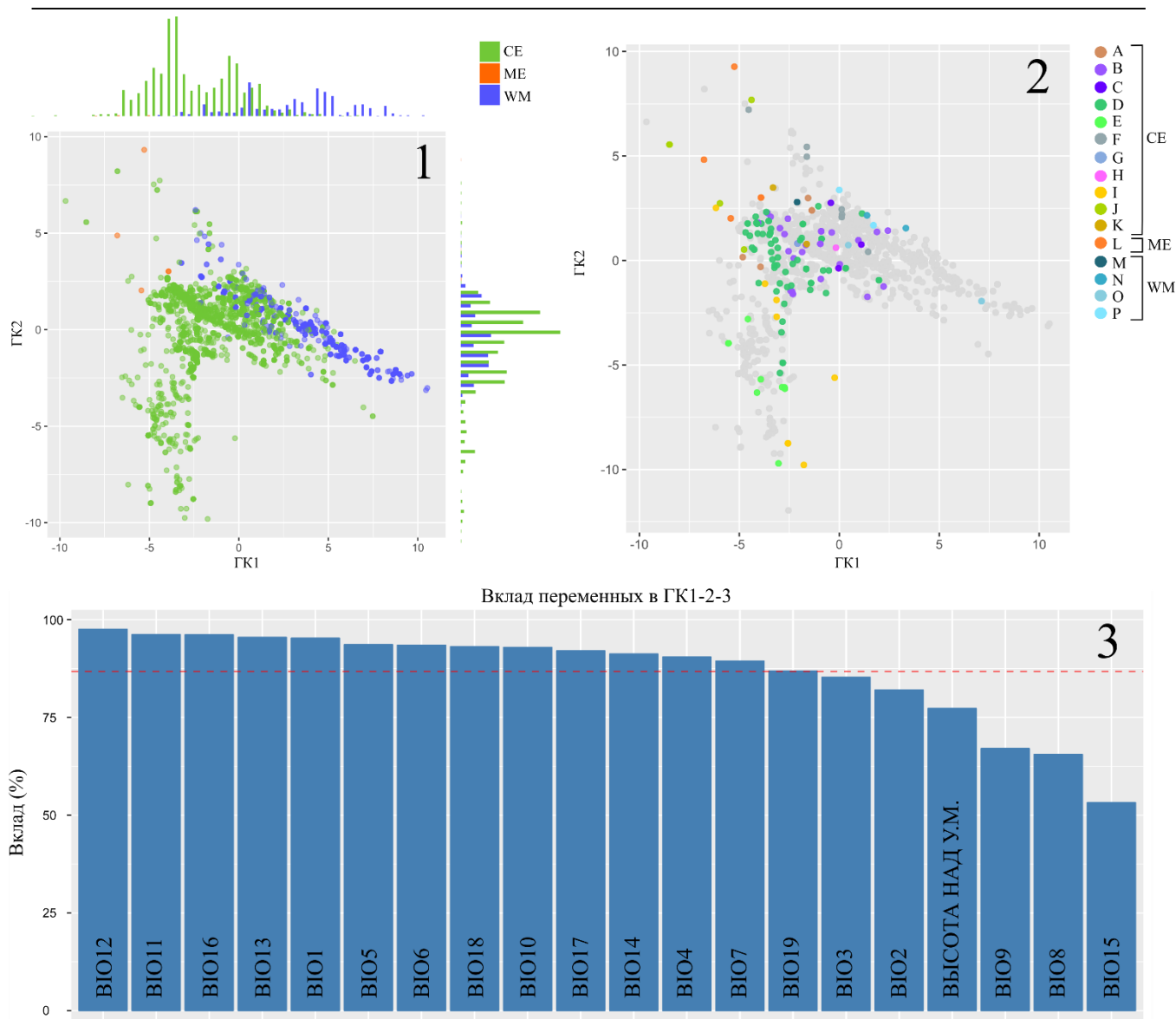


Рисунок 4.4. Диаграмма рассеяния первых двух осей ГК климатической ниши мнемозины. Совокупность точек разделена на (1) три главные митохондриальные клады; (2) на филогеографические группы, выделенные в главе 3. Под цифрой 3 – вклад значений переменных среды в оси 1-3 ГК.

Для сравнения точек ГК климатической ниши, входящих в группы SE и WM (имеющих достаточное количество наблюдений), был применен *t*-критерий Стьюдента для независимых выборок. Для обеих групп выборки точек на каждой оси ГК имели нормальное распределение ($P \ll 0.01$) и равную дисперсию ($P \ll 0.01$). 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 (BIO10, BIO5, BIO8), суммами осадков во всех частях года (BIO12, BIO17, BIO14, BIO19, BIO16, BIO13, BIO18) и высоте над уровнем моря. Также группы имеют схожую толерантность к температурам в холодное и сухое время года (BIO6, BIO9, BIO11), а также к средней годовой температуре (BIO1).

Визуальный анализ диаграммы рассеяния позволяет также определить различия в занимаемом положении в пространстве климатической ниши для филогеографических групп мнемозины, выделенных на основе анализа мтДНК в главе 3 (рисунок 4.4, часть 2). Большинство точек, сгруппированных в центре диаграммы, принадлежит к западно- и восточноевропейским бабочкам (группы В-G) с вкраплением кавказской группы (А). При этом, точки восточноевропейской группы D и кавказской группы А лежат с левой части диаграммы, как и точки азиатских групп (I-L) и центрально-российской группы Е. Ближе всего к точкам из западно-средиземноморской клады WM (M-P) находятся в верхней части – точки из южноевропейской группы F и в средней части – точки, принадлежащие альпийским бабочкам из групп В и С. Вытянутые «хвосты» в третьей и четвертой четвертях диаграммы занимают (а) – центрально-российская Е и киргизская группа I и (б) – азиатские группы J, K, L соответственно. Таким образом, диаграмма рассеяния первых двух ГК климатической ниши хорошо отображает ранее полученную четкую филогеографическую структуру *P. mnemosyne*.

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 (для ГК1: среднее $\lambda = 0.86 \pm 0.03$, все значения $P < 0.01$; для ГК2: среднее $\lambda = 0.96 \pm 0.01$, $P < 0.01$; для ГК3 среднее $\lambda = 0.92 \pm 0.02$, $P < 0.01$), что говорит о сильной связи между филогенией и климатической нишей у *P. mnemosyne*. Промежуточные значения уровня филогенетического сигнала ($0 > \lambda > 1$) говорят о не-броуновском характере эволюции количественного признака (например, описываемой процессом Орнштейна-Уленбека) (Freckleton и др., 2002), а значения, близкие к 1 – об эволюции признака, описываемой броуновским процессом. Так, для ГК1 в 100% случаев была выбрана модель эволюции количественных признаков ОУ, для ГК2 и ГК3 данная модель была выбрана 99% деревьев, 1% составила модель ВМ. Значения признаков, картированные на суммированном байесовском дереве для каждой ГК показаны на рисунке 4.5.

Филогенетические деревья, на основе которых проводился анализ анцестральной ниши мнемозины, построены на основе генетического материала, собранного в разных точках ареала бабочек. В следствие разных причин, большая часть материала была собрана на территории центральной и восточной Европы. С целью уменьшить возможное искажение в расчетах предковых значений 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 (далее: выборка 1 – об исходной, включающей все доступные сиквенсы; выборка 2 – о полученной данным способом, «прореженная») несли информацию о всей изменчивости климатической ниши, но были

представлены более стохастично. Для выборки 2 был также рассчитан уровень филогенетического сигнала, который имел сравнимые, но чуть меньшие значения (для ГК1: среднее $\lambda = 0.85 \pm 0.11$, все значения $P < 0.01$; для ГК2: среднее $\lambda = 0.9 \pm 0.07$, $P < 0.01$; для ГК3 среднее $\lambda = 0.84 \pm 0.08$, $P < 0.08$). 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.

Далее рассчитывали вариацию значений климатического пространства для последнего общего предка каждой из трех митохондриальных клад – СЕ, МЕ, WM (далее в этой главе при употреблении названия кластера будет иметься ввиду его последний общий предок). Положение климатических ниш последних общих предков для каждой клады на фоне современных образцов показано на рисунке 4.6.

Положения предковых климатических ниш в пространстве первых трех ГК общей ниши мнемозины различается для двух исследованных филогенетических выборок. Для выборки 1 предковые ниши каждой группы формируют три неразрывных «облака» точек, при этом диапазоны значений предков СЕ и МЕ перекрываются в незначительной части для всех трех ГК, а точки ниши предка WM значительно удалены от них; в выборке 2 точки ниши МЕ формируют несколько разорванных областей, при этом значения одной из них перекрываются значительно со значениями пространства ниши СЕ, точки ниши WM лежат также отдельно от первых двух групп. Кроме того, полученные значения анцестральных ниш выборки 2 имеют большую дисперсию на осях ГК2 и ГК3, что связано с большей вариацией рассчитанных условий среды во внутренних кладах после «прореживания» деревьев.

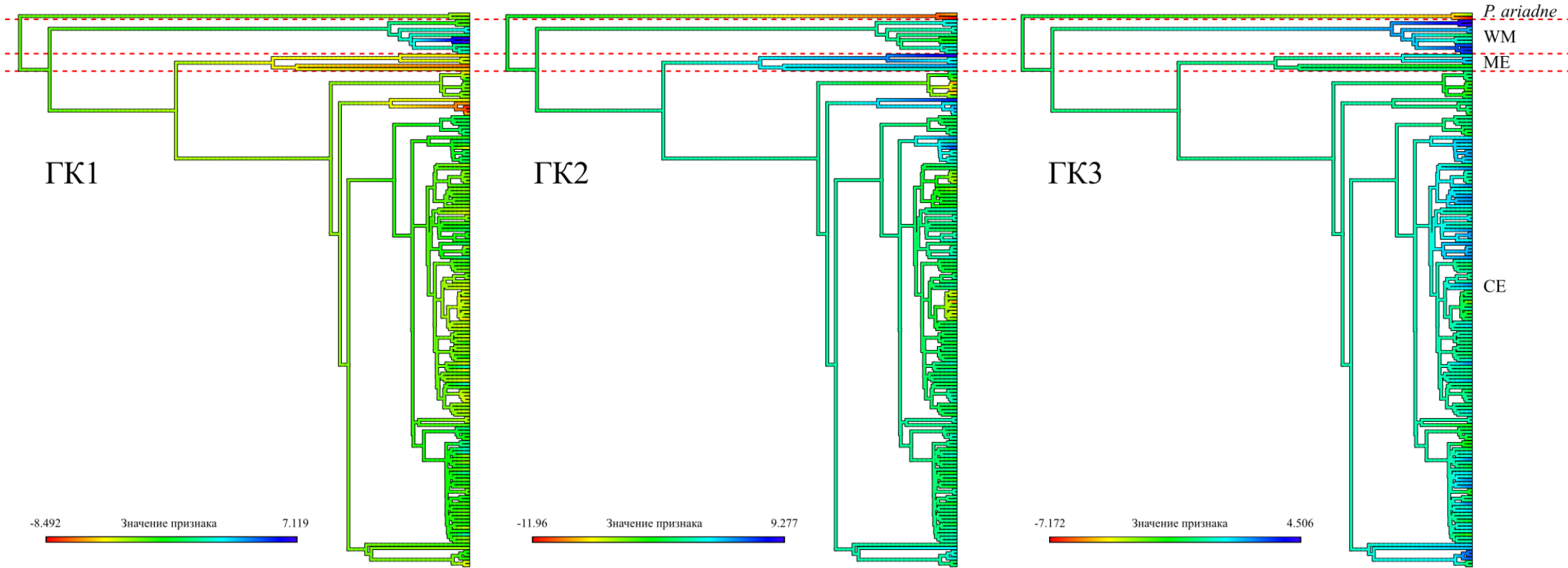


Рисунок 4.5. Значения первых трех осей анализа главных компонент климатической ниши, картированные на суммированном байесовском филогенетическом дереве.

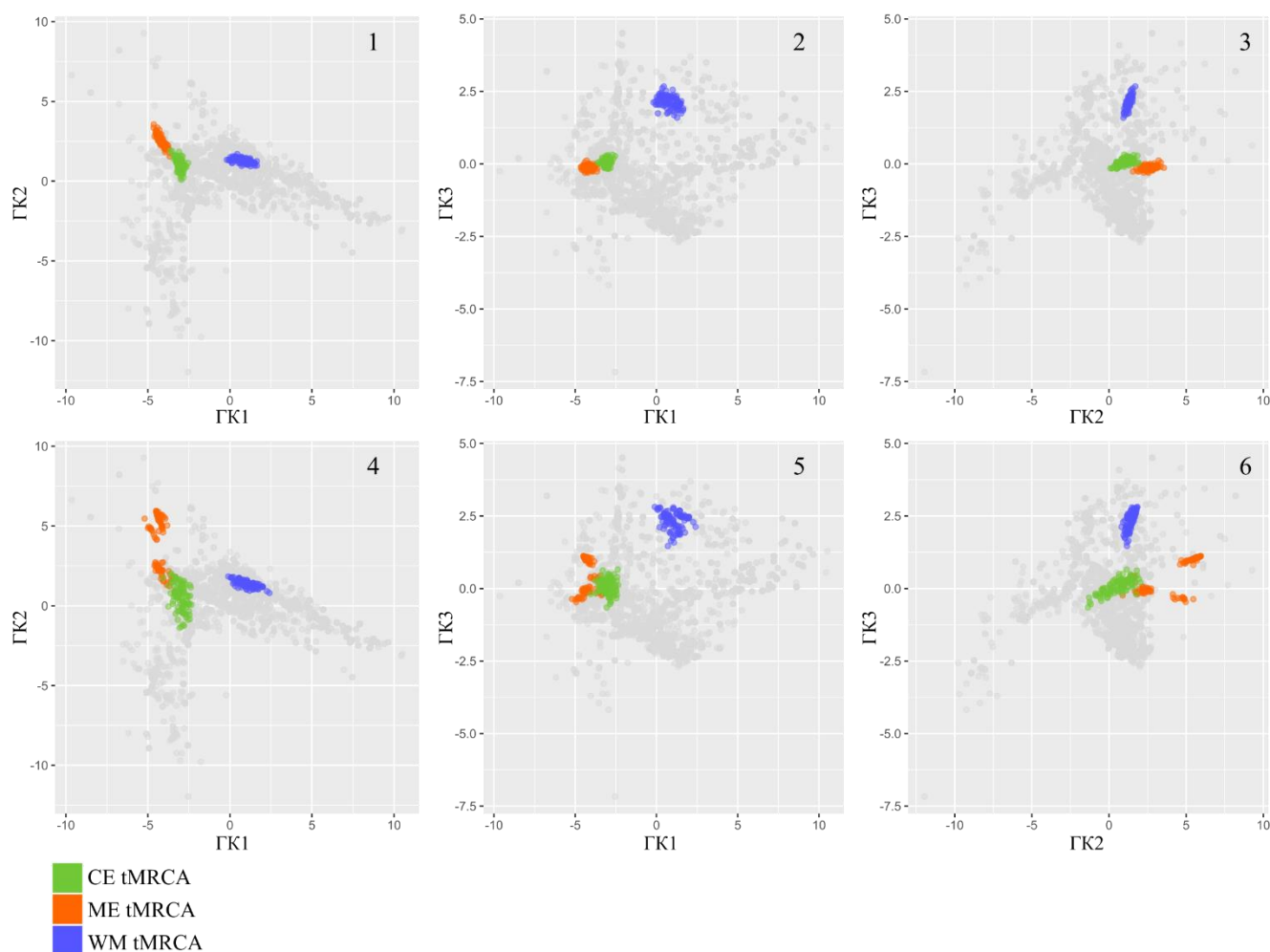


Рисунок 4.6. Вариация рассчитанных значений предковых климатических ниш в пространстве главных компонент ниши современной мнемозины. Диаграммы 1-3 соответствуют значениям, полученным на основе выборки 1, 4-6 – значениям, полученным на основе выборки 2 (см. текст).

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

Для восстановления возможного ареала предков трех основных групп *P. mnemosyne* использовали наименее коррелирующие между собой переменные, выбранные на основе анализа главных компонент: BIO2, BIO11, BIO12, BIO15. Первые три из них (BIO2, BIO11, BIO12) имели наибольший вклад в каждую из первых трех ГК, значения четвертой (BIO15) коррелировали в наименьшей степени с каждой из них.

Возможность восстановления исходных координат точек обитания на основе значений выбранных переменных была проверена на основе значений,

полученных для точек из выделенных ранее филогеографических групп. Восстановление координат сводилось к поиску зон с совпадающими условиями в каждом слое, и выделении пересекающихся участков при умножении значений (0 в случае несовпадения или 1 в случае совпадения) в слоях друг на друга, получая при этом точки пересечения необходимых условий. Таким образом координаты могли быть восстановлены тем точнее, чем уникальнее значения условий обитания группы. Координаты были восстановлены с наибольшей точностью и небольшим количеством «лишних» точек с совпадающими условиями (от нуля до двух) для эндемичных групп А, С, F, Н – Р. Наименьшая точность восстановления была получена в группах В, D и Е, занимающих наиболее разнородные части ареала в европейском регионе.

Уровень филогенетического сигнала биоклиматических переменных для выборки деревьев 1 составил: $\lambda_{\text{BIO2}} = 0.92 \pm 0.01$, $\lambda_{\text{BIO11}} = 0.95 \pm 0.007$, $\lambda_{\text{BIO12}} = 0.9 \pm 0.02$, $\lambda_{\text{BIO15}} = 0.94 \pm 0.01$; для всех переменных $P \ll 0.01$; для выборки 2: $\lambda_{\text{BIO2}} = 0.85 \pm 0.04$, $\lambda_{\text{BIO11}} = 0.87 \pm 0.06$, $\lambda_{\text{BIO12}} = 0.76 \pm 0.14$, $\lambda_{\text{BIO15}} = 0.93 \pm 0.03$; для переменных BIO2, BIO11, BIO15 $P < 0.05$. В 13 случаях для сигнала переменной BIO15 значение P оказалось больше 0.05, что говорило об отсутствии значимого филогенетического сигнала для данной переменной; соответствующие деревья были удалены из выборки для дальнейшего анализа. Для всех переменных в выборке 1 наиболее подходящей моделью эволюции признаков оказалась OU, в выборке 2 – для BIO2: 84% BM, 16% OU; BIO11: 79% BM, 21% OU; BIO12: 72% BM, 28% OU; BIO15: 84% BM, 15% OU. Таким образом, для расчета предковых значений климатической ниши при использовании как главных компонент, так и непосредственно значений переменных для исходных деревьев в абсолютном большинстве случаев была подобрана наиболее подходящей модель OU, для «прореженных» деревьев – в большей части выборки модель BM, в меньшей – OU.

Возможный ареал реконструировали для последних общих предков клад SE, ME и WM как в современных климатических условиях, так и

соответствующих последнему межледниковью (Эемскому/Микулинскому) (симуляция Отто-Блиссера (Otto-Bliesner, 2006)). В слоях условий межледниковья при этом 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. Идентичные и близко лежащие точки были слиты в общие области возможного обитания предка каждой клады и показаны на картах на рисунках 4.7 и 4.8.

В климатических условиях последнего межледниковья, подходящий ареал предка бабочек из клады СЕ обнаружен большей частью в виде нескольких разорванных областей на территории Анатолийского полуострова и Армянского нагорья в Закавказье; ареал предка группы МЕ частично перекрывается с ним на юге Анатолийского полуострова, но также формирует отдельную область в центральной его части. Возможный ареал кластера WM находится как в центральной части Апеннинского полуострова, так и в северных и южных предгорьях центральных Альп, а также включает небольшую область на юге Франции в Приморских Альпах. Отличия результатов реконструкции условий в разных выборках состоят в более широком спектре условий, полученных при анализе выборки 2, расширяя подходящие зоны местообитания: для СЕ – областью вдоль предгорий Северного Кавказа, западными Румынскими Карпатами, восточной и центральной Чехией, частью юго-западной Польши; для МЕ подходящие территории расширены на запад Малоазиатского нагорья, включая в себя Таврские горы и на юго-восток Анатолии на границе с Сирией и Ираном, включая также некоторые области центрального Ирана; ареал предка кластера WM главным образом включает себя Северные и Центральные Апеннинские горы.

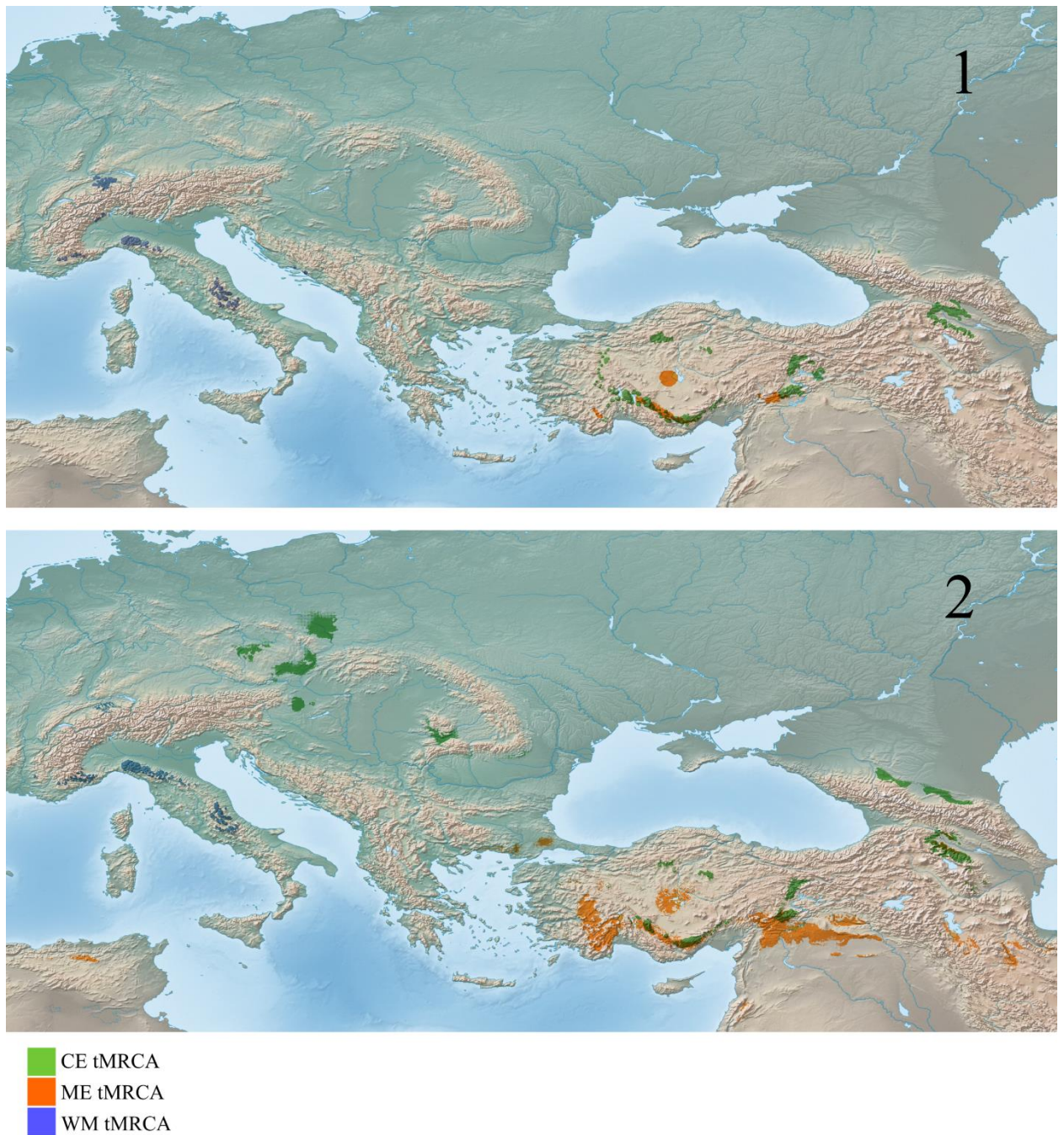


Рисунок 4.7. Карты подходящих условий обитания основателей митохондриальных кластеров CE, ME и WM в последнем межледниковье (около 128 – 117 тыс. лет назад). Цифрами обозначены филогенетические выборки, на основе которых получены анцестральные значения переменных среды.

