

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ПРОБЛЕМЕ ФОРМО- И ПОДВИДООБРАЗОВАНИЯ В КОМПЛЕКСЕ *LACERTA (ZOOTOCA) VIVIPARA* (LACERTIDAE, SAURIA)

© Л. А. Куприянова

Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург;
электронный адрес: vladimir@vz8122.spb.edu

В статье обобщены результаты многолетнего изучения кариотипа живородящей ящерицы *Lacerta (Zootoca) vivipara* Jacq. (сем. Lacertidae), дополненные литературными данными. В пределах вида была установлена межпопуляционная кариотипическая изменчивость и описано несколько хромосомных форм. В работе впервые представлены кариотипы *L. (Z.) vivipara* из четырех ранее не исследованных популяций и приведены цитогенетические характеристики хромосом. На основе кариологических данных открыта новая хромосомная форма и выяснены границы ареалов других хромосомных форм этого вида. Цитогенетически показано, что *L. (Z.) vivipara* представляет собой более сложный комплекс, чем предполагалось ранее. Он состоит из нескольких хромосомных форм неясного таксономического статуса и подвидов, характеризующихся различными способами размножения и собственными ареалами. Подтверждено, что интенсивные преобразования хромосом сопровождают процессы формо- и подвидообразования в комплексе *L. (Z.) vivipara*. Выявлены цитогенетические закономерности этих процессов и их различия при сравнении с гибридогенным типом формо- и видообразования. На основе критически обобщенных цитогенетических данных описаны механизмы преобразований хромосом, определены их тенденции и проведен анализ родственных взаимоотношений разных хромосомных форм и подвидов. Полученные сведения сопоставлены с филогенетическим древом вида, построенным на основе молекулярных данных. Показано, что высокая цитогенетическая дифференциация вида сочетается с низкой морфологической и невысокой генетической дифференциацией хромосомных форм и подвидов. Результаты комплексного сравнительного анализа свидетельствуют о ведущей роли цитогенетических данных в изучении процессов формо- и подвидообразования. Подчеркнуто важное значение хромосомных перестроек в этих процессах, а также в эволюции и филогении группы «живородящая ящерица». Обсуждаются возможные способы формо- и подвидообразования в комплексе *L. (Z.) vivipara*.

Ключевые слова: живородящая ящерица, кариотип, гаплотип, половые хромосомы, перестройки хромосом, цитогенетическая структура, формообразование, видообразование, эволюция, филогения.

Кариологический анализ живородящей ящерицы *Lacerta (Zootoca) vivipara* Jacq. (сем. Lacertidae), обитающей на территории бывшего СССР, показал, что для этого вида характерны разные числа хромосом и межпопуляционная вариабельность по числу, системе и типу половых хромосом (Куприянова, 1986; Куприянова, Руди, 1990). Многочисленные цитогенетические исследования этого широкоареального вида в последнее десятилетие XX в. привели к важным открытиям. В настоящей статье обобщены результаты этих исследований и приведены новые данные о структуре кариотипа живородящей ящерицы из западных регионов России и Украины.

Ранее автором были изучены кариотипы особей в общей сложности из 20 популяций, обитающих в России и на сопредельных территориях, которые с учетом географической приуроченности относятся к подвидам *L. (Z.) v. vivipara* и *L. (Z.) v. sachalinensis* (nomen nudum) (Куприянова, 1986; Куприянова, Руди, 1990). Дополнительно исследовали особей из районов Западной и Центральной Европы, относящихся к подвидам *L. (Z.) v. vivipara*, *L. (Z.) v. pannonica* и *L. (Z.) v. carniolica* (Куприянова, 1990; Kupriyanova, Bohme, 1997; Odierna et al., 1998,

2001). Эти работы показали, что кариологически живородящая ящерица представляет собой группу, состоящую из нескольких хромосомных форм. Последние обладают собственными ареалами и характеризуются различными способами размножения.

Структура кариотипов установленных хромосомных форм и подвидов. Впервые в России и на сопредельных территориях у *L. (Z.) v. vivipara* были обнаружены две хромосомные формы. Первая, ранее неизвестная хромосомная форма с диплоидными числами $2n =$ (самец) $36A$ (acrocentric)/(самка) $35A$ с Z_1Z_2 W-системой половых хромосом и акро-/субтелоцентрическим (ST) типом половой W_2 -макрохромосомы, возникшей за счет тандемного слияния ауто- и половой W_1 -хромосомы. В литературе эту форму называют «русской/восточной» (Куприянова, 1986; Куприянова, Руди, 1990).

Вторая — редкая и также ранее неизвестная для России хромосомная форма с $2n =$ (самец) $36A$ /(самка) $35A$, тоже с Z_1Z_2 W-системой половых хромосом, но с другим типом половой W-хромосомы, где W является мета-/субметацентрической (V/SV) хромосомой W_3 , появившейся

Характеристика кариотипов и распределение хромосомных форм и подвидов в комплексе *Lacerta (Zootoca) vivipara*

Подвиды и формы	2n		Система половых хромосом	Тип W-хромосомы ^а	Механизмы преобразований хромосом	С-блоки ауто- (А) и W-хромосом ^б	Способ размножения ^в	Распространение
	самцы	самки						
<i>L. (Z.) vivipara</i>	36A	36A	ZW?	?				Центральная Европа?
<i>L. (Z.) v. carniolica</i>	36A	36A	ZW	m	Гетерохроматинизация и делеция W	A-; w+	Я/к	Центральная Европа
<i>L. (Z.) v. sachalinensis</i> ? ^д	36A	35A	ZO	?	?	?	?	О-в Сахалин?
<i>L. (Z.) v. pannonica</i>	36A	35A	Z ₁ Z ₂ W	A	Тандемное слияние A и W	?	Я/ж	Центральная Европа (Австрия)
<i>L. (Z.) v. vivipara</i> («пиренейская» форма)	36A	35A	Z ₁ Z ₂ W ₁	A, ST	Гетерохроматинизация, тандемное слияние A и W	A-; W+	Я/к	Западная Европа (Пиренеи)
<i>L. (Z.) v. vivipara</i> («русская/восточная» форма)	36A	35A	Z ₁ Z ₂ W ₂	A/ST	Интенсивная гетерохроматинизация	A+; W+	Я/ж	Центральная и Восточная Европа, Азия (Карпаты—Дальний Восток, о-в Сахалин)
<i>L. (Z.) v. vivipara</i> («западная» форма)	36A	35A	Z ₁ Z ₂ W ₃	SV/V	То же, перичентрическая инверсия	A+; W+	Я/ж	Западная и Центральная Европа, Прибалтика, Скандинавия
<i>L. (Z.) v. vivipara</i> («румынская» форма)	36A	35A	Z ₁ Z ₂ W ₄	ST	То же	A+; W+	Я/ж	Центральная Европа

^а m — микрохромосома, A — акроцентрическая, ST — субтелоцентрическая, SV — субметацентрическая, V — метацентрическая хромосомы. ^б «-» — мелкие, «+» — крупные. ^в Я/к — яйцекладущие, Я/ж — яйцеживородящие. По: ^д Margot, 1946; ^д Oguma, 1934; в работах использован метод парафинированных срезов; интерпретация системы половых хромосом различна.

