

УДК 599.323.6, 575.858, 591.5, 591.9

## МЕХАНИЗМЫ ХРОСОМНОЙ ЭВОЛЮЦИИ СЛЕПЫШЕЙ КОМПЛЕКСА *NANNOSPALAX EHREBERGI*: ИТОГИ ИССЛЕДОВАНИЙ И ПЕРСПЕКТИВЫ

А.А. Плетенев<sup>1</sup>

Род малых слепышей *Nannospalax* уже многие десятилетия является модельным объектом для изучения видообразования. Для каждого из трех видов этого рода существует большое количество аллопатричных и парапатричных кариоморф, которые предположительно слабо гибридизуются. Эвиатар Нево, считая большинство этих кариоморф самостоятельными видами, предложил модель их видообразования на основе хромосомных перестроек, а именно разделения метацентричных хромосом на акроцентричные. В данной работе проводится критический анализ модели Нево, ее проверка на соответствие имеющимся результатам генетических исследований в данной области. Проведенный анализ позволяет сделать вывод, что модель видообразования слепышей, предложенная Нево с соавторами, не находит серьезных подтверждений. В частности, она не соответствует построенным филогенетическим деревьям для кариоморф *Nannospalax*.

**Ключевые слова:** хромосомные расы, слепыши, *Nannospalax*, видообразование.

Формирование и устойчивое поддержание хромосомных рас представляет собой одну из интереснейших загадок современной зоологии. Несмотря на то, что этой проблеме посвящено много исследований, механизмы формирования и последующей репродуктивной изоляции хромосомных рас у млекопитающих до конца так и не выяснены. В данной работе эта проблема рассматривается на примере представителей рода малых слепышей *Nannospalax*. Так называемые малые слепыши в последнее время все чаще рассматриваются в пределах самостоятельного рода *Nannospalax* Palmer, 1903, выделенного Палмером еще в 1903 г. [Musser, Carleton, 2005; здесь и далее], в классических таксономических сводках их обычно включают в состав рода *Spalax* Guldenstaedt, 1770. Представители рода *Nannospalax* – некрупные животные, ведущие подземный образ жизни. На сегодняшний день род насчитывает три вида: *N. leucodon*, *N. xanthodon* (syn. *nehringi*) и *N. ehrebergi*, населяющих Юго-Восточную Европу, Малую Азию и Ближний Восток.

Слепыши ведут роющий образ жизни, перемещаясь в поисках корма (в основном подземных частей растений) по прорытым ими под землей тоннелям (рытье осуществляется преимущественно зубами) [Kryštufek, Vochralik, 2009; здесь

и далее]. Они крайне редко выходят на поверхность и имеют сравнительно небольшие индивидуальные участки, на которых держатся в течение всей жизни. Расселение слепышей осуществляется очень медленно. Еще больше оно затрудняется в случае наличия барьеров, таких как обширные леса или болота, которые лишены корма и/или недоступны для рытья.

Поиск полового партнера для спаривания осуществляется самцом на территориях, ближайших к его участку. В период гона самцы прорывают длинные прямые брачные ходы, которые при удачном стечении обстоятельств приводят их на территории самок. Самки слепышей становятся половозрелыми на второй сезон, в большинстве случаев размножение происходит раз в сезон. Приплод состоит из 2–4 детенышей. Так как большинство самок живут не более 3 лет, самка за свою жизнь приносит не более двух приплодов. Небольшая продолжительность жизни в сочетании с низкой плодовитостью предполагает высокую выживаемость потомства, т.е. реализацию своеобразной К-стратегии [Nevo, 2013]. Через 2 месяца после рождения неполовозрелые особи покидают мать [Kryštufek, Vochralik, 2009; здесь и далее]. Проведенные в неволе эксперименты показывают, что главным фактором, способствующим расселению, является рост агрессии между

<sup>1</sup> Плетенев Антон Анатольевич – магистрант биологического факультета Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, кафедра зоологии позвоночных (aapletenev@yandex.ru).

ювенильными особями одного выводка [Zurі, Terkel, 1998]. При этом расселение происходит либо подземным (сеголетки роют продолжение туннеля матери, а потом закупоривают его), либо, если соседние территории заняты или непригодны для жизни, надземным образом.

*N. leucodon*, *N. xanthodon* и *N. ehrenbergi* уже многие десятилетия привлекают биологов-эволюционистов. Это связано с тем, что для каждого вида существует много кариоморф (cytotypes) или так называемых хромосомных рас [Kryštufek, Vochralik, 2009; здесь и далее]. Каждая хромосомная раса характеризуется специфическим числом хромосом в диплоидном наборе ( $2n$ ) и/или фундаментальным числом (числом плеч хромосом, NF). У *N. leucodon* насчитывается более 29 кариоморф ( $2n = 46-58$ , NF = 72-94), у *N. xanthodon* – более 28 ( $2n = 36-60$ , NF = 64-84), у *N. ehrenbergi* – более 12 ( $2n = 48-60$ , NF = 62-86) [Kryštufek, Vochralik, 2009; Nevo, Ivanitskaya, Beiles, 2001]. Интересно, что у пяти видов рода слепышей *Spalax* (обитающих в Восточной Европе и Северном Прикаспии), хромосомных рас фактически не выявлено: у *S. microphthalmus*  $2n = 60$ , NF = 116-120, у *S. graecus*, *S. arenarius*, *S. giganteus* и *S. polonicus* хромосомный набор идентичен ( $2n = 62$  и NF = 124).

У полевков, мышовок, бурузубок и многих других видов мелких млекопитающих также выявлено большое число хромосомных рас, но у большинства из них наблюдается существенная доля гибридизации между расами [Баскевич, Опарин, Сапельников, 2010; Баскевич и др., 2010; Орлов и др., 2010; Булатова, Щипанов, Павлова, 2010]. Для *N. leucodon*, *N. xanthodon* и *N. ehrenbergi* симпатрия обнаружена только у ряда кариоморф *N. leucodon*, остальные хромосомные расы либо аллопатричны, либо парапатричны [здесь и далее: Kryštufek, Vochralik, 2009; Nevo, Ivanitskaya, Beiles, 2001]. Но даже для симпатричных хромосомных рас *N. leucodon* гибридизация до сих пор не выявлена, а для парапатричных кариоморф *N. ehrenbergi* выявлены лишь узкие гибридные зоны (0,7-2,8 км) [Nevo, Ivanitskaya, Beiles, 2001], несмотря на то, что ареалы многих кариоморф граничат друг с другом и не отделены значимыми экологическими барьерами. Таким образом, морфологически неразличимые хромосомные расы во многом ведут себя как отдельные виды, у которых существуют механизмы, препятствующие гибридизации и обмену генов, а также способствующие их пространственной обособленности.