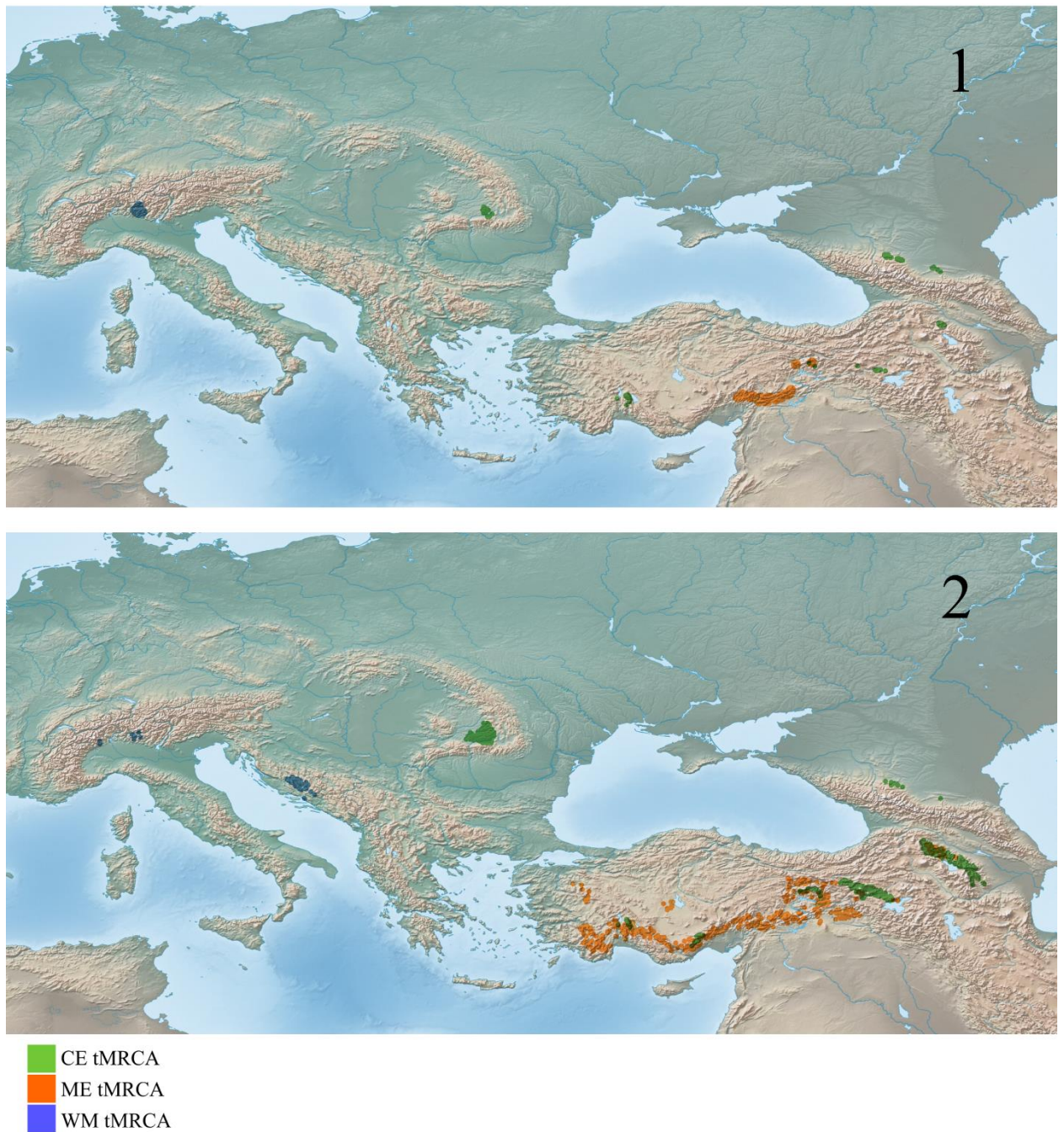


Рисунок 4.8. Карты подходящих условий обитания основателей митохондриальных кластеров CE, ME и WM в современном климате. Цифрами обозначены филогенетический выборки, на основе которых получены анцестральные значения переменных среды.

В современном климате подходящим условиям для данных групп соответствуют: для СЕ – прибрежная область юго-западной Турции и горные районы восточной Анатолии, Армении и Северного Кавказа, а также центральной Румынии; для МЕ – протяженная территория вдоль южной Турции, до границы с Сирией; для WM – небольшая область центральных Альп на границе Италии и Швейцарии (для выборки 2 – также участок Динарского нагорья на территории Хорватии и Боснии).

4.4. Обсуждение

Наблюдаемая вариация значений в климатической нише мнемозины имеет довольно простое объяснение: в первой оси ГК самой скореллированной переменной является годовая сумма осадков, во второй – температура самой холодной четверти года, в третьей – среднесуточная амплитуда температур. Таким образом, в реализованной нише преобладает вклад факторов, связанных с влажностью, сезонностью, а также оставляют свой отпечаток условия средиземноморского климата (для которого характерна резкая смена температуры в течение суток в случае отдаленности от побережья), в которых обитает часть популяций. В наиболее влажных районах живут бабочки, обитающие в климате Западных и Приморских Альп, в умеренных – Центральной и Восточной Европы, умеренно-низких – России и Центральной Азии, в самых засушливых – Ирана и южной Анатолии. Последние, кроме самых засушливых, обитают также и в самых теплых условиях, в отличие от российских и центральноазиатских мнемозин, населяющих зоны прохладного климата. Бабочки Центральной, Восточной и Западной Европы обитают в области средних температур. Данная вариация позволяет заключить, что крупные части ареала мнемозины – в Центральной и Средней Азии, в России, а также в Западных Альпах – лежат в областях, где значения факторов близки к лимитирующим, и бабочки обитают в них близко от границы 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 (E 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 также разделяет пространства климатической ниши двух крупных митохондриальных клад мнемозины – СЕ и WМ. Для первой оптимум представлен в отрицательных значениях осей, для второй – в положительных. Это свидетельствует о большей приспособленности бабочек кластера WМ к более влажным и динамичным условиям высотной поясности и Средиземноморья, а кластера СЕ – к более равнинному и умеренно влажному климату Нижнедунайской и Восточно-Европейской низменностей. Следует заметить, что в возможной зоне гибридизации этих двух групп в Восточных Альпах в условиях, характерных для клады WМ, обитают и особи из клады СЕ, что говорит о вероятной конкуренции бабочек из этих двух групп в данных локалитетах (Gratton, 2006). Редкие точки клады МЕ при этом имеют отличный от СЕ оптимум только в значениях ГК2, объясняющих толерантность к более высоким температурам.

Благодаря полученным реконструкциям, можно проследить развитие климатической ниши изучаемых групп мнемозины. Основатели кластеров СЕ и МЕ обитали в сходных, частично перекрывающихся условиях, соответствующих условиям, в которых обитают современные бабочки из групп D, I, J, K и L. Дивергенция их климатических ниш осуществлялась прежде всего на оси ГК2 – по отношению к температурному градиенту. Ниша группы СЕ диверсифицировалась в сторону более холодного и влажного климата, МЕ – сухого и засушливого. При этом, в настоящее время представители группы СЕ достаточно эвритопны, и обитают в условиях, характерных для МЕ, но не наоборот. Однако, наблюдаемые узкие границы толерантности группы МЕ могут быть лишь следствием ограниченной выборки. Изучение адаптивных возможностей данной клады представляет научный интерес для возможных исследований.

Ниша основателя кластера WМ отделена от ниш основателей других групп из-за пройденного ее предками в плейстоцене «бутылочного горлышка» (см.

раздел 3.3.1). 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.

Реконструированный анцестральный ареал мнемозины (как в моделированных условиях межледниковья, так и для современного климата) соответствует зонам обитания некоторых современных подвидов: для ME это *ssp. sheljuzhkoii*, *ssp. libanoticus*, *ssp. adolphi*, *ssp. pseudonubilosus*; для CE – *ssp. strix*, *ssp. taleschensis*, *ssp. delgranprincipe*, *ssp. wagneri*, *ssp. demaculatus*, *ssp. silesiacus*; для WM – *ssp. cuneifer*, *ssp. constantinii*, *ssp. frustohferi*, *ssp. dinianus* (Weiss, 1999). Полученные зоны возможного обитания согласуются с гипотезами расселения групп мнемозины на основе генетических данных: клада WM дивергировала раньше других (около 366 тыс. лет назад, см. главу 3), но ее основатель обитал в диапазоне 34.8 – 111.8 тыс. лет назад и следы ее возможного генетического и экологического 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 (98.1 – 254.5 тыс. лет назад) могли быть распространены в пределах ареала, соответствовавшем современному, а основатели группы CE (75.3 – 175.9 тыс. лет назад) с наибольшей вероятностью обитали в зоне к югу от Кавказа, также ставшей рефугиумом в течение вюрмского оледенения (Seddon и др., 2002). 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. Европейские части территорий (в Румынии, Чехии и Польше) с подходящими условиями для обитания предка клады CE были подтверждены лишь частью проведенных анализов и наименее вероятны в качестве зоны образования клады из-за четвертичных колебаний климата, поэтому не были

включены в миграционную гипотезу. Схема первичного расселения потомков трех митохондриальных клад в плейстоцене показана на рисунке 4.10.

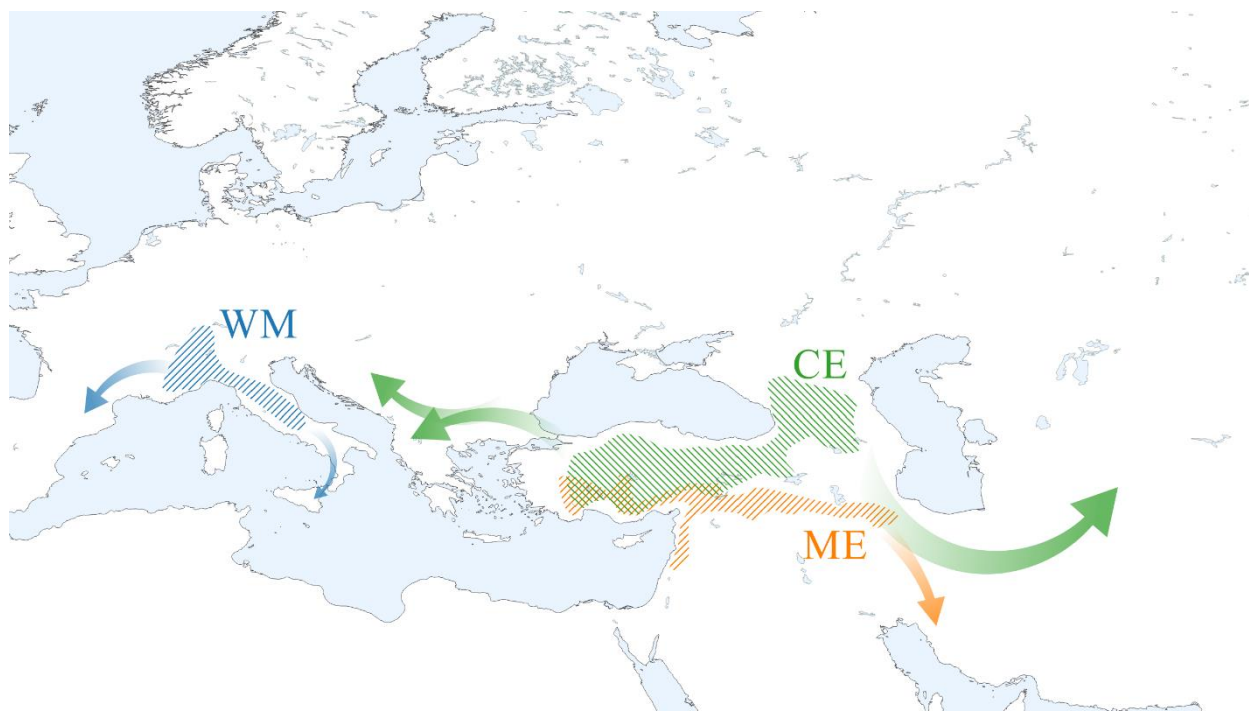


Рисунок 4.10. Предполагаемый первичный миграционный путь потомков основателей трех митохондриальных клад *P. tnetosyne*. Штриховкой обозначены возможные ареалы последних общих предков групп перед началом вюрмского оледенения.

4.5. Основные выводы к главе 4

Подводя итог данному этапу исследований, можно отметить, что вариация в реализованной климатической нише мнемозины наиболее хорошо объясняется тремя группами факторов (три осями многомерного пространства ниши), в каждой из которых можно выделить переменную, вносящую наибольший вклад, а остальные в разной степени коррелируют с ней. Эти три группы в свою очередь несут в себе разную долю информации о нише: первая объясняет 53.6 % вариации и представлена в большей части разницей в годовой сумме осадков, вторая объясняет 21.3% и переменные в ней коррелируют со средней температурой в самой холодной четверти года, третья – 11.8%, представлена средней суточной амплитудой температуры за месяц. То есть, в реализованной нише преобладает вклад факторов, связанных с влажностью и сезонностью, а также оставляют свой

отпечаток условия средиземноморского климата (для которого характерна резкая смена температуры в течение суток в случае удаленности от побережья), в которых обитает часть популяций.

Бабочки, входящие в разные митохондриальные клады, отличаются толерантностью к факторам, которые представлены на осях климатической ниши. Пространство ниши клады СЕ включает в себя пространства групп МЕ и WM почти полностью, что позволяет сделать вывод, о том, что реализованная ниша клады WM ограничена прежде всего возможностями расселения бабочек из данной группы, а ниша клады МЕ может быть ограничена суженным адаптивным потенциалом. Однако, для подтверждения этих гипотез необходимы дополнительные исследования.

Реконструкция анцестральной климатической ниши и возможного ареала подтверждает гипотезу об образовании трех главных митохондриальных кластеров мнемозины в плейстоценовых рефугиумах: в средиземноморском для клады WM, в ближневосточно-закавказском для клад СЕ и МЕ. Восстановленные ареалы двух последних групп частично перекрываются, что говорит об их локальной симпатричности с момента разделения.

ГЛАВА 5. МОДЕЛИРОВАНИЕ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ КЛИМАТИЧЕСКОЙ НИШИ

5.1. Результаты моделирования

Моделирование проводилось на основе значений переменных среды BIOCLIM в точках наблюдений и отловов мнемозины с помощью метода максимальной энтропии в программе Maxent 3.3.3 (Phillips и др., 2006). Набор исходных данных, состоящий из 3130 точек ареала, был упрощен до 450 точек с помощью пространственного фильтра. Далее точки были разделены на две подвыборки на основе вероятной принадлежности к одной из аллопатричных митохондриальных клад – WM или SE. Ареалы двух групп разграничивали методом, описанным в разделе 4.1; координаты сборов мнемозин, входящие по генетическим данным в кластер ME (4 уникальных точки) не представляют достаточную выборку для моделирования отдельной ниши и поэтому не были использованы отдельно. В итоге, моделировали климатическую нишу с использованием трех наборов данных о местообитаниях: общем (450 точек), для SE (393 точки), для WM (53 точки). На основе общего набора данных были определены наиболее скореллированные переменные, выбранные для анализа вклада условий среды в модель (таблица 5.1). 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).

В процессе тренировки моделей Maxent отслеживал, какие переменные среды вносят вклад в построение модели. Каждый шаг алгоритма Maxent увеличивает прирост модели, изменяя коэффициент для одной из функций градиента среды; программа назначает увеличение прироста той переменной или переменным среды, от которой зависит эта функция. Эти процентные вклады определяются только эвристически и зависят от конкретного пути, по которому пошёл алгоритм, чтобы достичь оптимального решения. Вторым показателем вклада

переменной – важность при пермутации. Этот показатель зависит только от окончательной модели, а не пути, который был пройден, чтобы её получить. Вклад каждой переменной определяется посредством случайного изменения значений этой переменной у тренировочных точек, а также измерения уменьшения тренировочной AUC. Значительное уменьшение свидетельствует о том, что модель сильно зависит от этой переменной. Значения нормализованы и показываются в процентах (Phillips и др., 2006). Значения вклада всех переменных в полученные модели представлены в таблице 5.2.

Таблица 5.1. Переменные, использованные в моделировании климатической ниши мнемозины

Использованные переменные	Коррелирующие переменные ($R^2 > 0.75$)	Расшифровка
BIO1	BIO10	Средняя годовая температура, средняя температура самой тёплой четверти года
BIO2		Средняя суточная амплитуда температуры за каждый месяц
BIO3		Изотермичность (BIO1/BIO7) * 100
BIO4	BIO7	Стандартное отклонение температур, годовая амплитуда температуры (BIO5-BIO6)
BIO5		Максимальная температура самого тёплого месяца года
BIO6	BIO11	Минимальная температура самого холодного месяца года, средняя температура самой холодной четверти года
BIO8		Средняя температура самой влажной четверти года
BIO9		Средняя температура самой сухой четверти года
BIO12	BIO13, BIO14, BIO16, BIO17, BIO18, BIO19	Годовая сумма осадков, сумма осадков в самом влажном месяце года, сумма осадков в самом сухом месяце года, сумма осадков во влажной четверти года, сумма осадков в сухой четверти года, сумма осадков в самой тёплой четверти года, сумма осадков в самой холодной четверти года
BIO15		Коэффициент вариации осадков
ALT		Высота над уровнем моря

Для всех наборов данных наибольший вклад в модели внесен переменной BIO12 (38.6%, 35.4% и 34% для общей, SE и WM), отвечающей за влажность. На втором месте по значимости оказалась переменная BIO6, следовавшая после годовой суммы осадков по процентам вклада в модель общего ареала (19.6%) и

группы СЕ (21.9%), и имеющая наивысшую важность при пермутации в группе WM (53.4%). Второй по проценту вклада в модель группы WM оказалась высота над уровнем моря (27.4%). Третья значимая переменная во всех группах – ВЮ4 (13.8% вклада в общую модель, 14.7% для СЕ, 16.4% для WM). Важность выделенных переменных была также подтверждена результатами jackknife-теста (рисунок 5.1), который кроме перечисленных выше также выделил переменную ВЮ9 как дающую наибольший уровень прироста и значения АUC при использовании в одиночку при расчете моделей для общего ареала и ареала группы СЕ.

Таблица 5.2. Вклад переменных в модели климатической ниши мнемозины.

Переменная	Общий ареал		Группа СЕ		Группа WM	
	Процент вклада	Важность при пермутации	Процент вклада	Важность при пермутации	Процент вклада	Важность при пермутации
ВЮ1	8.2	15.8	8.8	11	0	0
ВЮ2	6.4	4.6	9.5	4.2	9.4	0.6
ВЮ3	5.2	1.1	1.5	1.2	0.9	0.1
ВЮ4	13.8	26.6	14.7	18.1	16.4	5.3
ВЮ5	0.2	0.7	0.9	1	0	0
ВЮ6	19.6	6.6	21.9	18.9	2.1	53.4
ВЮ8	0.8	0.7	0.6	1.5	0.6	0.8
ВЮ9	2.3	2.7	3.5	2.9	0	0
ВЮ12	38.6	33.3	35.4	33.9	34	0.8
ВЮ15	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

Кривые зависимости уровня предсказываемой степени пригодности местообитания от значения переменных (рисунок 5.2) сходны для моделей общего ареала и группы СЕ в отношении трех переменных, вносящих наибольший вклад (ВЮ12, ВЮ6, ВЮ4). Они показывают, что 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°С, с резким скачком, уменьшающим пригодность на диапазоне от 22° до -18°С.

Для модели ниши группы WM зависимость пригодности обитаний от температуры самого холодного месяца другая – она похожа на кривую нормального распределения с оптимумом в диапазоне 0 ... -10°C. Также для группы WM характерны обитания с меньшими значениями стандартного отклонения температур BIO4.