в результате перичентрической инверсии половой хромосомы W₂ (табл. 1). Вторую форму называют «западной» (Курпьянова, 1990, 1997).

«Западная» форма *L. (Z.) v. vivipara* была впервые обнаружена в популяциях центрального массива (Франция) и Балкан (Болгария) (Chevalier et al., 1979; Белчева и др., 1984) и затем была найдена автором с коллегами в нескольких популяциях России, Украины, Центральной Европы (Дания, Германия, Польша и Швейцария) и Скандинавии (Швеция) (Курпьянова et al., 1995; Курпьянова, Bohme, 1997) (табл. 1).

Третья структура кариотипа была открыта у особей двух анцестральных яйцекладущих популяций *L. (Z.) v. vivipara* из Западной Европы (Пиренеи). По числу хромосом, системе и типу половых хромосом этот кариотип оказался сходным с «русской/восточной» формой, так как и у последней, состоял из 2n = (самец) 36A/35A (самка) с Z₁Z₂ W-системой половых хромосом и акро- или субтелоцентрическим типом W₁-хромосомы. Это открытие подтверждало точку зрения автора на эволюционные тенденции хромосомных перестроек в пределах подвида *L. (Z.) v. vivipara* (тандемное слияние с последующей перичентрической инверсией в половой W-хромосоме) (Курпьянова, 1990). Однако эти кариотипы различались по другим признакам, а именно по локализации и низкому количеству (массе) С-гетерохроматина в половой W_{1А}- или W_{1В}-хромосоме и в остальных хромосомах (аутохромосомах) набора. Эту анцестральную хромосомную форму *L. (Z.) v. vivipara* называют «пиренейской» (Курпьянова, Bohme, 1997; Odierna et al., 1998). Кроме того, в статье Одиерна с соавторами (Odierna et al., 1998) обсуждался вопрос о самостоятельном подвидовом статусе «пиренейской» формы.

Яйцеживородящие ящерицы с о-ва Сахалина, географически приуроченные к *L. (Z.) v. sachalinensis* (nomen nudum), не отличались от особей «русской/восточной» хромосомной формы *L. (Z.) v. vivipara* ни по кариотипу (Курпьянова, Bohme, 1997), ни по гаплотипу (Mayer, Bohme, 2000). Поэтому изложенные факты не подтверждают валидности подвида *L. (Z.) v. sachalinensis*. Результаты свидетельствуют о том, что живородящую ящерицу, обитающую на территории России, включая о-в Сахалин, следует относить к номинативному подвиду к *L. (Z.) v. vivipara*.

Хромосомный набор подвида *L. (Z.) v. pannonica* (одна популяция из Австрии) также оказался сходным не с «западной» формой *L. (Z.) v. vivipara*, населяющей близлежащие к Австрии районы, а с «русской/восточной» формой (Курпьянова, Bohme, 1997). Эти первые кариологические данные подтверждали обособленность особей изученной популяции *L. (Z.) v. pannonica*, но не позволяли сделать вывод о подвидовой самостоятельности этого подвида. Этот и другие вопросы были решены в ходе дальнейшего комплексного анализа и изложены в настоящей статье.

Вместе с тем цитогенетические исследования подтвердили подвидовую самостоятельность подвида *Z. v. carniolica* из юго-восточной части Центральной Европы. В анцестральных яйцекладущих популяциях *Z. v. carniolica* был найден еще один вариант структуры кариотипа и соответственно новая хромосомная форма: 2n = (самец) 36A/(самка) 36A с ZW-системой половых хромосом и другим типом половой W-хромосомы (рис. 1, з) (Odierna et al., 2001). В данном кариотипе в результате делеции W-хромосомы возникла редуцированная W-половая микрохромосома (m). Специфика карио-

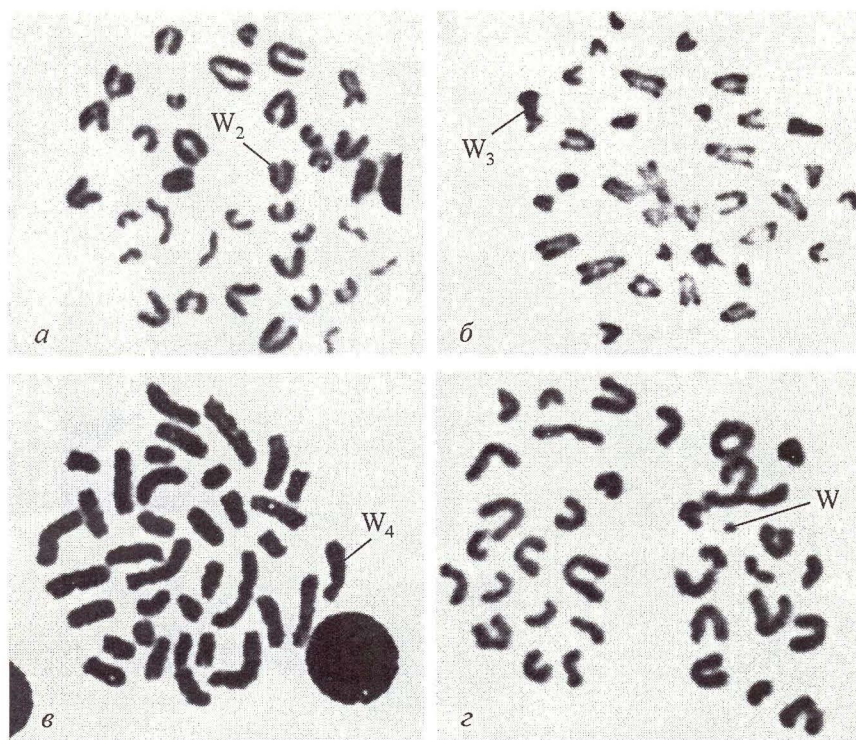


Рис. 1. Метафазные пластинки клеток крови самок *Lacerta (Zootoca) vivipara*.

a — $2n = 35A$ с акроцентрической (A) половой W_2 -хромосомой, «русская/восточная» форма подвида *L. (Z.) v. vivipara*. *б* — $2n = 35$ с субметацентрической (SV) половой W_3 -хромосомой с тремя крупными блоками C-гетерохроматина, «западная» форма подвида *L. (Z.) v. vivipara*. *в* — $2n = 35$ с субтелоцентрической (ST) половой W_4 -хромосомой, «румунская» форма подвида *L. (Z.) v. vivipara*. *г* — $2n = 36A$ с микро-(m) w-половой хромосомой, подвид *Lacerta (Zootoca) v. carniolica*. Фотографии *a* и *г* из работ: Kupriyanova, Bohme, 1997; Odierna et al., 2001, соответственно.