В связи с вышесказанным среди большинства исследователей слепышей утвердилось мнение,

что *N. leucodon*, *N. xanthodon* и *N. ehrenbergi* в действительности являются надвидами (superspecies), состоящими из многочисленных географически викарирующих видов [Kryštufek, Vochralik, 2009; Nevo, Ivanitskaya, Beiles, 2001]. Каждый из видов-двойников предположительно соответствует либо одной, либо нескольким родственным кариоморфам. Таким образом, данные надвиды рода слепышей являются интересным модельным объектом для изучения видообразования у млекопитающих и роли хромосомной изменчивости в этом процессе. В данной работе делается попытка обобщить результаты исследований в этой области.

### Гипотеза Эвиатара Нево: Расширение ареала посредством хромосомного видообразования слепышей

Наиболее разработанная теория, объясняющая возникновение и существование хромосомных рас у слепышей, принадлежит Эвиатару Нево, который вместе с коллегами с 60-х годов XX в. проводил много исследований по данной проблеме. Результаты этих работ обобщены в публикации [Nevo et al., 2001]. Важно отметить, что теоретическая модель хромосомного видообразования слепышей была сформулирована еще в конце 80-х – начале 90-х годов на основании исследования израильских кариоморф *N. ehrenbergi* и в дальнейшем не претерпела существенных изменений.

Теоретическую модель можно изложить следующим образом [Nevo, Ivanitskaya, Beiles, 2001]. Нево предполагает, что исходная кариоморфа слепышей, характеризовалась наименьшим из известных сейчас числом хромосом ( $2n = 38$ ). По мере расселения слепышей и изменения условий обитания происходило перипатрическое образование (из крайних изолятов популяции) новых кариоморф, обладающих большим диплоидным набором ( $2n$ ) и измененным (во многих случаях) числом хромосомных плеч (NF). Увеличение диплоидного набора хромосом происходило в результате деления двуплечей хромосомы на две акроцентрические. Изменение NF происходило за счет периферической инверсии (инверсия – это отрыв участка хромосомы и поворот его на 180°; периферическая инверсия захватывает центромеру, а парацентрическая – нет), медиального смещения (так называемое смещение центромеры (shift) происходит чаще всего в результате активации латентной центромеры) центромеры в акроцентрической хромосоме, в результате чего она становилась двуплечей, и обратного процес-

са. Сравнивая кариотипы представителей различных израильских кариоморф *N. ehrenbergi* ( $2n = 52$ ,  $2n = 54$ ,  $2n = 58$ ,  $2n = 60$ ), Нево с соавторами показал, что у кариоморф с большим числом хромосом пара акроцентрических хромосом соответствует одной из метацентрических хромосом у кариоморф с меньшим диплоидным набором. Также было отмечено разное положение центрального участка у похожих хромосом разных кариоморф.

Нево с соавторами предположил, что адаптивное преимущество при большем значении  $2n$  связано с увеличением variability генетического материала в гаметах за счет повышения числа комбинаций при расхождении хромосом в мейозе, а возможно, и числа нетерминальных хиазм при кроссинговере. В исходных условиях местообитания популяции такая генетическая variability является нежелательной, так как повышает вероятность появления неприспособленных особей. Однако на окраинах ареала, где условия обитания менее пригодны для исходной кариоморфы (условия стресса), увеличение variability повышает вероятность появления генотипа, обеспечивающего большую приспособленность к новым условиям среды. Нево предполагает, что такая модель видообразования характерна для многих видов млекопитающих, а возможно, и для других таксонов животных и растений.

Как предположил Нево, в случае слепышей образование кариоморф обусловлено подземным образом жизни. С этим связана относительно низкая мобильность взрослых и небольшие дистанции расселения молодых особей, что в совокупности обеспечивает низкую скорость обмена генами между субпопуляциями [Nevo, Ivanitskaya, Beiles, 2001]. Также во многих случаях у *N. leucodon* и *N. xanthodon* пригодные места обитания распределены дисперсно и отделены друг от друга лесными, водными и горными массивами, а также каменистыми субстратами и периодически подтопляемыми территориями [Kryštufek, Vochralik, 2009]. Все это создает условия для появления небольших изолированных субпопуляций, что в действительности наблюдается у слепышей. В таких изолятах закрепление хромосомных перестроек более вероятно в связи с высокой вероятностью инбридинга [Nevo, Ivanitskaya, Beiles, 2001; Bush et al., 1977]. У новой кариоморфы с разделившейся метацентрической хромосомой гены, находящиеся по разные стороны от точки разрыва, начинают комбинироваться в мейозе уже не по закону кроссинговера, а по закону независимого расщепления хромосом.

Как уже было сказано, результатом этого становится повышение variability генетического материала в гаметах, а именно увеличение сочетаний аллельных наборов в двух вновь появившихся акроцентрических хромосомах. Соответственно появляется больше материала для отбора и, в конце концов, происходит закрепление того аллельного набора (сочетания акроцентрических хромосом), который способствует выживанию в новых условиях. В дальнейшем за счет большей приспособленности происходит расширение ареала новой кариоморфы и впоследствии возможна ее встреча с исходной хромосомной расой. При этом Нево с соавторами постулировали необходимость быстрого формирования постмейотической репродуктивной изоляции между двумя родственными расами за счет различий в  $2n$  и NF, чтобы закрепленные в новой кариоморфе «ценные» сочетания генов или же комбинации хромосом не размывались [Nevo, Ivanitskaya, Beiles, 2001; Nevo et al., 2000].