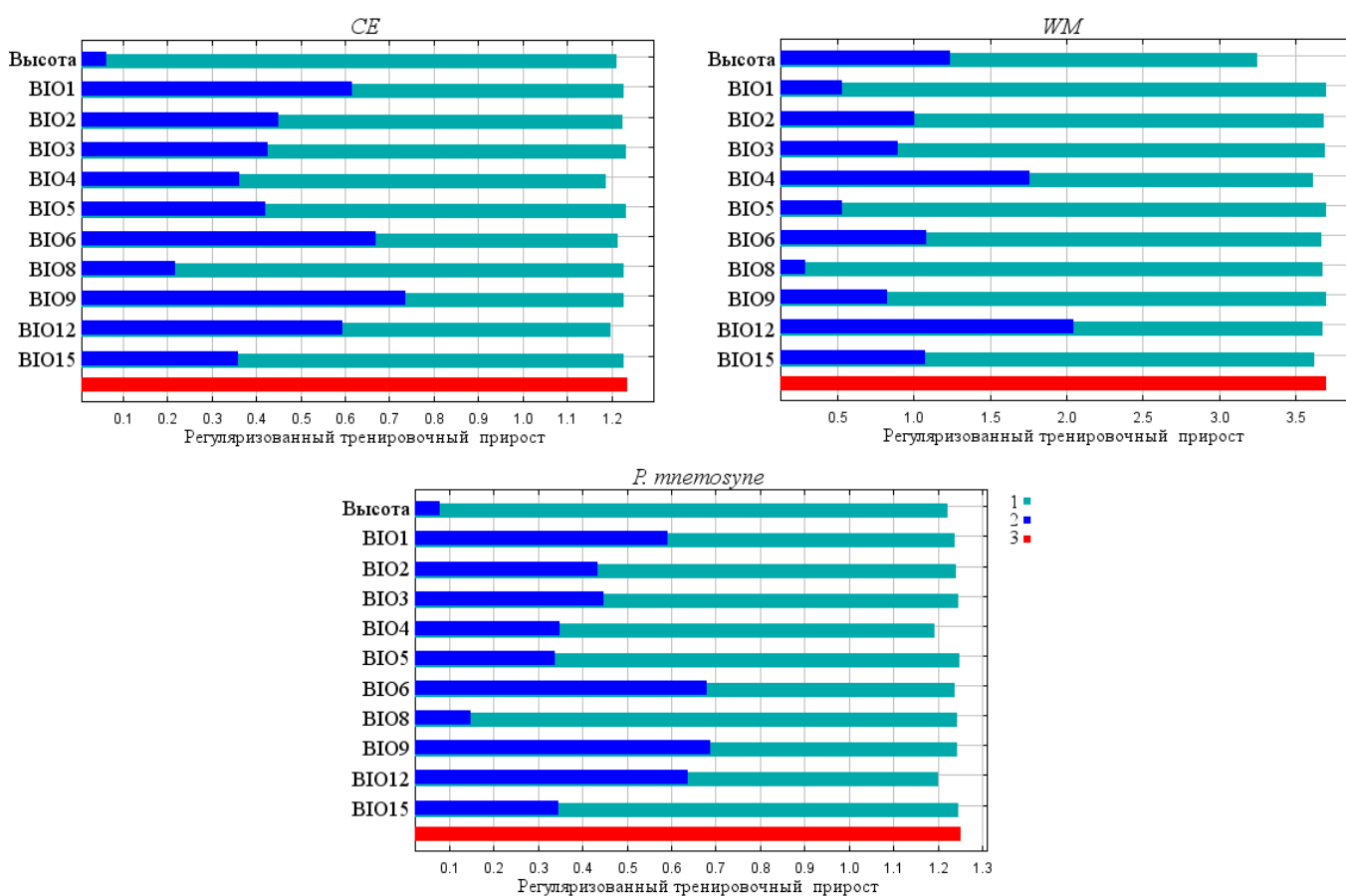


Рисунок 5.1. Результаты jackknife-теста для полученных моделей климатической ниши. Цифрами отмечены: 1 – значение прироста без использования переменной, 2 – значение прироста с использованием только выбранной переменной, 3 – значение прироста с использованием всех переменных.

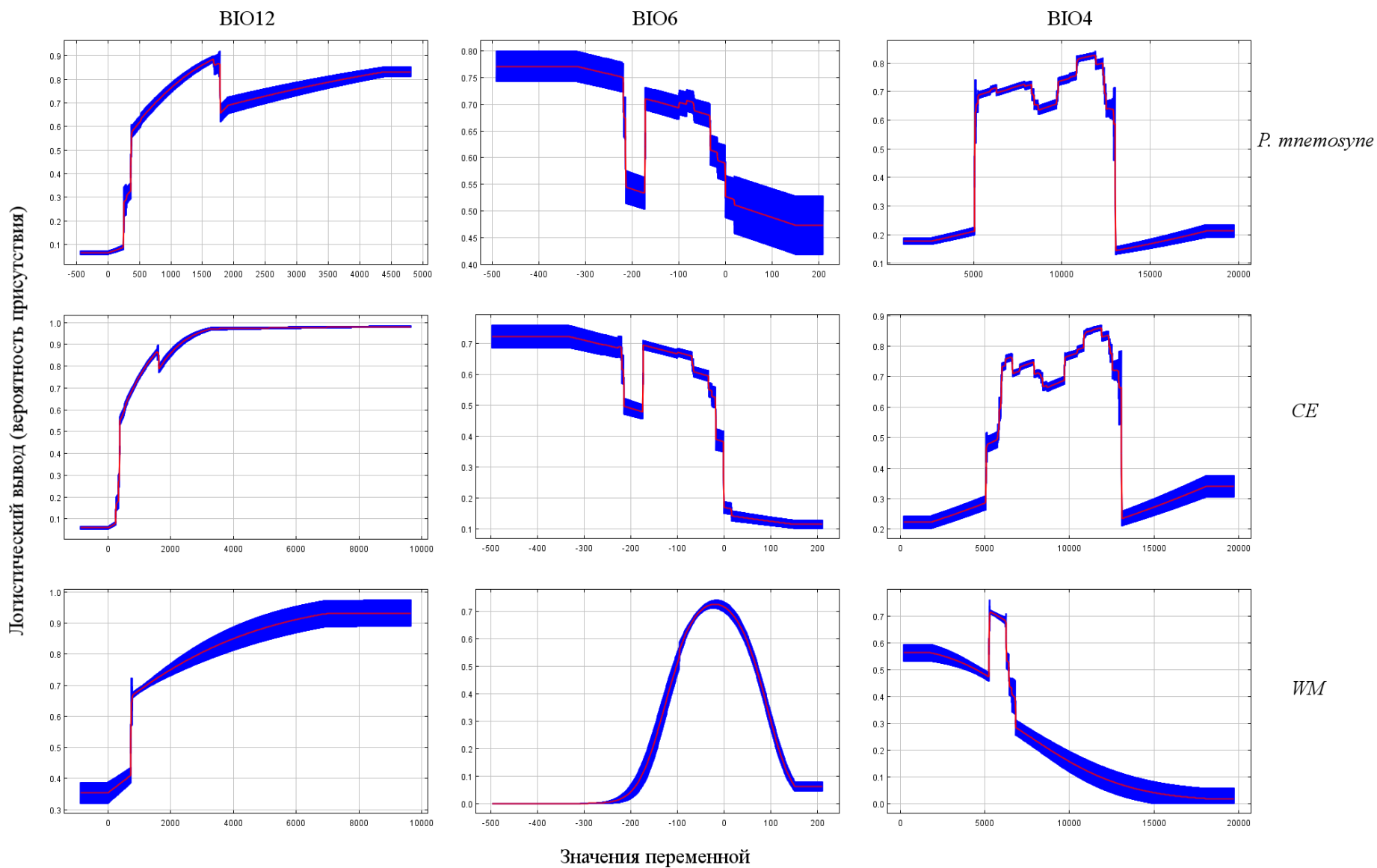


Рисунок 5.2. Кривые влияния значения переменных на пригодность климатических условий (логистический вывод)

Логистический порог присутствия, по которым определялась подходящая для обитания территория, определялся как значение вероятной пригодности местообитаний, выше которого обнаружены 90% точек обитания и составил в среднем 0.3155 для модели общей ниши, 0.3462 для группы СЕ и 0.3673 для группы WM. В зоны подходящих условий в модель общей ниши частично не вошли точки на северной и восточной границе российской части ареала (Архангельская область, северная часть Республики Коми, Тюменская область, Республика Карелия, Новгородская область) и в азиатской части – в Узбекистане и Иране. В модель для группы СЕ, кроме перечисленных, не вошли точки на западе ареала – с юга Апеннинского полуострова, о. Сицилия, Приморских Альп на юге Франции, частично – пиренейские точки с границы Франции и Испании; для ниши группы WM наоборот, не вошли точки из мест обитания СЕ.

Следующие области ареала были определены, как максимально пригодные для обитания мнемозины в модели общего ареала (логистический вывод 0.8-1): предгорья Альп в средней и южной Швейцарии, восточной Франции, Австрии (Зальцбург, Штирия, Каринтия), северной Италии (Пьемонт, Валле-д'Аоста, Фриули-Венеция-Джулия); мозаично – в Пиренеях на юго-западе Франции, в Андорре и Испании (в Каталонии и Арагоне); также на севере и юге Словении, в Хорватии (Приморско-Горанска и Личко-Сеньска жупании). Отдельно можно выделить область подходящих (>0.8) климатических значений в предгорьях Гималаев на Северо-Западе Индии, которая не является современным местообитанием мнемозины, но входит в ареалы других аполлонов, например, *P. hardwickii* (Weiss, 1999). Для группы СЕ наиболее оптимальными зонами являются перечисленные выше области Австрии и север Словакии (Жилинский край); для WM – Пиренеи и юго-западная Швейцария (кантон Вале). Карты с уровнями пригодности современных климатических условий согласно полученным моделям, показаны на рисунке 5.3.

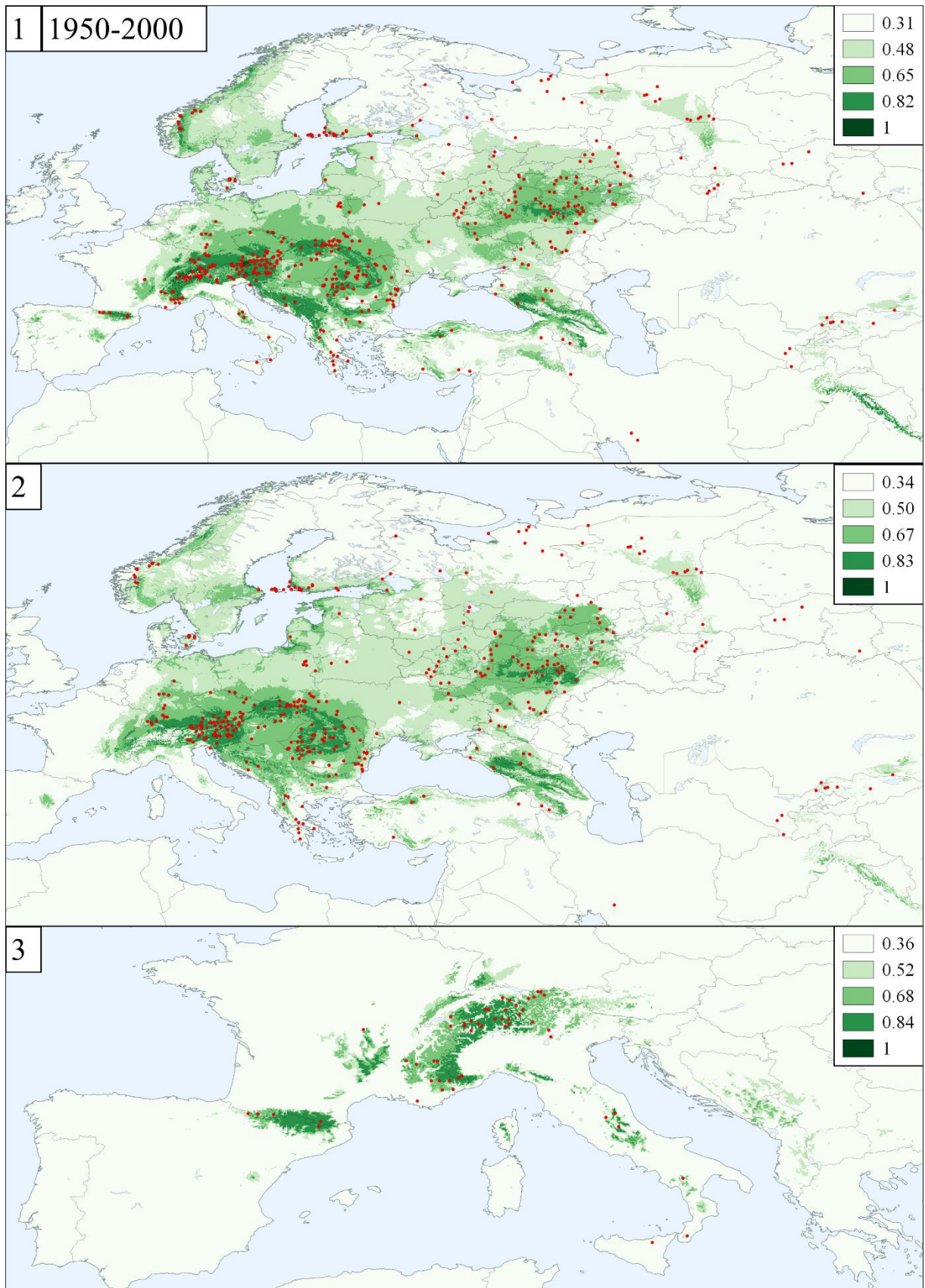


Рисунок 5.3. Модели климатической ниши мнемозины в современных условиях. Точки отображают места наблюдений и сборов, шкала – вероятность пригодности местообитаний выше определенного порога. Цифрами обозначены модели для общего ареала (1), ареала группы SE (2), ареала группы WM (3).

Проекции полученных моделей на сценарии климатических условий прошлого показаны на рисунках 5.4 (последний ледниковый максимум) и 5.5 (Эемское межледниковье). Возможные ареалы мнемозины во времена наибольшего оледенения значительно отличаются от современных и совпадают с ними только в южных регионах, представляя из себя сравнительно узкую полосу. На севере полученные проекции ограничены 45-47° с.ш. во Франции, российской части побережья Черного моря и пригорьях хребтов северной окраины Тянь-Шаня на юге Казахстана, на юге ареал мог доходить до южных границ Ливана около 33° с.ш. Во всех проекциях отсутствуют зоны климатического оптимума (логистический вывод 0.8-1). В модели для общего ареала наиболее пригодными зонами являются Пиренеи, юг Албании, приморская часть юга Краснодарского края и северо-восточной Грузии, а также частично Восточно-Анатолийский регион Турции и граница между Турцией и Ираком. Проекция моделей для разных групп отличается присутствием предпочитаемых зон в южной части Франции, на востоке Испании, в Центральной Азии и на юге Турции для модели общего ареала и отсутствием этих зон в моделях для отдельных групп SE и WM. Проекция модели WM на условия ледникового максимума не имеет подходящих значений климата выше пороговых нигде за исключением небольшой зоны в центральной области о. Корсика.

Отличия зон климатических предпочтений мнемозины во время Эемского межледниковья заключаются в сдвиге возможного ареала на запад, по сравнению с современным. Отсутствуют значительные зоны подходящих условий в Восточной Европе и России. Как и в предыдущем случае, проекции общего ареала и группы SE сходны между собой, а проекция модели группы WM не показывает значений логистического вывода выше порогового. Для проекции модели общего ареала обнаружены зоны оптимумов, сходные с современными на территории Альп, Пиреней и северо-западных индийских Гималаев, а также в Албании и на юго-востоке Анатолии. Оптимумы проекции группы SE разбросаны от юга Скандинавии, Латвии и Германии, до берегов Азовского моря на территории Краснодарского края в России, Херсонской и Запорожской областей Украины.

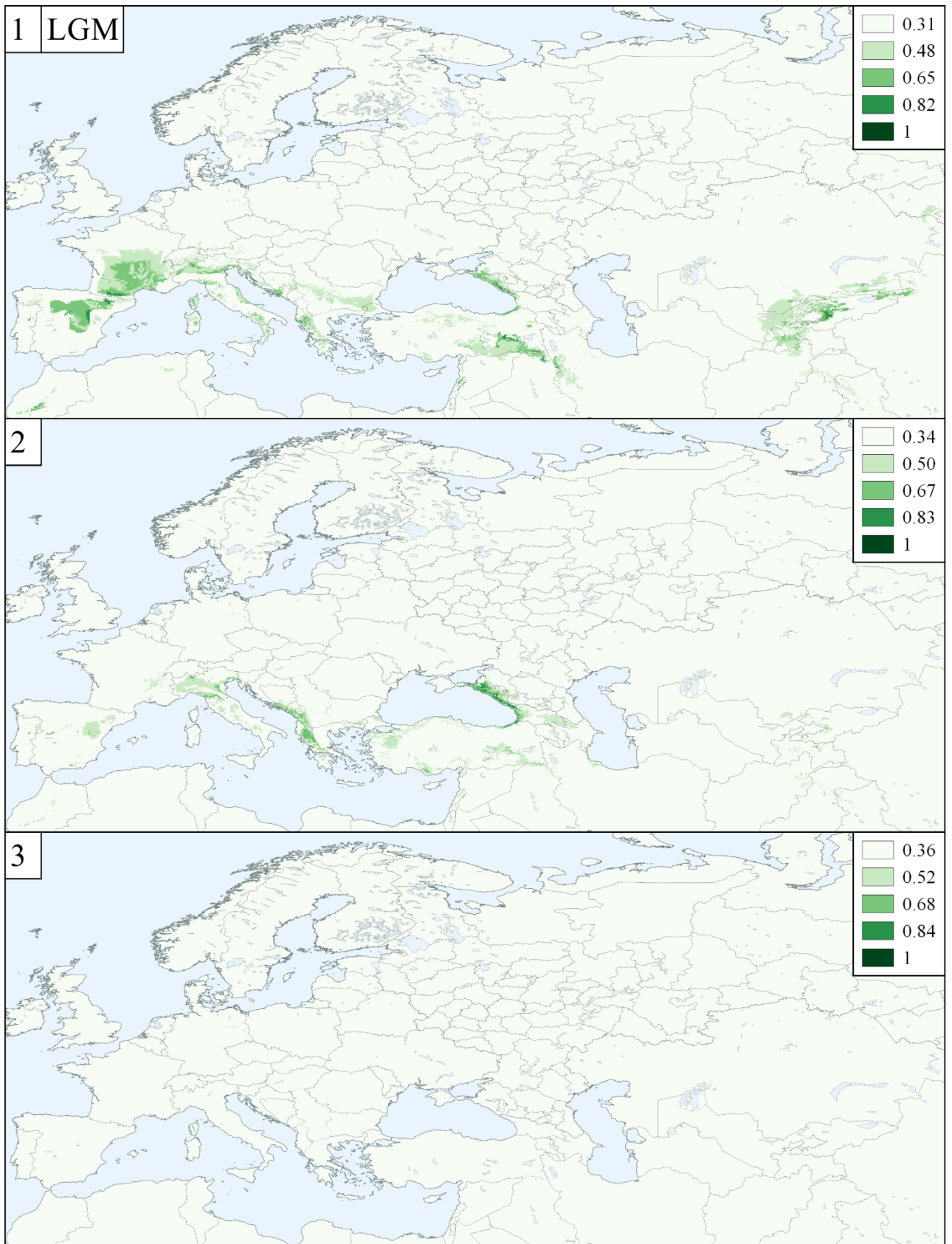


Рисунок 5.4. Проекция моделей климатической ниши мнемозины на условия последнего ледникового максимума (LGM, ~21 тыс. лет назад). На шкале отмечена вероятность пригодности местообитаний выше определенного порога. Цифрами обозначены модели для общего ареала (1), ареала группы SE (2), ареала группы WM (3).

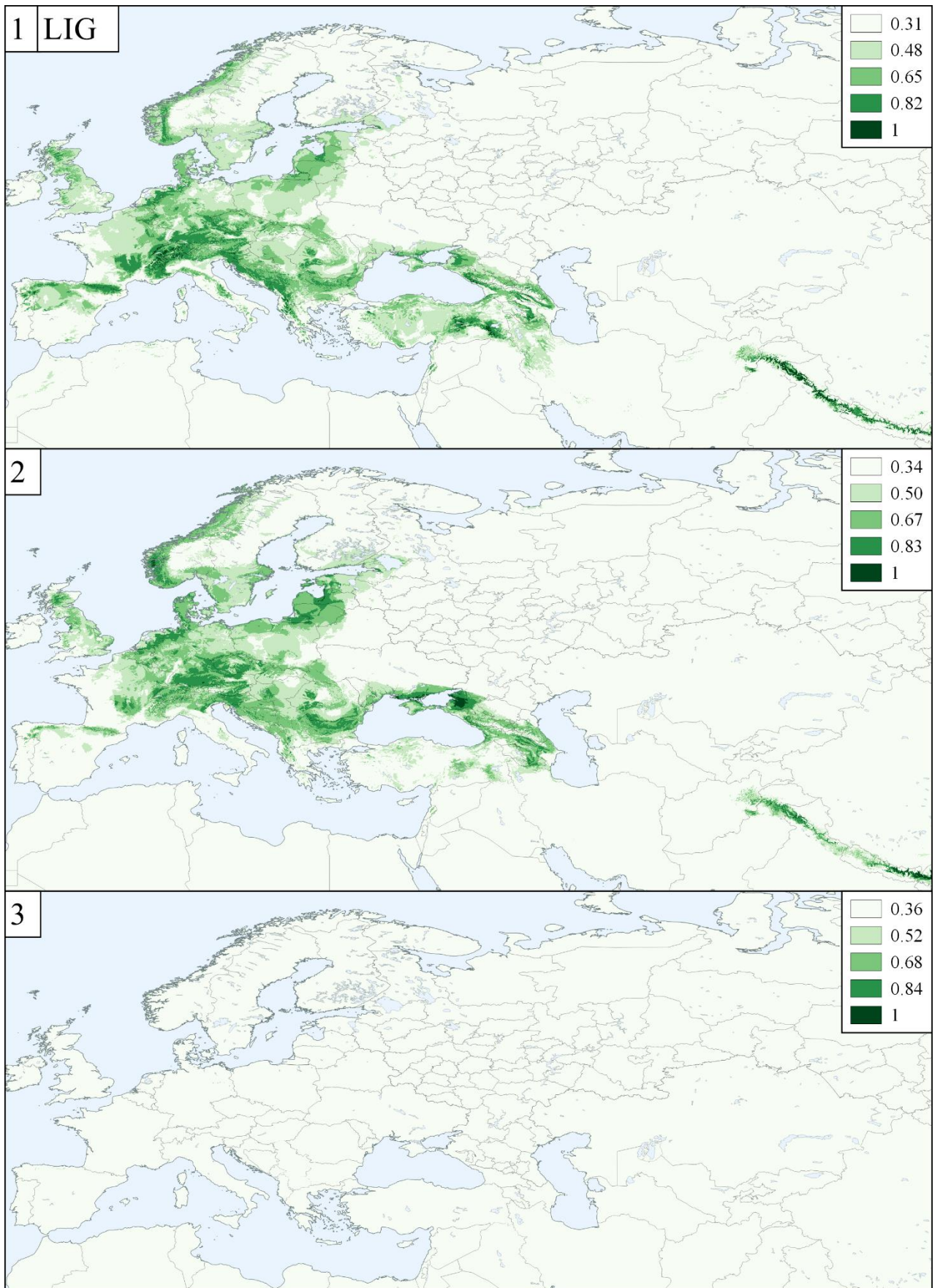


Рисунок 5.5. Проекция моделей климатической ниши мнемозины на условия Эемского межледникового (~120 тыс. лет назад). На шкале отмечена вероятность пригодности местообитаний выше определенного порога. Цифрами обозначены модели для общего ареала (1), ареала группы CE (2), ареала группы WM (3).