Fig. 1. Metaphases of blood cells of *Lacerta (Zootoca) vivipara* females.

a — $2n = 35A$ with actocentric (A) W_2 sex chromosome, «Russian/eastern» form of the subspecies *L. (Z.) v. vivipara*. *б* — $2n = 35$ with dubmetacentric (SV) W_3 sex chromosome showing three heterochromatic C-bands, «western» form of the subspecies *L. (Z.) v. vivipara*. *в* — $2n = 35$ with subtelocentric (ST) W_4 sex chromosome, Romanian form of the subspecies *L. (Z.) v. vivipara*. *г* — $2n = 36$ with micro- (m) w sex chromosome of the subspecies *L. (Z.) v. vivipara*. Photographs in *a* and *г* from: Kupriyanova, Bohme, 1997; Odierna et al., 2001.

типа не позволяла рассматривать эти яйцекладущие популяции *L. (Z.) v. carniolica* как исходные для яйцекладущей «пиренейской» формы с $2n = 35A$ и с $Z_1Z_2 W_1$ -системой половых хромосом у самок, а только как самостоятельную ветвь в комплексе (Odierna et al., 2001).

Важно подчеркнуть, что у всех обнаруженных форм и подвидов *L. (Z.) vivipara* выявлены два общих эволюционно продвинутых признака кариотипа (синапоморфии): 1) у самцов всегда $2n = 36A$; 2) ядрышкообразующие районы (ЯОР) постоянно локализованы в двух средних хромосомах набора, что цитогенетически свидетельствует о монофилии комплекса «живородящая ящерица» (рис. 2, *a*, *б*) (Kupriyanova, 1990, 1997; Kupriyanova, Bohme, 1997; Odierna et al., 1998, 2001).

Итак, межпопуляционные цитогенетические исследования живородящей ящерицы из разных частей ареала продемонстрировали возможность использования признаков кариотипа при рассмотрении проблем изменчивости и эволюции этого широкоареального вида. Однако многие вопросы, связанные со структурой кариотипов и хромосом, с тенденциями и механизмами хромосомных перестроек, их ролью в процессах формо- и подвидообразования в комплексе, оставались до конца не выясненными. Неизвестны и объем открытого комплекса, его полный состав, происхождение и таксономический статус составляющих его форм, а также их ареалы, родственные взаимоотношения и возможные пути расселения.

В связи с этим в задачу настоящей работы входило, во-первых, изучить структуру кариотипов живородящей ящерицы из нескольких конкретных популяций, во-вторых, найти новые цитогенетические маркеры кариотипов и, в-третьих, сопоставить хромосомную, морфологическую и генетическую изменчивость разных хромосомных форм и подвидов на всем ареале вида.

Материал и методика

Особь *L. (Z.) v. vivipara* (43 экземпляра) были собраны из двух географических точек Большого Водораздельного хребта Восточных Карпат, Западная Украина (нижняя и средняя части южных склонов; Мукачевский р-н, Закарпатская обл.) из одной точки хребта Холвачиу Восточных Карпат (Раховский р-н, Закарпатская обл.) и из Полесского р-на Калининградской обл. (западный регион России).

Для проверки способа размножения ящериц до появления потомства всех беременных самок содержали в террариуме.

Для получения митотических хромосом клеток соматических тканей использовали прямой метод с предварительным введением животному фитогемагглютина (ФГА; Difco M; 0.03 мл 0.1 %-ного раствора на 10 г массы) за 48 и 24 ч и до начала эксперимента — колхицина

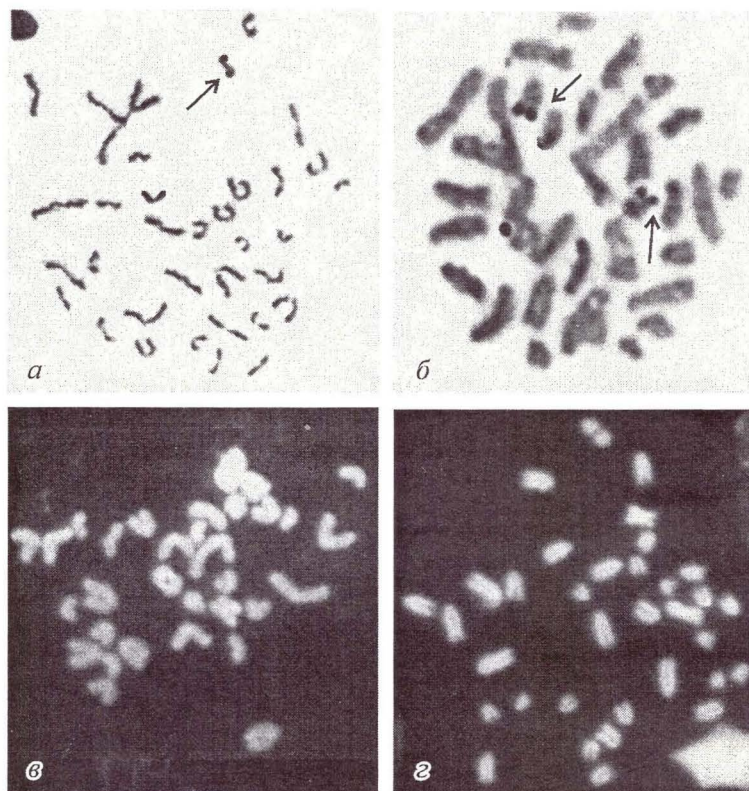


Рис. 2. Метафазные пластинки клеток крови самок *Lacerta (Zootoca) vivipara*.

a — $2n = 35A$ с акроцентрической (A) половой W_2 -хромосомой, «русская/восточная» форма подвида *L. (Z.) v. vivipara*. *б* — $2n = 35$ с субметацентрической (SV) половой W_3 -хромосомой, «западная» форма подвида *L. (Z.) v. vivipara*. Стрелки указывают на AgNOR-блоки (ЯОР) двух хромосом. *в, г* — $2n = 35$ субметацентрической (SV) половой W_3 -хромосомой, «западная» форма подвида *L. (Z.) v. vivipara*. *в* — C-исчерченность гетерохроматина после окрашивания Г-Ц-специфичным флуорохромом хромомицином A_3 (СМА). Стрелка указывает на ЯО-районы двух хромосом. *г* — C-исчерченность гетерохроматина после окрашивания А-Т-специфичным флуорохромом (ДАПИ).

Fig. 2. Metaphases of blood cell of *Lacerta (Zootoca) vivipara* females.

a — $2n = 35A$ with acrocentric (A) W_2 sex chromosome, «Russian/eastern» form of the subspecies *L. (Z.) v. vivipara*. *б* — $2n = 35$ with submetacentric (SV) W_3 sex chromosome showing three heterochromatic C-bands, «western» form of the subspecies *L. (Z.) v. vivipara*. Arrows — two NOR-bearing chromosomes. *в, г* — $2n = 35$ with submetacentric (SV) W_3 sex chromosome, western form of the subspecies *L. (Z.) v. vivipara*. *в* — C-banding pattern after staining with fluorochrome chromomycin A_3 . Arrow — NO regions of two chromosomes. *г* — C-banding pattern after staining with fluorochrome DAPI.