Однако остается непонятным, почему Нево упирает на репродуктивную изоляцию, как необходимое условие в данной модели. Ведь если ценная комбинация двух акроцентрических хромосом новой кариоморфы соответствует метацентрической хромосоме исходной расы, то жизнеспособные гибриды этих рас в любом случае будут наследовать или сразу две акроцентрические хромосомы или ни одной из них, т.е. размытия ценного комплекса генов происходить не будет. И если комбинация двух акроцентрических хромосом настолько ценна для выживания в данном географическом регионе, то она будет распространяться в исходной расе, меняя таким образом ее диплоидный набор. В то же время отсутствие необходимости репродуктивной изоляции не означает, что такой изоляции в реальности не происходит. Так, попытки скрещивания разных балканских кариоморф *Spalax leucodon* оказались неудачными, в то время как особи из отдаленных регионов с одинаковым диплоидным набором давали жизнеспособное потомство [Nevo, Ivanitskaya, Beiles, 2001].

Необходимо отметить, что модель видообразования у слепышей Нево основана на более общей теоретической гипотезе, объясняющей быстрые темпы видообразования у млекопитающих хромосомными перестройками, обеспечивающими репродуктивную изоляцию небольших субпопуляций. В частности Буш с соавторами [Bush et al., 1977] нашли прямую зависимость между скоростью хромосомных перестроек и скоростью видообразования у различных отрядов млекопита-

ющих. Однако Кинг [King, 1987] подверг подобные исследования критике в связи с тем, что в них не разграничивались хромосомные перестройки, которые способствуют и не способствуют репродуктивной изоляции. Ряд новейших теоретических подходов к этой проблеме вообще содержат отказ от простого объяснения значения хромосомных перестроек как механизма репродуктивной изоляции [здесь и далее: Fagía, Navago, 2010]. Взамен им приходят модели (в частности модель Киркпатрика–Бартона), в которых функцией хромосомных перестроек является защита возникшего недавно в субпопуляции «ценного» сочетания аллелей нескольких генов (супергена), расположенных на одной хромосоме, от «распада» в случае гибридизации с особью, не имеющей данного «ценного» комплекса. Такой распад возможен при мейотической рекомбинации гомологичных хромосом (одна имеет суперген, другая не имеет) у гибрида. Однако если эти хромосомы отличаются перестройками (например, перичентрической инверсией), то рекомбинация гомологичных хромосом в локусах, в которых произошла перестройка, значительно менее вероятна и распада аллельного комплекса не произойдет; его будет нести половина гамет гибрида. Таким образом, для закрепления комбинаций мутаций в комплексе генов, полезных для одной субпопуляции и вредных для другой, не требуется репродуктивной изоляции. Модель Наварро–Бартона, дополняющая модель Киркпатрика–Бартона, предполагает, что при накоплении генетических различий в локусах, в которых произошла хромосомная перестройка, в какой-то момент возникает репродуктивная изоляция между кариоморфами. Модель Киркпатрика–Бартона получила эмпирическое подтверждение у некоторых насекомых (*Drosophila*, *Rhagoletis*), растений (*Helianthus*) и у ряда насекомоядных (*Sorex araneus*) [Basset, 2006; Feder, 2005; Noor et al., 2001; Rieseberg, 2001]. Для многих из данных видов доказана постмейотическая и презиготическая репродуктивная изоляция (стерильность и нежизнеспособность гибридов), которая связана с генами, находящимися в инвертированных регионах. Так, у *Drosophila* в локусах, где произошла инверсия, располагаются гены, которые вносят вклад в стерильность и нежизнеспособность гибридов, в успех спаривания самца и в брачные предпочтения самки [Noor et al., 2001].

Таким образом, новая теоретическая концепция роли хромосомных перестроек в видообразовании не слишком согласуется с логикой модели видообразования у слепышей по [Nevo,

Ivanitskaya, Beiles, 2001]. Принципиальным отличием двух подходов является оценка роли хромосомных перестроек: в модели Киркпатрика–Бартона они способствуют снижению вариабельности, в модели Нево – увеличению. Кроме того, в модели Киркпатрика–Бартона первичны «мягкие» сбалансированные перестройки хромосом, не приводящие к репродуктивной изоляции. Поэтому в модели Киркпатрика–Бартона предполагается не перипатрическое видообразование, как в модели Нево, а парапатрическое. Необходимо отметить, что мягкими являются не только перестройки, изменяющие положение отдельных частей внутри хромосомы (в частности перичентрические инверсии), но и многие перестройки, приводящие к изменению числа хромосом, но не дестабилизирующие мейоз [King, 1987]. Согласно Кингу [King, 1987], центрическое разделение хромосом, предполагаемое Нево у слепышей, потенциально является перестройкой несбалансированной, т.е. способствующей репродуктивной изоляции.

Необходимо отметить, что модель Киркпатрика–Бартона не объясняет причины изменения диплоидного набора у хромосомных рас. В рамках этой модели робертсоновские перестройки являются не обязательными для видообразования, а возможно и нежелательными. Таким образом, модель Киркпатрика–Бартона никак не объясняет роли изменения числа хромосом у разных популяций, а значит, ее невозможно применять для анализа хромосомных рас слепышей.

Нево [Nevo, Ivanitskaya, Beiles, 2001] признает отличие предпосылок своей концепции от моделей, похожих на модель Киркпатрика–Бартона. В свою пользу он приводит результаты десятилетних исследований по слепышам, доказывающих валидность своей модели. В настоящей работе была сделана попытка проанализировать соответствие этих результатов теоретическим следствиям модели Нево.

### Эмпирические подтверждения гипотезы Нево

Из модели Нево можно выделить проверяемые следствия.

1. Пространственное распределение кариоморф должно быть следующим: по мере увеличения стрессующих условий внешней среды (увеличения отличий от исходной среды обитания) должен расти диплоидный набор хромосом ( $2n$ ).

2. Каждая хромосомная раса должна быть приспособлена к своей среде обитания больше, чем к среде обитания соседней кариоморфы. При этом различия в приспособленности должны объясняться генетически.