Проекции для большинства сценариев изменения климата в 21 веке предполагают увеличение подходящих зон для обитания мнемозины, но при этом часть ареалов может выйти из зоны климатического оптимума. Проекции моделей на возможные условия 2050 года (рисунок 5.6) предсказывают увеличение пригодных площадей на 15.7% для сценария RCP 2.6 и уменьшение на 11.5% в сценарии RCP 8.5. Уровень климатической пригодности может уменьшиться на территории Балканского полуострова и юга Украины, увеличиться – в центральной и северо-западной частях России вплоть до Уральских гор, а также на Кольском полуострове. Сохранятся современные оптимумы в Альпах и Пиренеях.

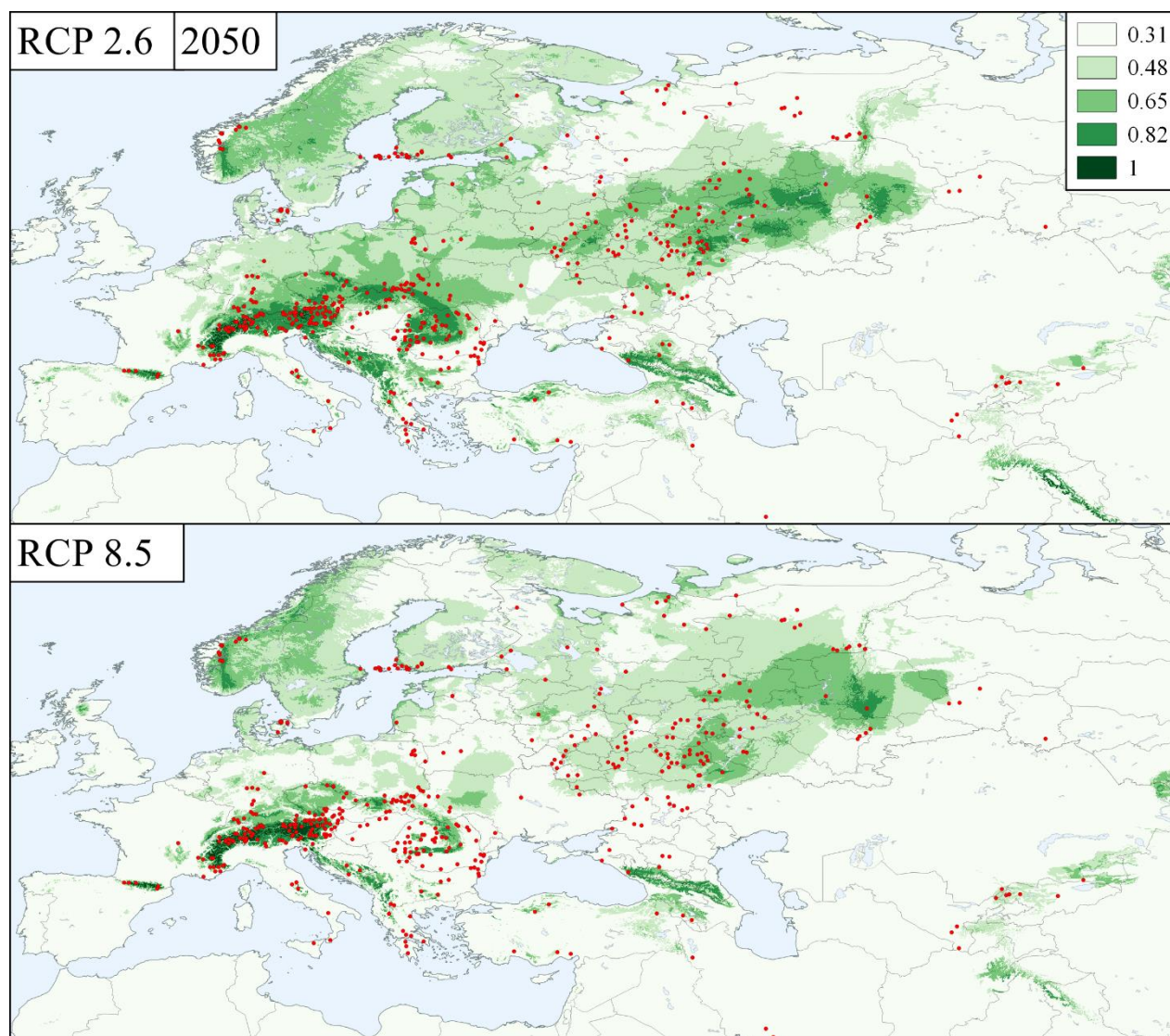


Рисунок 5.6. Проекция моделей общей климатической ниши мнемозины на сценарии изменения климата в 2050 году. На шкале отмечена вероятность пригодности местообитаний выше определенного порога. Точками обозначены места наблюдений и сборов.

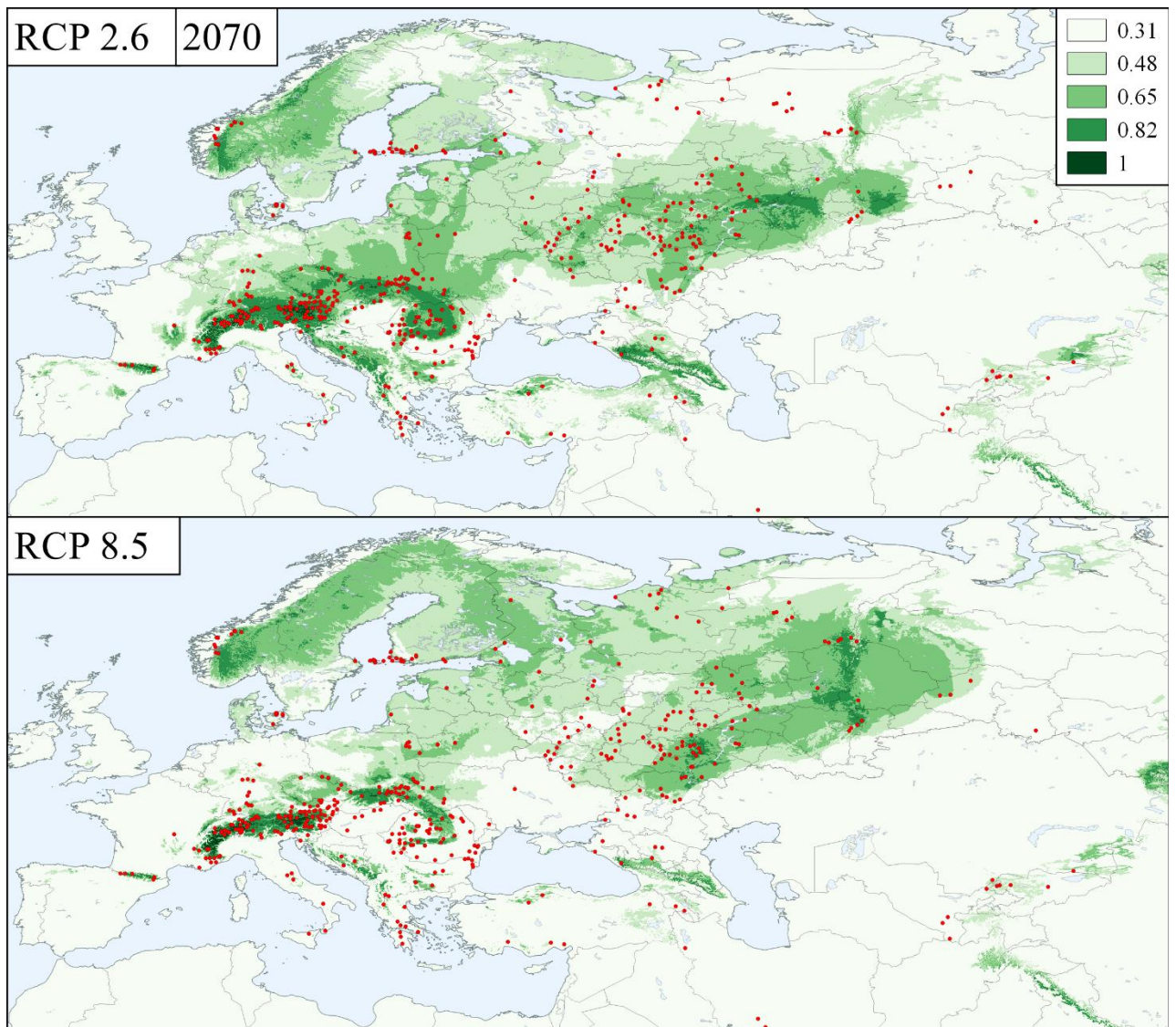


Рисунок 5.7. Проекция моделей общей климатической ниши мнемозины на сценарии изменения климата в 2070 году. На шкале отмечена вероятность пригодности местообитаний выше определенного порога. Точками обозначены места наблюдений и сборов.

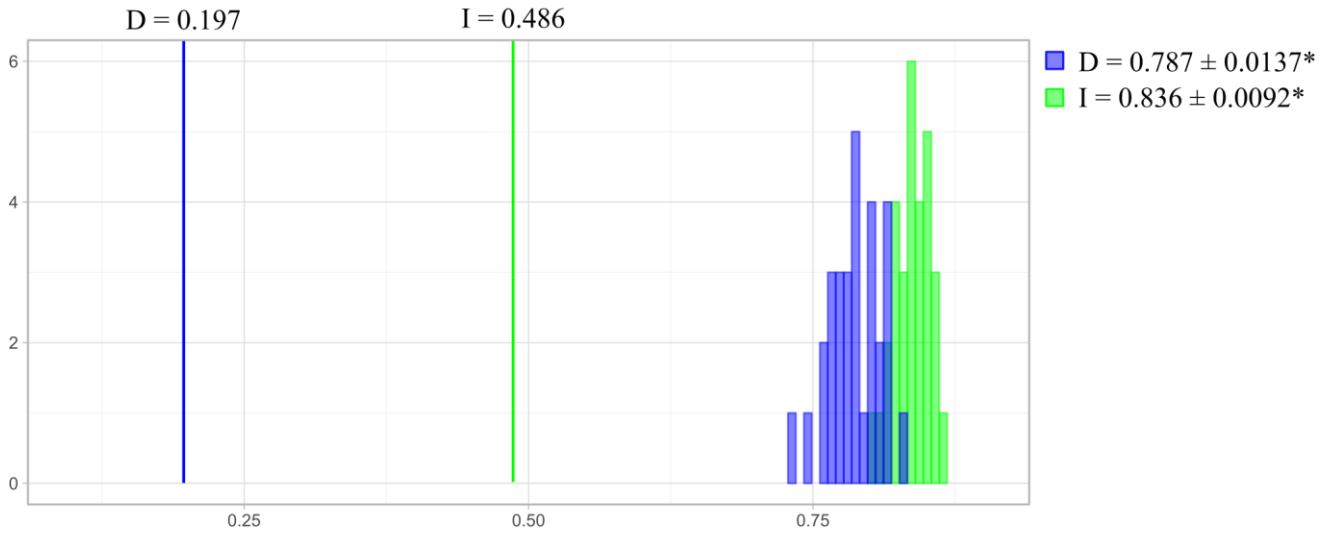
Проекция моделей на условия 2070 года (рисунок 5.7) прогнозируют общее увеличение (в сравнении с современными) пригодных площадей для обоих сценариев – на 15.2% в случае RCP 2.6, на 9.6% для RCP 8.5. Площадь предсказываемого ареала немного уменьшится при сценарии уменьшения объемов выбросов парниковых газов до минимального. Карта климатических предпочтений мнемозины по сценарию RCP 2.6 практически не отличается от того же сценария для 2050 года. По сценарию RCP 8.5 к 2070 году увеличится сдвиг возможных местообитаний на восток и продолжится дальнейшее уменьшение пригодных зон в южной Европе.

5.2. Статистический анализ моделей

Измеренное пространственное перекрытие моделей ниш групп CE и WM равно $I = 0.486$ и $D = 0.197$. Значения, близкие к 0 говорят о низком уровне совпадения в нишах, близкие к 1 – о высоком сходстве. Таким образом, перекрытие между нишами двух дивергентных линий мнемозины признано достаточно низким. Следует заметить, что значения показателя D всегда ниже, чем I (Hawlitschek и др., 2011). Результаты теста на идентичность и фонового теста показаны на рисунке 5.8. Чтобы избежать искажения результатов из-за распределения, отличного от нормального, оценка значимости проводилась на основе доверительных интервалов, полученных бутстрэп-рандомизацией тестовых значений I и D (DiCiccio, Efron, 1996). На основании теста на идентичность, нулевая гипотеза об идентичности ниш была отвергнута ($P < 0.01$), что предполагает значимые различия в значениях климатических переменных двух групп, на основе которых построены модели. В фоновом тесте нулевая гипотеза о том, что различия в климатических нишах могут быть объяснены разницей в доступных условиях среды, была отвергнута во всех случаях. Ниши оказались значимо ($P < 0.01$) более схожи, чем ожидалось при расчётах на основе ареала группы CE в условиях, доступных WM и наоборот, более различны на основе точек группы WM в границах ареала CE.

Для однозначной трактовки результатов, провели тесты на совпадение климатических ниш двух выделенных групп в сравнении с близким к мнемозине видом *P. ariadne*. О точных местообитаниях ариадны доступно мало информации, поэтому для моделирование ее ниши к двум точкам из базы GBIF и точкам отловов музейных образцов были добавлены возможные локалитеты (приложение 3), выбранные следующим образом: 60 случайных точек генерировали внутри ареала, предложенного Вейссом (Weiss, 1999), ограничиваясь высотой над уровнем моря от 300 до 2000 метров (Коршунов, 2002). Пространственное перекрытие ниш составило $I = 0.413$ и $D = 0.108$ для *P. ariadne* и группы CE, $I = 0.329$ и $D = 0.021$ для ариадны и группы WM, что значительно меньше соответствующих значений при сравнении двух групп мнемозины между собой.

Тест на идентичность ниш групп СЕ и WM



Фоновый тест групп СЕ и WM

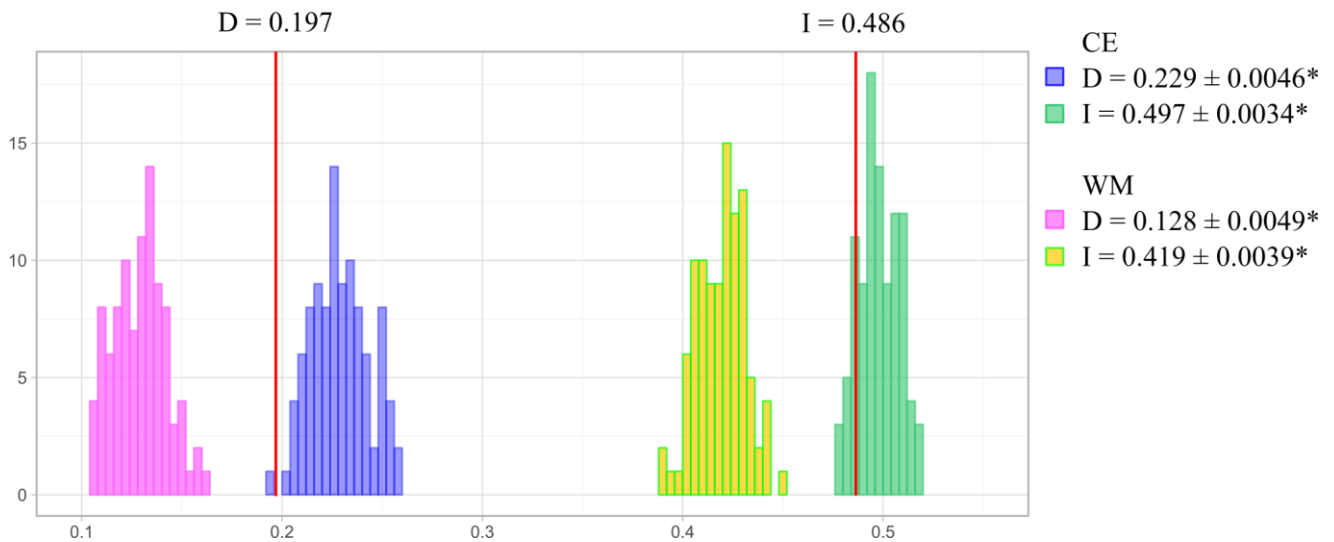


Рисунок 5.8. Результаты теста на идентичность ниши и фонового теста. Одиночные значения I и D соответствуют действительному пространственному перекрытию ниш групп СЕ и WM. Значения действительного перекрытия не входят в 99.9% доверительный интервал (средние значения отмечены звездочкой *) результатов теста на идентичность ниш и результатов фонового теста для групп СЕ (в сравнении с доступным ареалом WM) и WM (в сравнении с доступным ареалом СЕ).

Результаты тестов на идентичность, также как в предыдущем случае, отвергли нулевую гипотезу о высоком сходстве двух ниш ($P > 0.01$). Значения фонового теста подтвердили значимое различие ниш во всех восьми случаях ($P > 0.01$). Результаты фонового теста для *P. ariadne* и двух групп мнемозины

показаны на рисунке 5.9. Из них следует, что в доступном ареале каждого вида (*P. mnemosyne* и *P. ariadne*) существуют условия среды, более предпочтительные для другого, но бабочки не стремятся их занимать.

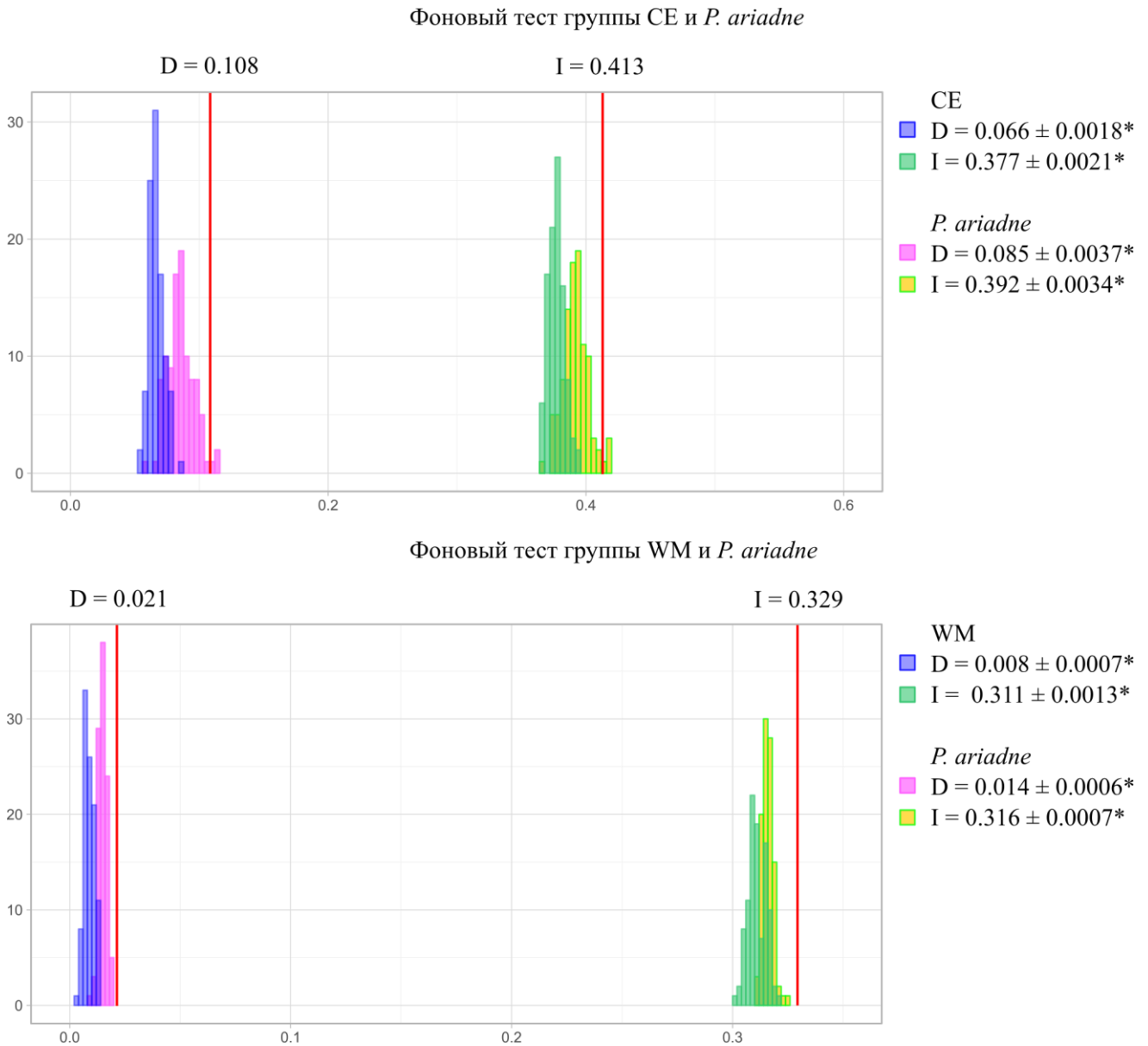


Рисунок 5.8. Результаты фонового теста для *P. ariadne* и двух групп *P. mnemosyne* (CE и WM). Одиночные значения I и D соответствуют действительному пространственному перекрытию ниш *P. ariadne* и группы CE (сверху), *P. ariadne* и группы WM (снизу). Значения действительного перекрытия не входят в 99.9% доверительный интервал (средние значения отмечены звездочкой *) результатов теста.

5.3. Обсуждение

В целом, полученные зоны подходящих значений укладываются в границы предложенного ранее ареала мнемозины (Gratton и др., 2008; Weiss, 1999). Разумеется, необходимо учитывать, что в климатической модели отсутствуют такие ограничения для естественно расселения бабочек, как отсутствие или присутствие кормовых растений, географические барьеры, антропогенная нагрузка, поэтому настоящий ареал мнемозины гораздо больше фрагментирован.

Все три полученные модели достаточно хорошо описывают климатическую нишу, однако при делении ареала на две группы, модели для каждой из них имеют низкую предсказательную способность друг для друга и 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 искажать результаты моделирования (Porch, 2010). В случае мнемозины, роль таких исторических причин могли бы играть четвертичные оледенения, оставившие часть популяций отрезанными от других физическим барьером в виде Альпийского хребта. 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 (рисунок 5.4, 3), так и в климате Эемского межледникового (рисунок 5.5, 3), что свидетельствует об относительно недавнем приспособлении к данному типу климата (менее 21 тыс.

