

На правах рукописи



Соловьева Евгения Николаевна

**СТРУКТУРА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ
И ФИЛОГЕНИЯ РОДА *PHRYNOSERHALUS*
(REPTILIA: AGAMIDAE)**

Специальность 03.02.04 – зоология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

МОСКВА – 2013

Работа выполнена на кафедре зоологии позвоночных биологического факультета Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова

Научный руководитель:

кандидат биологических наук
Банникова Анна Андреевна

Научный консультант:

кандидат биологических наук
Поярков Николай Андреевич

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук
Холодова Марина Владимировна
Институт проблем экологии и эволюции
имени А.Н.Северцова РАН,
заведующая кабинетом методов
молекулярной диагностики,

кандидат биологических наук
Бондаренко Дмитрий Анатольевич
ФГБУЗ Головной центр гигиены и эпидемиологии
федерального медико-биологического агентства

Ведущая организация:

Зоологический институт РАН

Защита диссертации состоится « 9 » декабря 2013 г. в «17» часов «00» минут на заседании диссертационного совета Д 501.001.20 при Московском государственном университете имени М.В.Ломоносова по адресу: 119991, Москва, Ленинские горы, Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова, д.1 стр. 12, биологический факультет, ауд. М-1.

Факс: 8(495) 939-43-09; E-mail: ira-soldatova@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной библиотеке МГУ имени М.В.Ломоносова

Автореферат разослан « 8 » ноября 2013 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук



И.Б.Солдатова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Интенсивное развитие молекулярно-генетических исследований в последние десятилетия приводит к новым достижениям в области популяционной генетики, филогеографии и филогенетики. Изучение внутривидовой молекулярно-генетической изменчивости в ареале (филогеография) позволяет восстанавливать историю видов в пространстве и времени (Avice, 1987, 2000), что получило широкое признание как инструмент реконструкции древних ареалов, путей расселения и т.д. (Абрамсон, 2007). Современные мультигенные филогенетические исследования предоставляют возможности для соотнесения филогенетической истории таксонов с палеогеографической историей и реальной временной шкалой на различных временных промежутках (Townsend et al., 2011). Развитием этих направлений обуславливается возникновение большого числа гипотез, описывающих общие закономерности формирования фауны определенной территории, а также анализирующих влияние различных факторов на эти процессы (таких как изменения климата, тектонические процессы, орогенез и т.д.).

С этой точки зрения центральные регионы Евразии вызывают значительный интерес, т.к. они являются одними из старейших пустынных территорий на Земле (Guo et al., 2002; Ramsetin et al., 1997) с богатой герпетофауной (Szczerbak, 2003). Последние данные палеогеографии и палеоклиматологии этих регионов дают возможность составить подробный сценарий, учитывающий, например, динамику морских бассейнов и палеорек (Popov et al., 2004; 2006), этапы орогенеза (Abdrakhmatov et al. 1996; Ramsetin et al.; 1997; Zheng et al., 2003), климатические изменения в кайнозое (An et al., 2001; Liu et al., 1998; Maslin et al., 1996), изменения растительности (Cerling et al., 1997; Sun, Wang, 2005; Jia et al., 2003; Попов, 2009) и т.п. С другой стороны, понимание эволюционной истории групп, связанных с аридными ландшафтами Евразии, может помочь в решении вопросов, касающихся истории формирования фаун и климата региона.

Круглоголовки (*Phrynocephalus*) – неотъемлемый элемент герпетофауны аридных биотопов на обширной территории, охватывающей страны Ближнего и Среднего Востока, Средней и Центральной Азии. Это один из наиболее разнообразных и один из самых сложных в таксономическом отношении родов семейства Agamidae, по разным оценкам насчитывающий от 26 до 40 видов (Barabanov, Ananjeva, 2007). Внутривидовая систематика *Phrynocephalus* пока разработана недостаточно: последние таксономические ревизии проведены без исследования всего разнообразия рода (Barabanov, Ananjeva, 2007); не вполне ясно и его филогенетическое положение в семействе Agamidae (Macey et al., 2000; Macey et al., 2006; Pang et al., 2003; Melville et al., 2009). Попытки реконструировать филогению рода предпринимались неоднократно и включали исследования морфологических (Whiteman, 1978; Zhao and Alder, 1993; Arnold, 1999), кариологических (Соколовский, 1974), биохимических (Лихнова, 1992), этологических (Dunayev, 1996) признаков и особенностей биогеографии (Ananjeva, Tuniyev, 1992). Однако высокая внутривидовая морфологическая изменчивость круглоголовок и распространенность субстратных рас – морф, привязанных к определенному типу субстрата (Дунаев, 2009), затрудняют реконструкцию филогении по морфологическим признакам и построение естественной системы рода (Лихнова, 1992). В то же время опубликованные филогенетические схемы, построенные по молекулярным данным (Pang et al., 2003; Guo, Wang, 2007; Melville et al., 2009), неполны, так как получены на ограниченной выборке видов по недостаточно информативным генетическим маркерам и затрагивают лишь фауну Китая и Казахстана, в то время как круглоголовки Ближнего и Среднего Востока и Турана остаются неисследованными.

Круглоголовки – специалисты, приспособленные к выживанию в суровых условиях пустынь различных типов, причем большинство видов привязано к определенным субстратам. Предположительно, дивергенция рода произошла в конце олигоцена или начале миоцена (Melville et al., 2009; Guo, Wang, 2007). Последовавшее расселение и возникновение подвидовых форм, вероятно, были тесно связаны с рядом геологических и климатических событий, повлиявших на формирование многих других видов фауны Средней и Центральной Азии (Даревский, 1957; Чернов, 1959). Таким образом, изучение филогенетических связей рода *Phrynocephalus* важно для понимания истории аридизации и формирования пустынных ландшафтов и фаунистических сообществ на обширной территории Евразии.

В то же время молекулярно-генетические исследования, относительно недавно затронув род *Phrynocephalus*, поставили ряд новых вопросов. Одним из важных последствий усиления роли молекулярных исследований в зоологии является распространение генетической концепции вида, которой придерживается и автор. Согласно этой концепции вид понимается как совокупность генетически совместимых популяций, изолированная от других подобных совокупностей и имеющая собственную эволюционную судьбу, формирующаяся в ходе видообразования – процесса накопления генетических различий между филогенетическими линиями, приводящего в конечном итоге к генетической изоляции (Dobzhansky, 1934; Bradley, Baker, 2001; Baker, Bradley, 2006). Возрастающая степень антропогенного воздействия, исчезновение природных местообитаний и последующее сокращение численности узкоареальных видов требуют от биологической систематики как можно более быстрого описания действительного биологического разнообразия. Методы молекулярной идентификации (ДНК-баркодирование) зарекомендовали себя как удобные инструменты для инвентаризации разнообразия и являются необходимым условием его адекватной оценки и разработки мер охраны (Hebert et al., 2004; Hebert, Gregory, 2005). В связи с этим изучение структуры генетического разнообразия и пересмотр систематики рода *Phrynocephalus* в контексте новых генетических данных по мтДНК- и яДНК-маркерам и в рамках генетической концепции вида представляется весьма актуальным.

Цель и задачи исследования. Цель работы состоит в инвентаризации и структурировании генетической изменчивости рода *Phrynocephalus* для реконструкции филогеографии, филогении и построения естественной системы рода. Для решения поставленной цели нами были сформулированы следующие задачи.

1. Изучить филогенетические связи между представителями основных линий рода *Phrynocephalus* по данным анализа митохондриальных и ядерных ДНК-маркеров.
2. Оценить согласованность результатов исследования митохондриальной и ядерной ДНК и сопоставить их с данными предшествующих исследований.
3. На основе данных анализа мтДНК оценить видовое и внутривидовое разнообразие представителей рода *Phrynocephalus*; по данным анализа мтДНК и морфологических признаков проанализировать географическую изменчивость широкоареальных видов *Phrynocephalus* и уточнить таксономический статус наиболее спорных форм.
4. На основе молекулярных данных определить возможные времена основных кладогенетических событий в эволюционной истории рода *Phrynocephalus*.
5. Исходя из всех имеющихся генетических данных, определить возможные места возникновения и пути расселения видовых групп круглоголовок и предложить палеогеографический сценарий, описывающий эволюционную историю рода *Phrynocephalus*.
6. На основании всех полученных данных уточнить таксономическую структуру и предложить новую систему рода *Phrynocephalus*.

Научная новизна. Впервые на основании обширного оригинального материала по данным анализа митохондриальной и ядерной ДНК предложена филогенетическая гипотеза для рода *Phrynocephalus*, включающая 36 таксонов и примерно 70% известных видов мировой фауны. Изучены филогенетические связи и разнообразие рода, предложена новая схема подродового деления *Phrynocephalus*, уточнен таксономический статус ряда форм. Исследована филогеография ряда видовых комплексов. Оценена практическая применимость гена COI для молекулярной идентификации круглоголовок. На основании полученных молекулярных датировок основных событий в эволюционной истории *Phrynocephalus* предложен вероятный палеогеографический сценарий, описывающий пути эволюции и закономерности дифференциации рода *Phrynocephalus*. Проведенные исследования приносят вклад в инвентаризацию современного разнообразия герпетофауны Азии, а также в понимание глобальных закономерностей формирования фаун.

Теоретическое и практическое значение работы. Использование рода *Phrynocephalus* как модельной группы вносит определенный вклад в понимание процессов формирования биологического разнообразия, видообразования и фауногенеза центральной Евразии, а также общих механизмов эволюции рептилий. Полученные новые данные по генетическому

разнообразие и молекулярной филогении круглоголовов обуславливают необходимость таксономической ревизии рода *Phrynocephalus* и будут использованы в дальнейшей работе. Уточнение таксономического ранга малоизученных форм круглоголовов важно при определении их природоохранного статуса, результаты работы могут быть применены в практических мероприятиях по инвентаризации фауны Евразии, составлению кадастров, разработке стратегий охраны ее разнообразия и т.д.

Апробация работы. Результаты работы обсуждались на лабораторных семинарах и заседании кафедры зоологии позвоночных Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, а также доложены на конференциях: Molecular Phylogenetics – 2 (Москва, 2010), Molecular Phylogenetics – 3 (Москва, 2012), World Congress of Herpetology – 7 (Ванкувер, 2012), Modern achievements in population, evolutionary and ecological genetics – 13 (Владивосток, 2013).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК и 9 – материалы конференций.

Структура и объем диссертации. Диссертация содержит следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение результатов», «Заключение», «Выводы» и «Список цитированной литературы», включающий 180 источников. Работа изложена на 155 страницах машинописного текста и содержит 23 таблицы и 52 рисунка. Также имеется том приложений на 61 странице, содержащий 26 таблиц.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ВВЕДЕНИЕ

Во введении (**раздел 1**) обоснована актуальность темы, сформулированы цели и задачи исследования.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Раздел 2 включает краткое изложение истории изучения систематики рода *Phrynocephalus*, а также анализ опубликованных сведений относительно генетической изменчивости круглоголовов рода *Phrynocephalus* на разных уровнях изменчивости: надродовом, внутривидовом и внутривидовом. В **разделе 3** рассматриваются предложенные ранее гипотезы эволюционной истории рода *Phrynocephalus* в свете данных палеогеографии, а **раздел 4** посвящен последним достижениям в области молекулярно-генетических исследований систематики и филогении представителей рода *Phrynocephalus*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Характеристика образцов. Исследованные особи круглоголовов представлены отчасти материалами, собранными автором во время экспедиционной полевой работы 2008–2011 гг. на территории Казахстана, Узбекистана, Армении и Таджикистана, отчасти материалами, любезно предоставленными коллегами, а также фондовыми коллекциями отделения герпетологии Зоологического музея МГУ им. М.В. Ломоносова. В общей сложности молекулярно-генетические исследования проводились на более чем 300 экземплярах представителей *Phrynocephalus*. В анализ были включены последовательности *Phrynocephalus* и других групп Squamata, доступные в Генбанке (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>; номера последовательностей перечислены в Приложении).

Первичное сканирование генетического разнообразия *Phrynocephalus* с помощью анализа последовательностей фрагмента гена COI («ДНК-штрихкодирования») 279 экземпляров круглоголовов (список см. в табл. 1 Приложения) позволило обозначить основные мтДНК-линии и видовые группировки рода *Phrynocephalus*, выявить потенциальные криптические линии и определить набор образцов для дальнейшей работы, наиболее полно отражающий генетическое разнообразие рода. В основном молекулярно-генетическом анализе, заключавшемся в получении последовательностей четырех генов митохондриальной ДНК и четырех генов ядерной ДНК, были использованы образцы тканей 76 особей *Phrynocephalus* со всего ареала, наиболее полно отражающие все известные сегодня видовые группы рода, а также 8 образцов представителей подсемейства Agaminae, которые служили в качестве внешних групп. Для детального изучения генетической изменчивости на уровне широкоареальных видовых комплексов были

дополнительно исследованы пробы 86 особей комплекса *Ph. helioscopus* – *Ph. persicus*, 90 представителей *Ph. guttatus* – *Ph. versicolor*, 20 проб комплекса *Ph. mystaceus* и образцы от 22 особей комплекса *Ph. interscapularis*, достаточно полно охватывающих ареалы данных форм.