3. У недавно возникших кариоморф внутригрупповая генетическая вариабельность должна быть выше, чем у родительской кариоморфы. Отметим, что повышенная вариативность аллелей должна отмечаться только в локусах, подвергшихся недавней робертсоновской перестройке, т.е. в акроцентрических хромосомах, которые получились при разделении метацентрика.

4. Среди пространственно соседних кариоморф должны наблюдаться следующие закономерности. Хромосомные расы с более близким диплоидным набором хромосом должны быть более близки генетически. При этом на филогенетических деревьях кариоморфы с меньшим количеством хромосом должны быть базальными таксонами по отношению к кариоморфам с большим количеством хромосом.

### Географическое распределение хромосомных рас слепышей

Первые исследования Нево проводил в Израиле. Как уже было сказано, в Израиле обитают четыре кариоморфы ( $2n = 52$ ,  $NF = 84$ ;  $2n = 54$ ,  $NF = 82$ ;  $2n = 58$ ,  $NF = 76$ ;  $2n = 60$ ,  $NF = 76$ ), которые Нево и соавторы предложили считать отдельными видами *Spalax galili*, *S. golani*, *S. carmeli* и *S. judaei* соответственно (рис. 1). Было высказано предположение, что каждая из кариоморф соответствует разным климатическим условиям. *Spalax galili* ( $2n = 52$ ), обитающий на северном средиземноморском побережье Израиля, живет в относительно холодном и влажном климате, *S. golani* ( $2n = 54$ ), обитающий на той же широте, но в удалении от побережья, – в холодном и полусухом климате. Более южный вид *S. carmeli* ( $2n = 58$ ) живет в теплом и влажном климате, а самый южный вид Израиля *S. judaei* ( $2n = 60$ ), проникающий и в Северную Африку, – в теплом и сухом климате.

Именно на израильских слепышах и была сформулирована модель Нево. Он предположил, что нарастание стрессующего климатического воздействия на слепышей положительно коррелирует с градиентом аридности и что форма с исходным кариотипом обитала в южной Турции. Таким образом, чем сильнее возрастала аридность климата по мере распространения, тем больше становился диплоидный набор ( $2n$ ) *N. ehrenbergi*. Коэффициенты ранговой корреляции Спирмена показали значимую положительную зависимость между числом хромосом у кариоморфы и температурой в данной зоне и отрицательную между числом хромосом и количеством осадков, а так-



Рис. 1. Распределение кариоморф *S. ehrenbergi* в Израиле [по: Nevo, Ivanitskaya, Beiles, 2001, с изменениями]. Пунктирными линиями обозначены границы распространения кариоморф, числа в кружочках – диплоидный хромосомный набор кариоморф

же количеством дождливых дней в году и индексом увлажнения Торнтуэйта. Считается, что коэффициент ранговой корреляции Спирмена можно использовать только в том случае, если есть 5 и более рангов. В нашем случае рангов (т.е. кариоморф) анализировалось лишь 4. Кроме того, не по всем показателям среды все кариоморфы четко ранжируются по предложенной теоретической схеме. Только с помощью дискриминантного анализа авторам удалось построить пространство, в котором популяции разных кариоморф разделяются по климатическим параметрам [Nevo, Ivanitskaya, Beiles, 2001].

Необходимо отметить, что в южной Турции и Иордании, где также обитает *N. ehrenbergi*, такой четкой корреляции между числом хромосом и уровнем аридности не просматривается. В Иордании обитают слепыши только с  $2n = 60$ , в связи с чем предполагается, что на данной территории модель видообразования была другой [Nevo et al.,

2000]. Возможно, что дальнейшему увеличению числа хромосом у слепышей (выше  $2n = 60$ ) препятствуют какие-то физиологические или генетические факторы. В южной Турции число хромосом у кариоморф *N. ehrenbergi* убывает по мере отдаления от Средиземного моря и нарастания условий аридности: на побережье обитают кариоморфы  $2n = 56$  и  $2n = 58$ , восточнее –  $2n = 52$  [Nevo et al., 1994].

Хромосомная эволюция и формообразование слепышей Турции, по мнению Нево, проходили по тому же сценарию, что и эволюция слепышей Израиля, т.е. число хромосом положительно коррелирует с уровнем аридности [Nevo et al., 1994; Nevo, Ivanitskaya, Beiles, 2001] (рис. 2). Логические рассуждения при этом следующие: на периферии Анатолии, где климат более гумидный, наблюдаются кариоморфы с меньшим числом хромосом ( $2n = 38$ ,  $2n = 50$ ,  $2n = 54$ ), а в центральной части, где климат более сухой, диплоидный набор заметно выше ( $2n = 60$ ,  $2n = 62$ ). Поэтому возникла гипотеза, что заселение Малой Азии видом *N. xanthodon* происходило от средиземноморского побережья в глубь материка, а исходной формой являются кариоморфы  $2n = 38$ . Однако эти рассуждения не подкреплены расчетом ранговых коэффициентов Спирмена подобно тому, как это было сделано для израильских слепышей [Nevo et al., 1994]. Даже поверхностный анализ распределения хромосомных рас в Турции и соответствующих климатических переменных (рис. 2) не позволяет сделать вывод о статистической достоверности подобной зависимости. Дело в том, что ареал кариоморф  $2n = 60$  очень широк, заходит на территории с различным климатом и

перекрывается с кариоморфами, имеющими меньший диплоидный набор. Более свежие данные по распространению кариоморф *N. xanthodon* еще больше расширяют такие перекрывания [Kryštufek, Vochralik, 2009; здесь и далее]. Также важно, что существование в Турции кариоморфы  $2n = 62$  впоследствии не подтвердилось.