лет назад). Результаты расчета реализованной предковой ниши говорят о том, что условия обитания последнего общего предка всех популяций западно-средиземноморских мнемозин были ближе к условиям обитания современной группы SE (раздел 4.2). Кроме того, предсказанные зоны обитания предков главных митохондриальных кластеров вписываются в проекцию общей модели ниши на условия межледниковья (раздел 4.3). Наблюдаемый высокий уровень пластичности в фундаментальной нише мнемозины расходится с гипотезой о том, что значимый филогенетический сигнал предсказывает консерватизм ниши (Losos, 2008).

Найденные различия в нишах двух групп не обязательно говорят об их принадлежности к двум криптическим 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. Например, ареал мнемозины на севере Франции, Германии и Норвегии лимитирован факторами, не связанными с кормовыми растениями, что следует из доступной информации об их распространении (рисунок 5.9). Многие области на севере Западной Европы, Великобритания и север Норвегии никогда не были известны в качестве мест обитания мнемозины (Franzen, Imby, 2012; Weiss, 1999).

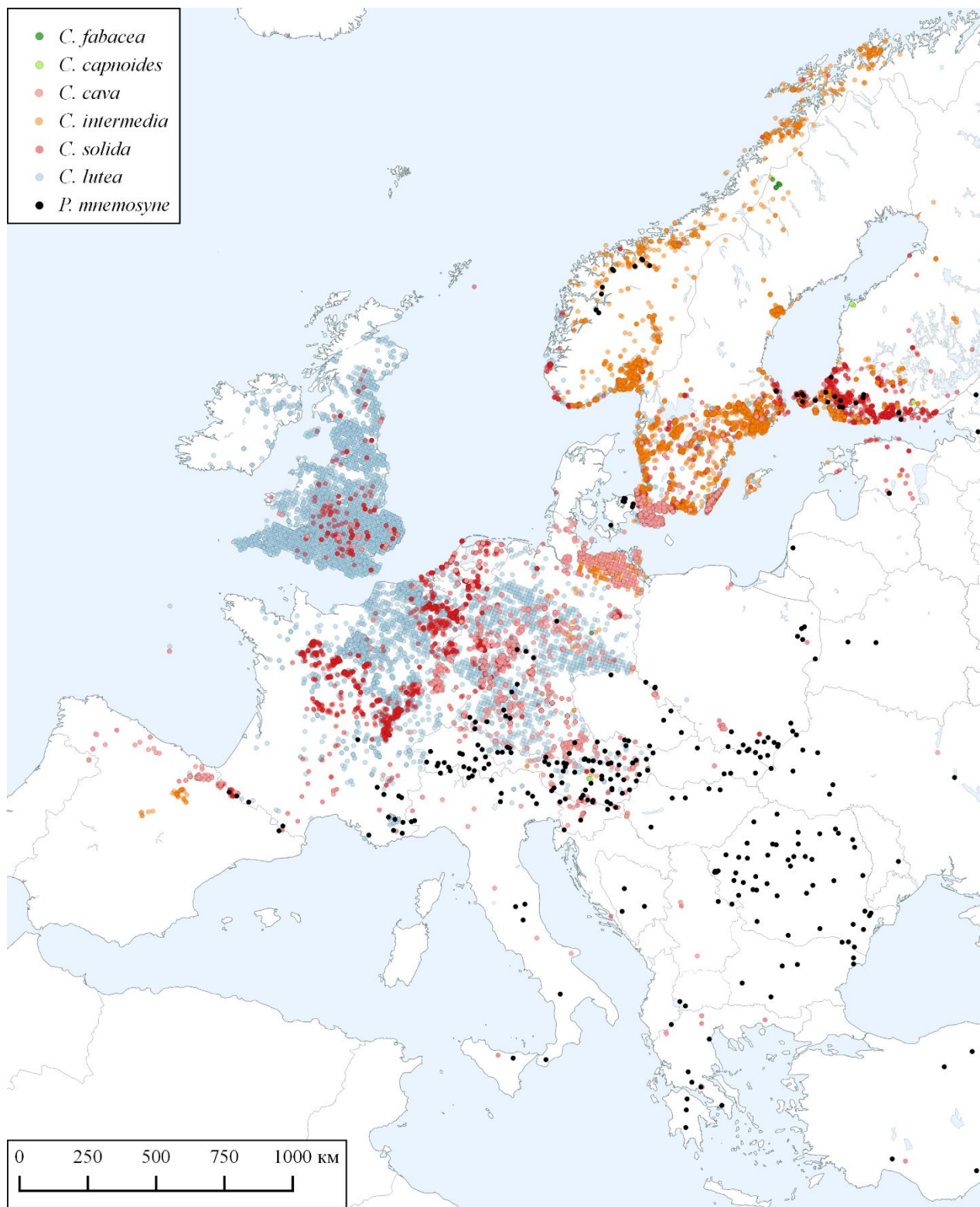


Рисунок 5.9. Распространение кормовых растений *P. mnemosyne* в Западной и Северной Европе. Данные о местообитаниях растений рода *Corydalis* после 1950 года получены в базе GBIF (<http://gbif.org>).

Обобщая имеющиеся данные, можно сделать вывод о том, что между двумя группами мнемозин накопилось значительное количество генетических и экологических различий, но нельзя с точной уверенностью сказать, что они представляют два отдельных вида. В данной работе рассматриваются различия только в митохондриальной ДНК бабочек, но существуют данные о дивергенции последовательностей ядерных генов и возможной митохондриальной интрогрессии между двумя линиями, вызванной гибридизацией (Gratton, 2006); морфология двух групп сходна на уровне рисунка на крыльях, но имеет некоторые различия в строении гениталий (раздел 3.4). При этом, судя по предыдущему источнику, данные различия не создают абсолютный репродуктивный барьер. Различия в климатической нише возникли относительно недавно и могут быть вызваны различными условиями произрастания кормовых растений, с которыми тесно связана мнемозина, однако это также подтверждает усиливающуюся в плейстоцене дивергенцию между группами. Сравнивая мнемозину с ближайшим «хорошим» видом – *P. ariadne*, на основании расхождений в генетике и климатических предпочтениях, можно заключить, что данный случай является примером продолжающегося современного видообразования. Первичным драйвером специализации в этом случае является изоляция, вызвавшая расхождения в ДНК двух групп, вторичным – изменение предпочтений кормовых растений и самих бабочек, ставшее причиной постепенного изменения климатической ниши.

По результатам моделирования выделяются наиболее предпочитаемые мнемозиной области ареала – в основном, это зоны средних высот 300 – 1500 метров в Альпах, Пиренеях, Карпатах и на Кавказе. 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), что говорит о высокой нетипичности мнемозин для общего климатического фона. Район Беломорско-Кулойского плато известен как рефугиум для различных реликтовых видов животных и растений – как холодолюбивых гляциальных (арктоальпийские элементы биоты), так и более южных атлантических (неморальные элементы). Примерами гляциальных реликтовых видов могут служить дриады *Drias punctata* и *D. octopetata*, ивы *Salix myrsinites* и *S. reticulata* (Симачева, 1989; Пучнина, 2000), стрекозы *Coenagrion glaciale* и *C. hylas* (Bernard, Daraž, 2010), жужелицы *Pterostichus brevicornis* и *Bembidion yuconum* (Мохнаткин и др., 2010), и другие. Среди атлантических реликтов, помимо *P. mnemosyne* и их кормовых растений *Corydalis solida* и *C. capnoides*, можно указать растения *Stellaria nemorum*, *Cypripedium calceolus*, *Paeonia anomala* (Симачева, 1989; Пучнина, 2000), голубянок *Everes alceas*, *Aricia nicias* и *Cupido minimus* (Болотов, 2004), жужелиц *Calosoma investigator*, *Lebia cruxminor* и *Badister lacertosus* (Мохнаткин и др., 2010). Совместное существование в этом районе реликтовых видов с принципиально различными экологическими требованиями возможно благодаря наличию в карстовых ландшафтах участков как с положительными, так и с отрицательными аномалиями теплообеспеченности по отношению к зональному фону (Шварцман, Болотов, 2008). Таким образом, 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; Татаринев, Кулакова, 2010). Полученные нами 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. Скорее наоборот, 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 зоны подходящих условий в 21 веке, уровень пригодности северных территорий для обитания мнемозины вырастет, хотя низкая численность современных северных популяций мнемозины, как и остальных европейских, обусловлена прежде всего зарастанием мелкоколесым лугов, на которых растет хохлатка (Горбач, 2014; Liivamägi и др., 2013; Väisänen, Somerha, 1985). В качестве меры контроля в будущем 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).

5.4. Основные выводы к главе 5

На данном этапе исследований провели анализ моделей климатической ниши мнемозины, полученных с помощью метода максимальной энтропии. Модели и зоны подходящих значений укладываются в границы ранее предложенного ареала бабочек. Подтверждено, что климатическая ниша всего вида зависит в большой степени от условий влажности (переменные BIO12-BIO14, BIO16-BIO19), температуры холодного времени года (BIO6 и BIO11), устойчивости климата (BIO4, BIO7).

Проекция моделей на условия Эемского межледниковья и последнего ледникового максимума согласуются с выводами Глав 3 и 4 о возможных зонах образования трех митохондриальных кластеров мнемозины и их последующем расселении в плейстоцене.

С помощью статистического анализа найдены значимые различия в нишах бабочек из групп SE и WM, которые немного ниже, чем различия данных групп с

ближайшим родственным видом – *P. ariadne*. Проекция моделей ниши на климат прошлых эпох свидетельствуют о сравнительно недавнем начале расхождения между группами мнемозины (меньше 21 тыс. лет назад). Высокая пластичность ниши расходится с гипотезой о том, что высокий уровень филогенетического сигнала свидетельствует о консерватизме ниши. На основании результатов тестов моделей климатических ниш и комплекса генетико-морфологических параметров сделан вывод об идущем процессе видообразования в дивергентных группах мнемозины. Первичным драйвером видообразования в данном случае является изоляция, вызвавшая расхождения в ДНК двух групп, вторичным – изменение предпочтений кормовых растений и самих бабочек вследствие изоляции, ставшее причиной постепенного изменения климатической ниши.

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 мелкоколесьем.

ВЫВОДЫ

1. Митохондриальный генофонд мнемозины представлен тремя крупными кладами, 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 SE 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 ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аникин, В. В. Редкие и охраняемые чешуекрылые (Lepidoptera) Саратовской области. Сообщение 1 // Фауна и экология животных: Межвузовский Сборник научных трудов. – Пенза: Издательство Пензенского педагогического университета, 1997. – С. 5–12.
2. Аникин, В. В. Охраняемые виды насекомых на территории Балаковского района Саратовской области в двадцатом столетии // Энтомология и паразитология. Исследования в Поволжье. Сб науч. тр. / Фадеев Р.С. – Саратов: Издательство Саратовского университета, 2004. – С. 175–176.
3. Блингушов, А. Е. Мнемозина (*Parnassius mnemosyne*) // Красная книга Рязанской области. / под ред. В.П. Иванчев, М.В. Казакова. – Рязань: НП «Голос губернии», 2011. Вып. 2. – С. 626.
4. Болотов, И. Н. Многолетние изменения фауны булавоусых чешуекрылых (Lepidoptera, Diurna) северной тайги на западе Русской равнины // Экология. 2004. – Т. 35. – № 2. С. 141–147.
5. Горбач, В. Пространственная организованность популяции черного аполлона (*Parnassius mnemosyne*) в условиях Заонежья / Кабанен Д. // Зоологический журнал. 2009. – Т. 88. – № 12. С. 1493–1505.
6. Горбач, В. В. Фауна и экология булавоусых чешуекрылых (Lepidoptera: Nesperioidea et Papilionoidea) восточной Фенноскандии: дис. докт. биол. наук: 03.02.05, 03.02.08 / Горбач Вячеслав Васильевич // 2014.
7. Горбунов, П. Ю. Дневные бабочки Южного Урала. / Ольшванг В.Н., Лагунов А.В. – Екатеринбург: УрО РАН, 1992. – 132 с.
8. Захаров, В. Д. Редкие и исчезающие животные Челябинской области // 6 лекций по экологии Челябинской области. / Лагунов А.В. – Челябинск: , 2000. – С. 24–45.
9. Захаров, Е. В. Изменчивость и гибридизация некоторых видов Парусников (Lepidoptera: Papilionidae) на Дальнем Востоке России: дис. канд. биол. наук: 03.00.08 / Захаров Евгений Валентинович. – Владивосток: , 2001. – 150 с.

10. Кепиков, М. А. К фауне чешуекрылых (Insecta: Lepidoptera) планируемого национального парка «Молога» и сопредельных территорий (Ярославская обл.) // Труды Дарвиновского государственного природного биосферного заповедника. 2006. – № 16. С. 194–204.

11. Комаров, Д. А. Мнемозина (*Parnassius mnemosyne*) // Красная книга Волгоградской области. Том 1. Животные. Часть I. Беспозвоночные животные. – Волгоград: Волгоград, 2011. – С. 148.

12. Кумаков, А. П. Чешуекрылые Саратовской области. / Коршунов Ю.П. – Саратов: Издательство Саратовского университета, 1979. – 240 с.

13. Лагунов, А. В. Наземные беспозвоночные животные Южно-Уральского национального парка // Материалы по науч. обоснованию организации Южно-Уральского национального парка. – Миасс: ИГЗ, 1990. – С. 95–96, 106–113, 116–117.

14. Львовский, А. Л. Булавоусые чешуекрылые Восточной Европы. / Моргун Д.В. под ред. под ред. П.В. Богданов. – Москва: Товарищество научных издательств КМК, 2007. – 443 с.

15. Мохнаткин, А. С. Население жужелиц (Coleoptera, Carabidae) различных биоценозов карстового ландшафта юго-восточной части Беломорско-Кулойского плато / Зезин И.С., Филиппов Б.Ю. // Вестник Северного (Арктического) Федерального Университета. Серия: естественные науки. 2010. – Т. 4.

16. Некрутенко, Ю. П. Дневные бабочки кавказа. Определитель (сем.: Papilionidae, Pieridae, Satyridae и Danaidae). – Киев: Наукова думка, 1990. – 49-52 с.

17. Осипов, И. Н. Дневные бабочки Приокско-террасного заповедника. / Самодуров Г.Д. – Пущино: Научный центр биологических исследований АН СССР, 1988. – 24 с.

18. Паньков, Н. Н. Мнемозина (*Parnassius mnemosyne*) // Красная Книга Пермского края. / под ред. А.И. Шепель. – Пермь: Книжный мир, 2008. – С. 256.

19. Полумордвинов, О. А. Материалы к распространению, экологии и биологии парусника мнемозины *Driopa mnemosyne* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera:

Parilionidae) на территории пензинской области / Шибяев С.В. // Известия ПГПУ. 2007. – Т. 3. – № 7. С. 308–313.

20. Полумордвинов, О. А. Монахов, Е. М. Насекомые Красной книги РФ на территории Пензенской области // 12 съезд Русского энтомологического общества. – СПб: ЗИН РАН, 2002. – С. 288.

21. Пучнина, Л. В. Структура и динамика природных компонентов Пинежского заповедника (северная тайга ЕТР, Архангельская область). Биоразнообразие и георазнообразие в карстовых областях. / под ред. под ред. М.В. Горячкин и др. – Архангельск: СОЛТИ, 2000. – 267 с.

22. Рыков, А. М. Современное распространение Мнемозины (*Driopa mnemosyne*) в Архангельской области // Проблемы изучения и охраны животного мира на Севере: Материалы докл. Всеросс. научн. конф. с междунар. участием. – Сыктывкар: Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, 2009. – С. 370–373.

23. Сажнев, А. С. Охраняемые виды насекомых (*Insecta*) на территории Саратовского района Саратовской области // Энтомология и паразитология. Исследования в Поволжье: сб. науч. трудов. / Роднев Н.В. – Саратов: Издательство Саратовского университета, 2004. – С. 121–123.

24. Симачева, Е. В. Флористический комплекс Пинежского государственного заповедника и его роль в сохранении реликтов Беломорско-Кулойского плато : Автореф. дисс. ... канд. биол.наук. – Вильнюс: , 1989. – 19 с.

25. Смирнова, О. В. Изменение видового состава и распространения ключевых видов деревьев (эдификаторов) лесного пояса с конца плейстоцена до позднего голоцена // Восточноевропейские леса: история в голоцене и современность: В 2 кн. / Турубанова С.А. под ред. О.В. Смирнова. – Москва: Наука, 2004. – С. 118–134.

26. Татаринов, А. Г. Мнемозина (*Parnassius mnemosyne*) // Красная книга Ненецкого автономного округа. – Нарьян-Мар: Ненецкий информационно-аналитический центр, 2006. – С. 264–265.

27. Татаринов, А. Г. Фауна европейского Северо-Востока России. Булавоусые чешуекрылые. Т. VII, ч. 1. / Долгин М.М. – СПб: Наука, 1999. – 181 с.

28. Татаринов, А. Г. Видовое разнообразие булавоусых чешуекрылых на европейском Северо-Востоке России. / Долгин М.М. – СПб: Наука, 2001. – 244 с.
29. Татаринов, А. Г. Ландшафтно-зональное распределение булавоусых чешуекрылых (Lepidoptera: Papilionoidea, Hesperioidea) в северных областях Уральского хребта / Кулакова О.И. // Вестник Северного (Арктического) Федерального Университета. Серия: естественные науки. 2010. – Т. 9. С. 83–89.
30. Тимралеев, З. А. Мнемозина (*Parnassius mnemosyne*) // Красная книга Республики Мордовия. В 2 т. Т. 2: Животные. – Саранск: Мордовское книжное издательство, 2005. – С. 336.
31. Тюмасева, З. И. Живые памятники природы Челябинской области. / Лагунов А.В. – Челябинск: Южно-Уральское кн. изд-во, 1988. – 73 с.
32. Чарушина, А. П. Отряд Чешуекрылые // Животный мир Кировской области. Вып. 2. / Шернин А.И. – Киров: Киров, 1974. – С. 315–377.
33. Четвериков, С. С. Бабочки Горьковской области. – Нижний Новгород: ННГУ, 1993. – 128 с.
34. Шварцман, Ю. Г. Пространственно-временная неоднородность таежного биома в области плейстоценовых материковых оледенений. / Болотов И.Н. – Екатеринбург: УрО РАН, 2008. – 301 с.
35. Коршунов, Ю. П. Булавоусые чешуекрылые Северной Азии. – Москва: Товарищество научных издательств КМК, 2002. – 424 с.
36. Aagaard, K. Population studies of *Parnassius mnemosyne* (Lepidoptera) in Sunndalen, Norway // Future of Butterflies in Europe. Proc. Int. Congr. Wageningen. / Hanssen O. – : Agric. Univ. Wageningen, 1989. – С. 160–166.
37. Akaike, H. A new look at the statistical model identification // IEEE Trans. Automat. Contr. 1974. – Т. 19. – № 6. С. 716–723.
38. Albrecht, C. Concurrent evolution of ancient sister lakes and sister species: the freshwater gastropod genus *Radix* in lakes Ohrid and Prespa / Wolff C., Glöer P., Wilke T. // Hydrobiologia. 2008. – Т. 615. – № 1. С. 157–167.
39. Anikin, V. V. . Fauna Lepidopterologica Volgo-Uralensis 150 years later: changes and additions. Part I. Rhopalocera / Sachkov S.A., Zolotukhin V. V. // Atalanta.

1993. – T. 24. – № 1/2. C. 89–120.

40. Araújo, M. B. The importance of biotic interactions for modelling species distributions under climate change / Luoto M. // *Glob. Ecol. Biogeogr.* 2007. – T. 16. – № 6. C. 743–753.

41. Austin, M. Species distribution models and ecological theory: A critical assessment and some possible new approaches // *Ecol. Modell.* 2007. – T. 200. C. 1–19.

42. Baker, C. S. The blind leading the blind: cryptic subterranean species and DNA taxonomy / Dalebout M.L., Lavery S., Ross H. a. // *Trends Ecol. Evol.* 2003. – T. 18. – № 6. C. 271–272.

43. Barnagaud, J. Y. Relating habitat and climatic niches in birds / Devictor V., Jiguet F., Barbet-Massin M., Viol I., Archaux F. // *PLoS One.* 2012. – T. 7. – № 3. C. 1–10.

44. Beaulieu, J. M. Modeling stabilizing selection: expanding the Ornstein-Uhlenbeck model of adaptive evolution. / Jhweng D.-C., Boettiger C., O'Meara B.C. // *Evolution* (N. Y). 2012. – T. 66. – № 8. C. 2369–83.

45. Bergström, A. Oviposition site preferences of the threatened butterfly *Parnassius mnemosyne* – implications for conservation // *J. Insect Conserv.* 2005. – T. 9. – № 1. C. 21–27.

46. Bernard, R. R. Relict occurrence of East Palaearctic dragonflies in northern European Russia, with first records of *Coenagrion glaciale* in Europe (Odonata: Coenagrionidae) / Daraž B.B. // *Int. J. Odonatol.* 2010. – T. 13. – № 1. C. 39–62.

47. 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? / Gofarov M.Y., Rykov A.M., Frolov A.A., Kogut Y.E. // *Nota Lepidopterol.* 2013. – T. 36. – № 1. C. 19–33.

48. Booth, T. H. Bioclim: The first species distribution modelling package, its early applications and relevance to most current MaxEnt studies / Nix H.A., Busby J.R., Hutchinson M.F. // *Divers. Distrib.* 2014. – T. 20. – № 1. C. 1–9.

49. Bouckaert, R. BEAST 2: a software platform for Bayesian evolutionary analysis. / Heled J., Kühnert D., Vaughan T., Wu C.-H., Xie D., Suchard M.A., Rambaut

A., Drummond A.J. // PLoS Comput. Biol. 2014. – T. 10. – № 4. C. e1003537.

50. Broennimann, O. Evidence of climatic niche shift during biological invasion / Treier U.A., Müller-Schärer H., Thuiller W., Peterson A.T., Guisan A. // Ecol. Lett. 2007. – T. 10. – № 8. C. 701–709.

51. Brower, A. V. Z. Rapid morphological radiation and convergence among races of the butterfly *Heliconius erato* inferred from patterns of mitochondrial DNA evolution. // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 1994. – T. 91. – № 14. C. 6491–6495.

52. Butler, M. A. Phylogenetic Comparative Analysis: A Modeling Approach for Adaptive Evolution / King A.A. // Am. Nat. 2004. – T. 164. – № 6. C. 683–695.

53. Casiraghi, M. DNA barcoding: a six-question tour to improve users' awareness about the method. / Labra M., Ferri E., Galimberti A., Mattia F. De. // Brief. Bioinform. 2010. – T. 11. – № 4. C. 440–53.