Таблица 2

Механизмы и последовательность перестроек хромосом в эволюции *Lacerta (Zootoca) vivipara*

2n (исходные)	Механизмы хромосомных преобразований половых хромосом	2n (производные) и система половых хромосом	Формы и подвиды <i>L. (Z.) vivipara</i> (яйцекладущая — я/к, яйцесживородящая — я/ж)
38A	Транслокация	36A, ZW?	Гипотетическая
36A, ZW?	Гетерохроматинизация и делеция W	36A, Zw	<i>L. (Z.) v. carniolica</i> , я/к
	Гетерохроматинизация и тандемное слияние A и W (амплификация ДНК C-гетерохроматина)	35A, $Z_1Z_2W_1$	<i>L. (Z.) v. vivipara</i> , «пиренейская», я/к
35A, $Z_1Z_2W_1$	Интенсивная гетерохроматинизация W_1 и аутохромосом	35A, $Z_1Z_2W_2$	<i>L. (Z.) v. vivipara</i> , «русская/восточная», я/ж
35A, $Z_1Z_2W_2$	Интенсивная гетерохроматинизация W_2 и аутохромосом, инверсия W_2	35A, $Z_1Z_2W_3$	<i>L. (Z.) v. vivipara</i> , «западная», я/ж
35A, $Z_1Z_2W_3$	Инверсия W_3	35A, $Z_1Z_2W_4$	<i>L. (Z.) v. vivipara</i> , «румынская», я/ж

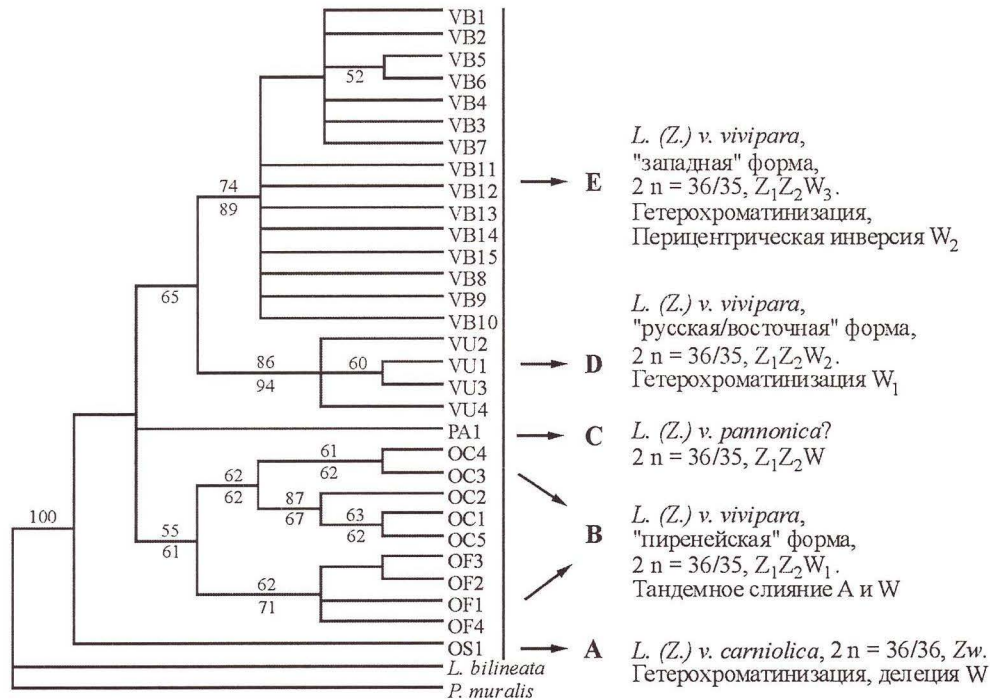


Рис. 3. Сопоставление анализа нуклеотидных последовательностей гена цитохрома *b* митохондриальной ДНК вида *Lacerta (Zootoca) vivipara* и результатов цитогенетических исследований вида *L. (Z.) v. vivipara*.

Слева: на филогенетическом древе вида, представленном группой Суржет-Гроба (Surget-Groba et al., 2001), выделено пять кластеров (А, В, С, D и Е). Справа: признаки кариотипов вида (трихромосомные формы и два подвида), указанные в настоящей работе и в серии работ автора (Kupriyanova, 1990; Kupriyanova, Bohme, 1997; Odierna et al., 2001).

Fig. 3. Comparison of the phylogenetic tree of *Lacerta (Zootoca) vivipara* based on molecular data using results of cytogenetical studies of *L. (Z.) v. vivipara*.

To the left: 5 clusters (A, B, C, D, E) identified on the phylogenetic tree (Surget-Groba et al., 2001). To the right — characters of karyotypes of *L. (Z.) v. vivipara* — 3 chromosomal forms of *L. (Z.) v. vivipara* — and 2 subspecies of *L. (Z.) v. pannonica* — shown in the present article and taken from other publications (Kupriyanova, 1990; Kupriyanova, Bohme, 1997; Odierna et al., 2001).

(Merck; 0.1 мл 0.08 %-ного раствора на 10 г массы) за 1 ч. Затем ящериц усыпляли хлороформом, извлекали ткани легких, селезенки, кишечника, гонад и брали кровь. После гипотонии в 0.9 %-ном растворе цитрата натрия суспензию клеток фиксировали в смеси Карнуа (3 части 96 %-ного метанола и 1 часть ледяной уксусной кислоты). Хромосомные препараты окрашивали по стандартной методике 10 мин 5 %-ным красителем Гимза. Для каждой особи было изучено не менее 40 метафазных пластинок на особь.

Для получения дифференциальной сегментации хромосом С-гетерохроматические районы выявляли с помощью стандартных методик на основе применения красителя Гимза, обработки препарата горячей гидроокисью бария (Sumner, 1972) с последующим окрашиванием флуорохромом ДАПИ, специфичным к АТ-парам оснований, и хромомицином А₃ (СМА), специфичным к ГЦ-парам (Schmid, Guttenbach, 1988). Результаты сравнительного окрашивания анализировали на люминесцентном микроскопе АХИОСКОП 2 (Zeiss), для регистрации и обработки микроизображений использовали ССД-камеру (Германия).

Результаты и обсуждение

В кариотипе самок *L. (Z.) v. vivipara*, населяющих южные склоны Большого Водораздельного хребта Восточных Карпат, обнаружено 2n = 35, Z₁Z₂ W-система по-

ловых хромосом, где W представлена мета/субметацентрической хромосомой (W₃). В данной хромосоме присутствуют крупные один центромерный и два теломерных С-блока (рис. 1, б). Два теломерных С-блока обнаруживаются также в ядрышкообразующих районах хромосом. Установлено, что последние слабо окрашиваются хромомицином А₃ и, следовательно, содержат Г-Ц-пары (рис. 2, в). Один из теломерных и центромерный С-блоки W-половой хромосомы, а также центромерные блоки некоторых аутосом неярко окрашиваются ДАПИ и соответственно состоят из А-Т-повторов (рис. 2, з). По изученным молекулярным маркерам W₃-хромосомы особи указанных популяций сходны с W₃-хромосомой особей «западной» формы из других районов Западной и Центральной Европы. Вместе с тем по этим же маркерам W₃-хромосомы они отличаются от особей «пиренейской» формы *L. (Z.) v. vivipara* с W₁-хромосомой (Odierna et al., 1998). Следовательно, полученные маркеры хромосом могут служить хорошими диагностирующими признаками различных форм подвида *L. (Z.) v. vivipara*.