Выделение, амплификация и секвенирование ДНК. ДНК выделяли из печени и мышечной ткани, хранившихся в 70° или 96° этаноле, или высушенных шкурок стандартным фенол-хлороформным методом (Sambrook et al., 1989). Получали фрагменты последовательностей четырех митохондриальных генов [I субъединица цитохром оксидазы (COI), гены II и IV субъединиц NADH-дегидрогеназы (ND2 и ND4), цитохром *b* (*cytb*)] и экзоны четырех ядерных генов [ген активации рекомбинации (RAG-1), ген нейротрофического фактора головного мозга (BDNF), ген «якорного» белка киназы A (AKAP9), ген белка распознавания НК-опухоли (NKTR)]. Для генов RAG-1, AKAP9 и NKTR были разработаны оригинальные праймеры, также были использованы последовательности праймеров, опубликованные ранее (Wang, Fu, 2004; Ivanova et al., 2006; Pang et al., 2003; Shoo et al., 2008; Townsend et al., 2008; Townsend et al., 2011). Выделение ДНК, ПЦР и подготовка проб для секвенирования выполнены на кафедре зоологии позвоночных МГУ. Автоматическое секвенирование проведено на секвенаторах ABI 377 и ABI 3100 Avant с использованием ABI PRISM BigDye™ Terminator, version 3.1, и набором реагентов Big Dye Ready Reaction kit (USA) в лаборатории ФГУ ВГНКИ или ЦКП «Геном».

Филогенетический анализ. Выравнивание последовательностей проводили в программах Bioedit 7.1.3.0 (Hall, 1999) и Seqman 5.06 (Burland, 1999). Филогенетические деревья реконструировали по методу ближайшего соседа (NJ) в программе MEGA 5.1 (Tamura et al., 2011), максимального правдоподобия (ML) – Treefinder (Jobb, 2011). Также в программе PAUP, version 4.0b4a (Swofford, 1998) строили кладограммы с помощью алгоритма максимальной парсимонии (MP). Байесов анализ (BA) проводили в программе MrBayes 3.1.2 (Huelsenbeck, Ronquist, 2001; Ronquist, Huelsenbeck, 2003; Altekar et al., 2004). Для укоренения дендрограмм и получения молекулярных калибровок использованы последовательности внешних групп, включивших представителей семейств акродонтных ящериц Iguanidae, Chamaeleonidae и Agamidae, а также Lacertidae. Матрица признаков, полученная в результате обработки гелей с копиями SINEs, проанализирована в программе PAUP с помощью алгоритма NJ, для проверки устойчивости клад использовалась процедура бутстрэп с 1000 псевдорепликациями. Молекулярные датировки были получены с использованием алгоритмов «свободных молекулярных часов» (relaxed clock) независимо по данным мтДНК и яДНК с помощью программ r8s 1.7 (Sanderson, 2003) и BEAST 1.7 (Drummond, Rambaut, 2007). В r8s в качестве алгоритма анализа был применен PL (Penalized Likelihood). Оценки времен дивергенции осуществлялись путем калибровки возраста 5 узлов для анализа мтДНК и 9 узлов для яДНК (по данным анализа ML-дендрограмм). Применяли алгоритм «свободных молекулярных часов» (relaxed clock). В качестве точек калибровки использовали сведения о ряде ископаемых представителей Acrodonta (Estes, 1983; Auge, 1988; Covacevich et al., 1990; Smith, 2006; Holman, 1987; Yatkola, 1976; Robinson, Van Devender 1973; Rieppel et al., 1992; Covacevich et al., 1990; Зерова, Чхиквадзе, 1984; Townsend et al., 2011).

Моделирование географических областей возникновения предка круглоголовок проводили в программе Lagrange (Ree, Smith, 2008) отдельно по митохондриальным и ядерным данным. Моделирование анцестральной субстратной ниши *Phrynocephalus* осуществляли в программе PAUP по алгоритму максимальной парсимонии (MP). Экологическая специализация круглоголовок кодировалась как признак с тремя возможными состояниями (специализированный псаммофильный вид, эврибионтный вид, склеробионтный вид).

Морфологический анализ. Морфологический анализ проводили для ряда широкоареальных видовых комплексов, наиболее проблемных в таксономическом отношении. Исследовали признаки стандартной морфологии круглоголовок: метрические признаки туловища и головы (12), а также меристические признаки фolidоза (13) и окраски (3). Всего исследовано 140 особей комплекса такырных круглоголовок (*Ph. helioscopus*), 60 ушастых круглоголовок (*Ph. mystaceus*) и 65 песчаных круглоголовок (*Ph. interscapularis*). Морфологические данные исследовали в программе Statistica 10.0 с помощью многомерного статистического анализа (PCA).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты филогенетического анализа объединенных последовательностей генов мтДНК. В итоговое выравнивание генов мтДНК вошли последовательности 656 п.о. гена COI, 1053 п.о. гена ND2, 703 п.о. гена ND4 и 291 п.о. гена цитохрома *b* (*cytb*) для 77 таксонов ящериц, включая внешние группы. Общая длина полученного объединенного выравнивания составила 2703 п.о. Анализ проводили независимо для нуклеотидных и транслированных аминокислотных последовательностей: между полученными филогенетическими схемами наблюдается топологическое сходство; различия касаются узлов с низкими значениями поддержки.

С высокими поддержками подтверждена монофилия рода *Phrynocephalus* (рис. 1). Сестринская к круглоголовкам группа включает горных агам, ранее относимых к роду *Laudakia s. lato*

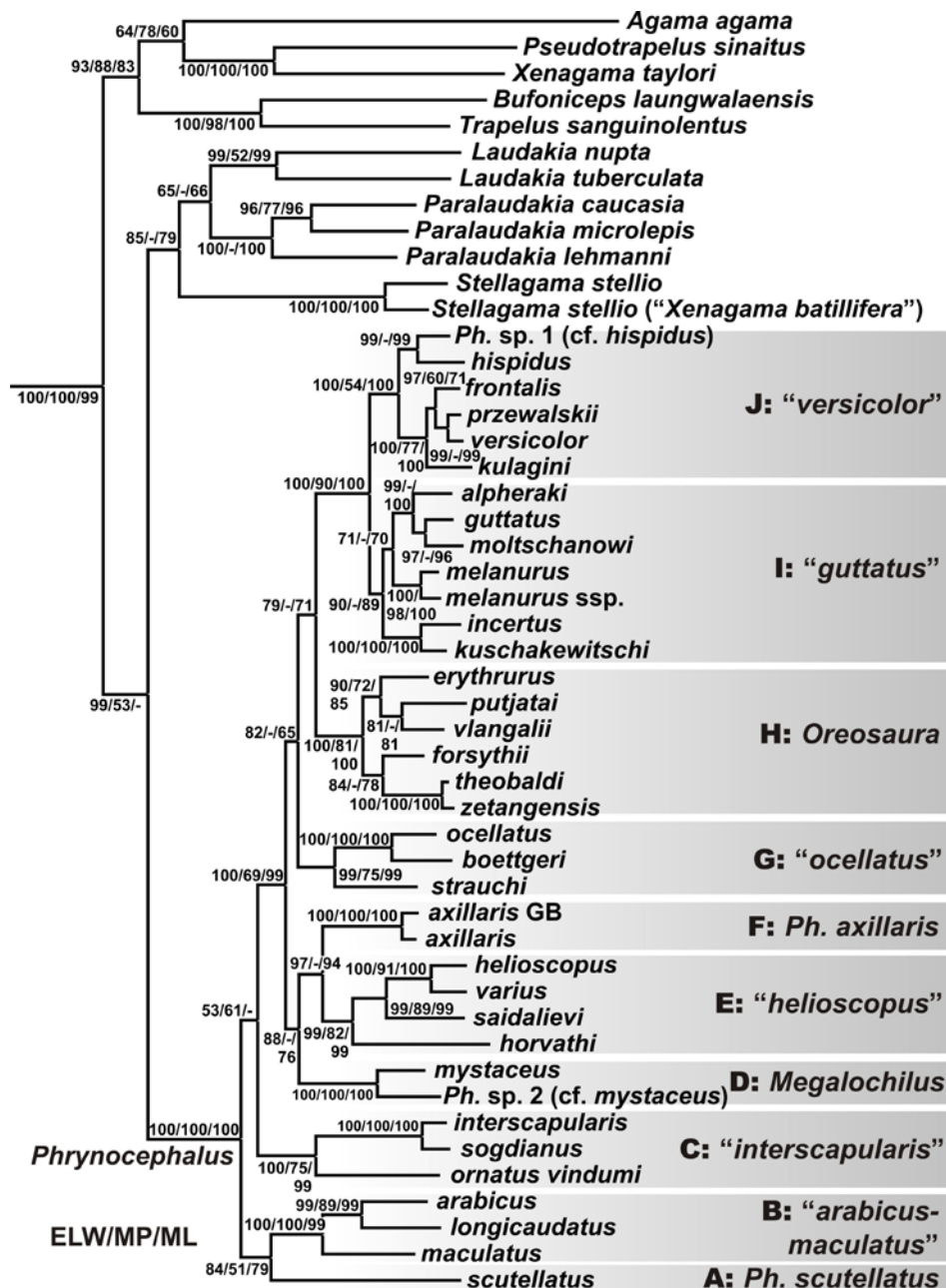


Рис. 1. Филогенетические связи представителей рода *Phrynocephalus* по данным анализа генов мтДНК. Показан фрагмент ML-дендрограммы, построенной по объединенным аминокислотным последовательностям митохондриальных генов (COI, ND2, ND4, *cytb*). Положение *Xenagama batillifera* неясно, так как использованная последовательность AB113825, по-видимому, относится к неверно определенному экземпляру *Stellagama*. В узлах указаны значения поддержки ELW/MP/ML (BS > 75%).

(представлены родами *Laudakia* s. str., *Paralaudakia*, *Stellagama*, образующими слабо поддержанную кладу). *Bufoniceps laungwalaensis*, первоначально описанный как вид рода *Phrynocephalus*, уверенно группируется с *Trapelus*.

Все варианты филогенетического анализа достоверно подтверждают монофилию рода *Phrynocephalus*. Филогенетические связи в пределах рода разрешены неоднозначно: ряд узлов, отражающих ранние этапы дифференциации рода *Phrynocephalus*, слабо поддержаны. При этом клады, соответствующие уровню видов и видовых групп, получили высокие значения бутстрэп-поддержек и апостериорных вероятностей (BS/PP 98–100%/1.0). В общей сложности, наш анализ выявил в пределах рода *Phrynocephalus* следующие 10 клад, соответствующих основным видовым группировкам круглоголовов (группы А–J; рис. 1):

А – *Ph. scutellatus* – мелкий склеробионтный вид с Иранского нагорья;

В – группа «*arabicus* – *maculatus*» объединяет псаммофильные и эврибионтные виды, населяющие Ближний и Средний Восток (*Ph. arabicus*, *Ph. m. maculatus*, *Ph. m. longicaudatus*).

С – группа «*interscapularis*», объединяет мелкие псаммофильные виды Среднего Востока и Турана, ранее обозначена как «микрофриноцефалиды» (Golubev, 1998; Sindaco, Jeremcenko, 2008) (*Ph. interscapularis*, *Ph. sogdianus*, *Ph. ornatus*).

Д – группа ушастых круглоголовов – самых крупных строго псаммофильных круглоголовов, ранее выделенных в род *Megalochilus* (Eichwald, 1831; Ананьева, 1987) (*Ph. mystaceus*, *Ph. sp. 2*).

Е – группа «*helioscopus*», комплекс такырных и персидских круглоголовов (*Ph. h. helioscopus*, *Ph. h. varius*, *Ph. h. saidalievi*, *Ph. persicus horvathi*);

F – *Ph. axillaris* – высокогорный яйцекладущий вид, населяющий Тибет и Такламакан;

G – группа «*ocellatus*» объединяет склеробионтные туранские виды (*Ph. strauchi*, *Ph. ocellatus* [= *Ph. reticulatus*], *Ph. raddei boettgeri*);

Н – подрод *Oreosaura*, объединяющий крупные живородящие виды высокогорий Тибетского плато (*Ph. erythrurus*, *Ph. putjatai*, *Ph. vlangalii*, *Ph. forsythii*, *Ph. theobaldi*, *Ph. zetangensis*);

I – группа «*guttatus*» круглоголовов-вертихвосток, включающая ряд экологически пластичных таксонов спорного ранга (*Ph. guttatus*, *Ph. alpheraki*, *Ph. moltschanowi*, *Ph. melanurus*, *Ph. incertus*, *Ph. kushakewitschi*, *Ph. sp. 2*), населяющих северную часть Средней Азии;

J – группа «*versicolor*» пестрых круглоголовов, эврибионтных форм, населяющих Центральную Азию (*Ph. versicolor*, *Ph. kulagini*, *Ph. przewalskii*, *Ph. frontalis*, *Ph. hispidus*, *Ph. sp. 1*).

По данным анализа последовательностей мтДНК в пределах рода *Phrynocephalus* выделяются три основные значительно обособленные клады: ближневосточно-аравийские и иранские виды (группы А, В), мелкие псаммофильные виды Среднего Востока и Турана (группа С), а также клада, объединяющая все остальные видовые группы (С–J), отношения между которыми не разрешены.

Результаты филогенетического анализа объединенных последовательностей яДНК. В итоговое конкатенированное выравнивание генов яДНК вошли последовательности 1455 п.о. гена RAG-1, 675 п.о. гена BDNF, 1182 п.о. гена AKAP9 и 876 п.о. гена NKTR для 78 таксонов ящериц, включая внешние группы. Дендрограммы строились по 4188 п.о. объединенного выравнивания и по каждому из генов яДНК в отдельности; они вполне согласуются между собой, а достоверных противоречий между филогенетическими сигналами отдельных генов яДНК не выявлено (рис. 2).