Необходимо отметить, что высокая степень аридности климата центральной Анатолии, постулируемая Нево и др. [Nevo et al., 1994], является некоторым преувеличением, поскольку там намного более влажный и холодный климат, чем в любой точке Израиля. Поэтому утверждать, что условия центральной Анатолии являются стрессующим местообитанием для слепышей, не совсем корректно. Наоборот, данные [Kryštufek, Vochralik, 2009] указывают на то, что ареал *N. xanthodon*  $2n = 60$  является центральным для надвида и характеризуется высокой плотностью и непрерывностью. Популяции маргинальных кариоморф с малым числом  $2n$  представляют собой разрозненные сообщества, так как удобные для них местообитания разделяются лесными массивами, горами и подтопляемыми территориями. Можно предположить, что в условиях Малой Азии именно высокая влажность является стрессующим фактором для слепышей. Интересно, что в центральной Анатолии найдены древнейшие (нижний миоцен) останки слепышовых и существуют богатейшие палеонтологические находки более поздних эпох [Kryštufek, Vochralik, 2009; Nevo, Ivanitskaya, Beiles, 2001]. Поэтому нет оснований утверждать, что данный регион является трудноосваиваемым для исходной формы слепышей.



Рис. 2. Распределение *S. xanthodon* (в оригинале *S. leucodon*) и *S. ehrenbergi* в Турции [по: Nevo, Ivanitskaya, Beiles, 2001, с изменениями]. Двойными стрелками обозначен градиент влажности климата

Во многих своих работах Нево также указывает на то, что в распространении рода *Spalax* и на Балканах, и по направлению к России наблюдается закономерность увеличения диплоидного набора [Nevo, Ivanitskaya, Beiles, 2001; Nevo et al., 1994]. Предполагается, что и здесь существует тот же сценарий: по мере удаления от исходного ареала число  $2n$  растет. Если говорить о распространении кариоморф *N. leucodon* на Балканах, то какую-либо закономерность здесь уловить сложно. В случае с «российским направлением» такая закономерность в действительности прослеживается: от кариоморфы *N. leucodon* ( $2n = 52$  и  $2n = 56$ ) на Карпатах до *S. arenarius* ( $2n = 62$ ) на Урале и в бассейне Дона. При этом, как уже было сказано, на востоке европейского ареала рода *Spalax* диплоидный набор перестает меняться. Возможно, дальнейшее увеличение числа хромосом по какой-то причине становится «невыгодным».

### Фенотипические различия кариоморф

Нево с соавторами провели множество лабораторных исследований, пытаясь найти различия в морфологии, физиологии и поведении израильских кариоморф *N. ehrenbergi* [здесь и далее: Nevo, Ivanitskaya, Beiles, 2001]. Хотя в морфологии определенные различия были найдены, они достаточно размыты и сложно интерпретируются с точки зрения приспособленности к специфической среде обитания. Единственный интересный факт связан с тем, что самая южная кариоморфа *S. judaei* ( $2n = 60$ ) оказалась заметно меньше трех других кариоморф по размерам, что помимо генетических различий может объясняться более скудными пищевыми ресурсами в ее местообитаниях. Исследования метаболизма, работы почек, терморегуляции и устойчивости к гипоксии выявили различия, которые во многих случаях действительно можно объяснить разными климатическими условиями обитания. В то же время почти ни в одном тесте не было показано «правильного» ранжирования всех четырех кариоморф. Во многих случаях (метаболизм, концентрация мочи, терморегуляция) значимые отличия удалось получить только для *S. judaei* ( $2n = 60$ ) по сравнению с тремя другими кариоморфами.

Проведен интересный поведенческий лабораторный эксперимент: самкам четырех кариоморф проигрывали брачный крик самцов разных кариоморф. Самки *Spalax galili* ( $2n = 52$ ), *S. golani* ( $2n = 54$ ) и *S. carmeli* ( $2n = 58$ ) предпочитали крик самца своей кариоморфы, а самки *S. judaei* ( $2n = 60$ ) одинаково реагировали на звуки самца своей и чужих кариоморф. В первых трех слу-

чаях предполагается наличие премейотической репродуктивной изоляции, а у *S. judaei* ( $2n = 60$ ) (предположительно самой молодой кариоморфы) этот механизм еще не успел образоваться.

Описанные выше лабораторные тесты проводили над животными, выловленными в дикой природе. Установленные различия можно объяснить не генетикой, а влиянием внешней среды при онтогенезе и формировании поведенческих стереотипов. В работе Бродского с соавторами [Brodsky et al., 2005] выявлены различия в экспрессии генов (на основе анализа мРНК в клетках почки, мозга и т.д.) северных и южных кариоморф, которые можно объяснить разницей в среде обитания (гипоксия в условиях периодического подтопления почвы, дефицит воды и т.д.). Однако такие различия могут быть обусловлены особенностями онтогенеза – зависимостью экспрессии генов от условий развития. Эксперименты по выведению слепышей в неволе дали положительные результаты [Gazit, Terkel, 2000], поэтому сейчас существует возможность провести те же физиологические и цитологические тесты с животными, выращенными в одинаковых условиях с самого рождения.

### Внутригрупповая генетическая вариабельность кариоморф

Как уже было отмечено, если гипотеза Нево верна, то вновь образованные кариоморфы будут отличаться большей вариабельностью генома, что связано с повышением числа возможных сочетаний при увеличении числа хромосом. В дальнейшем отбор должен элиминировать особей с «неудачными» компоновками хромосом и вариабельность должна снизиться. Поэтому наиболее четко различия в вариабельности генома должны прослеживаться у предположительно родственных кариоморф. Мы остановимся на проверке именно этой гипотезы: у родственных кариоморф с повышением числа хромосом должна повышаться генетическая вариабельность. Она напрямую вытекает из гипотезы Нево и хорошо применима для близкородственных кариоморф *N. ehrenbergi* в Израиле. В то же время Нево с соавторами формулируют более общий постулат, что генетическая вариабельность повышается с ростом  $2n$  [Nevo, Ivanitskaya, Beiles, 2001]. В частности, они получили такой результат для кариоморф *N. xanthodon* в Турции. Но время расхождения филогенетических ветвей этих кариоморф составляет несколько миллионов лет и к тому же они заметно различаются по степени родства. Поэтому, на мой взгляд, полученные результаты для

*N. xanthodon* не могут являться подтверждением модели Нево.