54. Caterino, M. S. Papilio phylogeny based on mitochondrial cytochrome oxidase I and II genes. / Sperling F.A.H. // Mol. Phylogenet. Evol. 1999. – T. 11. – № 1. C. 122–37.

55. Chase, J. M. Ecological Niches: Linking Classical and Contemporary Approaches. / Leibold M.A. , 2003.

56. Chichvarkhin, A. Phylogeny of the genus *Parnassius*: evidence from five gene sequences / Wahlberg N., Omoto K., Nylin S. // Unpublished. 2007.

57. Cordellier, M. Inferring the past to predict the future: climate modelling predictions and phylogeography for the freshwater gastropod *Radix balthica* (Pulmonata, Basommatophora). / Pfenninger M. // Mol. Ecol. 2009. – T. 18. – № 3. C. 534–44.

58. Crisp, M. D. Phylogenetic biome conservatism on a global scale. / Arroyo M.T.K., Cook L.G., Gandolfo M.A., Jordan G.J., McGlone M.S., Weston P.H., Westoby M., Wilf P., Linder H.P. // Nature. 2009. – T. 458. – № 7239. C. 754–756.

59. Crozier, R. H. The mitochondrial genome of the honeybee *Apis mellifera*: complete sequence and genome organization // Genetics. 1993.

60. Dawideit, B. A. Ecomorphological predictors of natal dispersal distances in birds / Phillimore A.B., Laube I., Leisler B., Böhning-Gaese K. // J. Anim. Ecol. 2009.

– T. 78. – № 2. C. 388–395.

61. DeChaine, E. Historic cycles of fragmentation and expansion in *Parnassius smintheus* (Papilionidae) inferred using mitochondrial DNA / Martin A. // *Evolution* (N. Y). 2004. – T. 58. – № 1. C. 113–127.

62. Descimon, H. Structure démographique et génétique de quatre populations provençales de *Parnassius mnemosyne* (L.) (Lepidoptera Papilionidae): isolement et polymorphisme dans des populations «menacées» / Napolitano M., Geiger H. // *Genet. Sel. Evol.* 1988. – T. 20. – № 1. C. 51–62.

63. DiCiccio, T. J. Bootstrap confidence intervals / Efron B. // *Stat. Sci.* 1996. – T. 11. – № 3. C. 189–228.

64. Dincă, V. Reproductive isolation and patterns of genetic differentiation in a cryptic butterfly species complex. / Wiklund C., Lukhtanov V. a, Kodandaramaiah U., Norén K., Dapporto L., Wahlberg N., Vila R., Friberg M. // *J. Evol. Biol.* 2013. – T. 26. – № 10. C. 2095–106.

65. Dincă, V. Complete DNA barcode reference library for a country's butterfly fauna reveals high performance for temperate Europe / Zakharov E. V, Hebert P.D.N., Vila R. // *Proc. R. Soc.* 2011. – T. 278. – № August 2010. C. 347–355.

66. Dray, S. The ade4 package: implementing the duality diagram for ecologists / Dufour A.B. // *J. Stat. Softw.* 2007. – T. 22. – № 4. C. 1–20.

67. Elton, C. *Animal Ecology* // *Anim. Ecol.* 1927. – T. New impres. – № 2. C. 207.

68. Engler, J. O. Comparative Landscape Genetics of Three Closely Related Sympatric Hesperid Butterflies with Diverging Ecological Traits / Balkenhol N., Filz K.J., Habel J.C., Rödder D. // *PLoS One.* 2014. – T. 9. – № 9. C. e106526.

69. Engler, R. 21st century climate change threatens mountain flora unequally across Europe / Randin C.F., Thuiller W., Dullinger S., Zimmermann N.E., Araújo M.B., Pearman P.B., Lay G. Le, Piedallu C., Albert C.H., Choler P., Coldea G., Lamo X. De, Dirnböck T., Gégout J.C., Gómez-García D., Grytnes J.A., Heegaard E., Høistad F., Nogués-Bravo D., Normand S., Puşcaş M., Sebastià M.T., Stanisci A., Theurillat J.P., Trivedi M.R., Vittoz P., Guisan A. // *Glob. Chang. Biol.* 2011. – T. 17. – № 7. C. 2330–

2341.

70. Eskildsen, A. Testing species distribution models across space and time: High latitude butterflies and recent warming / Roux P.C. le, Heikkinen R.K., Høye T.T., Kissling W.D., Pöyry J., Wisz M.S., Luoto M. // *Glob. Ecol. Biogeogr.* 2013. – T. 22. – № 12. C. 1293–1303.

71. Etten, J. van. raster: Geographic analysis and modeling with raster data // 2012.

72. Farrell, B. D. Evolutionary assembly of the milkweed fauna: cytochrome oxidase I and the age of *Tetraopes* beetles. // *Mol. Phylogenet. Evol.* 2001. – T. 18. – № 3. C. 467–478.

73. Felsenstein, J. Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. // *J. Mol. Evol.* 1981. – T. 17. – № 6. C. 368–76.

74. Fielding, A. H. A review of methods for the assessment of prediction errors in conservation presence/absence models / Bell J.F. // *Environ. Conserv.* 1997. – T. 24. – № 1. C. 38–49.

75. Folmer, O. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. / Black M., Hoeh W., Lutz R., Vrijenhoek R. // *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 1994. – T. 3. – № 5. C. 294–299.

76. Franzen, M. Åtgärdsprogram för mnemosynefjäril. / Imby L. , 2012.

77. Fraser, D. J. Adaptive evolutionary conservation: Towards a unified concept for defining conservation units // *Mol. Ecol.* 2001. T. 10. C. 2741–2752.

78. Freckleton, R. P. Detecting non-Brownian trait evolution in adaptive radiations. / Harvey P.H. // *PLoS Biol.* 2006. – T. 4. – № 11. C. e373.

79. Freckleton, R. P. Phylogenetic analysis and comparative data: a test and review of evidence. / Harvey P.H., Pagel M. // *Am. Nat.* 2002. – T. 160. – № 6. C. 712–26.

80. Freina, J. J. de. Untersuchungen zur Eimorphologie bei *Parnassius mnemosyne* (Linnaeus, 1758) und ihrer infraspezifischen Variabilität an Hand von rasterelektronenmikroskopischen Darstellungen (Lepidoptera, Papilionidae) // *Nota Lepidopterol.* 1994. – T. 16. – № 3/4. C. 179–194.

81. Fu, Y. X. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth,

hitchhiking and background selection. // *Genetics*. 1997. – T. 147. – № 2. C. 915–25.

82. Fujisawa, T. Delimiting species using single-locus data and the Generalized Mixed Yule Coalescent approach: a revised method and evaluation on simulated data sets. / Barraclough T.G. // *Syst. Biol.* 2013. – T. 62. – № 5. C. 707–24.

83. Gallagher, R. V. Evidence for climatic niche and biome shifts between native and novel ranges in plant species introduced to Australia / Beaumont L.J., Hughes L., Leishman M.R. // *J. Ecol.* 2010. – T. 98. – № 4. C. 790–799.

84. Goldmann, J. Der Fang von *Parnassius mnemosyne* verboten! // *Int. Entomol. Zeitschrift*. 1911. – № 5. Jahrg. C. 234.

85. Gratton, P. Phylogeography and conservation genetics of *Parnassius mnemosyne* L., 1758 (Lepidoptera, Papilionidae) // Publ. PhD Thesis, Univ. Rome 'Tor Vergata. 2006.

86. Gratton, P. Pleistocene evolutionary history of the Clouded Apollo (*Parnassius mnemosyne*): genetic signatures of climate cycles and a «time-dependent» mitochondrial substitution rate. / Konopiński M.K., Sbordoni V. // *Mol. Ecol.* 2008. – T. 17. – № 19. C. 4248–62.

87. Gratton, P. Isolation of novel microsatellite markers for the clouded Apollo (*P. mnemosyne* Linnaeus, 1758; Lepidoptera, Papilionidae) / Sbordoni V. // *Conserv. Genet.* 2008. – T. 10. – № 4. C. 1141–1143.

88. Grinnell, J. The Niche-Relationships of the California Thrasher // *Auk*. 1917. – T. 34. – № 4. C. 427–433.

89. Habel, J. C. Biogeography meets conservation: the genetic structure of the endangered lycaenid butterfly *Lycaena helle* (Denis & Schiffermüller, 1775) / Schmitt T., Meyer M., Finger A., Rödder D., Assmann T., Zachos F.E. // *Biol. J. Linn. Soc.* 2010. – T. 101. – № 1. C. 155–168.

90. Hall, T. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT // *Nucleic Acids Symp. Ser.* 1999. T. 41. C. 95–98.

91. Hansen, L. O. Apollosommerfuglen - majestetisk og myteomspunnet // *Insekt-Nytt*. 2006. – T. 31. – № 1/2. C. 5–10.

92. Hansen, T. Stabilizing selection and the comparative analysis of adaptation // *Evolution* (N. Y). 1997. – T. 51. – № 5. C. 1341–1351.

93. Harmon, L. J. Early bursts of body size and shape evolution are rare in comparative data. / Losos J.B., Jonathan Davies T., Gillespie R.G., Gittleman J.L., Bryan Jennings W., Kozak K.H., McPeck M.A., Moreno-Roark F., Near T.J., Purvis A., Ricklefs R.E., Schluter D., Schulte Ii J.A., Seehausen O., Sidlauskas B.L., Torres-Carvajal O., Weir J.T., Mooers A.Ø. // *Evolution* (N. Y). 2010. – T. 64. – № 8. C. 2385–96.

94. Harmon, L. J. GEIGER: investigating evolutionary radiations. / Weir J.T., Brock C.D., Glor R.E., Challenger W. // *Bioinformatics*. 2008. – T. 24. – № 1. C. 129–31.

95. Hausmann, A. Now DNA-barcoded: The butterflies and larger moths of Germany / Haszprunar G., Segerer A.H., Speidel W., Behounek G., Hebert P.D.N. // *Spixiana*. 2011. – T. 34. C. 47–58.

96. Hawlitschek, O. Ecological niche modelling and ndna sequencing support a new, morphologically cryptic beetle species unveiled by DNA barcoding / Porch N., Hendrich L., Balke M. // *PLoS One*. 2011. – T. 6. – № 2.

97. Heath, J. Threatened Rhopalocera (butterflies) in Europe. – : Council of Europe, 1981.

98. Hebert, P. D. N. Biological identifications through DNA barcodes / Cywinska A., Ball S.L., DeWaard J.R. // *Proc. Biol. Sci.* 2003. – T. 270. – № 1512. C. 313–21.

99. Hershler, R. Genetic Structure of the Western North American Aquatic Gastropod Genus *Taylorconcha* and Description of a Second Species // *J. Molluscan Stud.* 2006. – T. 72. – № 2. C. 167–177.

100. Hijmans, R. Computer tools for spatial analysis of plant genetic resources data: 1. DIVA-GIS / Guarino L. // *Plant Genet. Resour.* 2001. – № 127. C. 15–19.

101. Hijmans, R. J. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas / Cameron S.E., Parra J.L., Jones P.G., Jarvis A. // *Int. J. Climatol.* 2005. – T. 25. – № 15. C. 1965–1978.

102. Hijmans, R. J. *dismo: Species distribution modeling* // 2014.

103. Hoffmann, A. A. Climate change and evolutionary adaptation / Sgro C.M. // Nature. 2011. – T. 470. – № 7335. C. 479–485.

104. Holt, R. D. Bringing the Hutchinsonian niche into the 21st century: ecological and evolutionary perspectives. // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2009. – T. 106 Suppl . C. 19659–19665.

105. Hugall, A. Reconciling paleodistribution models and comparative phylogeography in the Wet Tropics rainforest land snail *Gnarosophia bellendenkerensis* (Brazier 1875). / Moritz C., Moussalli A., Stanisic J. // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2002. – T. 99. – № 9. C. 6112–6117.

106. Humala, A. E. New findings of *Parnassius mnemosyne* Linnaeus (Lepidoptera, Papilionidae) in Russian Karelia // Entomol. Fenn. 1998. – T. 8. – № 4. C. 224.

107. Hurvich, C. M. Regression and time series model selection in small samples / Tsai C.-L. // Biometrika. 1989. – T. 76. – № 2. C. 297–307.

108. Hutchinson, G. E. Concluding remarks // Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 1957. – T. 22. C. 415–427.

109. Jackson, D. A. Stopping Rules in Principal Components Analysis: A Comparison of Heuristical and Statistical Approaches // Ecology. 1993. – T. 74. – № 8. C. 2204.

110. Jiang, W. Should Genes with Missing Data Be Excluded from Phylogenetic Analyses? / Chen S.-Y., Wang H., Li D.-Z., Wiens J.J. // Mol. Phylogenet. Evol. 2014. – T. 80. C. 308–318.

111. Katoh, T. Phylogeny and evolution of butterflies of the genus *Parnassius*: inferences from mitochondrial 16S and ND1 sequences. / Chichvarkhin A., Yagi T., Omoto K. // Zoolog. Sci. 2005. – T. 22. – № 3. C. 343–51.

112. Keskula, T. Phenology and distribution of the Clouded Apollo *Parnassius mnemosyne* (Linnaeus, 1_58) in Estonia, with the description of a new subspecies from south-eastern Estonia / Luig J. // Atalanta (Marktleuthen). 1997. – T. 28. C. 17–20.

113. Kimura, M. The Neutral Theory of Molecular Evolution. – Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1985. – 384 c.

114. Kingman, J. The coalescent // *Stoch. Proc. Appl.* 1982. – T. 13. C. 235–48.
115. Konopinski, M. K. A set of primers conserved in genus *Parnassius* (Lepidoptera, Papilionidae) for amplification and sequencing of 1016 bp fragment of cytochrome oxidase subunit I from museum specimens. // *Mol. Ecol. Resour.* 2008. – T. 8. – № 3. C. 675–7.
116. Konvička, M. Population Structure, Behaviour and Selection of Oviposition Sites of an Endangered Butterfly, *Parnassius Mnemosyne*, in Litovelské Pomoraví. Czech Republic / Kuras T. // *J. Insect Conserv.* 1999.
117. Konvicka, M. Absence of forest mantles creates ecological traps for *Parnassius mnemosyne* (Papilionidae) / Vlasanek P., Hauck D. // *Nota Lepidopterol.* 2006. – T. 29. – № 3/4. C. 145–152.
118. Kozak, K. H. Accelerated rates of climatic-niche evolution underlie rapid species diversification // *Ecol. Lett.* 2010. T. 13. № 11. C. 1378–1389.
119. Kurdna, O. Ökologie und Schutz von *Parnassius mnemosyne* (Linnaeus, 1758) in der Rhön / Seufert W. // *Oedipus.* 1991. – № 2. C. 1–44.
120. Kuusemets, V. Habitat and landscape structure requirements of Clouded Apollo (*Parnassius mnemosyne*) // Kuhn, E.; Feldmann, R.; Thomas, J. (Eds.) *Studies on the Ecology & Conservation of Butterflies in Europe. Vol.1. General Concepts and Case Studies.* / Meier K., Luig J., Liivamägi A. – Sofia/Moscow: Pensoft, 2005. – C. 18–21.
121. Kuussaari, M. Successful translocation of the threatened Clouded Apollo butterfly (*Parnassius mnemosyne*) and metapopulation establishment in southern Finland / Heikkinen R.K., Heliölä J., Luoto M., Mayer M., Rytteri S., Bagh P. von. // *Biol. Conserv.* 2015. – T. 190. C. 51–59.
122. Kvist, S. Barcoding in the dark?: a critical view of the sufficiency of zoological DNA barcoding databases and a plea for broader integration of taxonomic knowledge // *Mol. Phylogenet. Evol.* 2013. – T. 69. – № 1. C. 39–45.
123. Larkin, M. A. Clustal W and Clustal X version 2.0. / Blackshields G., Brown N.P., Chenna R., McGettigan P.A., McWilliam H., Valentin F., Wallace I.M., Wilm A., Lopez R., Thompson J.D., Gibson T.J., Higgins D.G. // *Bioinformatics.* 2007. – T. 23. –

№ 21. C. 2947–8.

124. Librado, P. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data / Rozas J. // *Bioinformatics*. 2009. – T. 25. C. 1451–1452.

125. Liivamägi, A. Changes in the distribution of Clouded Apollo *Parnassius mnemosyne* (Lepidoptera: Papilionidae) in Estonia / Kuusemets V., Luig J., Kask K. // *Entomol. Fenn.* 2013. – № October.

126. Liu, C. Selecting thresholds of occurrence in the prediction of species distributions / Berry P.M., Dawson T.P., Pearson R.G. // *Ecography (Cop.)*. 2005. – T. 28. C. 385–393.

127. Liu, C. Selecting thresholds for the prediction of species occurrence with presence-only data / White M., Newell G. // *J. Biogeogr.* 2013. – T. 40. C. 778–789.

128. Losos, J. B. Phylogenetic niche conservatism, phylogenetic signal and the relationship between phylogenetic relatedness and ecological similarity among species // *Ecol. Lett.* 2008. – T. 11. – № 10. C. 995–1003.

129. Lukhtanov, V. a. DNA barcoding Central Asian butterflies: increasing geographical dimension does not significantly reduce the success of species identification. / Sourakov A., Zakharov E. V, Hebert P.D.N. // *Mol. Ecol. Resour.* 2009. – T. 9. – № 5. C. 1302–10.

130. Lunt, D. The insect cytochrome oxidase I gene: evolutionary patterns and conserved primers for phylogenetic studies / Zhang D. // *Insect Mol.* 1996. – T. 5. – № 3. C. 153–165.

131. Luoto, M. Determinants of distribution and abundance in the clouded apollo butterfly: a landscape ecological approach / Kuussaari M., Rita H. // *Ecography (Cop.)*. 2001. C. 601–617.

132. Megléc, E. Genetic variations in space and time in *Parnassius mnemosyne* (L.) (Lepidoptera) populations in north-east Hungary: implications for conservation / Nève G., Pecsénye K., Varga Z. // *Biol. Conserv.* 1999. – T. 89. C. 251–25.

133. Megléc, E. Microsatellite loci for *Parnassius mnemosyne* (Lepidoptera) / Salignac M. // *Hereditas*. 1998. – T. 180. C. 179–180.

134. Meier, K. Riparian buffer zones as elements of ecological networks: Case

study on *Parnassius mnemosyne* distribution in Estonia / Kuusemets V., Luig J., Mander Ü. // *Ecol. Eng.* 2005. – T. 24. – № 5. C. 531–537.

135. Michel, F. Molecular phylogeny of Parnassiinae butterflies (Lepidoptera: Papilionidae) based on the sequences of four mitochondrial DNA segments / Rebourg C. // *Ann. la Société Entomol.* 2008. – T. 44. – № 1. C. 1–36.

136. Minh, B. Q. Ultrafast approximation for phylogenetic bootstrap. / Nguyen M.A.T., Haeseler A. von. // *Mol. Biol. Evol.* 2013. – T. 30. – № 5. C. 1188–95.

137. Mitikka, V. Pgi genotype influences flight metabolism at the expanding range margin of the european map butterfly / Hanski I. // *Ann. Zool. Fennici.* 2010. – T. 47. – № 1. C. 1–14.

138. Moran, N. A. Phylogenetics and evolution of the aphid genus *Uroleucon* based on mitochondrial and nuclear DNA sequences / Kaplan M.E., Gelsey M.J., Murphy T.G., Scholes E.A. // *Syst. Entomol.* 1999. – T. 24. – № 1. C. 85–93.

139. Moss, R. Towards new scenarios for analysis of emissions, climate change, impacts, and response strategies. / Babiker M., Brinkman S., Calvo E. , 2008.

140. Mwabvu, T. Is millipede taxonomy based on gonopod morphology too inclusive? Observations on genetic variation and cryptic speciation in *Bicoidens flavicollis* (Diplopoda: Spirostreptida: Spirostreptidae) / Lamb J., Slotow R., Hamer M., Barraclough D. // *African Invertebr.* 2013. – T. 54. – № 2. C. 349–356.

141. Napolitano, M. Genetic structure of French populations of the mountain butterfly *Parnassius mnemosyne* L.(Lepidoptera: Papilionidae) / Descimon H. // *Biol. J. Linn. Soc.* 1994. – T. 53. C. 325–341.

142. Nazari, V. Phylogeny, historical biogeography, and taxonomic ranking of Parnassiinae (Lepidoptera, Papilionidae) based on morphology and seven genes. / Zakharov E. V., Sperling F.A.H. // *Mol. Phylogenet. Evol.* 2007. – T. 42. – № 1. C. 131–56.

143. Nei, M. *Molecular Evolution and Phylogenetics.* / Kumar S. , 2000.

144. Nogués-Bravo, D. Climate change, humans, and the extinction of the woolly mammoth / Rodríguez J., Hortal J., Batra P., Araújo M.B. // *PLoS Biol.* 2008. – T. 6. – № 4. C. 685–692.

145. O'Meara, B. C. Testing for different rates of continuous trait evolution using likelihood / Ané C., Sanderson M.J., Wainwright P.C. // *Evolution* (N. Y). 2006. – T. 60. – № 5. C. 922–933.

146. Olson, D. M. Terrestrial Ecoregions of the World : A New Map of Life on Earth / Dinerstein E., Wikramanayake E.D., Burgess N.D., Powell G.V.N., Underwood E.C., Amico J.A.D., Itoua I., Strand H.E., Morrison J.C., Loucks J., Allnutt T.F., Ricketts T.H., Kura Y., Lamoreux J.F., Wesley W., Hedao P., Kassem K.R. // *Bioscience*. 2001. – T. 51. – № 11. C. 933–938.

147. Omoto, K. Molecular systematics and evolution of the “Apollo” butterflies of the genus *Parnassius* (Lepidoptera: Papilionidae) based on mitochondrial DNA sequence data / Katoh T., Chichvarkhin A., Yagi T. // *Gene*. 2004. – T. 326. C. 141–147.

148. Orsini, L. Fitness differences associated with Pgi SNP genotypes in the Glanville fritillary butterfly (*Melitaea cinxia*) / Wheat C.W., Haag C.R., Kvist J., Frilander M.J., Hanski I. // *J. Evol. Biol.* 2009. – T. 22. – № 2. C. 367–375.

149. Otto-Bliesner, B. L. Simulating Arctic Climate Warmth and Icefield Retreat in the Last Interglaciatioin // *Science* (80-.). 2006. – T. 311. – № 5768. C. 1751–1753.

150. Ozgul, A. Coupled dynamics of body mass and population growth in response to environmental change. / Childs D.Z., Oli M.K., Armitage K.B., Blumstein D.T., Olson L.E., Tuljapurkar S., Coulson T. // *Nature*. 2010. – T. 466. – № 7305. C. 482–485.