Схема филогенетических отношений по данным анализа яДНК-маркеров показана на рис. 2. Поддерживается монофилия большинства видовых группировок *Phrynocephalus*: групп «*arabicus* – *maculatus*», «*interscapularis*», *Megalochilus*, *Oreosaura*, «*helioscopus*» и сестринских групп «*versicolor*» и «*guttatus*», а также группировок околотовидового ранга. Однако в общей топологии филогенетических связей круглоголовов по данным яДНК обнаруживается ряд принципиальных расхождений с топологией мтДНК-гипотезы.

Основное отличие от дендрограмм, построенных по данным мтДНК, состоит в положении групп *Megalochilus* (D) и *Oreosaura* (H). Если по данным анализа мтДНК ушастые круглоголовки группировались с такырными круглоголовками (Е) и *Ph. axillaris* (F), то по данным яДНК ушастые круглоголовки с высокой степенью достоверности группируются с арабскими и иранскими видами «*arabicus* – *maculatus*» (В) и псаммофильными видами группы «*interscapularis*» (С).

Данные мтДНК предполагают сближение тибетских круглоголовков с группами «*versicolor*» (J) и «*guttatus*» (I), а согласно яДНК-гипотезе *Oreosaura* формирует обособленную группу (H), сестринскую круглоголовкам Ближнего и Среднего Востока и Турана (A–D).

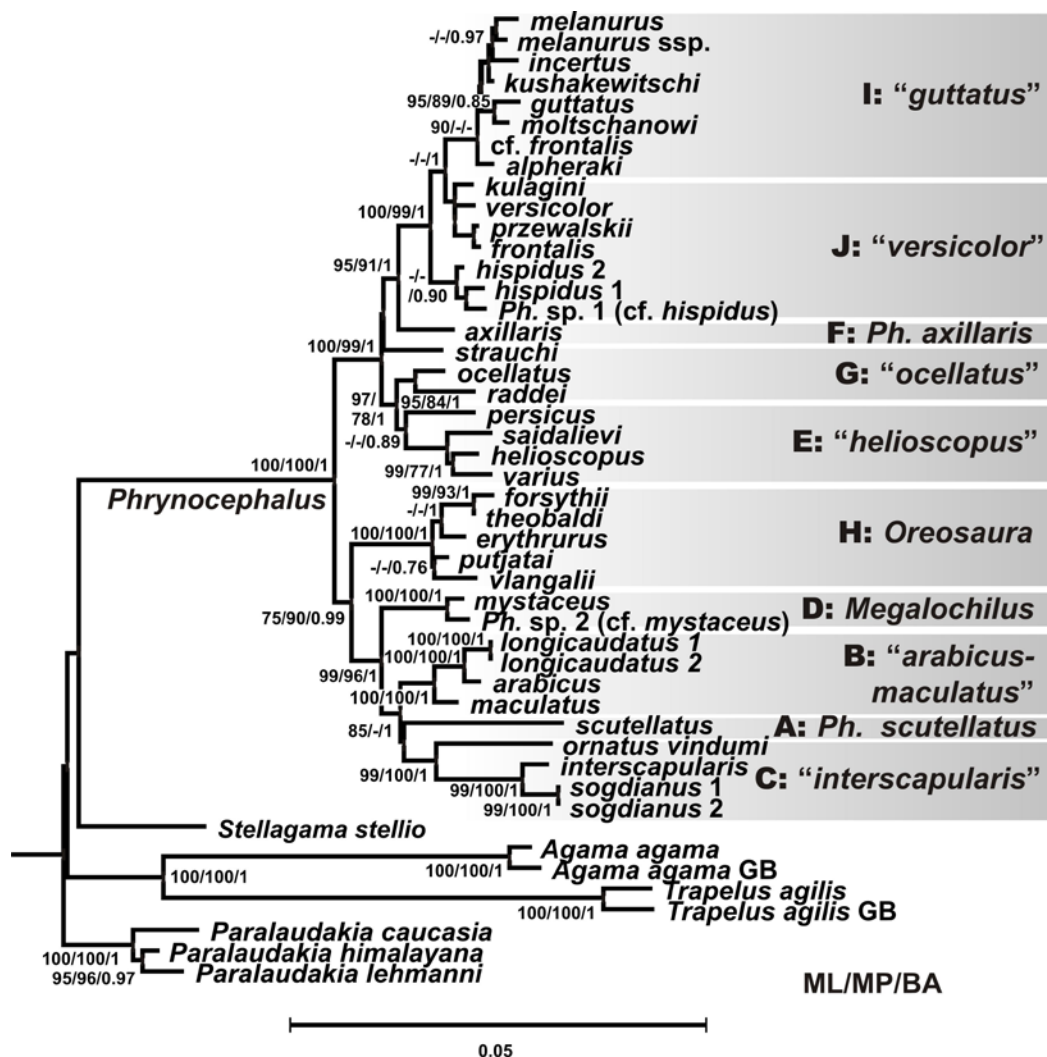


Рис. 2. Филогенетические связи представителей рода *Phrynocephalus* по данным анализа генов яДНК. Показан фрагмент ML-дендрограммы, построенной по результатам анализа объединенных последовательностей ядерных генов RAG-1, BDNF, AKAP9, NKTR. В узлах указаны значения поддержки ML/MP/BA (BS>75%).

Ph. scutellatus (A) занимает обособленное положение и не группируется с группой «*arabicus – maculatus*», а образует линию, уровень дивергенции которой сопоставим с уровнем дивергенции между группами «*interscapularis*» (C) и «*arabicus – maculatus*» (B); вместе эти три группы формируют кладу. Однако поддержки для данного узла недостаточны, и остается не выясненным, какая из двух групп является сестринской для *Ph. scutellatus*. *Ph. strauchi* занимает обособленное положение и не объединяется с группой «*ocellatus*» (G). *Ph. axillaris* (F) демонстрирует сестринские связи с группами «*guttatus*» (I) и «*versicolor*» (J), а не «*helioscopus*» (E). Склеробионтные круглоголовки Средней Азии и Турана – группы «*helioscopus*» (E) и «*ocellatus*» (G) – образуют кладу, в то время как по данным мтДНК они не сближались. Представители групп пестрых круглоголовков (J) и круглоголовков-вертихвосток (I) образуют хорошо поддержанную кладу, но по данным яДНК филогенетические связи в пределах группы разрешены слабо.

Молекулярные времена основных филогенетических событий в истории *Phrynocephalus*. Все проведенные анализы согласуются в оценке момента базальной радиации рода *Phrynocephalus* в районе 13–15 млн лет назад (яДНК: 14.76 млн лет при анализе данных в BEAST; 14.51 млн лет при использовании g8s; мтДНК: 13.76 по данным g8s), т.е. дифференциация круглоголовков должна была случиться в среднем миоцене (хронограмму см. на рис. 3).

Время обособления предка современных видов круглоголовок от общего с другими представителями Agamīnae ствола колеблется от 19.9 млн лет назад по данным мтДНК до 26.9 млн лет назад по данным анализа яДНК (дивергенция между предками *Stellagama* и *Phrynocephalus*),

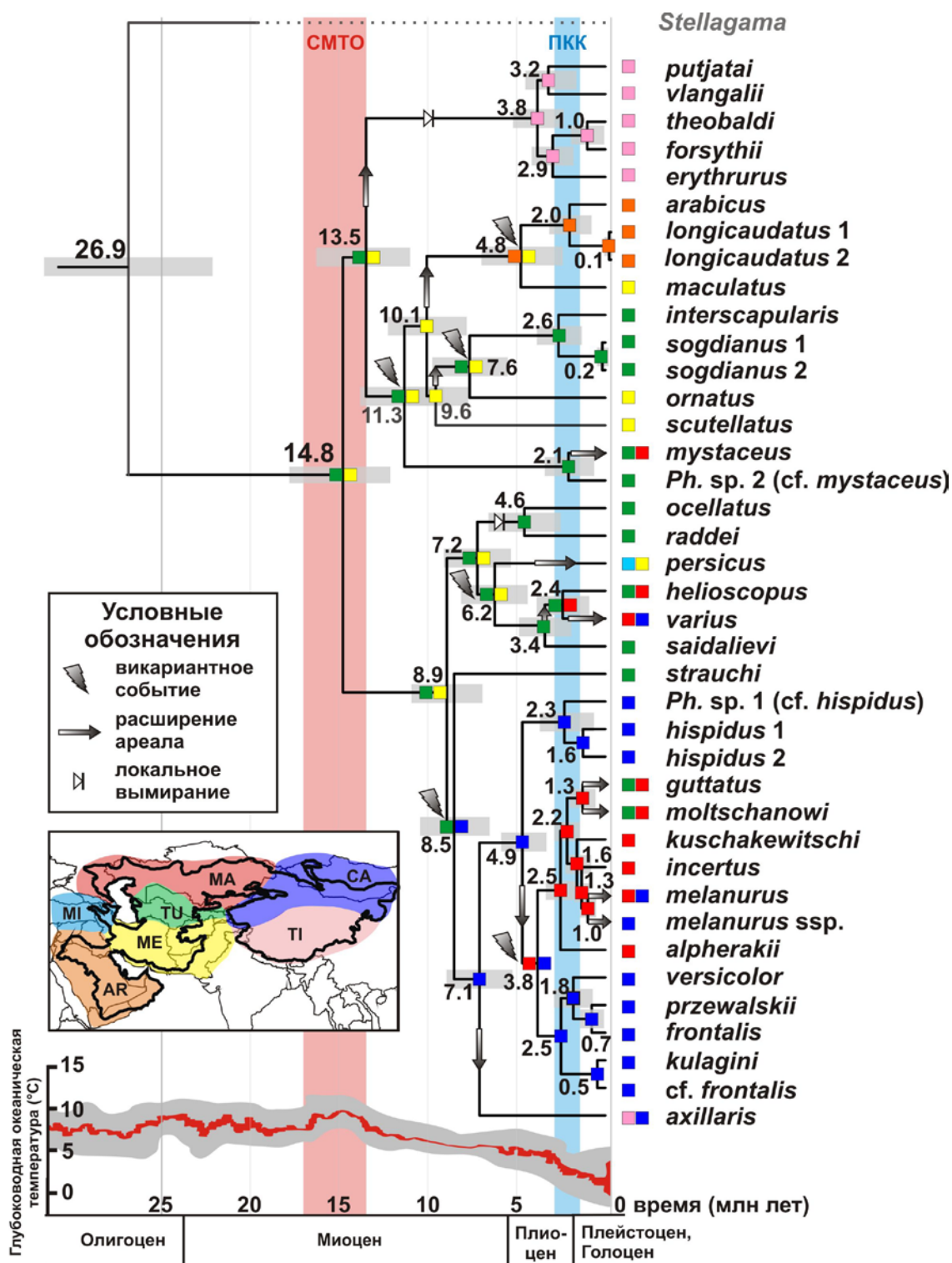


Рис. 3. Этапы дифференциации *Phrynocephalus*. Показана хронограмма, полученная в BEAST по данным яДНК, с результатами моделирования анцестрального ареала в Lagrange. Условные обозначения: СМТО – среднемиоценовый термальный оптимум; ПКС – плиоцен-плейстоценовые климатические колебания; АР – Аравия, МЛ – Малая Азия и Закавказье, МА – Средняя Азия и Предкавказье, СА – Центральная Азия, ТУ – Туран, ТЛ – Тибет, МЕ – Средний Восток. Черной линией обозначен современный ареал *Phrynocephalus*. Климатограмма приведена по Zachos et al., 2001.

то есть приходится на границу олигоцена и раннего миоцена. Основные этапы дифференциации рода *Phrynocephalus* показаны на рис. 3. Формирование современных групп видов произошло, вероятно, в позднем миоцене, между 13.5 и 7 млн лет назад. Группы пестрых круглоголовков (J) и вертихвосток (I) оказываются самыми молодыми и представляют собой сестринские недавно разошедшиеся группы видов, обособившиеся, вероятно, в плиоцене (ок. 4.9 млн лет назад).

Результаты моделирования анцестрального ареала и субстратной ниши *Phrynocephalus*. Полученные филогенетические схемы для рода *Phrynocephalus* в достаточной степени разрешены и позволяют проводить моделирование возможных сценариев расселения отдельных линий рода. Анцестральный ареал рода по данным как мтДНК, так и яДНК включает Средний Восток и Туран (рис. 3). Так как имеются некоторые различия в датировках и топологиях деревьев, построенных по митохондриальным и ядерным данным, полученные сценарии также несколько отличаются. На Аравийский п-ов *Phrynocephalus* группы В, вероятно, сумели попасть между 11.7 и 7.8 млн лет назад. По данным мтДНК круглоголовки подрода *Oreosaura* (H) могли заселить Тибетское плато между 8.8 и 5.4 млн лет назад. Клада, объединяющая группу «*versicolor*» (J) и группу «*guttatus*» (I), могла возникнуть на территории Средней и Центральной Азии.

Как показывают результаты анализа яДНК (рис. 3), в период с 10.1 млн лет назад до 4.8 млн лет назад предок круглоголовков группы «*arabicus – maculatus*» (B) мог проникнуть с территории Среднего Востока на Аравийский п-ов. Проникновение предка тибетских круглоголовков (H) на территорию Тибета могло происходить между 13.5 и 10 млн лет назад. Предок групп пестрых (J) и круглоголовков-вертихвосток (I) возник, вероятно, в Центральной Азии около 4.9 млн лет назад, откуда позднее круглоголовки-вертихвостки могли проникнуть в Среднюю Азию, а *Ph. guttatus* и *Ph. moltschanowi* – на запад вплоть до северного Турана.