Нево и соавторы провели множество исследований генетической изменчивости израильских кариоморф *N. ehrenbergi*. В работе Карантх [Karanth et al., 2004] приведены показатели генетического разнообразия для четырех кариоморф в разных участках генома (митохондриальная ДНК; локусы, кодирующие аллостерические ферменты; AFLP-маркеры; произвольно (случайно) амплифицированная полиморфная ДНК (RAPD); микросателлитные локусы (SSR)). Все (кроме AFLP-маркеров) результаты указывают на большую генетическую вариабельность кариоморф с большим диплоидным набором хромосом. Однако во многих случаях различия не слишком существенные. Кроме того, не выявлено ярко выраженного скачка в генетической вариабельности *S. judaei* ( $2n = 60$ ). Предполагается, что это самая молодая по возникновению кариоморфа.

Однако интерпретация результатов данных исследований значительно затруднена. Во-первых, в ряде случаев в качестве единицы для расчета генетического разнообразия берется генетическая последовательность, расположенная на одной хромосоме. Фактически речь идет об аллельной изменчивости отдельных генов, о генофонде. Получаемая оценка генетической изменчивости в популяции не отражает вариабельность комбинаций аллелей. Особенно это касается митохондриальной ДНК, увеличение вариабельности которой с увеличением  $2n$  не отразилось в модели.

Во-вторых, в модели Нево предполагается, что новая кариоморфа возникает перипатрически, в изолированной маленькой субпопуляции. Она проходит через бутылочное горлышко, и ее генетическая вариабельность изначально должна быть меньше, чем у родительской кариоморфы. Таким образом, результаты, представленные в [Karanth et al., 2004], ставят под сомнение перипатрический характер образования кариоморф в Израиле.

Стоит также добавить, что для строгой проверки модели необходимо оценивать генетическую вариабельность не по всему геному, а только для комбинаций аллелей генов, расположенных в подвергшихся перестройке хромосомах. Для молодой кариоморфы – это предположительно вновь возникшие акроцентрические хромосомы, для ее родительской кариоморфы – это метацентрическая хромосома, которая гипотетически дала начало этим двум акроцентрикам. Безусловно, технически это очень сложная задача, которая пока еще не решена.

### Филогенетические исследования кариоморф

В последнее время вышел целый ряд работ, посвященных филогенетике кариоморф и видов в роде *Spalax* [Karanth et al., 2004; Hadid et al., 2012; Kandemir et al., 2012; Kryštufek et al., 2011]. Результаты их в значительной степени различаются, что может быть связано с использованием разных генетических маркеров, различиями в выборке, а также таксоном, который используют для укоренения дерева. На мой взгляд, наиболее корректной, правда достаточно узкой, является работа [Karanth et al., 2004], где проведено исследование генетической близости на основе микросателлитных локусов популяций *Spalax galili*, *S. golani*, *S. carmeli* и *S. judaei* в Израиле. Всего для исследования было отобрано по 3 популяции каждой кариоморфы, расположенных на удалении друг от друга. В каждой популяции было отобрано 10 особей, и таким образом, были проанализированы данные по 120 особям. Согласно результатам, популяции каждой из кариоморф *Spalax galili*, *S. golani* и *S. judaei* формируют компактные клады. При этом клада популяций *Spalax galili* ( $2n = 52$ ) и популяций *S. golani* ( $2n = 54$ ) формирует обособленную кладу более высокого порядка. Противоречивые результаты получились для популяций *S. carmeli* ( $2n = 58$ ), одна из которых попала в кладу к *S. golani*, другая – к *S. judaei*. Так как авторы пользовались некаротипированным материалом, возможно, что особи из этих двух популяций, причислявшиеся ими к *S. carmeli*, в реальности являлись гибридами. Таким образом, исследование [Karanth et al., 2004] в целом подтверждает для израильских слепышей одно из следствий модели Нево, а именно: кариоморфы с близким диплоидным набором должны быть более близкими родственниками. В то же время необходимо отметить случай *S. carmeli*, где генетическая близость отдельных популяций зависит от ее географической близости к той или иной кариоморфе. Кроме того, характер ветвлений не полностью соответствует предположению Нево об эволюции кариоморф в Израиле, в частности, нет четкого подтверждения, что таксон *Spalax galili* близок к предковому.

В работах [Hadid et al., 2012; Kandemir et al., 2012; Kryštufek et al., 2011] были построены укорененные филогенетические деревья для кариоморф *N. leucodon*, *N. xanthodon* и *N. ehrenbergi*. В результате проведенных исследований получены данные, из которых можно выделить согласующиеся по всем трем работам.



1. Клада *N. ehrenbergi* оказалось базальной к *N. leucodon* и *N. xanthodon*.

2. В кладе *N. ehrenbergi* базальной является кариоморфа  $2n = 52$  из континентальной части южной Турции. Это может означать, что исходное местообитание предка *N. leucodon*, *N. xanthodon* и *N. ehrenbergi* находилось именно здесь, а ее кариотип был  $2n = 52$ , а не  $2n = 38$ , как предполагается в работе Нево и др. [Nevo et al., 2001].

3. *Spalax galili* и *S. golani*, *S. carmeli* и *S. judaei* формируют отдельные клады. Клада *Spalax galili* и *S. golani* находится ближе к базальной турецкой кариоморфе. Таким образом, гипотеза Нево, что образование израильских кариоморф происходило с увеличением диплоидного набора, находит подтверждение. При этом генетическая вариабельность в кладе израильских кариоморф очень низкая, что, возможно, связано с эффектом бутылочного горлышка.

4. Клады *N. leucodon* и *N. xanthodon* достоверно не разделяются.

5. Кариоморфы *N. xanthodon* центральной Анатолии ( $2n = 60$ ,  $2n = 58$ ,  $2n = 56$ ) формируют компактную кладу, которая обладает большой генетической вариабельностью. В этой кладе базальной является кариоморфа  $2n = 60$ .

6. Кариоморфы *N. xanthodon* средиземноморского побережья также формируют отдельную, но менее компактную кладу. В этой кладе базальной является кариоморфа либо  $2n = 50$ , либо  $2n = 54$ .