151. Pagel, M. Inferring the historical patterns of biological evolution. // *Nature*. 1999. – T. 401. – № 6756. C. 877–84.

152. Parmesan, C. Poleward shifts in geographical ranges of butterfly species associated with regional warming / Ryrholm N., Stefanescu C., Hill J.K., Thomas C.D., Descimon H., Huntley B., Kaila L., Kullberg J., Tammaru T., Tennent W.J., Thomas J.A., Warren M. // 1999. – T. 399. – № 6736. C. 579–583.

153. Pearman, P. B. Within-taxon niche structure: niche conservatism, divergence and predicted effects of climate change / D'Amen M., Graham C.H., Thuiller W., Zimmermann N.E. // *Ecography* (Cop.). 2010. – T. 33. – № 6. C. 990–1003.

154. Pearman, P. B. Phylogenetic patterns of climatic, habitat and trophic niches

in a European avian assemblage / Lavergne S., Roquet C., Wüest R., Zimmermann N.E., Thuiller W. // *Glob. Ecol. Biogeogr.* 2014. – T. 23. – № 4. C. 414–424.

155. Peterson, a T. Time-specific ecological niche modeling predicts spatial dynamics of vector insects and human dengue cases. / Martínez-Campos C., Nakazawa Y., Martínez-Meyer E. // *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2005. – T. 99. – № 9. C. 647–55.

156. Phillips, S. J. Maximum entropy modeling of species geographic distributions / Anderson R.P., Schapire R.E. // *Ecol. Modell.* 2006. – T. 190. – № 3-4. C. 231–259.

157. Phillips, S. J. A maximum entropy approach to species distribution modeling // *Proceedings of the twenty-first International Conference on Machine Learning.* / Dudík M., Schapire R.E. , 2004. – C. 655–662.

158. Porch, N. Climate space, bioclimatic envelopes and coexistence methods for the reconstruction of past climates: a method using Australian beetles and significance for Quaternary reconstruction // *Quat. Sci. Rev.* 2010. – T. 29. – № 5-6. C. 633–647.

159. QGIS Development Team. QGIS Geographic Information System // 2009.

160. R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing // 2014.

161. Rambaut, A. Tracer v1.6 // 2014.

162. Ramos-Onsins, S. Statistical properties of new neutrality tests against population growth / Rozas J. // *Mol. Biol. Evol.* 2002. – T. 19. – № 12. C. 2092–2100.

163. Revell, L. J. phytools: An R package for phylogenetic comparative biology (and other things). // *Methods Ecol. Evol.* 2012. – T. 3. – № 2. C. 217–223.

164. Revell, L. J. A New phylogenetic method for identifying exceptional phenotypic diversification / Mahler D.L., Peres-Neto P.R., Redelings B.D. // *Evolution* (N. Y). 2012. – T. 66. – № 1. C. 135–146.

165. Rodrigues, A. S. B. New Mitochondrial and Nuclear Evidences Support Recent Demographic Expansion and an Atypical Phylogeographic Pattern in the Spittlebug *Philaenus spumarius* (Hemiptera, Aphrophoridae). / Silva S.E., Marabuto E., Silva D.N., Wilson M.R., Thompson V., Yurtsever S., Halkka A., Borges P. a V, Quartau

J. a, Paulo O.S., Seabra S.G. // PLoS One. 2014. – T. 9. – № 6. C. e98375.

166. Rowe, K. C. Surviving the ice: Northern refugia and postglacial colonization. / Heske E.J., Brown P.W., Paige K.N. // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2004. – T. 101. – № 28. C. 10355–9.

167. Ryder, O. A. Species conservation and systematics: the dilemma of subspecies // Trends Ecol. Evol. 1986. T. 1. C. 9–10.

168. Sambrook, J. Molecular Cloning - Sambrook & Russel - Vol. 1, 2, 3. / Russell D.W. – Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.

169. Sarv, K. Huvitavamaid suurliblikate (Macrolepidoptera) leide Eestist 2004 (Interesting records of Macrolepidoptera in Estonia in 2004) / Õunap. // Lepinfo. 2005. – T. 16. C. 21–45.

170. Schmitt, T. Molecular biogeography of Europe: Pleistocene cycles and postglacial trends. // Front. Zool. 2007. – T. 4. C. 11.

171. Schmitt, T. Extra-Mediterranean refugia: The rule and not the exception? / Varga Z. // Front. Zool. 2012. – T. 9. – № 1. C. 22.

172. Schoener, T. W. The Anolis Lizards of Bimini : Resource Partitioning in a Complex Fauna // Ecology. 1968. – T. 49. – № 4. C. 704–726.

173. Schwarz, G. Estimating the Dimension of a Model // Ann. Stat. 1978. – T. 6. – № 2. C. 461–464.

174. Seddon, J. M. Caucasus Mountains divide postulated postglacial colonization routes in the white-breasted hedgehog, *Erinaceus concolor* / Santucci F., Reeve N., Hewitt G.M. // J. Evol. Biol. 2002. – T. 15. – № 3. C. 463–467.

175. Simon, C. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers / Frati F., Beckenbach A., Crespi B., Liu H., Flook P. // Ann. Entomol. Soc. Am. 1994. – T. 87. – № 6. C. 651–701.

176. Soberón, J. Niches and distributional areas: concepts, methods, and assumptions. / Nakamura M. // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2009. – T. 106 Suppl . C. 19644–19650.

177. Sperling, F. A. Mitochondrial DNA sequence variation among populations

and host races of *Lambdina fiscellaria* (Gn.) (Lepidoptera: Geometridae). / Raske A.G., Otvos I.S. // *Insect Mol. Biol.* 1999. – T. 8. – № 1. C. 97–106.

178. Sperling, F. A. H. DNA-based identification of introduced ermine moth species in North-America (Lepidoptera, Yponomeutidae) / Landry J.F., Hickey D.A. // *Ann. Entomol. Soc. Am.* 1995. – T. 88. – № 2. C. 155–162.

179. Svenning, J. C. Geography, topography, and history affect realized-to-potential tree species richness patterns in Europe / Fitzpatrick M.C., Normand S., Graham C.H., Pearman P.B., Iverson L.R., Skov F. // *Ecography (Cop.)*. 2010. – T. 33. – № 6. C. 1070–1080.

180. Tajima, F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. // *Genetics*. 1989. – T. 123. – № 3. C. 585–95.

181. Tamura, K. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 / Stecher G., Peterson D., Filipowski A., Kumar S. // *Mol. Biol. Evol.* 2013. – T. 30. C. 2725–2729.

182. Thuiller, W. BIOMOD - A platform for ensemble forecasting of species distributions / Lafourcade B., Engler R., Araújo M.B. // *Ecography (Cop.)*. 2009. – T. 32. – № 3. C. 369–373.

183. Todisco, V. Phylogeography of *Parnassius apollo*: hints on taxonomy and conservation of a vulnerable glacial butterfly invader / Gratton P. // *Biol. J. Linn. Soc.* 2010. C. 169–183.

184. Todisco, V. Mitochondrial phylogeography of the Holarctic *Parnassius phoebus* complex supports a recent refugial model for alpine butterflies / Gratton P., Zakharov E. V., Wheat C.W., Sbordoni V., Sperling F.A.H. // *J. Biogeogr.* 2012. – T. 39. – № 6. C. 1058–1072.

185. Väisänen, R. The status of *Parnassius mnemosyne* (Lepidoptera, Papilionidae) in Finland / Somerha P. // *Not. Entomol.* 1985. – T. 65. – № 4. C. 109–118.

186. Välimäki, P. Migration of the clouded Apollo butterfly *Parnassius mnemosyne* in a network of suitable habitats—effects of patch characteristics / Itämies J. // *Ecography (Cop.)*. 2003. – № Hanski 1994. C. 679–691.

187. Vandewoestijne, S. Phylogeography of *Aglais urticae* (Lepidoptera) based on DNA sequences of the mitochondrial COI gene and control region / Baguette M., Brakefield P.M., Saccheri I.J. // *Mol. Phylogenet. Evol.* 2004. – T. 31. – № 2. C. 630–646.

188. Vila, M. The utility of the neglected mitochondrial control region for evolutionary studies in Lepidoptera (Insecta) / Björklund M. // *J. Mol. Evol.* 2004. – T. 58. – № 3. C. 280–290.

189. Visser, M. E. Keeping up with a warming world; assessing the rate of adaptation to climate change. // *Proc. Biol. Sci.* 2008. – T. 275. – № 1635. C. 649–659.

190. Vlasanek, P. Sphragis in *Parnassius mnemosyne* (Lepidoptera: Papilionidae): male-derived insemination plugs loose efficiency with progress of female flight / Konvicka M. // *Biologia (Bratisl)*. 2009. – T. 64. – № 6. C. 1206–1211.

191. Waples, R. S. Pacific salmon, *Oncorhynchus* spp., and the definition of «species» under the endangered species act // *Mar. Fish. Rev.* 1991. – T. 53. C. 11–22.

192. Warren, D. L. Environmental niche equivalency versus conservatism: Quantitative approaches to niche evolution / Glor R.E., Turelli M. // *Evolution (N. Y)*. 2008. – T. 62. – № 11. C. 2868–2883.

193. Warren, D. L. ENMTools: A toolbox for comparative studies of environmental niche models / Glor R.E., Turelli M. // *Ecography (Cop.)*. 2010. – T. 33. – № 3. C. 607–611.

194. Watt, W. B. Adaptation at Specific Loci. III. Field Behavior and Survivorship Differences among *Colias Pgi* Genotypes Are Predictable from IN VITRO Biochemistry. / Cassin R.C., Swan M.S. // *Genetics*. 1983. – T. 103. C. 725–739.

195. Weiss, J.-C. *The Parnassiinae of the World, Part 3.* – Canterbury, U.K.: Hillside Books, 1999.

196. Weyant, J. Report of 2.6 Versus 2.9 Watts/m² RCPP Evaluation Panel. / Azar C., Kainuma M., Kejun J., Nakicenovic N., Shukla P.R., Yohe G., Rovere E. La. – Geneva, Switzerland: , 2000.

197. Wiens, J. J. Missing data and the design of phylogenetic analyses. // *J. Biomed. Inform.* 2006. – T. 39. – № 1. C. 34–42.

198. Wiens, J. J. Evolutionary and ecological causes of the latitudinal diversity gradient in hylid frogs: treefrog trees unearth the roots of high tropical diversity. / Graham C.H., Moen D.S., Smith S.A., Reeder T.W. // *Am. Nat.* 2006. – T. 168. – № 5. C. 579–596.

199. Yang, Z. Bayesian phylogenetic inference using DNA sequences: a Markov Chain Monte Carlo Method / Rannala B. // *Mol. Biol. Evol.* 1997. – T. 14. – № 7. C. 717–724.

200. Yesson, C. Phyloclimatic modeling: combining phylogenetics and bioclimatic modeling. / Culham A. // *Syst. Biol.* 2006. – T. 55. – № 5. C. 785–802.

201. Yule, G. U. A mathematical theory of evolution, based on the conclusions of Dr. J. C. Willis, F.R.S. // *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 1925. – T. 213. – № 1925. C. 21–87.

202. Zinetti, F. When the rule becomes the exception. no evidence of gene flow between two *Zerynthia* cryptic butterflies suggests the emergence of a new model group. / Dapporto L., Vovlas A., Chelazzi G., Bonelli S., Balletto E., Ciofi C. // *PLoS One.* 2013. – T. 8. – № 6. C. e65746.

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Информация об образцах, использованных в генетическом анализе

Для образцов были получены последовательности гена *COI*, как описано в методике. Звездочкой (*) отмечены образцы, для которых были получены последовательности трех генов: *COI*, 16S рРНК, *ND1*.

№	Обозначение	Клада	Филог. Подгр.	Номер в коллекции	Место сбора	В.Д.	С.Ш.	Номер в Genbank	Ссылка
1	ARM01	CE	A	IEPN-0644	Армения: Котайкская область	44.66	40.16		Лаб. данные
2	ARM02	CE	A	IEPN-0646-1	Армения: Вайоцзорская область	45.36	39.79		Лаб. данные
3	BELA02	CE	D	IEPN-0004-1	Беларусь: Гродненская обл.	25.19	53.39		Лаб. данные
4	FRANCE04	WM	N	IEPN-0327	Франция: нац. парк "Пиренеи"	0.23	42.81		Лаб. данные
5	GREECE01	CE	F	IEPN-0538	Греция: Центральная Греция	22.59	38.54		Лаб. данные
6	IRAN01	CE	J	IEPN-0535-3	Иран: 15 км СВ от Сисахта	51.39	30.96		Лаб. данные
7	KYRGYZ03	CE	I	IEPN-0653-1	Киргизия: Джалал-Абадская область	71.15	41.88		Лаб. данные
8	KYRGYZ04	CE	I	IEPN-0540-1	Киргизия: Джалал-Абадская область	70.90	41.81		Лаб. данные
9	MOLD01	CE	D	IEPN-0279	Молдова: Гырбовецкий лес (Новоаненский район)	29.39	46.87		Лаб. данные
10	MOLD02	CE	D	IEPN-0282	Молдова: Гырбовецкий лес (Новоаненский район)	29.39	46.87		Лаб. данные
11	RUSSIA03	CE	E	IEPN-0285	Россия: Архангельская область, Зимний берег Белого моря	39.73	65.43		Лаб. данные

Приложение 1. (Продолжение)

12	RUSSIA04	CE	E	IEPN-0221-1	Россия: Архангельская область, заповедник "Пинежский"	43.06	64.64	Лаб. данные
13	RUSSIA05	CE	E	IEPN-0221-16	Россия: Архангельская область, заповедник "Пинежский"	43.12	64.53	Лаб. данные
14	RUSSIA07	CE	A	IEPN-0537-1	Россия: Краснодарская область	38.06	44.63	Лаб. данные
15	RUSSIA08	CE	A	IEPN-0537-2	Россия: Краснодарская область	38.06	44.63	Лаб. данные
16	RUSSIA09	CE	D	IEPN-0269	Россия: Республика Карелия	35.22	62.00	Лаб. данные
17	RUSSIA10	CE	D	IEPN-0266	Россия: Республика Карелия	35.22	62.00	Лаб. данные
18	RUSSIA11	CE	D	IEPN-0271	Россия: Республика Карелия	35.22	62.00	Лаб. данные
19	RUSSIA12	CE	D	IEPN-0274	Россия: Республика Карелия	37.73	61.76	Лаб. данные
20	RUSSIA13	CE	D	IEPN-0275	Россия: Республика Карелия	29.92	61.22	Лаб. данные
21	RUSSIA14	CE	E	IEPN-0321	Россия: Липецкая область	39.42	52.30	Лаб. данные
22	RUSSIA15	CE	E	IEPN-0310	Россия: Нижегородская область	47.34	57.68	Лаб. данные
23	RUSSIA18	CE	E	IEPN-0326	Россия: Северный Урал (Свердловская обл.)	59.44	61.82	Лаб. данные
24	SLOVAK04	CE	D	IEPN-0332	Словакия: Кошицкий край	21.99	48.82	Лаб. данные
25	SPAIN01	WM	N	IEPN-0534	Испания: восточные Пиренеи	1.95	42.35	Лаб. данные
26	UZB01	CE	J	IEPN-0532-2	Узбекистан: Кашкадарьинская область	66.47	38.79	Лаб. данные

Приложение 1. (Продолжение)

27	UZB02	CE	J	IEPN-0532-4	Узбекистан: Кашкадарьинская область	66.47	38.79		Лаб. данные
28	AUST01	CE	B		Австрия	16.65	47.92	EU092977	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
29	AUST02	CE	B		Австрия	15.42	47.17	EU092977	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
30	AUST03	CE	B		Австрия	16.33	48.34	EU092977	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
31	AUST04	CE	B		Австрия	16.25	48.00	EU092977	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
32	AUST05	CE	B		Австрия	13.58	47.83	EU092977	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
33	AUST06	CE	C		Австрия	14.31	46.67	EU092978	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
34	AUST07	CE	B		Австрия	14.31	46.67	EU092979	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
35	AUST08	CE	B		Австрия	15.70	46.75	EU092979	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
36	AUST09	CE	B		Австрия	16.35	47.51	EU092980	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
37	AUST10	CE	G		Австрия	14.31	46.67	EU092981	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
38	AUST11	CE	H	Pmne-ATmA904	Австрия: окр. Хермагор, Каринтия	12.90	46.67	EU836664	Gratton и др., 2008
39	AUST12	CE	B	Pmne-ATmA1001	Австрия: Турнау, Штирия	15.39	47.50	EU836673	Gratton и др., 2008
40	BELA01	CE	D		Беларусь	26.62	53.53	EU092970	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
41	BULG01	CE	D		Болгария	24.75	41.86	EU092968	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008

Приложение 1. (Продолжение)

42	BULG02	CE	D	Болгария	24.67	41.67	EU092968	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
43	BULG03	CE	D	Болгария	24.75	41.86	EU092969	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
44	BULG04	CE	D	Болгария	24.67	41.67	EU092969	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
45	BULG05	CE	D	Болгария	25.63	43.06	EU092971	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
46	BULG06	CE	D	Болгария	23.39	42.12	EU092998	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
47	BULG07	CE	D	Болгария	23.39	42.12	EU092999	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
48	BULG08	CE	D	Болгария	24.75	41.86	EU093000	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
49	BULG09	CE	D	Болгария	24.98	42.92	EU093000	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
50	BOSN01	CE	D	Босния	17.50	43.50	EU092972	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
51	BOSN02	CE	D	Босния	18.41	43.84	EU093001	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
52	HUNG01	CE	D	Венгрия	19.02	47.54	EU092970	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
53	HUNG02	CE	D	Венгрия	18.42	47.43	EU092970	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
54	HUNG03	CE	D	Венгрия	20.00	48.00	EU092971	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
55	HUNG04	CE	B	Венгрия	19.02	47.54	EU092977	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
56	HUNG05	CE	D	Венгрия	20.50	48.00	EU093014	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008

Приложение 1. (Продолжение)

57	GERM01	CE	B		Германия	9.25	50.50	EU092973	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
58	GERM02	CE	B		Германия	9.75	48.42	EU092974	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
59	GERM03	CE	B		Германия	9.75	48.42	EU092975	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
60	GERM04	CE	B		Германия	8.17	48.00	EU092977	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
61	GERM05	CE	B		Германия	9.75	48.42	EU092977	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
62	GERM06	CE	B		Германия	12.84	47.70	EU093002	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
63	GERM07	CE	B		Германия	12.84	47.70	EU093003	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
64	GERM08	WM	O	BC ZSM Lep 32144	Германия: Бавария, Швабия, Альгой	10.30	47.50	HM910004	Hausmann и др., 2011
65	GREECE02	CE	F	Pmne- GRKEL03	Греция: г. Хелмос	22.25	37.97	EU836665	Gratton и др., 2008
66	GREECE03	CE	F	Pmne- GRPAR03	Греция: г. Парнас	22.63	38.62	EU836670	Gratton и др., 2008
67	GREECE04	CE	F	Pmne- GRTAY01	Греция: г. Тайгет	22.31	37.10	EU836669	Gratton и др., 2008
68	GREECE05*	CE	F	W336	Греция: сосновый лес, г. Грамос	20.77	40.31	AM231426 AM283046 AM283065	Michel, Rebourg, 2008
69	IRAN02*	ME	L	W311	Иран: Ликбин, оз. Урмия.	45.43	36.74	AM231419 AJ971954 AJ972051	Michel, Rebourg, 2008
70	IRAN03*	ME	L	W280	Иран: СВ Ардакан, пров. Фарс	51.99	30.27	AM231420 AJ971955 AJ972052	Michel, Rebourg, 2008
71	ITALY01	CE	B	Pmne- ITCAN01	Италия: Кансиглио	12.41	46.07	EU836674	Gratton и др., 2008

Приложение 1. (Продолжение)

72	ITALY02	CE	B	Pmne-ITCAN02	Италия: Кансиглио	12.41	46.07	EU836675	Gratton и др., 2008
73	ITALY03	WM	M	Pmne-ITNEB01	Италия: г. Портелла Калакудера, Неброды, Сицилия	14.67	37.92	GU947642	Todisco, Gratton, 2010
74	ITALY07	CE	H	Pmne-ITGAR05	Италия: Валле ди Гарес, Доломитовые Альпы	11.88	46.31	EU836659	Gratton и др., 2008
75	ITALY08	CE	H	Pmne-ITGAR01	Италия: Валле ди Гарес, Доломитовые Альпы	11.88	46.31	EU836661	Gratton и др., 2008
76	ITALY09	CE	H	Pmne-ITGAR03	Италия: Валле ди Гарес, Доломитовые Альпы	11.88	46.31	EU836662	Gratton и др., 2008
77	ITALY10	CE	H	Pmne-ITGAR04	Италия: Валле ди Гарес, Доломитовые Альпы	11.88	46.31	EU836663	Gratton и др., 2008
78	ITALY11	CE	C	Pmne-ITGAR12	Италия: Валле ди Гарес, Доломитовые Альпы	11.88	46.31	EU836672	Gratton и др., 2008
79	ITALY06	CE	M		Италия: Сицилия	14.67	37.92	EU093015	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
80	ITALY04	CE	H	Pmne-ITGAR01	Италия: хр. Селла Невеа, Тарвизио	13.62	46.49	EU836660	Gratton и др., 2008
81	ITALY05	CE	C	Pmne-ITGAR05	Италия: хр. Селла Невеа, Тарвизио	13.62	46.49	EU836671	Gratton и др., 2008
82	KAZAKH01	CE	I		Казахстан	70.55	42.31	EU093009	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
83	KYRGYZ01	CE	I	2005-LOWA-476	Киргизия	75.10	41.75	FJ663896	Lukhtanov и др., 2009
84	KYRGYZ02	CE	I	2005-LOWA-475	Киргизия	75.10	41.75	FJ663897	Lukhtanov и др., 2009
85	KYRGYZ05	CE	I	AC1-11	Киргизия: оз. Карасу	72.04	41.90	EF473798	Chichvarkhin и др., 2007
86	KYRGYZ06*	CE	I	W330	Киргизия: Ю Заилийский Алатау	77.17	43.05	AM231422 AM283042 AM283061	Michel, Rebourg, 2008

Приложение 1. (Продолжение)