Результаты моделирования предковой субстратной ниши совпадают для данных мтДНК и яДНК-маркеров и свидетельствуют в пользу малой специализации гипотетического общего предка *Phrynocephalus*, который равновероятно реконструируется как склеробионт или эврибионтный вид.

Генетическое разнообразие рода *Phrynocephalus* и его инвентаризация. Генетическое разнообразие рода *Phrynocephalus* исследовано по данным анализа последовательностей фрагмента гена COI (длиной около 655 п.о.) 252 круглоголовков. Указанный фрагмент корректно определяет родовую принадлежность агамовых ящериц, а также идентифицирует виды и внутривидовые группировки в пределах круглоголовков. Однако фрагмент гена COI оказался недостаточно информативным для уверенного определения надвидовых группировок *Phrynocephalus*. В общей сложности, в пределах рода выявлено 53 линии мтДНК различной степени дифференциации (см. рис. 4). Показано генетическое единообразие круглоголовков внутри популяций (некорректированная генетическая дистанция $p \leq 1.0\%$) и географических популяций и подвидов (среднее значение $p = 0.82\%$ (0.00%–3.60%). Заметные трудности возникают при соотнесении значений генетических дистанций при межвидовых и внутривидовых сравнениях. Так, как правило, дистанции между подвидами одного вида в среднем соответствуют уровню $p = 4.42\%$ (0.30%–5.90%), а между близкородственными видами одной группы примерно равны $p = 6.60\%$ (2.00%–8.20%). Между видами круглоголовков, встречающихся симпатрично, генетические дистанции заметно больше: $p = 12.44\%$ (2.00%–18.00%), и еще больше при сравнении представителей разных родов агамовых ящериц: $p = 20.60\%$ (10.5%–25.90%). Основная причина столь значительного перекрытия значений межвидовых и внутривидовых сравнений генетических дистанций, вероятно, связана с недостаточной разработанностью систематики видового и внутривидового уровня. Хотя в целом генетические различия между близкими видами круглоголовков в нашей работе превышают уровень $p = 5.0\%$, генетические дистанции по генам мтДНК не могут служить универсальным маркером видовой дифференциации. Так, дистанции между морфологически дискретными формами группы *Ph. guttatus* (H) ($p = 4.58\%$ –8.75%) значительно меньше, чем между линиями группы *Ph. helioscopus* (F), традиционно рассматриваемыми как подвиды. Линии глубокой дифференциации, вероятно, соответствующие потенциальным таксонам видового ранга, также выявлены в комплексах *Ph. persicus*, *Ph. scutellatus*, *Ph. mystaceus*, *Ph. hispidus*. Таксономически наиболее проблемным остается комплекс *Ph. versicolor – Ph. frontalis – Ph. przewalskii*, отличающийся крайне низкими значениями

генетических дистанций ($p = 2.14\% - 3.57\%$). Фрагмент гена COI оказался эффективным маркером для выявления криптического разнообразия в пределах рода *Phrynocephalus* (рис. 4).

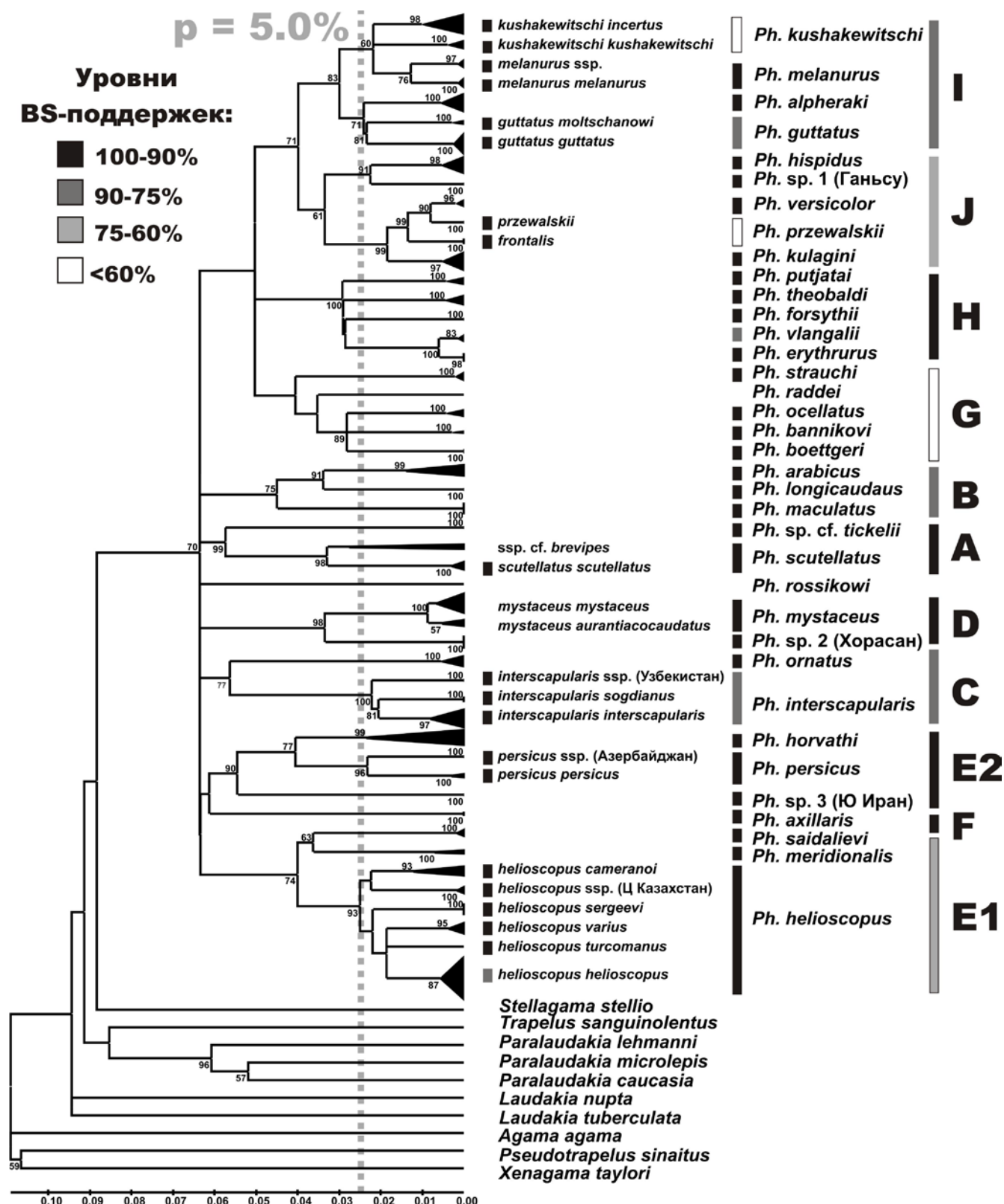


Рис. 4. Молекулярная идентификация *Phrynocephalus*. Показана обобщенная NJ-дендрограмма исследованных выборок *Phrynocephalus* по данным анализа последовательностей фрагмента гена COI. Обозначения видовых групп (A–J) соответствуют таковым на рис. 1 и 2. Пунктирной линией показан уровень генетических дистанций в $p = 5.0\%$. Некоторые клады для удобства объединены.

Генетическая и морфологическая дифференциация круглоголовок на уровне видовых комплексов.

Группа «helioscopus». В группе такырных круглоголовок обнаружена необычно глубокая дифференциация, в общей сложности выявлено 12 филогенетических линий ($4.0 \leq p \leq 16.1$), большая часть которых соответствует подвидовому уровню дифференциации. Выявленная согласованность между данными изменчивости митохондриального генофонда и результатами хорошо согласуется с результатами фингерпринтного анализа по методу InterSINE-PCR (Соловьева и др., 2011). С привлечением морфологических данных была осуществлена таксономическая ревизия комплекса, описано 3 новых подвида такырной круглоголовки (*Ph. h. meridionalis*, *Ph. h. sergeevi*, *Ph. h. turcomanus*) и восстановлен ранее считавшийся невалидным подвид *Ph. h. cameranoi* (Соловьева и др., 2012). Генетическая обособленность форм *Ph. helioscopus meridionalis*, *Ph. h. saidalieivi*, *Ph. persicus horvathi*, *Ph. p. ssp.* 3 значительно превышает значения, характерные для внутривидового уровня, и соответствует видовому статусу.

Группа «guttatus». Группа круглоголовок-вертихвосток характеризуется большим числом форм неясного статуса. В ее пределах выделяются три субклады, из которых две объединяют виды Семиречья (*Ph. kuschakewitschi*, *Ph. incertus*) и Джунгарии (*Ph. m. melanurus*, *Ph. melanurus ssp.*), а третья – виды из западной части ареала (*Ph. g. guttatus*, *Ph. g. moltschanowi*) и Илийской долины (*Ph. alpheraki*). Форма из Джунгарии (*Ph. melanurus ssp.*) оказалась близка к *Ph. melanurus* из Зайсана ($p = 2.67\%$). Нами подтверждена обособленность *Ph. g. moltschanowi* от *Ph. g. guttatus* ($p = 4.58\%$), который мы рассматриваем в ранге подвида, а также дифференциация забалхашских форм *Ph. incertus* и *Ph. kuschakewitschi* ($p = 4.69\%$), диагностика которых по морфологическим признакам затруднительна, а таксономический статус нуждается в уточнении. Обособленность *Ph. g. salsatus* незначительна ($p = 0.76\%$), однако достаточна для сохранения подвидового статуса. Таким образом, на основании анализа генетической изменчивости статус ряда подвигов повышается до видового, а подвид вертихвостки *Ph. g. kalmykus*, по нашему мнению, не валиден.

Группа «mystaceus». Для группы ушастых круглоголовок показана незначительная генетическая изменчивость по всей Средней Азии, и статус признаваемых подвигов представляется спорным. Однако выявлена неожиданно высокая дивергенция (по данным как мтДНК, так и яДНК) ушастых круглоголовок из провинции Хорасан в Иране ($p = 7.36\%$). Кроме генетических данных они отличаются особенностями экологии (живут на больших высотах), данные многомерного анализа морфометрических признаков сближают их с подвидом *Ph. m. aurantiacocaudatus*, а не с популяциями Турана, относимыми к подвиду *Ph. m. galli*. Таксономический статус иранских круглоголовок нуждается в уточнении.

Группа «interscapularis» (sensu stricto). В группе песчаных круглоголовок между *Ph. interscapularis* и *Ph. sogdianus* обнаружена только незначительная дифференциация ($p = 3.80\%$); статус *Ph. sogdianus*, по нашему мнению, скорее соответствует подвидовому. Это предположение согласуется с анализом признаков внешней морфологии: для *Ph. i. sogdianus* и *Ph. i. interscapularis* показана изменчивость спинного пятна, которое считалось характерным лишь для номинативной формы. У согдианских круглоголовок пятно также имеется, хотя не всегда и обычно не слишком крупное. Обращает на себя внимание дивергенция круглоголовок из центрального Узбекистана (оз. Айдаркуль), таксономический статус которых нуждается в уточнении.

ОБСУЖДЕНИЕ

Положение рода *Phrynocephalus* в системе агамовых ящериц. Результаты всех вариантов филогенетического анализа данных мтДНК достоверно подтверждают монофилию подсемейства Agaminae, которое распадается на две клады. Первая из них объединяет афро-аравийские роды (*Agama*, *Xenagama*, *Pseudotrapelus*), а также степных (*Trapelus*; Средняя Азия и Средний Восток) и жабоголовых (*Bufoniceps*; Индия, Раджастан) агам (рис. 1). В связи со сходством внешней морфологии род *Bufoniceps* ранее рассматривался в составе *Phrynocephalus* (Sharma, 1978; Golubev, Dunayev, 1997); наши данные подтверждают его близость к *Trapelus*, показанную ранее (Macey et al., 2006; Melville et al., 2009). Вторая клада Agaminae объединяет род *Phrynocephalus* с представителями горных агам (*Laudakia s. lato*). В ряде работ предполагалась парафилия этого

рода относительно *Phrynocephalus* (Macey et al., 2000; Melville et al., 2009), в связи с чем недавно он был разделен на роды *Laudakia s. stricto* (Иран на восток до Гималаев), *Paralaudakia* (Средняя и Центральная Азия, Кавказ) и *Stellagama* (Ю.-В. Европа, С.-В. Африка, Ближний Восток, Малая Азия) (Baig et al., 2012). Заметим, что сестринские отношения между представителями горных агам *Laudakia s. lato* и *Phrynocephalus* были ранее подтверждены биохимическими (Ананьева, Соколова, 1990; Macey et al., 1991; Лихнова, 1992), иммунологическими (Joger, 1991) и, недавно, молекулярно-генетическими (Macey et al., 2000; Macey et al., 2006; Melville et al., 2009) методами исследований, но противоречат данным морфологического анализа, предполагающим близость *Phrynocephalus* к родам *Trapelus* и *Bufo* (Ананьева, 1977; Whiteman, 1978; Moody, 1980; Arnold, 1992, 1999). Это, возможно, связано с параллельной и конвергентной эволюцией морфологических признаков в различных группах агамовых ящериц, независимо адаптировавшихся к условиям аридных регионов Евразии. Данные мтДНК не позволяют однозначно разрешить филогенетические связи между круглоголовками и горными агами; однако заметна тенденция к монофилии *Laudakia s. lato*, а также монофилия объединения *Laudakia s. stricto* и *Paralaudakia*. Результаты анализа яДНК не противоречат схеме мтДНК, но и не подтверждают ее, т. к. узлы дивергенции между предками *Trapelus*, *Agama*, *Laudakia sensu lato* и *Phrynocephalus* значимых поддержек не имеют. Однако монофилия рода *Phrynocephalus* поддерживается всеми вариантами анализа.