7. В работе [Kandemir et al., 2012] популяции *S. carmeli* и *S. judaei*, хотя каждая из них и формирует отдельную кладу, оказались перепутанными, т.е. некоторые особи *S. carmeli* оказались генетически ближе к *S. judaei*, чем к особям своей кариоморфы. Подобное смешение было обнаружено и для популяций кариоморф *N. xanthodon* центральной Анатолии  $2n = 56$  и  $2n = 60$ . Это значит, что близость по диплоидному набору для слепышей не всегда означает генетическую близость.

Таким образом, результаты филогенетических исследований во многом не согласуются с ожидаемыми следствиями из модели Нево. Частичное подтверждение получила только траектория образования кариоморф *N. ehrenbergi* в Израиле, хотя и здесь филогенетическое дерево выглядит так, как будто каждая клада из пар кариоморф (*Spalax galili* и *S. golani*, *S. carmeli* и *S. judaei*) независимо отпочковывалась от базального таксона, который проник на территорию Израиля.

Нужно отдельно отметить интересный случай кариоморфы *S. carmeli*, популяции которой в разных географических точках генетически отличаются друг от друга больше, чем от соседней

кариоморфы. Такой результат можно объяснить, если каждая из популяций возникла независимо. Однако, если генетически исходной была единая популяция *S. carmeli*, на втором этапе могла произойти гибридизация с соседней кариоморфой на границе ареала. В любом случае удивительным является одинаковый диплоидный набор у разных популяций *S. carmeli*, который либо независимо возник в нескольких географических точках, либо не претерпел изменений, несмотря на гибридизацию. Более глубокое исследование случая *S. carmeli* может пролить свет на механизм формирования кариоморф у слепышей.

### Заключение

Анализ, проведенный в данной работе, позволяет сделать вывод, что модель видообразования слепышей, предложенная Нево с соавторами, не находит серьезных подтверждений. Она не подтверждается ни пространственным распределением кариоморф (привязкой к условиям среды), ни филогенетическим анализом. В то же время в частном случае израильских кариоморф *N. ehrenbergi* некоторые следствия модели Нево выполняются, что неудивительно, так как именно на этом материале и была разработана модель. Однако необходимо отметить, что поскольку в Израиле существуют всего четыре кариоморфы, то подобное их географическое распределение могло произойти случайно. Нельзя не отметить тот факт, что и на южной (Северная Африка), и на северной (Россия) границе ареала рода *Spalax* единственная обитающая там кариоморфа обладает максимальным ( $2n = 62$ ) или почти максимальным ( $2n = 60$ ) из известных для данного рода диплоидным набором хромосом. Поэтому возможно, что некоторая связь этих двух явлений (диплоидного числа и удаленности от предкового ареала) у палестинского слепыша в реальности существует. Кроме того, случай *S. carmeli* также может указывать на то, что диплоидный набор является самостоятельным фактором эволюции. Можно заключить, что попытки Нево с соавторами разгадать эту загадку безусловно заслуживают уважения, а данная проблематика по-прежнему является чрезвычайно актуальной.

Автор выражает глубокую благодарность Евгению Леонидовичу Яхонтову за помощь в поиске литературы, Елене Юрьевне Иваницкой за тщательный анализ работы и множество ценных комментариев и особую признательность Александре Андреевне Панютиной, которая принимала активное участие на всех этапах написания данной статьи.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