В кариотипе самок *L. (Z.) v. vivipara*, обитающих на вершине хребта Холовачиу Восточных Карпат, также присутствовали 35 хромосом и Z₁Z₂ W-система половых хромосом. Однако половая хромосома W отличалась по морфологии от W₃-хромосомы, так как обладала субтелоцентрической формой, в связи с чем названа W₄-хромосомой (рис. 1, в).

В кариотипе самок *L. (Z.) v. vivipara* с территории Калининградской обл. $2n = 35$, с Z_1Z_2 W-системой половых хромосом, где половая хромосома W представлена мета/субметацентрической хромосомой (W_3).

В кариотипах самцов *L. (Z.) v. vivipara*, собранных на всех указанных территориях, $2n = 36A$, с $Z_1Z_1Z_2Z_2$ -системой половых хромосом.

Наблюдения за беременными самками в террариуме показали, что живородящие ящерицы из изученных популяций характеризуются яйцеживородящим типом размножения.

Структура кариотипов и идентификация исследованных популяций. Исходя из структуры кариотипов и хромосом на территории Закарпатской обл., в Мукачевском р-не (нижняя и средняя части южных склонов Восточных Карпат), обитает «западная форма» *L. (Z.) v. vivipara*. Ранее эта форма была найдена автором и в Раховском р-не, в верхних частях этих склонов. «Западная» форма может проникнуть в обследуемые регионы из горных районов Словацкой части Карпат. Однако в нижней части южных склонов и на северных склонах Восточных Карпат на территории этого района была обнаружена «русская/восточная» форма *L. (Z.) v. vivipara* (рис. 1, а) (Курпянова, Руди, 1990; Kurpiyanova, 1990).

Кроме указанных форм в рассматриваемом районе Восточных Карпат впервые была описана новая, ранее неизвестная хромосомная форма *L. (Z.) v. vivipara* с $2n = 36/35$, Z_1Z_2 W-системой половых хромосом и половой хромосомой W_4 (условно «румынская» форма). Такая форма была обнаружена итальянскими исследователями в Румынской части Южных Карпат (Одиерна, личное сообщение). Исходя из тенденции эволюционных изменений половой W-хромосомы вида можно полагать, что данная половая хромосома появилась в результате перичентрической инверсии половой хромосомы W_3 . Описанная «румынская» форма подвида *L. (Z.) v. vivipara* имеет ограниченный ареал в указанном регионе, поэтому необходимо разработать охраняемые мероприятия и, возможно, рекомендации для ее включения в «Красную книгу Украины».

На основании результатов хромосомного анализа особей живородящей ящерицы, обитающей в Полесском р-не Калининградской обл., следует относить к «западной» форме. Ранее в этой области такой же кариотип был установлен у особей живородящей ящерицы, населяющих Куршскую косу (Kurpiyanova, 1997). Очевидно, что «западная» форма может проникнуть в этот регион из Западной Европы. Следует особо подчеркнуть, что в пределах России «западная форма» подвида *L. (Z.) v. vivipara* оказалась редкой и узкоареальной, так как до сих пор была обнаружена только на территории Калининградской обл. В связи с этим данная популяция живородящей ящерицы также требует сохранения в западном регионе России и включения в «Красную книгу России».

Таким образом, цитогенетические маркеры хромосом позволили выяснить кариотипическую структуру изученных популяций живородящей ящерицы, провести их идентификацию и решить также вопросы происхождения установленных хромосомных форм и подвидов, их распределение и расселение. Впервые в пределах России и на сопредельных территориях были выяснены границы ареалов описанных хромосомных форм *L. (Z.) v. vivipara*. Показано, что полученные маркеры могут служить хорошими кариотипическими признаками для идентифика-

ции популяций живородящей ящерицы из разных частей ареала и уточнения количества хромосомных форм на всем ареале вида. Очевидно, что эти исследования вносят существенный вклад в анализ биоразнообразия вида и определение стратегии его сохранения. Они демонстрируют, что комплекс «живородящая ящерица» имеет более сложный состав, чем предполагалось ранее.

Полученные кариотипические сведения показывают, что бассейн Карпат и прилегающие районы характеризуются наибольшим разнообразием форм, что в свою очередь подтверждает высказанную ранее гипотезу о том, что районы Центральной Европы можно рассматривать в качестве центра формообразования комплекса «живородящая ящерица» (Kurpiyanova, Bohme, 1997), а бассейн Балтийского моря — как возможную зону вторичного контакта «западной» и «русской/восточной» форм (Kurpiyanova, 1997). Кариотипические данные позволяют также высказать предположение о том, что бассейн р. Немана может представлять собой географическую границу распространения «западной» и «русской/восточной» форм.

Механизмы и тенденции хромосомных преобразований. Приведенные факты вновь демонстрируют, что интенсивные хромосомные перестройки сопровождают образование новых форм и подвидов. На основании критического обобщения изложенных цитогенетических данных для всех известных форм подвидов *L. (Z.) v. vivipara* и *L. (Z.) v. carniolica* автором описаны механизмы и определены последовательности хромосомной реорганизации кариотипа в эволюции живородящей ящерицы (табл. 2). Механизмы включают в себя гетерохроматизацию, делецию, тандемное слияние и перичентрические инверсии.

В последние годы параллельно с кариологическими работами коллективов авторов (Surget-Globa et al., 2001) были проведены исследования конкретных популяций форм и подвидов *L. (Z.) vivipara* с применением молекулярных методов. На основании анализа нуклеотидных последовательностей гена цитохрома *b* митохондриальной ДНК этими авторами было предложено филогенетическое древо вида. Для уточнения последовательности изменений предковых наборов хромосом, приведших к формированию кариотипов ныне живущих форм и подвидов живородящей ящерицы, в настоящей работе автор нанес на это древо перестройки, различающие кариотипы разных форм (рис. 3). При сравнении четко видно, что кластерное распределение живородящей ящерицы в существенной части согласуется с представлениями о последовательности хромосомных преобразований подвидов и хромосомных форм, полученных на основании изучения признаков их кариотипов.