В результате анализа матрицы, построенной на основании наличия / отсутствия полос в анализе SINEs, получено дерево с неразрешенной топологией. Таким образом, использование специфических копий SINEs в качестве независимого маркера для изучения филогении круглоголовок по предварительным данным оказалось малоинформативным. Для повышения результативности этого метода необходима разработка большего числа более специфичных пар праймеров, которые бы позволили получать однозначные паттерны полос.

Согласованность филогенетических сигналов маркеров митохондриальной и ядерной ДНК. Объединенный анализ четырех генов мтДНК позволил разрешить филогенетические отношения между видами внутри видовых группировок; незначительные различия в топологии дендрограмм, построенных по нуклеотидным и по аминокислотным последовательностям, связаны с насыщением по третьей кодон-позиции. Этим обосновывается, что наиболее вероятной представляется филогения, отраженная во втором варианте дендрограмм.

Дендрограммы, реконструированные по данным генов мтДНК и яДНК, согласуются между собой в выделении ряда группировок: группы «*interscapularis*», клады тибетских круглоголовок (подрод *Oreosaura*), группы «*guttatus*» и «*versicolor*», группы «*mystaceus*» (подрод *Megalochilus*), группы «*helioscopus*», клады ближневосточных круглоголовок «*arabicus – maculatus*».

Согласно данным мтДНК, *Ph. strauchi* с высокими поддержками группируется с другими членами группы «*ocellatus*» (*Ph. ocellatus*, *Ph. boettgeri*). При этом по данным яДНК *Ph. strauchi* образует самостоятельную линию дифференциации, не близкородственную «*ocellatus*»-группе, монофилия которой (при исключении *Ph. strauchi*) хорошо поддержана по данным обеих систем маркеров. Данные митохондриальной ДНК поддерживают сестринские отношения между группами «*helioscopus*» и *Ph. axillaris*, в то время как согласно данным яДНК поддержана монофилия объединения групп «*helioscopus*» и «*ocellatus*», а *Ph. axillaris* достоверно рассматривается как клада сестринская к объединению групп «*guttatus*» и «*versicolor*». Группы «*guttatus*» и «*versicolor*» по всем проанализированным последовательностям являются сестринскими (однако данные яДНК не поддерживают монофилию группы «*versicolor*»), причем эти группировки устойчиво воспроизводятся как самая недавняя радиация круглоголовок.

Принципиальные противоречия в топологии митохондриальных и ядерных дендрограмм заключаются в следующем: (1) альтернативное определение ближайшей к корню группы рода *Phrynocephalus*; (2) различное филогенетическое положение комплекса *Ph. mystaceus*; (3) отличающееся филогенетическое положение подрода *Oreosaura*.

На дендрограммах, построенных по данным мтДНК, базальной группой оказывается клада, включающая ближневосточные виды: *Ph. maculatus*, *Ph. longicaudatus*, *Ph. arabicus* и *Ph. scutellatus*, при этом *Ph. mystaceus*, как и подрод *Oreosaura*, находится внутри радиации,

объединяющей все остальные видовые группы *Phrynocephalus*. По данным яДНК в пределах рода выделяются две основные клады, между которыми расположен корень дерева: в первую входят среднеазиатские и некоторые центральноазиатские виды (*Ph. axillaris*, группы «*helioscopus*», «*ocellatus*», «*versicolor*», «*guttatus*»), а во вторую помимо ближневосточных «*arabicus* – *maculatus*» и группы песчаных круглоголовков «*interscapularis*» также попадают ушастые круглоголовки *Ph. mystaceus* и тибетский подрод *Oreosaura*. Если различия в положении подрода *Oreosaura* возможно связать с альтернативными вариантами укоренения дерева *Phrynocephalus*, то положение комплекса ушастых круглоголовков этим объяснить не удастся, так как они занимают принципиально различное филогенетическое положение на двух дендрограммах.

Одним из возможных объяснений этого феномена могла бы быть древняя интрогрессия митохондриального генома. Наблюдаемые топологические различия могут также объясняться различными механизмами и скоростями эволюции митохондриального и ядерного геномов, их чувствительностью к насыщению и т.п. В целом, филогенетические схемы, полученные по данным анализа генов ядерной ДНК, демонстрируют большую устойчивость, согласованность между собой и с традиционной систематикой, чем результаты анализа генов мтДНК.

Систематика и филогения рода *Phrynocephalus* в свете молекулярно-генетических данных. В результате мультигенного филогенетического анализа маркеров мтДНК и яДНК нам впервые удалось получить филогенетическую схему рода *Phrynocephalus* мировой фауны с достаточной высокой степенью разрешения. Эта филогенетическая гипотеза отличается от предложенных ранее, и позволяет нам пересмотреть вопросы эволюционной истории и внутриродовой систематики круглоголовков.

Положение круглоголовков Ближнего и Среднего Востока. Предполагаемая данными яДНК базальная дивергенция рода *Phrynocephalus* на две клады, одна из которых объединяет формы преимущественно склеробионтные формы туранского, центрально- и среднеазиатского распространения, а вторая – автохтонные псаммофильные формы Передней Азии, юга Турана и специализированных высокогорных тибетских круглоголовков, вызывает большой интерес в свете предшествующих исследований. Филогенетическое положение видов круглоголовков Передней Азии до нашей работы оставалось неизученным. Наше исследование выявило на территории Ближнего и Среднего Востока наличие двух автохтонных видовых групп *Phrynocephalus* – группы «*arabicus* – *maculatus*» и *Ph. scutellatus*. Ранее *Ph. scutellatus* сближали с *Ph. interscapularis* (Царевский, 1912), *Ph. helioscopus* (Whiteman, 1978), *Ph. ocellatus* (Anderson, 1999) или рассматривали как самостоятельную линию (Arnold, 1999). Наши данные впервые подтверждают родственные связи *Ph. scutellatus* с комплексом *Ph. interscapularis* и ближневосточными видами группы «*arabicus* – *maculatus*». Значительная обособленность *Ph. scutellatus* от остальных круглоголовков, а также выявленное в пределах этого комплекса значительное разнообразие допускают возможность придания ему статуса отдельного подрода (*Phrynosaurus*).

Представителей группы «*arabicus* – *maculatus*» объединяли и ранее в одну группу по морфологическим признакам (Whiteman, 1978), а также помещали в основание гипотетического древа круглоголовков как формы, наиболее близкие к анцестральному состоянию для *Phrynocephalus* (Arnold, 1999). В настоящей работе впервые подтверждена монофилия этой группы и ее базальное положение в древе круглоголовков. Стоит отметить парафилию *Ph. maculatus* s. lato: *Ph. m. longicaudatus* с максимальными поддержками группируется с арабской круглоголовкой *Ph. arabicus*. Отличия в морфологии и экологии этого подвида позволяют рассмотреть возможность придания ему статуса отдельного вида. Отметим, что включение в эту группу *Ph. golubewii* предварительно и основано на представлении о близости этого вида к *Ph. maculatus*. Данные аллозимного анализа (Лихнова, 1992) противоречат его базальному положению, сближая его со склеробионтами *Ph. rossikowi* и группой «*ocellatus*». Для группы «*arabicus* – *maculatus*» также может быть предложен статус самостоятельного подрода, однако для этого необходимо провести поиск дополнительных морфологических признаков.

Отношения между псаммофильными видами Передней и Средней Азии. Обособленность псаммофильных видов Среднего Востока и Турана была показана Е.Н. Арнольдом (Arnold, 1999) по данным кладиетического анализа признаков анатомии и внешней морфологии. Согласно его

данным, наиболее обособленное положение в роде *Phrynocephalus* занимает *Ph. mystaceus*, далее последовательно отделяются *Ph. longicaudatus* [как *Ph. maculatus*], *Ph. arabicus* и компактная группа *Ph. interscapularis*. В морфологическом исследовании Р.С. Уайтмана (Whiteman, 1978) *Ph. mystaceus* наиболее близок ближневосточным видам *Ph. maculatus* и *Ph. arabicus*. Результаты филогенетического анализа яДНК маркеров согласуются с этими гипотезами. Отметим, что сходство кариотипов *Ph. mystaceus* и мелких псаммофилов *Ph. interscapularis* отмечал В.В. Соколовский (1974), объединивший эти виды в одну группу. Наиболее полно наши результаты согласуются с исследованием О.П. Лихновой (1992), которая на основании аллозимного анализа показала базальное положение *Ph. mystaceus* и *Ph. interscapularis* в древе *Phrynocephalus* и предположила, что автохтонные псаммофилы туранской фауны имеют наиболее древнее происхождение. Опубликованные ранее молекулярно-генетические работы не проливали свет на положение *Ph. mystaceus* (Pang et al., 2003, Guo, Wang, 2007, Melville, 2009), что вызвало определенные сомнения в оправданности выделения подрода *Megalochilus* (Barabanov, Ananjeva, 2007). Наши данные убедительно свидетельствуют об обособленном положении ушастых круглоголовок и предполагают валидность подрода *Megalochilus*.

Согласно всем предшествующим исследованиям, наиболее компактной и хорошо поддержанной надвидовой группировкой круглоголовок является группа, объединяющая мелкие псаммофильные виды Турана и Среднего Востока, обозначенная М.Л. Голубевым как «микрофриноцефалиды» (Голубев, 1995; Golubev, 1998). Морфологическая обособленность «*interscapularis*»-группы отмечалась неоднократно (Царевский, 1912; Whiteman, 1978; Golubev, 1998; Arnold, 1999), а также получила подтверждение данными аллозимных (Лихнова, 1992) и молекулярно-генетических (Macey et al., 2006; Melville et al., 2009) исследований. Данная работа впервые позволяет оценить положение «микрофриноцефалид» в общем древе круглоголовок, которое вкупе с их значительной морфологической обособленностью и экологической специализацией позволяет рассматривать группу «*interscapularis*» как компактный подрод.

Положение тибетских живородящих круглоголовок. Первые работы по молекулярно-генетической изменчивости *Phrynocephalus* касались фауны Китая, в том числе была показана монофилия живородящих видов Тибетского плато (Pang et al., 2003, Guo, Wang, 2007), позднее выделенных в самостоятельный подрод *Oreosaura*, однако филогенетическое положение тибетских круглоголовок относительно видов Средней Азии и Ближнего Востока оставалось неизвестным. Е.Н. Арнольд (Arnold, 1999) по данным морфологии объединял представителей *Oreosaura* в компактную видовую группу, которую сближал со склеробионтными видами Средней Азии (*Ph. helioscopus*, *Ph. axillaris*). Впервые показанная по данным анализа яДНК значительная обособленность живородящих видов Тибета полностью согласуется с их особой эволюционной траекторией и предложенным подродовым статусом (Barabanov, Ananjeva, 2007). Однако сближение этой группы с ближневосточными и псаммофильными туранскими видами оказалось неожиданным. Интересно, что сходство между тибетскими видами и *Ph. ornatus* отмечал еще Я. Бедряга (Bedriaga, 1909), а кластический анализ остеологических признаков в работе Уайтмена (Whiteman, 1978) приводит к объединению мелких псаммофильных видов «микрофриноцефалид» в одну группу с крупными живородящими представителями группы *Oreosaura*. Данные анализа яДНК согласуются с этой гипотезой. Также интересно выделение в пределах подрода *Oreosaura* двух клад, соответствующих тибето-гималайским (*Ph. forsythii*, *Ph. theobaldi*, *Ph. zetangensis*) и цинхайским (*Ph. erythrurus*, *Ph. putjatai*, *Ph. vlangalii*) видам, что отмечалось и предыдущими исследователями (Pang et al., 2003; Guo, Wang, 2007; Jin et al., 2008; Guo et al., 2012).

Положение склеробионтных форм Турана. Филогенетическое положение *Ph. rossikowi* остается неизвестным, для него удалось получить только фрагмент последовательности гена *COI*. Вид обладает специфическим кариотипом (Соколовский, 1974), а по данным аллозимного анализа этот вид тяготеет к группе «*ocellatus*» и *Ph. golubewii*. По морфологическим данным *Ph. rossikowi* рассматривается как линия базальной дивергенции рода *Phrynocephalus* (Whiteman, 1978) или близок другим склеробионтам Турана, в т.ч., группе такырных круглоголовок, куда попадает также экологически пластичный *Ph. strauchi* (Arnold, 1999). Положение последнего вида особенно интересно. По результатам анализа мтДНК этот вид с высокими поддержками попадает в группу

«*ocellatus*», с которой его традиционно сближали, рассматривая как подвид *Ph. raddei* (Банников и др., 1977; Ananjeva, Tuniyev, 1992), но по яДНК занимает обособленное положение среди круглоголовов Средней и Центральной Азии. Эта схема полностью согласуется с результатами, полученными О.П. Лихновой (1992), где по данным аллозимного анализа вид демонстрировал тенденцию к сближению с *Ph. guttatus* и *Ph. versicolor*.