87	LITHUA01	CE	D	Pmne-LTKRE03	Литва: Кретингский район	21.38	55.85	EU836676	Gratton и др., 2008
88	LITHUA02	CE	D	Pmne-LTKRE01	Литва: Кретингский район	21.38	55.85	EU836677	Gratton и др., 2008
89	LITHUA03	CE	D	Pmne-LTKRE02	Литва: Кретингский район	21.38	55.85	EU836678	Gratton и др., 2008
90	LITHUA04	CE	D	Pmne-LTKRE05	Литва: Кретингский район	21.38	55.85	EU836679	Gratton и др., 2008
91	MACED01	CE	F	Pmne-MKCAL01	Македония: г. Галичика	20.91	41.10	EU836667	Gratton и др., 2008
92	MACED02	CE	F	Pmne-MKCAL02	Македония: г. Галичика	20.91	41.10	EU836668	Gratton и др., 2008
93	MACED03	CE	F	Pmne-MKPEL02	Македония: г. Пелистер	21.19	41.00	EU836666	Gratton и др., 2008
94	POLAN01	CE	D		Польша	20.42	49.92	EU092970	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
95	POLAN02	CE	D		Польша	21.59	49.60	EU092970	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
96	POLAN03	CE	D		Польша	22.33	49.33	EU092970	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
97	POLAN04	CE	D		Польша	20.92	49.42	EU092970	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
98	POLAN05	CE	D		Польша	22.25	49.17	EU092970	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
99	POLAN06	CE	D		Польша	23.17	50.58	EU092970	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
100	POLAN07	CE	D		Польша	22.08	49.83	EU092970	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
101	POLAN08	CE	B		Польша	16.26	50.68	EU092977	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008

Приложение 1. (Продолжение)

102	POLAN09	CE	B		Польша	17.43	50.26	EU092977	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
103	POLAN10	CE	B		Польша	16.25	50.42	EU092977	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
104	POLAN11	CE	B		Польша	15.75	50.75	EU092977	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
105	RUSSIA01	CE	E		Россия	45.90	51.56	EU092997	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
106	RUSSIA02	CE	D		Россия	30.33	60.18	EU093010	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
107	RUSSIA16	CE	E	Pmne- RUSAR02	Россия: Саратов	45.90	51.56	EU836681	Gratton и др., 2008
108	RUSSIA17	CE	E	Pmne- RUSAR01	Россия: Саратов	59.58	57.00	EU836682	Gratton и др., 2008
109	RUSSIA06	CE	A		Россия: Кавказские горы	38.27	44.63	EU093018	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
110	ROMAN01	CE	D		Румыния	26.33	44.33	EU092970	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
111	ROMAN02	CE	D		Румыния	23.60	46.77	EU092970	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
112	ROMAN03	CE	D		Румыния	27.99	43.93	EU092970	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
113	ROMAN04	CE	D		Румыния	23.18	45.17	EU092970	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
114	ROMAN05	CE	D		Румыния	26.33	44.33	EU092971	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
115	ROMAN06	CE	D		Румыния	25.67	45.67	EU093012	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
116	ROMAN07	CE	D	RVcoll.08- M246	Румыния: Банат, Караш-Северин, Бэиле-Еркулане, Печинишка	22.42	44.87	HQ004906	Dincă и др., 2011

Приложение 1. (Продолжение)

117	ROMAN08	CE	D	RV-07-D136	Румыния: Добруджа, Константа, лес Думбравени	28.00	43.93	HQ004909	Dincă и др., 2011
118	ROMAN09	CE	D	RVcoll.08-M417	Румыния: Добруджа, Тулча, 3 км В от Слава-Русэ (Бабадагский лес)	28.64	44.87	HQ004903	Dincă и др., 2011
119	ROMAN10	CE	D	RV-07-D060	Румыния: Добруджа, Тулча, Хория	28.45	45.01	HQ004908	Dincă и др., 2011
120	ROMAN11	CE	D	RVcoll.08-M361	Румыния: Молдавия, Васлуй, церковь Бужорень (9 км В от Зорлени)	27.86	46.25	HQ004902	Dincă и др., 2011
121	ROMAN12	CE	D	RVcoll.08-M274	Румыния: Олтения, Мехединти, 4 км ЮЗ от Казанеле Мари (около Плависевита)	22.22	44.56	HQ004907	Dincă и др., 2011
122	ROMAN13	CE	D	RV-06-K661	Румыния: Трансильвания, Клуж, Цетатеа Фетеи (Клуж-Напока)	23.48	46.72	HQ004910	Dincă и др., 2011
123	ROMAN14	CE	D	RV-07-C107	Румыния: Трансильвания, Клуж Клуж-Напока, холм Феяку, лес Георгени	23.65	46.72	HQ004911	Dincă и др., 2011
124	ROMAN15	CE	D	RVcoll.08-M629	Румыния: Трансильвания, Хунедоара, Скорота (хр. Ретезат)	22.89	45.30	HQ004904	Dincă и др., 2011
125	ROMAN16	CE	D	RVcoll.08-M642	Румыния: Трансильвания, Хунедоара, Скорота (хр. Ретезат)	22.89	45.30	HQ004905	Dincă и др., 2011
126	SLOVAK01	CE	B		Словакия	19.00	49.17	EU092977	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
127	SLOVAK02	CE	D		Словакия	17.00	48.67	EU092982	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
128	SLOVAK03	CE	D		Словакия	17.00	48.67	EU093013	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
129	SLOVEN01	CE	C		Словения	14.50	46.08	EU092978	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
130	TADJ01*	CE	J	W292	Таджикистан: перевал Тахтакарача, Зеравшанский хр.	66.90	39.27	AM231421 AJ971953 AJ972050	Michel, Rebourg, 2008

Приложение 1. (Продолжение)

131	TURK01	ME	L	Ty999	Турция	34.45	37.18	EU093004	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
132	TURK02	ME	L		Турция	34.45	37.18	EU093005	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
133	TURK03	CE	J		Турция	30.93	37.25	EU093016	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
134	TURK05*	CE (ME)	K (L)	W333	Турция: Илгздаги Гециди, пров. Кастамону	33.75	41.07	AM231425 AM283045 AM283064	Michel, Rebourg, 2008
135	TURK06*	CE	K	W331	Турция: Кызылджахамам, пров. Анкара	32.63	40.47	AM231424 AM283044 AM283063	Michel, Rebourg, 2008
136	TURK04*	ME	L	W335	Турция: Хасанбейли, пров. Адана	35.54	37.05	AM231418 AM283041 AM283060	Michel, Rebourg, 2008
137	UZB03*	CE	I	W329	Узбекистан: Чирчик, Чаткальский хр.	70.07	41.58	AM231423 AM283043 AM283062	Michel, Rebourg, 2008
138	UKR01	CE	D		Украина	25.67	48.62	EU092967	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
139	UKR02	CE	D		Украина	24.00	49.83	EU092970	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
140	UKR03	CE	D		Украина	22.72	49.34	EU092970	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
141	UKR04	CE	D		Украина	24.74	49.84	EU092970	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
142	UKR05	CE	D		Украина	31.50	49.75	EU092970	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
143	UKR06	CE	D		Украина	25.75	48.94	EU092970	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
144	UKR07	CE	D		Украина	23.74	49.12	EU092970	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
145	UKR08	CE	D		Украина	22.72	49.34	EU092982	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008

Приложение 1. (Окончание)

146	FIN01	CE	B		Финляндия: Аландские острова	20.08	60.08	EU092977	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
147	FIN02	CE	B		Финляндия: Аландские острова	20.42	60.00	EU092977	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
148	FIN03	CE	B		Финляндия: Аландские острова	19.92	60.17	EU092977	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
149	FIN04	CE	D		Финляндия	23.50	60.67	EU093006	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
150	FIN05	CE	D		Финляндия	21.83	60.17	EU093007	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
151	FIN06	CE	B		Финляндия: Аландские острова	20.06	60.21	EU093008	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
152	FRANCE01	WM	P		Франция	7.28	44.11	EU092984	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
153	FRANCE02*	WM	P	W78	Франция: г. Бореон, Приморские Альпы	7.28	44.11	AM231417 AJ971952 AJ972049	Michel, Rebourg, 2008
154	FRANCE03*	WM	P	UP 100-F	Франция: гора Лаченс	6.66	43.75	DQ407769 DQ407790 AJ972048	Michel, Rebourg, 2008
155	CZECH01	CE	D		Чешская республика	17.08	49.75	EU092977	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
156	CZECH02	CE	B		Чешская республика	14.00	50.67	EU093011	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
157	CZECH03	CE	D		Чешская республика	16.67	48.83	EU093013	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
158	CZECH04	CE	D	Pmne- CZDEM01	Чешская республика: Моравскосилезский край	17.31	50.09	EU836680	Gratton и др., 2008
159	SWITZ01	WM	O		Швейцария	8.05	46.28	EU092983	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008
160	SWITZ02	WM	O		Швейцария	8.05	46.28	EU093017	Gratton и др., 2008; Konopinski, 2008

ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Литературные данные о местообитаниях *P. tnetosyne* и координаты точек наблюдений на территории России.

№	В.Д.	С. Ш.	Административная единица	Источник
1	48.46	64.55	Архангельская область	Татаринов, Долгин, 1999
2	48.45	64.55	Архангельская область	Татаринов, Долгин, 2001
3	46.53	63.45	Архангельская область	Bolotov и др., 2012
4	44.74	63.81	Архангельская область	Bolotov и др., 2012
5	43.07	64.65	Архангельская область	Bolotov и др., 2012
6	43.47	66.05	Архангельская область	Bolotov и др., 2012
7	43.25	65.74	Архангельская область	Bolotov и др., 2012
8	42.54	65.61	Архангельская область	Bolotov и др., 2012
9	39.71	65.42	Архангельская область	Bolotov и др., 2012
10	34.93	53.13	Брянская область	Львовский, Моргун, 2007
11	34.73	52.62	Брянская область	Львовский, Моргун, 2007

Приложение 2. (Продолжение)

12	34.41	52.14	Брянская область	Львовский, Моргун, 2007
13	34.23	52.83	Брянская область	Львовский, Моргун, 2007
14	34.00	52.50	Брянская область	Львовский, Моргун, 2007
15	40.38	56.15	Владимирская область	Львовский, Моргун, 2007
16	40.33	56.31	Владимирская область	Львовский, Моргун, 2007
17	43.56	49.22	Волгоградская область	Комаров, 2011
18	43.43	49.78	Волгоградская область	Комаров, 2011
19	45.13	50.66	Волгоградская область	Комаров, 2011
20	44.58	48.73	Волгоградская область	Комаров, 2011
21	45.00	48.89	Волгоградская область	Львовский, Моргун, 2007
22	43.92	49.09	Волгоградская область	Львовский, Моргун, 2007
23	40.01	59.99	Вологодская область	Львовский, Моргун, 2007
24	37.99	58.59	Вологодская область	Львовский, Моргун, 2007
25	35.97	54.04	Калужская область	Львовский, Моргун, 2007

Приложение 2. (Продолжение)

26	35.86	54.01	Калужская область	Львовский, Моргун, 2007
27	36.67	54.53	Калужская область	Львовский, Моргун, 2007
28	35.60	54.75	Калужская область	Львовский, Моргун, 2007
29	35.14	53.56	Калужская область	Львовский, Моргун, 2007
30	51.28	56.26	Кировская область	Львовский, Моргун, 2007
31	50.69	56.54	Кировская область	Чарушина, Шернин, 1974
32	50.69	56.54	Кировская область	Чарушина, Шернин, 1974
33	50.08	58.43	Кировская область	Чарушина, Шернин, 1974
34	47.60	58.35	Кировская область	Чарушина, Шернин, 1974
35	46.82	58.31	Кировская область	Чарушина, Шернин, 1974
36	47.97	59.68	Кировская область	Чарушина, Шернин, 1974
37	49.24	59.05	Кировская область	Чарушина, Шернин, 1974
38	49.83	57.57	Кировская область	Чарушина, Шернин, 1974
39	50.03	57.15	Кировская область	Чарушина, Шернин, 1974

Приложение 2. (Продолжение)

40	40.20	43.68	Краснодарский Край	Львовский, Моргун, 2007
41	38.68	45.49	Краснодарский Край	Львовский, Моргун, 2007
42	38.90	47.23	Краснодарский Край	Львовский, Моргун, 2007
43	35.33	51.54	Курская область	Львовский, Моргун, 2007
44	36.09	51.58	Курская область	Львовский, Моргун, 2007
45	36.03	50.60	Курская область	Львовский, Моргун, 2007
46	39.71	52.88	Липецкая область	Львовский, Моргун, 2007
47	38.57	52.63	Липецкая область	Львовский, Моргун, 2007
48	38.99	52.46	Липецкая область	Львовский, Моргун, 2007
49	39.14	52.20	Липецкая область	Львовский, Моргун, 2007
50	36.93	55.59	Московская область	Львовский, Моргун, 2007
51	37.57	54.91	Московская область	Осипов, Самодуров, 1988
52	48.97	66.18	Ненецкий автономный округ	Татаринев, 2006
53	44.46	56.07	Нижегородская область	Львовский, Моргун, 2007

Приложение 2. (Продолжение)

54	44.02	55.78	Нижегородская область	Львовский, Моргун, 2007
55	46.01	56.12	Нижегородская область	Львовский, Моргун, 2007
56	45.04	56.03	Нижегородская область	Львовский, Моргун, 2007
57	45.92	55.55	Нижегородская область	Львовский, Моргун, 2007
58	46.35	57.66	Нижегородская область	Львовский, Моргун, 2007
59	43.83	55.41	Нижегородская область	Четвериков, 1993
60	46.35	57.66	Нижегородская область	Четвериков, 1993
61	74.10	54.53	Омская область	Коршунов, 2002
62	43.41	53.30	Пензенская область	Львовский, Моргун, 2007
63	45.20	53.60	Пензенская область	Полумордвинов, О. А. Монахов, 2002
64	45.20	53.27	Пензенская область	Полумордвинов, О. А. Монахов, 2002
65	45.83	53.25	Пензенская область	Полумордвинов, О. А. Монахов, 2002
66	46.17	53.36	Пензенская область	Полумордвинов, О. А. Монахов, 2002
67	46.54	53.09	Пензенская область	Полумордвинов, О. А. Монахов, 2002

Приложение 2. (Продолжение)

68	46.09	52.73	Пензенская область	Полумордвинов, О. А. Монахов, 2002
69	46.65	52.77	Пензенская область	Полумордвинов, О. А. Монахов, 2002
70	44.17	52.56	Пензенская область	Полумордвинов, О. А. Монахов, 2002
71	43.72	52.58	Пензенская область	Полумордвинов, О. А. Монахов, 2002
72	42.84	53.23	Пензенская область	Полумордвинов, О. А. Монахов, 2002
73	43.42	52.97	Пензенская область	Полумордвинов, О. А. Монахов, 2002
74	42.48	53.55	Пензенская область	Полумордвинов, О. А. Монахов, 2002
75	44.77	53.09	Пензенская область	Полумордвинов, О. А. Монахов, 2002
76	56.25	58.00	Пермский Край	Паньков, 2008
77	50.30	55.40	Республика Татарстан	Львовский, Моргун, 2007
78	49.29	55.30	Республика Татарстан	Львовский, Моргун, 2007
79	58.84	54.52	Республика Башкортостан	Горбунов и др., 1992; Захаров, Лагунов, 2000
80	40.85	55.90	Республика Башкортостан	Татаринов, Долгин, 1999
81	30.67	61.70	Республика Карелия	Львовский, Моргун, 2007

Приложение 2. (Продолжение)

82	35.24	62.07	Республика Карелия	Горбач, Кабанен, 2009
83	37.68	61.79	Республика Карелия	Humala, 1998
84	35.26	61.97	Республика Карелия	Горбач, Кабанен, 2009; Humala, 1998
85	57.17	61.72	Республика Коми	Татаринов, Долгин, 1999
86	53.70	63.57	Республика Коми	Татаринов, Долгин, 1999
87	52.67	64.16	Республика Коми	Татаринов, Долгин, 1999
88	54.17	63.79	Республика Коми	Татаринов, Долгин, 1999
89	57.94	61.88	Республика Коми	Татаринов, Долгин, 1999
90	58.99	62.13	Республика Коми	Татаринов, Долгин, 1999
91	56.85	61.82	Республика Коми	Татаринов, Долгин, 2001
92	57.94	61.88	Республика Коми	Татаринов, Долгин, 2001
93	58.17	62.03	Республика Коми	Татаринов, Долгин, 2001
94	53.73	63.56	Республика Коми	Татаринов, Долгин, 2001
95	52.90	64.22	Республика Коми	Татаринов, Долгин, 2001

Приложение 2. (Продолжение)

96	53.92	65.01	Республика Коми	Татаринов, Долгин, 2001
97	43.82	54.62	Республика Мордовия	Тимралеев, 2005
98	43.35	54.67	Республика Мордовия	Тимралеев, 2005
99	45.93	54.18	Республика Мордовия	Тимралеев, 2005
100	40.55	49.04	Ростовская область	Львовский, Моргун, 2007
101	39.93	48.05	Ростовская область	Львовский, Моргун, 2007
102	40.69	47.59	Ростовская область	Татаринов, Долгин, 1999
103	41.28	47.49	Ростовская область	Татаринов, Долгин, 1999
104	41.72	49.63	Ростовская область	Татаринов, Долгин, 1999
105	40.48	55.02	Рязанская область	Блингушов, 2001
106	39.94	54.66	Рязанская область	Блингушов, 2001
107	40.00	54.22	Рязанская область	Блингушов, 2001
108	39.35	53.85	Рязанская область	Блингушов, 2001
109	40.07	53.67	Рязанская область	Блингушов, 2001

Приложение 2. (Продолжение)

110	41.99	53.97	Рязанская область	Блингушов, 2001
111	49.82	53.42	Самарская область	Блингушов, 2001
112	47.85	51.81	Саратовская область	Аникин, 1997; Аникин, Фадеев, 2004; Кумаков, Коршунов, 1979; Сажнев, Роднев, 2004; Anikin и др., 1993
113	46.78	50.72	Саратовская область	Аникин, 1997; Аникин, Фадеев, 2004; Кумаков, Коршунов, 1979; Сажнев, Роднев, 2004; Anikin и др., 1993
114	43.51	52.21	Саратовская область	Аникин, 1997; Аникин, Фадеев, 2004; Кумаков, Коршунов, 1979; Сажнев, Роднев, 2004; Anikin и др., 1993
115	45.44	50.75	Саратовская область	Аникин, 1997; Аникин, Фадеев, 2004; Кумаков, Коршунов, 1979; Сажнев, Роднев, 2004; Anikin и др., 1993
116	46.32	52.48	Саратовская область	Аникин, 1997; Аникин, Фадеев, 2004; Кумаков, Коршунов, 1979; Сажнев, Роднев, 2004; Anikin и др., 1993
117	42.96	51.88	Саратовская область	Аникин, 1997; Аникин, Фадеев, 2004; Кумаков, Коршунов, 1979; Сажнев, Роднев, 2004; Anikin и др., 1993
118	44.71	52.25	Саратовская область	Аникин, 1997; Аникин, Фадеев, 2004; Кумаков, Коршунов, 1979; Сажнев, Роднев, 2004; Anikin и др., 1993
119	45.91	51.56	Саратовская область	Кумаков, Коршунов, 1979
120	32.38	54.42	Смоленская область	Львовский, Моргун, 2007
121	42.98	45.00	Ставропольский Край	Львовский, Моргун, 2007
122	43.55	44.95	Ставропольский Край	Львовский, Моргун, 2007

Приложение 2. (Продолжение)

123	42.72	44.10	Ставропольский Край	Львовский, Моргун, 2007
124	37.44	57.14	Тверская область	Львовский, Моргун, 2007
125	68.59	58.63	Тюменская область	Коршунов, 2002
126	68.76	58.61	Тюменская область	Коршунов, 2002
127	66.26	57.40	Тюменская область	Коршунов, 2002
128	67.12	57.46	Тюменская область	Коршунов, 2002
129	68.63	58.62	Тюменская область	Коршунов, 2002
130	66.26	57.40	Тюменская область	Коршунов, 2002
131	49.24	54.70	Ульяновская область	Львовский, Моргун, 2007
132	32.92	56.50	Тверская область	Львовский, Моргун, 2007
133	59.87	55.34	Челябинская область	Лагунов, 1990
134	59.00	54.75	Челябинская область	Лагунов, 1990
135	59.50	55.00	Челябинская область	Тюмасева, Лагунов, 1988
136	47.95	55.68	Чувашская Республика	Львовский, Моргун, 2007

Приложение 2. (Окончание)

137	46.54	55.03	Чувашская Республика	Львовский, Моргун, 2007
138	47.05	54.95	Чувашская Республика	Львовский, Моргун, 2007
139	37.87	58.19	Ярославская область	Кепиков, 2006

ПРИЛОЖЕНИЕ 3

Координаты точек, использованных для моделирования климатической ниши *P. ariadne*

Номер образца / Источник	Широта (N)	Долгота (E)
GBIF 1008266606	47.13	82.87
GBIF 1148265764	50.02	82.70
IEPN-526, IEPN-525	51.30	85.65
IEPN-527	48.16	84.09
IEPN-528	47.38	85.02
Случайная точка внутри ареала	45.74	84.66
--/--	46.44	82.66
--/--	46.84	85.35
--/--	46.87	83.29
--/--	47.21	83.52
--/--	47.35	81.90
--/--	47.37	84.39
--/--	49.04	87.34
--/--	49.07	89.85
--/--	49.16	91.35
--/--	49.72	82.88
--/--	49.93	90.05
--/--	49.95	88.37
--/--	50.19	85.17
--/--	50.30	87.17
--/--	50.50	93.47
--/--	50.56	86.35
--/--	50.83	88.50
--/--	50.87	92.67
--/--	50.95	90.81
--/--	51.13	84.36
--/--	51.14	86.50
--/--	51.26	85.75
--/--	51.33	92.65
--/--	51.39	86.93
--/--	51.40	94.51

--//--	51.46	93.44
--//--	51.47	83.38
--//--	51.48	95.41
--//--	51.54	86.60
--//--	51.56	85.61
--//--	51.64	92.00
--//--	51.69	90.55
--//--	51.85	95.41
--//--	52.25	87.00
--//--	52.28	92.07
--//--	52.32	95.47
--//--	52.41	91.40
--//--	52.46	90.87
--//--	52.50	92.83
--//--	52.53	86.89
--//--	52.55	95.05
--//--	52.58	94.87
--//--	52.69	93.73
--//--	52.96	88.99
--//--	53.14	87.04
--//--	53.14	91.85
--//--	53.39	89.80
--//--	53.41	92.71
--//--	53.43	87.80
--//--	53.76	94.15
--//--	54.09	89.97
--//--	54.14	94.93
--//--	54.25	95.82
--//--	54.31	91.71
--//--	54.33	94.59
--//--	54.41	89.55
--//--	54.49	92.81
--//--	54.55	90.91
--//--	54.60	92.61