Цитогенетическая и молекулярная дифференциация форм и подвидов. На филогенетическом древе *L. (Z.) vivipara* (рис. 3) выделено 5 кластеров (А, В, С, D и E). Кариотипические взаимоотношения в основном подтверждают такое подразделение и показывают, что оно маркировано определенными хромосомными изменениями и сопровождается возникновением разных форм и подвидов. Так, например, резкие отличия хромосомного набора *L. (Z.) v. carniolica* (кластер А) подтверждают его подвиговую самостоятельность. Три хромосомные формы *L. (Z.) v. vivipara* («пиренейская», «русская/восточная» и «западная») попадают в кластеры В, D и E соответственно. Следовательно, степень согласованности молекулярной и хромосомной эволюций в

комплексе «живородящая ящерица» достаточно велико. Однако полная согласованность отсутствует, поскольку еще одна открытая хромосомная форма этого подвида («румынская») пока не выделена отдельным кластером, а попадает в кластер D, включающий в себя «русскую/восточную» форму. Кроме того, взаимоотношения подвида *L. (Z.) v. pannonica* (кластер C) с другими формами также оставались неясными. Эта сложная ситуация несколько прояснилась в ходе дальнейших, в первую очередь цитогенетических, исследований этого подвида, которые показывают, что *L. (Z.) v. pannonica* (кластер C) представляет собой сложную группу (Puku et al., 2003; Surget-Groba et al., 2004). По результатам проведенного молекулярного анализа, максимальные генетические расстояния между особями из разных групп (форм) достигают только 22.2 % (Surget-Groba et al., 2001).

Вся совокупность полученных сведений позволяет заключить, что темпы хромосомной эволюции оказываются выше, чем темпы молекулярной эволюции, и это повышает значение цитогенетических данных при изучении комплекса «живородящая ящерица».

Морфологическая дивергенция вида *L. (Z.) vivipara* мала, и его разделение на четыре подвида не всегда подтверждается используемыми методами. Так, например, молекулярные данные не дают еще однозначного ответа на вопрос о положении *L. (Z.) v. pannonica* в системе. Что касается подвида *L. (Z.) v. sachalinensis*, то, как указано ранее, по кариотипу и гаплотипу этот таксон не отличается от «русской/восточной» формы *L. (Z.) v. vivipara*. Вместе с тем этот же подвид *L. (Z.) v. vivipara* включает в себя все другие обнаруженные хромосомные формы («пиренейскую», «западную», «русскую/восточную» и «румынскую»).

Исходя из результатов аллозимного анализа темпы генетической эволюции тоже невысоки. Показано, что значение генетического расстояния между «пиренейской» и «западной» формами низкое ($D = 0.12$, по Ней) и не достигает значений, характерных для генетических расстояний между различимыми видами (Bea et al., 1990).

Таким образом, сопоставление хромосомной, генетической и морфологической изменчивостей в комплексе «живородящая ящерица» показывает, что высокая цитогенетическая дифференциация вида сочетается с низкой морфологической и невысокой генетической дифференциацией хромосомных форм и подвидов. Это заключение согласуется с гипотезой о «тахитильной» эволюции, согласно которой в разных таксономических группах темпы кариотипической хромосомной и морфологической эволюции могут не совпадать (Marks, 1983).

Происхождение комплекса «живородящая ящерица». По данным палеонтологических исследований (Heulin et al., 1993; Glandt, 2001; Surget-Groba et al., 2001), предки живородящей ящерицы известны в Германии с позднего плейстоцена и повсеместно в Европе с голоцена. Как следует из изложенных фактов, расселение предков по Евразийскому материка сопровождалось изменением хромосомных наборов и гаплотипов. Согласно данным аллозимного и мтДНК анализов, разделение генетического клада B, D и E (Surget-Groba et al., 2001) состоялось в течение плейстоцена 1.8—0.4 млн лет назад, т. е. тогда же, когда происходила эволюция яйцеживорождения. Однако последнее предположение остается выясненным не до конца, поскольку яйцеживорождение могло возникать многократно (Surget-Groba et al., 2001, 2004).

Яйцеживородящая «русская/восточная» хромосомная форма *L. (Z.) v. vivipara* занимает в настоящее время обширную восточную часть ареала, и поэтому яйцеживорождение в этой группе комплекса могло появиться в популяциях, обитающих в Восточной Европе или Азии (Heulin et al., 1993). Если это предположение верно, то анцестральные яйцекладущие популяции с ограниченным ареалом могут существовать в южных и на восточных территориях России (Heulin et al., 1993; Surget-Groba et al., 2001). Проверка данной гипотезы требует дальнейших исследований, но, согласно полученным фактам, яйцекладущих популяций не обнаружено ни в южных, ни в восточных частях ареала (Куприянова и др., 2003).

Вместе с тем кариологические исследования показали, что в бассейне Карпат обитают (аллопатрически и парпатрически) популяции, относящиеся к трем хромосомным формам *L. (Z.) v. vivipara* и к двум подвидам — *L. (Z.) v. pannonica* и *L. (Z.) v. carniolica*. Важно подчеркнуть, что *L. (Z.) v. carniolica* наиболее близок к предковой яйцекладущей форме. Вся совокупность кариологических и молекулярных данных подтверждает гипотезу автора о том, что Карпаты и прилегающие к ним территории Центральной Европы можно рассматривать в качестве центра формообразования комплекса *L. (Z.) vivipara*. История вида *L. (Z.) vivipara* тесно связана с историей ландшафта этого региона Центральной Европы в четвертичный ледниковый и послеледниковый периоды неоднократными климатическими изменениями.

Цитогенетические закономерности формо- и подвидообразования. Результаты цитогенетических исследований автора позволяют сделать следующие заключения о закономерностях процесса цитогенетической дифференциации вида: 1) наблюдается тенденция к уменьшению количества хромосом; 2) в преобразование кариотипа вовлечены определенные хромосомы и в первую очередь половая W-хромосома; 3) аккумуляция определенных высокоповторяющихся последовательностей ДНК в W-хромосоме; 4) интенсивная гетерохроматинизация W- и аутохромосом набора; 5) дестабилизация и перестройки W-хромосомы; 6) механизмы перестроек включают в себя делецию, транслокацию (тандемное слияние) и перичентрические инверсии. Эти процессы сопряжены с расширением ареалов рассматриваемых форм. Резкая амплификация высокоповторяющихся последовательностей ДНК C-гетерохроматина половых и многих аутохромосом набора представляет собой принципиальный этап в ходе адаптивной эволюции особей. Это событие, по-видимому, предшествовало и затем способствовало широкому расселению предков живородящей «русской/восточной» формы *L. (Z.) v. vivipara* из районов Центральной Европы в восточном и северо-восточном направлениях и «западной» формы в западном и северо-западном направлениях. Анцестральные хромосомные формы *L. (Z.) v. vivipara* и подвид *L. (Z.) v. carniolica* имеют ограниченные ареалы (в Западной и Центральной Европе) и характеризуются незначительным количеством C-гетерохроматина. Зоны симпатрии, гибридации и(или) контакта разных хромосомных форм пока не установлены.

Особый интерес вызывают факты совпадений и различий выявленных цитогенетических закономерностей при сравнении с другим способом видообразования, а именно с гибридогенным типом видообразования, при

возникновении гибридных партеногенетических видов ящериц рода *Lacerta* (*Darevskia*) (Куприянова, Одиерна, 2002). В последнем случае перестройки в половой W-хромосоме (гетерохроматинизация и делеция) также имеют большое значение. Однако, за исключением этой хромосомы, в аутохромосомах партеногенетических видов (*L. armeniaca* и *L. unisexualis*) отмечено присутствие только мелких блоков центромерного и теломерного C-гетерохроматина (Куприянова, 1989; Куприянова, Одиерна, 2002). Резкое увеличение массы гетерохроматина в хромосомах может затруднять организацию генома и сильно дестабилизировать кариотип. Поэтому такая характеристика хромосом может иметь особое значение при гибридогенном видообразовании, играя важную, а возможно, и ключевую роль в интеграции их гибридных геномов. Изменчивость гибридных кариотипов партеногенетических видов происходит за счет других механизмов (геномные перестройки, функциональные нарушения взаимодействия гибридных геномов) (Куприянова, 1989, 1992; Куприянова, 1999; Одиерна, 2002).