Комплекс такырных круглоголовов объединяет склеробионтные виды из Средней Азии, Закавказья и с Иранского нагорья, населяющие исключительно плотные грунты и ранее рассматриваемые в составе вида *Ph. helioscopus*. Группа делится на две клады: персидских (здесь *Ph. persicus horvathi*) и собственно такырных круглоголовов (представлены *Ph. h. helioscopus*, *Ph. h. saidalievi*, *Ph. h. varius*). Подобное разделение отмечалось и ранее (Никольский, 1916; Arnold, 1999; Лихнова, 1992). Филогенетическое положение комплекса неоднозначно, по результатам анализа аминокислотных последовательностей мтДНК такырные круглоголовки уверенно объединяются с *Ph. axillaris* (что согласуется с морфологическим анализом, Arnold, 1999), а по данным яДНК оказываются ближе к *Ph. ocellatus* и *Ph. raddei*. Последняя гипотеза несомненно поддерживается анализом изменчивости аллозимов (Лихнова, 1992), а также рядом морфологических данных (Whiteman, 1978). Генетическая обособленность *Ph. h. saidalievi* от других подвидов *Ph. helioscopus* весьма значительна (9.53%–10.29%, мтДНК) и сопоставима с видовым уровнем дифференциации, что отражается также и в специфике кариотипа (Манило и др., 1991; Еремченко, Панфилов, 1999) и белковых спектров (Лихнова, 1992).

Положение *Ph. axillaris*. *Ph. axillaris* – это высокогорный яйцекладущий вид, обитающий в щебнистых пустынях Тибета. По данным мтДНК он достоверно группируется с видами среднеазиатского распространения (комплекс *Ph. helioscopus*), что сопоставимо с результатами морфологического анализа Арнольда, где *Ph. axillaris* объединяется с *Ph. helioscopus*, *Ph. persicus*, *Ph. strauchi* и *Ph. rossikowi* (Arnold, 1999). В то же время по ядерным данным с высокими достоверными поддержками вид образует сестринскую кладу по отношению к объединению групп *Ph. versicolor* и *Ph. guttatus*. Эта гипотеза интересна тем, что с круглоголовками групп «*guttatus*» и «*versicolor*» *Ph. axillaris* сходны и рядом морфологических характеристик (например, наличием яркого подмышечного пятна как у *Ph. versicolor*), и центральноазиатским распространением.

Группы пестрых круглоголовов и круглоголовов-вертихвосток. На полученном филогенетическом дереве группы *Ph. guttatus* и *Ph. versicolor* реконструируются как самые молодые группы круглоголовов, что противоречит сделанным ранее предположениям об их близости к предковым формам рода (Whiteman, 1978; Семенов, 1987). Анализ морфологических признаков (Whiteman, 1978, Arnold, 1999) не подтверждает монофилию этой группы, что, возможно, свидетельствует о ее высокой экологической и морфологической пластичности. Филогенетические связи между представителями этих групп по данным мтДНК и яДНК достаточно согласованы и близки к схеме эволюционных отношений по данным аллозимного анализа (Лихнова, 1992). Так, молекулярно-генетический анализ подтвердил обособленное положение формы *Ph. hispidus* и близость формы из долины реки Или (*Ph. alpheraki*) к *Ph. guttatus*. Показанное ранее для территории КНР несоответствие наблюдаемой генетической и морфологической изменчивости современной системе комплекса *Ph. frontalis* – *Ph. przewalskii* (Pang et al., 2003; Wang, Fu, 2004; Gozdzik, Fu, 2008) нашло отражение и в нашем материале: нами выявлена форма неясного таксономического статуса из провинции Ганьсу *Ph. sp. 1*, близкая *Ph. hispidus*, а также показана генетическая близость популяций *Ph. przewalskii* и *Ph. frontalis* Китая к номинативной форме *Ph. v. versicolor* центральной Монголии. Таксономический статус этих форм остается дискуссионным. Существенные морфологические различия между формами круглоголовов при отсутствии достаточной генетической обособленности объясняются, вероятно, высокой экологической пластичностью круглоголовов этой группы и широким распространением т.н. субстратных рас (Дунаев, 2009). Парафилия *Ph. versicolor s. lato* требует возведения тувинской формы *Ph. kulagini* в ранг самостоятельного вида. Дифференциация в пределах группы *Ph. guttatus* соответствует опубликованным ранее морфологическим (Семенов, 1987; Дунаев, 2009), аллозимным (Лихнова, 1992) и молекулярно-генетическим гипотезам (Melville et al., 2009). Наши данные подтверждают обособление криптоической формы *Ph. incertus* в Забалхашье, близость

круглоголовки из Джунгарских ворот к *Ph. melanurus* из Зайсана и предполагают подвидовой статус *Ph. moltschanowi* и видовой уровень обособленности *Ph. alpheraki*.

Предполагаемый палеогеографический сценарий диверсификации и расселения представителей рода *Phrynocephalus*. Общий предок азиатских групп Agaminae должен был проникнуть на территорию Азии из Африки, которая является центром формирования этого подсемейства агамовых ящериц, по-видимому, в ходе постепенного закрытия бассейна океана Тетис вследствие столкновения Афро-Аравийской суши и будущей Евразии (Macey et al., 2000). Основные этапы эволюционной истории рода *Phrynocephalus* по данным анализа молекулярных датировок и реконструкции палеоареалов представлены на рис. 3. Согласно этой гипотезе, обособление общего предка современных круглоголовок от предка горных агам *Laudakia s. lato* могло произойти в конце олигоцена (около 27 млн лет назад). К этому моменту уже могли существовать сухопутные мосты между Аравией и Анатолийским и Эльбурс-Копетдагским массивами суши, однако сами эти территории представляли собой холмистые острова с влажным субтропическим климатом посреди мелководного моря. В раннем миоцене, когда предок круглоголовок мог обособиться от прочих агам, Туранское плато было покрыто морем, территория южного Казахстана, Тургайской низменности, Тянь-Шаня и Таджикистана представляла собой комплекс огромных пресноводных озер, но Иран уже входил в состав Ирано-Афганской суши и был покрыт лесными и саванными формациями (Porov et al., 2004, 2009).

Предыдущие исследования (Melville et al., 2009) по данным анализа мтДНК и яДНК маркеров предполагали поздне-олигоценовую дифференциацию предка *Phrynocephalus* (28.9 млн лет назад), которая связывалась с началом аридизации в центральной Азии около 22 млн лет назад (Guo et al., 2002). Однако, эта оценка представляется нам неоправдано завышенной, так как в это время большая часть западной Азии находилась в зоне тропического морского климата, и была лишена ксерофильных растительных сообществ (Попов, 2009).

Базальная диверсификация рода *Phrynocephalus* по результатам данной работы приходится на середину среднего миоцена и датируется примерно в 14.8 млн лет назад. В то время территория Средней Азии все еще была в значительной мере занята Паратетисом (Porov et al., 2004), Аравийский п-ов оставался отделенным от территории современного Ирана Месопотамским бассейном, Кавказ представлял собой разрозненные островки суши. Чуть ранее, около 17–15 млн лет назад происходит резкое потепление климата, известное как среднемиоценовый термальный оптимум (СМТО, см. рис. 1), приведший к смягчению климата; конец потепления около 15 млн лет назад и постепенное похолодание привело к постепенной аридизации климата. По нашему мнению, базальная дифференциация рода *Phrynocephalus* произошла после окончания СМТО.

С 14–13 млн лет назад до 8 млн лет назад идет интенсивное поднятие Тибета, достигающего максимума около 10 млн лет назад. Это приводит к прогрессирующей аридизации климата в Центральной Азии (Ramstein et al., 1997). Так, исследования палеофлоры Центрально-Афганской суши и территории современного Пакистана показывают, что около 8.5 млн лет назад лесная растительность там сменяется травянистой (Cerling et al., 1997), в это же время леса исчезают с территории Тибетского плато (Ma et al., 1998). Эти условия способствовали развитию аридных биотопов и формированию пустынной герпетофауны.

На обособление и расселение круглоголовок мог влиять целый ряд факторов: постепенный процесс аридизации на территории Передней, Средней и Центральной Азии, формирование пустынных типов почв, поднятие горных систем, изменение русел древних рек или исчезновение или возникновение озер. Поднятие Гималаев привело к накоплению отложений на севере Индийского и Пакистанского регионов с середины миоцена примерно до раннего плейстоцена. Сопоставляя данные молекулярных датировок с результатами моделирования анцестральных ареалов и палеогеографической обстановкой, можно предположить, что дивергенция внутри подрода *Oreosaura* происходила 3.86–5.56 млн лет назад, а отделение от прочих круглоголовок — около 10–13 млн лет назад. Контакт между Тибетом и районом Турана и Среднего Востока прервался, скорее всего, в связи с интенсивным ростом Памира и Каракорума около 10 млн лет назад, поэтому обособление предка *Oreosaura* должно было произойти не позднее этого момента. *Ph. axillaris* проник на территорию Тибетского плато значительно позже с Центральной Азии.

Большинство оценок времени, включая представленную в данной работе, указывают на возникновение круглоголовок в раннем или среднем миоцене (Whiteman, 1978; Guo, Wang, 2007; Li et al., 2010). Так, Го и Ван (Guo, Wang, 2007) предполагают, что род *Phrynocephalus* имеет центральноазиатское происхождение и оценивают его дифференциацию около 13.87 млн лет назад. Гипотезы о ведущей роли центральноазиатского центра в формировании герпетофауны Средней Азии придерживался и А.М. Никольский (1916). Согласно нашим данным, центр формирования рода *Phrynocephalus* находился на территории современного Турана и Среднего Востока, где сегодня встречается максимальное число автохтонных древних линий рода. Это согласуется со взглядами о существовании на территории Турана древнего среднеазиатского очага формирования пустынной герпетофауны (Чернов, 1948, 1959; Лихнова, 1992; Ananjeva, Tuniyev, 1992).

Всех представителей рода *Phrynocephalus* объединяет набор признаков, свидетельствующих о псаммобионтности вероятного общего предка круглоголовок (Whiteman, 1978; Arnold, 1999). К ним относятся черты, адаптивные для жизни на перевеиваемых ветром субстратах, а именно (1) отсутствие наружного ушного отверстия и значительная редукция среднего уха, (2) наличие гребешков на пальцах треугольной формы, (3) прикрывающая рот верхняя губа, (4) мелкая округлая чешуя, (5) развитые веки, снабженные ресничными чешуями, (6) защищенные ноздри, (7) поведенческие реакции, такие как вибрация тела при закапывании. Эти признаки отмечаются и у круглоголовок, встречающихся на плотных грунтах, что позволяет предположить первичную псаммобионтность предка *Phrynocephalus* (Чернов, 1948; Whiteman, 1978; Семенов, 1987). Однако, ряд авторов считает, что род сформировался на плотных галечных и щебнистых грунтах (Голубев, 1989; Ananjeva, Tuniyev, 1992). Согласно результатам моделирования исходной субстратной нишей была либо эврибионтность, либо склеробионтность, то есть, слабая специализированность предковой формы представляется более реалистичной. С этим предположением согласуется и наличие среди базальных линий рода как псаммофильных (*Ph. arabicus*, *Ph. mystaceus*, группа *Ph. interscapularis*), так и строгих склеробионтных (*Ph. scutellatus*, *Ph. maculatus*, *Oreosaura*) и эврибионтных (*Ph. longicaudatus*) видов. Адаптация к обитанию в пустынях с определенным типом субстрата происходила в разных группах круглоголовок параллельно и независимо.

Если суммировать все вышеизложенные палеогеографические факты и полученные результаты (основываясь преимущественно на результатах анализа яДНК), то возможен следующий сценарий дивергенции в роде *Phrynocephalus*.

1. Обособление предка *Phrynocephalus*, предположительно, на территории Среднего Востока и Турана (около 27 млн лет назад).
2. Базальная радиация рода на 2 клады: включающую предков *Megalochilus* и *Oreosaura*, ближневосточных круглоголовок, группы «*interscapularis*» и вторую, включающую предков всех прочих круглоголовок (около 15 млн лет назад).
3. Проникновение предков *Oreosaura* на территорию современного Тибетского плато (между 13 и 10 млн лет назад), в то время еще не подвергнушаяся основным этапам орогенеза и сравнительно низкорослую. Обособление ушастых круглоголовок в Туранской области и предка «микрофриноцефалид» на территории Среднего Востока.
4. Обособление предка *Ph. strauchi*, распространение из Турана в Центральную Азию предка группы пестрых круглоголовок, круглоголовок-вертихвосток и *Ph. axillaris* (8–7 млн лет).
5. Дивергенция основных видовых группировок (6–8 млн лет назад). В этот период отступление моря происходило особенно интенсивно (Popov et al., 2004). Группа «*helioscopus*», вероятно, обособилась вместе с поднятием Иранского плато, и уже оттуда происходило расселение группы. По данным мтДНК виды комплексов «*guttatus*» и «*versicolor*» разделились около 5.65 млн лет назад, а по данным яДНК – 4.73–7.27 млн лет назад предположительно на границе современной Джунгарии и Восточного Казахстана (Дунаев, 2009), где аридные условия сформировались до миоцена (Чхиквадзе и др., 1983). Круглоголовки-вертихвостки осваивали преимущественно пустыни Средней Азии, а пестрые круглоголовки – пустыни Центральной Азии. При этом некоторые линии круглоголовок-вертихвосток вернулись в Туранскую область (*Ph. g. moltschanowi* и *Ph. g. salsatus*).

6. Дальнейшая стремительная диверсификация внутри видовых группировок и расселение на окончательно освободившиеся от Паратетиса опустыненные пространства.

Заметно, что в истории рода круглоголовок было несколько моментов, когда в разных группировках интенсивно шло образование таксономических единиц. Первый приходится на 6–8 млн лет назад и связан с обособлением предков, давших начало современным видовым группировкам, а второй – 1–4 млн лет назад – с видообразованием уже внутри этих группировок.

Молекулярно-генетическая дифференциация видовых комплексов рода *Phrynocephalus*.