## [REFERENCES]

- Баскевич М.И., Окулова Н.М., Потапов С.Г., Миронова Т.А., Сапельников С.Ф., Егоров С.В., Власов А.А. К вопросу о гибридизации 46-хромосомных форм в *Microtus arvalis* s. l. в Центральном Черноземье // Конф. «Целостность вида и гибридизация» (Петергоф, 12–17 мая 2010 г.). М., 2010. С. 12 [Baskevich M.I., Okulova N.M., Potapov S.G., Mironova T.A., Sapelnikov S.F., Egorov S.V., Vlasov A.A. K voprosu o gibridizatsii 46-khromosomnykh form v *Microtus arvalis* s. l. v Tsentralnom Chernozem'e // Konf. "Tselostnost' vida i gibridizatsiya" (Petergof, 12–17 maya 2010 g.). M. 2010. S. 12].
- Баскевич М.И., Опарин М.Л., Сапельников С.Ф. Возможная роль гибридизации в формировании хромосомной изменчивости у мышевок (Rodentia, Dipodoidea, *Sicista*) группы *subtilis* // Конф. «Целостность вида и гибридизация» (Петергоф, 12–17 мая 2010 г.). М., 2010. С. 11 [Baskevich M.I., Oparin M.L., Sapelnikov S.F. Vosmozhnaya rol' gibridizatsii v formirovanii khromosomnoj izmenchivosti u myshovok (Rodentia, Dipodoidea, *Sicista*) gruppy *subtilis* // Konf. "Tselostnost' vida i gibridizatsiya" (Petergof, 12–17 maya 2010 g.). M., 2010. S. 11].
- Булатова Н.Ш., Щипанов Н.А., Павлова С.В. Факты гибридной хромосомной зоны против дивергентной популяционной цитогенетики // Конференция «Целостность вида и гибридизация» (Петергоф, 12–17 мая 2010 г.). М., 2010. С. 24 [Bulatova N.Sh., Shchipanov N.A., Pavlova S.V. Fakty gibridnoj khromosomnoj zony protiv divergentnoj populatsionnoj zitogenetiki // Konf. "Tselostnost' vida i gibridizatsiya" (Petergof, 12–17 maya 2010 g.). M., 2010. S. 24].
- Орлов В.Н., Борисов Ю.М., Ирхин С.Ю., Ковалева А.А. Особенности зоны контакта трех хромосомных рас обыкновенной бурозубки *Sorex araneus* L. (Mammalia) как показатель конкуренции популяций // Экология. 2010. № 6. С. 459–463 [Orlov V.N., Borisov Yu.M., Irkhin S.Yu., Kovalyova A.A. Osobennosti zony kontakta tryokh khromosomnykh ras obyknovennoj burozubki *Sorex araneus* L. (Mammalia) kak pokasatel' konkurentsii populyatsij // Ekologiya. 2010. N 6. S. 459–463].
- Basset P., Yannic G., Brünner H., Hausser J., Noor M. Restricted gene flow at specific parts of the shrew genome in chromosomal hybrid zones // Evolution. 2006. Vol. 60. N 8. P. 1718–1730.
- Brodsky L., Kogan S., BenJacob J., Nevo E. Evolutionary regulation of the blind subterranean mole rat, *Spalax*, revealed by genome-wide gene expression // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2005. Vol. 102. N 47. P. 17047–17052.
- Bush G.L., Case S.M., Wilson A.C., Patton J.L. Rapid speciation and chromosomal evolution in mammals // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1977. Vol. 74. N 9. P. 3942–3946.
- Faria R., Navarro A. Chromosomal speciation revisited: rearranging theory with pieces of evidence // Trends Ecol. Evol. 2010. Vol. 25. N 11. P. 660–669.
- Feder J.L., Xie X., Rull J., Velez S., Forbes A., Leung B., Dambroski H., Filchak K. E., Aluja M. Mayr, Dobzhansky, and Bush and the complexities of sympatric speciation in *Rhagoletis* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2005. Vol. 102. Suppl. 1. P. 6573–6580.
- Gazit I., Terkel J. Reproductive behavior of the blind mole-rat (*Spalax ehrenbergi*) in a seminatural burrow system // Can. J. Zool. 2000. Vol. 78. N 4. P. 570–577.
- Hadid Y., Nemeth A., Snir S., Pavlicek T., Csorba G., Kazmer M., Major A., Mezhzherin S., Rusin M., Coskun Y., Nevo E. Is evolution of blind mole rats determined by climate oscillations? // PLoS ONE. 2012. Vol. 7. N1. e30043.
- Kandemir İ., Sözen M., Matur F., Martinkova N., Kankılıç T., Çolak F., Özkurt Ş.Ö., Çolak E. Phylogeny of species and cytotypes of mole rats (Spalacidae) in Turkey inferred from mitochondrial cytochrome b gene sequences // Folia Zool. 2012. Vol. 61. N 1. P. 25–33.
- Karanth K.P., Avivi A., Beharav A., Nevo E. Microsatellite diversity in populations of blind subterranean mole rats (*Spalax ehrenbergi* superspecies) in Israel: speciation and adaptation // Biol. J. Linn. Soc. 2004. Vol. 83. N 2. P. 229–241.
- King M. Chromosomal rearrangements, speciation and the theoretical approach // Heredity. 1987. Vol. 59. P. 1–6.
- Kryštufek B., Ivanitskaya E., Arslan A., Arslan E., Bužan E.V. Evolutionary history of mole rats (genus *Nannospalax*) inferred from mitochondrial cytochrome b sequence // Biol. J. Linn. Soc. 2011. Vol. 105. N 2. P. 446–455.
- Kryštufek B., Vohralik V. Mammals of Turkey and Cyprus. Rodentia II. Cricetinae, Muridae, Spalacidae, Calomyscidae, Capromyidae, Hystricidae, Castoridae. Koper. 2009. 372 p.

Musser G.G., Carleton M.D. Superfamily Muroidea // Mammal Species of the World. A Taxonomic and Geographic Reference / Ed. by D.E. Wilson, D.M. Reeder. Baltimore. 2005. P. 894–1531.

Nevo E. Stress, adaptation, and speciation in the evolution of the blind mole rat, *Spalax*, in Israel // Mol. Phyl. Evol. 2013. Vol. 66. N 2. P. 515–525.

Nevo E., Filippucci M.G., Redi C., Korol A., Beiles A. Chromosomal speciation and adaptive radiation of mole rats in Asia Minor correlated with increased ecological stress // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1994. Vol. 91. N 17. P. 8160–8164.

Nevo E., Ivanitskaya E., Beiles A. Adaptive radiation of blind subterranean mole rats: naming and revisiting the four sibling species of *Spalax ehrenbergi* superspecies in Israel: *Spalax galili* ( $2n = 52$ ), *S.*

*golani* ( $2n = 54$ ), *S. carmeli* ( $2n = 58$ ) and *S. judaei* ( $2n = 60$ ). Leiden, 2001. 198 p.

Nevo E., Ivanitskaya E., Filippucci M.G., Beiles A. Speciation of subterranean mole rats, *Spalax ehrenbergi*, in Jordan // Biol. J. Linn. Soc. 2000. Vol. 69. N 2. P. 263–281.

Noor M.A.F., Grams K.L., Bertucci L.A., Reiland J. Chromosomal inversions and the reproductive isolation of species // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2001. Vol. 98. N 21. P. 12084–12088.

Rieseberg L.H. Chromosomal rearrangements and speciation // Trends Ecol. Evol. 2001. Vol. 16. N 7. P. 351–358.

Zuri I., Terkel J. Ontogeny of agonistic behaviour in dispersing blind mole rats (*Spalax ehrenbergi*). // Aggressive Behavior. 1998. Vol. 24. N 6. P. 455–470.

Поступила в редакцию / Received 25.02.2015  
Принята к публикации / Accepted 17.03.2016

## MECHANISMS OF THE CHROMOSOMAL EVOLUTION OF MOLE RATS COMPLEX *NANNOSPALAX EHRENBERGI*: RESEARCH RESULTS AND PERSPECTIVES

A.A. Pletenev<sup>1</sup>

Genus *Nannospalax* is the model object for studying speciation for many decades. For each of the three species of this genus there is a large number of allopatric and parapatric karyomorphs which presumably weakly hybridize. Eviatar Nevo, regarding most of these karyomorphs as separate species, proposed a model of speciation on the basis of chromosomal rearrangements, namely the division of metacentric chromosomes into acrocentric. In this paper, the model of Nevo is criticized and tested against the relevant genetic data on the subject. The analysis leads to the conclusion that the model of speciation of the mole rats proposed by Nevo and co-authors, gains no serious support. In particular, it does not fit with the phylogenetic tree constructed for karyomorphs of *Nannospalax*.

**Key words:** chromosomal race, mole rats, *Nannospalax*, speciation.

<sup>1</sup> Pletenev Anton Anatolyevich, Biological Faculty, Lomonosov Moscow State University (aapletenev@yandex.ru).