Возможные способы формо- и подвидообразования. Остается до конца не решенным вопрос о способах формо- и подвидообразовательных процессов в комплексе «живородящая ящерица». В случае стаিপатрического типа расселение особей с новой хромосомной перестройкой может происходить по территории, занятой предшествующей хромосомной формой, с ее постепенным вытеснением. Другая возможность позволяет рассматривать описанную ситуацию как пример аллопатрических хромосомных преобразований, т. е. когда преобразования кариотипа происходят у особей в периферических районах и такие особи распространяются на территории, не занятой исходной формой. У живородящей ящерицы расширение ареалов могло происходить вслед за отступающим ледником. Наконец, возникновение форм и подвидов комплекса могло идти аллопатрически при несформировавшихся жестких репродуктивных барьерах. Появление симпатрии может привести к гибридизации и появлению гибридов между разными формами.

В упомянутых регионах Центральной Европы продвигая «западная» форма *L. (Z.) v. vivipara* обитает рядом с предковой «русской/восточной» формой. Однако не было найдено зон их интеграции. В обнаруженной автором зоне вторичного контакта этих двух форм в России и на прилегающих территориях симпатрии, контакта и гибридизации пока не было выявлено. В условиях эксперимента при совместном содержании особей этих форм в течение сезона размножения гибриды также не были получены (Куприянова, 1990). Отсутствие зон гибридизации и гибридов свидетельствует о том, что эти формы разошлись достаточно далеко. Ввиду активного хромосомного формообразования и мозаичности ареала велика вероятность более высокого ранга форм.

Эксперименты по гибридизации между особями «западной» и «пиренейской» хромосомных форм (Веа et al., 1990) дают возможность говорить о неполном постзиготическом барьере вследствие нарушения нормальной конъюгации и расхождения мейотических хромосом. Выявленные существенные различия в структуре половых W₁ и W₃-хромосом этих форм (Одиерна et al., 1998) позволяют предположить, что эти различия в структуре W₁ и W₃-хромосом могут служить механизмами постзиготического барьера.

Это возвращает нас к центральному вопросу, связанному с проблемой хромосомного видообразования: обладают ли хромосомные перестройки изолирующим эффектом? Положительный ответ на этот вопрос дан в работах, выполненных на слепушонках рода *Ellobius* (Ляпунова и др., 1990). Заслуживает особого внимания появившаяся недавно в литературе информация о ведущей роли перестроек хромосом, особенно половой W-хромосомы, в процессе хромосомного видообразования (King, 1993) ящериц комплекса *Lacerta kulzeri* (Bosch et al., 2003).

Изложенные в настоящей статье результаты по изучению новых маркерных признаков кариотипов (молекулярной организации ДНК C-гетерохроматина половой W-хромосомы «западной» формы) и сопоставление этих и имеющихся данных для «пиренейской» формы *L. (Z.) v. vivipara* (Одиерна et al., 2001; Куприянова, Одиерна, 2002), а также данных, полученных для «русской/восточной» формы *L. (Z.) v. vivipara* (не опубликовано), впервые позволяют высказать мнение о том, что образованию эволюционирующих форм могли предшествовать процессы формирования кариотипов с определенными характеристиками и с последующей колонизирующей радиацией таких форм.

В итоге комплексного цитогенетического анализа были выявлены механизмы и тенденции преобразований хромосом в процессах формо- и подвидообразования; установлены цитогенетические закономерности этих процессов и их отличия от процесса гибридогенного видообразования; дополнены существующие представления о подвидовой структуре вида, о географическом распространении и эволюционных взаимоотношениях разных форм и подвидов живородящей ящерицы. Показано, что кариологические исследования вносят существенный вклад в анализ биоразнообразия вида и определение стратегии его сохранения в России и на сопредельных территориях.

Цитогенетические исследования вновь поднимают серьезный вопрос о таксономическом статусе открытых хромосомных форм, которые обладают собственными ареалами. Вся совокупность цитогенетических данных свидетельствует о высокой дифференциации четырех хромосомных форм подвида *L. (Z.) v. vivipara* и о целесообразности повышения таксономического ранга форм.

Автор выражает благодарность И. С. Даревскому за консультацию и Э. Г. Турису и А. Р. Манукяну за предоставление и помощь в сборе материала.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты 02-04-48611 и 03-63-1444); гранта Президиума С.-Петербургского научного центра РАН; Минпромнауки (НШ № 647.2003.4); Общественного научного фонда CNRS, PICS (программа N BO: 400002) и научного фонда Неаполитанского университета «Федерико II».

Список литературы

- Белчева Р., Бисерков В., Илиева Хр., Бешков В. 1984. Сравнительно-изучаване кариотипа на 8 вида гушери от р. *Lacerta* (Sauria, Lacertidae). В кн.: Трета Национална конференция по цитогенетика. Пловдив. 2 : 436—439.

Куприянова Л. А. 1986. О возможных путях эволюции кариотипа ящериц. Систематика и экология амфибий и рептилий. Тр. ЗИН РАН. СПб.: Наука. 157 : 86—100.

Куприянова Л. А. 1999. Генетическое разнообразие гибридных однополых видов и форм рода *Lacerta* (Lacertidae, Reptilia): его возможные цитогенетические механизмы, цитогенетика мейоза природных полиплоидных форм. Цитология. 39(12) : 1038—1047.

Куприянова Л., Завьялов Е., Табачкин В. 2003. Живородящая ящерица *Zootoca vivipara* (Lacertidae) на севере Нижнего Поволжья: цитогенетический анализ и экология размножения. В кн.: III Конф. герпетологов Поволжья. Тольятти: Ин-т экол. волжск. бассейна. 36—39.

Куприянова Л. А., Одиерна Г. 2002. Перспективный подход к проблеме стабильности кариотипа: структура хромосом двуполых и однополых видов ящериц семейства Lacertidae (алло-симпатрическое и сетчатое видообразование). В кн.: Эволюционная биология. 2. Томск: Томск. ун-т. 238—254.

Куприянова Л. А., Руди Е. Р. 1990. Сравнительно-кариологический анализ популяций живородящей ящерицы (*Lacerta vivipara*, Lacertidae, Sauria). Зоол. журн. 69(6) : 93—101.

Ляпунова Е. А., Баклушинская И. Ю., Коломиец О. Л., Мазурова Т. Ф. 1990. Анализ плодovitости гибридов разнохромосомных форм слепушонок надвида *Ellobius tancrei*, отличающихся по одной паре робертсоновских метацентриков. ДАН СССР. 310(3) : 721—723.