Использование ДНК-штрихкодирования продемонстрировало значительную генетическую неоднородность рода круглоголовок и выявило большое число ранее неизвестных филогенетических линий внутри видовых группировок. Отдельные видовые комплексы были изучены подробнее (комплекс такырных круглоголовок, круглоголовки-вертихвостки, ушастые круглоголовки и песчаные круглоголовки) с учетом их морфологической изменчивости.

Так как многие формы довольно сложно разграничить по морфологическим признакам ввиду значительного перекрытия внутри- и межвидовой изменчивости, а исследования межвидовой гибридизации в группе лишь начинаются (Gozdzik, Fu, 2008; Noble, 2008), возникает вопрос о критериях вида, применимых для разграничения видов в этой группе ящериц. Согласно генетической концепции вида, одним из таких критериев могут служить генетические дистанции (Baker, Bradley, 2006), а значительное превышение средних генетических дистанций при межвидовых сравнениях может свидетельствовать в пользу повышения статуса форм до видового.

Группа «helioscopus». Группа такырных и персидских круглоголовок оказалась очень неоднородной и таксономически богатой. Подтверждено наличие двух видовых группировок внутри комплекса: такырной круглоголовки *Ph. helioscopus* и персидской *Ph. persicus*. Среди первого вида выявлено 8 филогенетических линий, 5 из них ранее не были известны и нами описаны как подвиды (Соловьева и др., 2012): *Ph. h. turcomanus*, *Ph. h. sergeevi* и *Ph. h. meridionalis*. Статус последнего таксона, как и *Ph. h. saidalievi*, вероятно, соответствует видовому уровню дифференциации. Остается практически неисследованной своеобразная линия круглоголовок с Сев. Каратау. Эта группа генетически обособлена как от восточного подвида *Ph. h. varius*, так и от западного номинативного подвида, однако в связи с относительно невысокими значениями BS-поддержки ее филогенетическое положение пока неопределенно.

Также дополнительных исследований требуют персидские круглоголовки. Для *Ph. persicus* s. lato выявлены четыре филогенетические линии, из них ранее неизвестных — две. Указания на принадлежность закавказской круглоголовки к персидским, а не такырным (Мельников, 2007; Melnikov et al., 2008) появились не так давно (Голубев, Межжерин, 1999), наши данные подтверждают принадлежность закавказской круглоголовки к персидским с высокими BS-поддержками. Нами выявлено две новые филогруппы (из окрестностей Абадэ в Иране и с Апшеронского полуострова в Азербайджане), которые, предположительно представляют собой два ранее неизвестных подвида. Обособленное положение популяции такырных круглоголовок с Апшеронского полуострова согласуется с результатами аллозимного анализа М.Л. Голубева и С.В. Межжерина (1999). Авторы охарактеризовали эту популяцию как промежуточную между номинативной (*Ph. helioscopus helioscopus*) и закавказской (*Ph. persicus horvathi*) формами. Молекулярные данные, полученные по Апшеронскому п-ову, уникальны, т. к. еще около 30 лет назад данная популяция была признана вымершей (Алекперов, 1978), и были получены благодаря обнаружению в коллекции Зоомузея МГУ единственной шкурки ящерицы из этой популяции.

Высокий уровень разнообразия (большое число группировок и высокие генетические дистанции между ними) на юго-западе ареала свидетельствует о том, что первоначальная дифференциация комплекса началась, вероятно, в районе Иранского плато (Ananjeva, Tuniyev, 1992). Повышенное разнообразие на юго-востоке ареала позволяет предположить наличие второго, более позднего центра дифференциации, но уже внутри собственно такырных круглоголовок (*Ph. helioscopus*).

При межвидовых сравнениях в пределах рода *Phrynocephalus* минимальные значения *p*-дистанций характерны для близких форм таксономически сложных видовых комплексов. Средние некорректированные *p*-дистанции между филогруппами комплекса «*helioscopus* – *persicus*» часто

превышают межвидовые дистанции. Таким образом, некоторые филетические линии и подвиды комплекса такырных круглоголовок по уровню дифференциации вполне сопоставимы с самостоятельными видами рода *Phrynocephalus*.

Группы «guttatus» и «versicolor». Группы пестрых круглоголовок и круглоголовок-вертихвосток возникли относительно недавно (примерно 4 млн лет назад – «guttatus», примерно 2 млн лет назад – «versicolor»). Это самые молодые видовые группировки, морфологическая изменчивость внутри них очень высока, внутривидовая зачастую сопоставима с межвидовой, часто отсутствует согласованность между морфологическими и генетическими различиями. В связи с этим, данные более консервативных яДНК-маркеров недостаточно информативны при разрешении эволюционных связей между представителями этих групп. Для большинства исследованных нами форм однозначно определить таксономический статус пока сложно. Тем не менее степень генетической дивергенции (дистанции по мтДНК достигают 4.58–10.89%) все же позволяет признать ряд изученных форм отдельными видами: *Ph. alpheraki*, *Ph. kushakewitschi*, *Ph. melanurus*, *Ph. hispidus*, *Ph. kulagini*. Статус *Ph. moltschanowi*, скорее, соответствует подвидовому уровню. Видовой комплекс *Ph. versicolor* – *Ph. frontalis* – *Ph. przewalskii* отличается крайне низкими значениями генетических дистанций ($p = 2.14$ – 3.57%) и клинальной изменчивостью ряда морфологических признаков (Gozdzik, Fu, 2008; Дунаев, 2009) и поэтому остается одной из наиболее проблемных в таксономическом отношении групп круглоголовок.

Круглоголовки-вертихвостки (*Ph. guttatus*) населяют разнообразные, но преимущественно песчаные грунты севера Средней Азии от Прикаспия до западного Китая. В пределах этой группы по данным мтДНК выделяются три клады, из которых две базальные группы объединяют виды Семиречья (*Ph. kushakewitschi*, *Ph. incertus*) и Джунгарии (*Ph. m. melanurus*, *Ph. melanurus* ssp.), а в третью группируются формы западной части ареала (*Ph. g. guttatus*, *Ph. g. moltschanowi*) и Илийской долины в восточном Казахстане (*Ph. alpherakii*). Подтверждена обособленность *Ph. g. moltschanowi* от *Ph. g. guttatus* ($p = 4.58\%$ по мтДНК и 0.9% по яДНК), а также дифференциация забалхашской формы *Ph. incertus* от *Ph. kushakewitschi* ($p = 4.69\%$), диагностика которых по морфологическим признакам затруднительна. Форма неясного статуса из Джунгарских ворот оказалась близка к *Ph. melanurus* из Зайсана ($p = 2.67\%$ по мтДНК), а морфологические различия между ними объясняются, вероятно, привязанностью джунгарской формы к плотным грунтам.

Центральноазиатские виды комплекса пестрых круглоголовок *Ph. versicolor* встречаются на разных типах субстрата. В этой группе четко выделяются две обособленные субклады: первая объединяет вид из Джунгарской Гоби, определенный как *Ph. hispidus*, и близкую к нему форму неясного статуса из провинции Ганьсу *Phrynocephalus* sp. 1 ($p = 4.9\%$ по мтДНК и 0.2 – 0.7% по яДНК). Вторая субклада объединяет генетически близкие виды севера Китая и центральной Монголии: *Ph. frontalis*, *Ph. przewalskii* и *Ph. versicolor*, а также более дистантную форму *Ph. versicolor kulagini* из Тувы. Парафилия *Ph. versicolor* s. lato и обособленность тувинской круглоголовки ($p = 5.18$ – 5.37% по мтДНК и 1.7% по яДНК) предполагает придание ей статуса самостоятельного вида *Ph. kulagini*. Форма из Китая, близкая к *Ph. hispidus* и обозначенная как *Ph.* sp. 1, изучена только по молекулярным данным по образцу ткани, полученному от китайских коллег. Для более точного определения и таксономического описания необходимо провести сбор дополнительного материала и морфологическое исследование экземпляров.

Группа «mystaceus». Статус ушастой круглоголовки из Хорасана (Иран) спорен. Некорректированные p -дистанции по мтДНК между этой популяцией *Ph. m. mystaceus* велики ($p = 7.36\%$) и сопоставимы с дистанциями между видами подрода *Oreosaura* (от 6.1 до 10.6%), однако по яДНК не столь велики ($p = 0.4\%$; например, дистанция между *Ph. raddei* и *Ph. strauchi* достигает $p = 1.2\%$, а между *Ph. vlangalii* и *Ph. putjatai* $p = 0.8\%$).

Известные на данный момент подвиды *Ph. mystaceus* в меньшей мере отличаются друг от друга, чем от иранских ушастых круглоголовок, а филогенетические взаимоотношения между первыми не могут считаться разрешенными. Только номинативный подвид образует монофилетическую кладу с высокой поддержкой. Валидность подвида *Ph. m. aurantiacocaudatus* нуждается в подтверждении.

Группа «*interscapularis*». Для представителей «микрофриноцефалид», а именно для взаимоотношений внутри *Ph. interscapularis* и между *Ph. interscapularis* и близкородственным *Ph. sogdianus*, необходимы дополнительные исследования популяций из окрестностей оз. Айдаркуль – как генетические, так и морфологические. Значительная генетическая обособленность этой популяции говорит о потенциально новой линии комплекса *Ph. interscapularis*, но в таком случае и согдианская круглоголовка должна сохранить статус подвида. Некорректированные *p*-дистанции между *Ph. interscapularis* и *Ph. sogdianus* по данным объединенных последовательностей мтДНК – 3.84%, причем дистанции до *Ph. ornatus* достигают 15%, по данным объединенных последовательностей яДНК между согдианскими и песчаными круглоголовками от 0.7 до 1%, а между этими формами и *Ph. ornatus* – от 2.8 до 3.0%. По фрагменту гена COI дистанции между *Ph. ornatus* и *Ph. interscapularis* / *Ph. sogdianus* – 12.2 – 12.6%, а между формами *Ph. interscapularis* – *Ph. i. ssp.* – *Ph. sogdianus* колеблются в пределах 3–4%. Таким образом, генетические дистанции как между согдианскими круглоголовками и песчаными оказываются скорее в рамках генетических дистанций между подвидами, а не видами.

Предполагаемая система рода *Phrynocephalus* Kaup, 1825. В этом разделе рассматриваются результаты проведенного филогенетического анализа применительно к таксономии рода *Phrynocephalus*. С учетом необходимости дальнейших исследований, на основании совокупности полученных молекулярно-генетических данных, мы придерживаемся следующей предварительной системы рода.

Род Круглоголовки *Phrynocephalus* Kaup, 1825.

Подрод Настоящие круглоголовки *Phrynocephalus* Kaup, 1825.

Группа видов «*guttatus*»: *Ph. guttatus* (Gmelin, 1789) [подвиды: *Ph. g. guttatus* (Gmelin, 1789), *Ph. guttatus moltschanowi* Nikolsky, 1913, *Ph. g. salsatus* Gorelov, Dunayev et Kotenko, 1995], *Ph. alpheraki* Bedriaga in Nikolsky, 1905, *Ph. kushakewitschi* Bedriaga in Nikolsky, 1905, *Ph. incertus* Bedriaga in Nikolsky, 1905, *Ph. melanurus* Eichwald, 1831 [подвиды: *Ph. m. melanurus* Eichwald, 1831, *Ph. m. ssp.* (Синьцзян, КНР) (*)].

Группа видов «*versicolor*»: *Ph. versicolor* Strauch, 1876 комплекс [формы *Ph. versicolor* Strauch, 1876 (*), *Ph. przewalskii* Strauch, 1876 (*), *Ph. frontalis* Strauch, 1876 (*)], *Ph. kulagini* Bedriaga, 1909, *Ph. hispidus* Bedriaga, 1909, *Ph. sp. 1* (Ганьсу, КНР) (*).

Группа видов «*helioscopus*»: *Ph. helioscopus* (Pallas, 1771) [подвиды: *Ph. h. helioscopus* (Pallas, 1771), *Ph. h. cameranoi* Bedriaga, 1907, *Ph. h. sergeevi* Dunayev, Solovyeva, Poyarkov, 2012, *Ph. h. turcomanus* Dunayev, Solovyeva, Poyarkov, 2012, *Ph. h. varius* Eichwald 1831, *Ph. h. ssp.* (II Казахстан) (*)] *Ph. meridionalis* Dunayev, Solovyeva, Poyarkov, 2012, *Ph. saidalievi* Sattorov, 1981, *Ph. persicus* De Filippi, 1863 [подвиды: *Ph. p. persicus* De Filippi, 1863, *Ph. persicus ssp.* (Азербайджан) (*)] *Ph. horvathi* Mehely, 1894, *Ph. sp. 3* (Ю Иран) (*).

Группа видов «*raddei*»: *Ph. ocellatus* (Lichtenstein in Eversmann, 1823), *Ph. bannikovi* Darevskij, Rustamov et Shammakov, 1976, *Ph. raddei* Boettger, 1888, *Ph. boettgeri* Bedriaga, 1905.

Таксоны, не отнесенные к видовым группам: *Ph. axillaris* Blanford, 1875, *Ph. strauchi* Nikolsky, 1899, *Ph. rossikowi* Nikolsky, 1898 (**) [подвиды: *Ph. r. rossikowi* Nikolsky, 1898, *Ph. r. shammakowi* Scerbak et Golubev, 1979 (*, **)].

Подрод Ушастые круглоголовки *Megalochilus* Eichwald, 1831

Ph. mystaceus (Pallas, 1776) [подвиды: *Ph. m. mystaceus* (Pallas, 1776), *Ph. m. aurantiacocaudatus* Semenov et Shenbrot, 1990 (*)], *Ph. sp. 2* (Иран) (*).