Bea A., Guillaume C., Arrayago M., Heulin B., Paster G. 1990. Phenotypes enzymatiques du lezard vivipare (*Lacerta* (*Zootoca*) *vivipara* Jacq.): premieres donnees comparatives entre populations ovipares et vivipares. C. R. Acad. Sci. Paris. 310 : 237—243.

Bosch H. A. J., in den, Odierna G., Aprea G., Barucca M., Canapa A., Capriglione T., Olmo E. 2003. Karyological and genetic variation in Middle Eastern lacertid lizards, *Lacerta laevis* and the *Lacerta kulzeri* complex: a case of chromosomal allopatric speciation. Chromosome Res. 11 : 165—178.

Chevalier M., Dufaure J., Lecher P. 1979. Cytogenetic study of *Lacerta* (Lacertidae, Reptilia) with particular reference to sex chromosomes. Genetica. 50 : 11—18.

Glandt D. 2001. Die Waldeidechse: unscheinbar-anpassungsfähig-erfolgreich. Bochum: Laurenti-Verlag. 11 S.

Heulin B., Guillaume C., Bea A., Arrayago M. 1993. Interpretation biogéographique de la bimodalité de reproduction du lezard *Lacerta vivipara* — Jacquin — (Sauria; Lacertidae): Un modèle pour l'étude de l'évolution de la viviparité. Biogéographica. 69 : 3—13.

King M. 1993. Species evolution. The role of chromosome change. Cambridge: Cambridge Univ. Press.

Kupriyanova L. 1989. Cytogenetic evidence on genome interaction in hybrid *Lacerta*. Bull. N. Y. Museum. Albany. 466 : 236—230.

Kupriyanova L. 1990. Cytogenetic studies in lacertid lizard. In: Cytogenetics of Amphibians and Reptiles. Basel: Birkhauser Verlag. 242—245.

Kupriyanova L. 1992. Diversity in parthenogenetic lacertid lizards: cytogenetic studies. Proc. 6th Ord. Gen. Meet. SEH. Budapest. 241—245.

Kupriyanova L. 1997. Is the Baltic Sea basin a zone of secondary contact between different chromosomal forms of *Zootoca vivipara*? Mem. Soc. Fauna Flora Fenn. 73 : 115—117.

Kupriyanova L., Andren C., Nilson G. 1995. Distribution of different chromosomal forms of *Lacerta vivipara* in the Baltic Sea basin. Mem. Soc. Fauna Flora Fenn. 71 : 96—97.

Kupriyanova L., Bohme W. 1997. New data on the distribution of different forms of *Zootoca vivipara* in eastern and western Europe: chromosomal analysis. Herpetologia Bonnensis. 13 : 199—205.

Marks J. 1983. Rates of karyotype evolution. Syst. Zool. 32(2) : 207—209.

Mayer W., Bohme W. 2000. A note on the validity and distribution of *Zootoca vivipara sachalinensis*. Rada prirodovedna. Casopis Narod. Muzea. 169(1—4) : 123—124.

Odierna G., Aprea G., Capriglione T., Arribas O., Kupriyanova L., Olmo E. 1998. Progressive differentiation of the W sex-chromosome between oviparous and viviparous populations of *Zootoca vivipara* (Reptilia, Lacertidae). Ital. J. Zool. 65 : 295—303.

Odierna G., Heulin B., Guillaume C., Vogrin N., Aprea G., Capriglione T., Surget-Groba Y., Kupriyanova L. 2001. Evolutionary and biogeographical implications of the karyological variations in the oviparous and viviparous forms of the lizard *Lacerta* (*Zootoca*) *vivipara*. Ecography. 24 : 332—340.

Puky M., Aprea G., Capriglione T., Odierna G., Hajdu A. 2003. New insight into the evolution of viviparity in *Zootoca vivipara*: evidence from reproductive mode and chromosome structure analyses of Hungarian populations. Ital. J. Zool. (In press).

Schmid M., Guttembach M. 1988. Evolutionary diversity of reverse fluorescent chromosome bands in vertebrates. Chromosome. 97 : 101—114.

Sumner A. T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. Exp. Cell Res. 75 : 304—306.

Surget-Groba Y., Heulin B., Guillaume C., Thorpe R., Kupriyanova L., Vogrin N., Maslak R., Mazzotti S., Venczel M., Ghira I., Odierna G., Leontyeva O., Monney J., Smith N. 2001. Intraspecific Phylogeography of *Lacerta vivipara* and the evolution of viviparity. Mol. Phylogen. Evol. 18 : 449—459.

Surget-Groba Y., Guillaume C., Puky M., Smajda B., Semenov D., Orlova V., Kupriyanova L., Ghira I. 2004. Multiple origins of viviparity versus reversal back to oviparity in Squamates: the European common lizards as a case study. Evolution. (Accepted).

Поступила 23 IX 2003

CYTOGENETICAL APPROACHES TO THE PROBLEM OF FORM-FORMATION AND SUBSPECIATION IN THE COMPLEX *LACERTA* (*ZOOTOCA*) *VIVIPARA* (LACERTIDAE, SAURIA)

L. A. Kupriyanova

Zoological Institute RAS, St. Petersburg; e-mail: vladimir@vz8122.spb.edu

Results of the author's long-term study of the karyotype of *Lacerta* (*Zootoca*) *vivipara* (family Lacertidae, Sauria) have been generalized and supplemented with relevant literature data. Within the species an interpopulational karyotype variability was established, and several chromosomal forms were described. Karyotypes of *L. (Z.) vivipara* from four new, previously not examined populations have been first presented in this paper, and cytogenetical features of their chromosomes are given. Finally, cytogenetical analysis of particular specimens from different localities enabled the author to reveal a new chromosomal form and to define the limits of distribution of other forms of the species. The complex *L. (Z.) vivipara* has appeared to be more complicated than earlier believed. This complex includes several chromosomal forms of unclear taxonomic status, and some subspecies characterized by various modes of reproduction and distinct distribution ranges. It has been confirmed that in the

complex *L. (Z.) vivipara* intensive chromosomal changes accompany the processes of form-formation and subspeciation. Some cytogenetical regularities of these processes have been demonstrated and compared with hybridogeneous form-formation and speciation. Based on the critical analysis of the available karyological data, some mechanisms of chromosomal changes were described, and their tendencies were determined. In addition, intraspecific relationships were analysed. The proposed scheme was compared with the pattern of intraspecific phylogeny of *L. (Z.) vivipara* based on molecular data. It has been shown that a high cytogenetical differentiation of the found chromosomal forms and subspecies is correlated with their low morphological differentiation and with a rather low genetical differentiation. The results of the combined analysis suggest the leading role of cytogenetical data for understanding the processes of form-formation and subspeciation. The importance of chromosomal rearrangements in these processes is emphasized, with special reference to their role in the evolution and phylogeny of the complex *L. (Z.) vivipara*. Some modes of form-formation and subspeciation in this complex are discussed.

Key words: *Zootoca vivipara*, karyotype, haplotype, sex chromosomes, changes of chromosomes, cytogenetical structure, form-formation, speciation, evolution, phylogeny.