Подрод Тибетские круглоголовки *Oreosaura* Barabanov et Ananjeva, 2007

Ph. erythrurus Zugmayer, 1909, *Ph. forsythii* Anderson, 1872, *Ph. guinanensis* Ji, Wang et Wang, 2009, *Ph. putjatai* Bedriaga, 1909, *Ph. roborowskii* Bedriaga, 1906 (**), *Ph. theobaldi* Blyth, 1863, *Ph. vlangalii* Strauch, 1876 [подвиды: *Ph. v. vlangalii* Strauch, 1876, *Ph. v. hongyuanensis* Zhao, Jiang et Huang, 1980].

Группа ранга подрода Песчаные круглоголовки (*)**

Ph. clarkorum Anderson et Leviton, 1967 (**), *Ph. euptilopus* Alcock et Finn, "1896" 1897 (**), *Ph. interscapularis* Lichtenstein, 1856 [подвиды: *Ph. i. interscapularis* Lichtenstein, 1856, *Ph. i. sogdianus* Chernov, 1948, *Ph. i. ssp.* (Узбекистан) (*)], *Ph. luteoguttatus* Boulenger, 1887 (**), *Ph. ornatus* Boulenger, 1887 [подвиды: *Ph. o. ornatus* Boulenger, 1887 (**), *Ph. o. vindumi* Golubev, 1998].

Подрод Иранские круглоголовки *Phrynosaurus* Fitzinger 1843

Ph. scutellatus (Olivier, 1807) [подвиды: *Ph. s. scutellatus* (Olivier, 1807), *Ph. s. ssp. cf. brevipes* Nikolsky, 1907 (Хорасан) (*)], *Ph. sp. cf. tickelii* Gray, 1845 (Белуджистан) (*).

Группа ранга подрода Ближневосточные круглоголовки (*)**

Ph. arabicus Anderson, 1894, *Ph. golubewii* Shenbrot et Semenov, 1990, (**), *Ph. longicaudatus* Haas, 1957, *Ph. maculatus* Anderson, 1872.

Виды *Incertae sedis*

Ph. nasatus Golubev et Dunayev, 1995 (**).

(*) – таксономический статус указанных таксонов неопределен ввиду недостатка морфологических данных и данных популяционной генетики, необходимы дальнейшие исследования.

(**) – молекулярно-генетическая информация по таксонам на сегодняшний день отсутствует, для оценки их филогенетического положения в роде *Phrynocephalus* требуются дополнительные исследования.

(***) – описание предлагаемых таксонов подродового ранга подготовлено и подано в печать.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные филогенетические схемы рода круглоголовок *Phrynocephalus* в достаточной степени разрешены и позволяют проводить моделирование сценариев расселения отдельных линий рода. Наше исследование подтвердило монофилию рода *Phrynocephalus* и выявило его филогенетическую структуру, в которой можно выделить три основные значительно обособленные клады, из которых первая объединяет виды Ближнего и Среднего Востока и псаммофильные виды Турана, вторая – яйцекладущие виды Турана, Средней и Центральной Азии и третья – тибетские живородящие виды. Сопоставление топологий деревьев, построенных по данным мтДНК и яДНК, выявляет ряд противоречий; нельзя исключать вероятность древней гибридизации в истории рода круглоголовок. Изучение изменчивости митохондриальной ДНК дает возможность прояснить генетическую структуру на уровне видовых комплексов круглоголовок и полезно для уточнения таксономического статуса спорных форм. При этом филогенетические схемы, полученные по данным анализа генов ядерной ДНК, демонстрируют большую устойчивость, согласованность между собой и с традиционной систематикой, чем результаты анализа генов мтДНК. Большинство базальных групп круглоголовок распространено на Ближнем Востоке, в Иране и Туране; эта территория рассматривается нами как вероятная область возникновения рода. Вероятно, формирование круглоголовок было связано с постепенным закрытием Тетиса вследствие столкновения Аравийской плиты и Иранской суши в миоцене, приведшего к аридизации климата и формированию пустынных ландшафтов в этом регионе. Реконструкция предковой экологической ниши *Phrynocephalus* затруднительна, так как базальные линии рода представлены как псаммофильными, так и склеробионтными видами.

ВЫВОДЫ

1. Филогенетический анализ 6891 п.о. митохондриальных и ядерных ДНК-маркеров для 36 таксонов рода *Phrynocephalus* мировой фауны уверенно подтвердил монофилию этого рода и его близость горным агамам *Laudakia s. lato*.
2. В пределах рода *Phrynocephalus* на основании как мтДНК, так и яДНК выделено 10 обособленных монофилетических групп: (A) «*scutellatus*», (B) «*arabicus – maculatus*», (C) «*interscapularis*», (D) «*mystaceus*» (*Megalochilus*), (E) «*helioscopus*», (F) «*axillaris*», (G) «*ocellatus – raddei*», (H) «*vlangalii – theobaldi*» (*Oreosaura*), (I) «*versicolor*», (J) «*guttatus*».
3. Данные мтДНК недостаточно информативны для разрешения начальных этапов дифференциации рода, в то время как данные яДНК свидетельствуют о наличии трех основных клад, из которых первая объединяет виды Ближнего и Среднего Востока и псаммофильные виды Турана (группы A–D), вторая – яйцекладущие виды Турана, Средней и Центральной Азии (группы E–G, I, J) и третья – тибетские живородящие виды (группа H), последняя находится в сестринских отношениях с первой кладой.
4. Полученные на основе анализа мтДНК и яДНК филогенетические схемы времен филогенетических событий, характеризующие этапы эволюции рода *Phrynocephalus*, в значительной степени согласуются между собой. Противоречия митохондриальных и ядерных

- дендрограмм заключаются в (1) определении ближайшей к корню группы рода *Phrynocephalus*; (2) филогенетическом положении группы *Ph. mystaceus* (D); (3) положении подрода *Oreosaura*.
5. Существуют несоответствия между гипотезами, полученными на основе анализа молекулярно-генетических признаков, и традиционными представлениями о таксономических взаимоотношениях представителей *Phrynocephalus*. Действительное разнообразие рода недооценено и в недостаточной мере отражено в современной системе.
- А. Нарушение монофилии вида в его традиционном понимании требует придания видового статуса формам *Ph. longicaudatus*, *Ph. hispidus* и *Ph. kulagini*. Большие генетические дистанции указывают на вероятность видового статуса некоторых форм в комплексах *Ph. scutellatus*, *Ph. helioscopus*, *Ph. persicus*, *Ph. mystaceus*, *Ph. hispidus*, *Ph. kushakewitschi*.
- В. Ряд форм ввиду слабой генетической обособленности могут рассматриваться как подвиды. Линии подвидового уровня дифференциации выявлены в комплексах *Ph. guttatus*, *Ph. melanurus*, *Ph. helioscopus*, *Ph. persicus*, *Ph. mystaceus*, *Ph. interscapularis*, *Ph. scutellatus*. Таксономически наиболее проблемным остается комплекс *Ph. versicolor* – *Ph. frontalis* – *Ph. przewalskii*.
6. Линии базальной дифференциации рода *Phrynocephalus* представлены автохтонными видами Ближнего и Среднего Востока, а также Турана; эта территория, вероятно, представляет собой область возникновения рода, что согласуется с точкой зрения о существовании очага пустынной герпетофауны в южной части Средней Азии и на Ближнем Востоке. Обособление предков рода *Phrynocephalus* должно было произойти в позднем олигоцене (около 27 млн лет назад), а базальная радиация предка современных круглоголовок относится к концу среднего миоцена (около 15 млн лет назад).
7. Согласно предлагаемой системе подродового деления *Phrynocephalus*, подроды *Megalochilus* и *Oreosaura* сохраняют свою валидность; для группы *Ph. scutellatus* восстановлен подрод *Phrynosaurus* и предложено выделение двух новых таксонов подродового ранга, объединяющих представителей группы «*arabicus* – *maculatus*» и группы «*interscapularis*». Предлагаемая новая система рода *Phrynocephalus* включает 43 таксона видового ранга и порядка 30 таксонов подвидового ранга.

БЛАГОДАРНОСТИ

Приношу искреннюю благодарность за мудрое и чуткое руководство А.А. Банниковой и Н.А. Пояркову; за советы и помощь в филогенетическом анализе – В.С. Лебедеву; за консультации и плодотворные обсуждения – Е.А. Дунаеву; В.Ф. Орловой за предоставленную возможность работы с коллекциями ЗММГУ и поддержку; С.А. Косушкину за рецензирование предварительной версии работы; В.В. Гречко за предоставленную возможность работы с SINEs и частичную финансовую поддержку моих исследований; Ф. Ахмадзадэ, Д.А. Бондаренко, И.Э. Вашетко, Ч. Дзин, Т.Н. Дуйсебаевой, А.В. Коваленко, Х. Мунхбаяру, Р.А. Назарову, В.Ф. Орловой, Д.В. Семенову, Т. Тадевосяну, Я. Фан, М.А. Чириковой, Х. Читсазану за помощь в сборе материала и любезно предоставленные образцы; всем, кто участвовал в полевой работе, и принимающей стороне; отдельная благодарность коллегам по кабинету молекулярных методов кафедры зоологии позвоночных за неоценимую поддержку. Большая часть последовательностей фрагмента гена COI была получена на базе Канадского центра баркодинга (Canadian Center of DNA Barcoding, BOLD) на средства Genome Canada и Ontario Genomics Institute (2008-OGI-ICI-03) при непосредственном участии А.В. Борисенко, Н.И. Ивановой и П.Д.Н. Эбэра. Проведенные исследования финансировались Российским фондом фундаментальных исследований (№12-04-01552) и соответствуют задачам этого фонда. Всем указанным лицам и организациям автор выражает свою глубокую благодарность.

ПУБЛИКАЦИИ ПО МАТЕРИАЛАМ ДИССЕРТАЦИИ

Работы, опубликованные в изданиях, рекомендованных ВАК:

1. Косушкин С.А. Семейство коротких ретропозонов (Squam1) в ДНК чешуйчатых рептилий (Reptilia: Squamata): структура, эволюция и соотношение с филогенией таксона / С.А. Косушкин, О.Р. Бородулина, **Е.Н. Соловьева**, В.В. Гречко // Молекулярная биология. – 2010. – Т. 42. – Вып. 6. – С. 977–989.
2. **Соловьева Е.Н.** 2011. Молекулярная дифференциация и систематика надвидового комплекса такырной круглоголовки *Phrynocephalus superspecies helioscopus* (Pallas 1771) (Reptilia: Agamidae) / **Е.Н. Соловьева**, Н.А. Поярков, Е.А. Дунаев, Т.Н. Дуйсебаева, А.А. Банникова // Генетика. – 2011. – Вып. 7. – С. 952–967.
3. **Соловьева Е.Н.** Подвидовая систематика комплекса такырной круглоголовки (*Phrynocephalus helioscopus* (Pallas 1771)) (Squamata, Agamidae) / **Е.Н. Соловьева**, Е.А. Дунаев, Н.А. Поярков // Зоологический журнал. – 2012. – Т. 91. – Вып. 11. – С. 1377–1396.

Материалы конференций:

4. **Соловьева Е.Н.** Особенности систематики и филогеографии видового комплекса такырных круглоголовок (*Phrynocephalus helioscopus*) (Reptilia: Agamidae) / **Е.Н. Соловьева**, Н.А. Поярков // Тезисы XVI конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2009», секция «Биология». – 2009. – С. 10–11.
5. **Solovyeva E.N.** Taxonomy and phylogeography of the sunwatcher toad-headed agama species complex (*Phrynocephalus helioscopus* and *Phrynocephalus persicus*; Reptilia: Agamidae) / **E.N. Solovyeva**, N.A. Poyarkov, E.A. Dunayev, T.N. Dujsebayaeva, R.A. Nazarov, K. Munkhbayer, H. Cheatsazan // SEH 15th OGM, programs and abstracts. – 8 September – 2 October 2009.
6. Dunayev E.A. Phylogeographic patterns in *Phrynocephalus guttatus* – *Phrynocephalus versicolor* species complex (Reptilia: Agamidae) from Central Asia / E.A. Dunayev, N.A. Poyarkov, V.A. Matrosova, **E.N. Solovyeva**, T.N. Dujsebayaeva, K. Munkhbayer // SEH 15th OGM, programs and abstracts. – 8 September – 2 October 2009.
7. **Соловьева Е.Н.** Анализ распространения видового комплекса такырной круглоголовки *Phrynocephalus helioscopus* (Reptilia: Agamidae) / **Е.Н. Соловьева**, Н.А. Поярков // Тезисы XVII Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2010», секция «Биология». – 2010. – С. 142.
8. **Solovyeva E.N.** Phylogeny of the sunwatcher agama species complex, *Phrynocephalus helioscopus* (Reptilia, Agamidae) inferred from mitochondrial and nuclear DNA markers / **E.N. Solovyeva**, N.A. Poyarkov, E.A. Dunayev, A.A. Bannikova // Molecular Phylogenetics – 2, programs and abstracts, May 18–21. – 2010. – P. 71.
9. **Solovyeva E.N.** Molecular differentiation and distribution within the species complex of *Phrynocephalus helioscopus* (Reptilia: Agamidae) / **E.N. Solovyeva**, N.A. Poyarkov // De Agamis, 2nd International Symposium on agamid lizards, programs and abstracts, 16–20 August. – 2010. – P. 26–27.
10. **Solovyeva E.N.** Molecular phylogeny of toad-headed agamas of the genus *Phrynocephalus* (Agamidae, Reptilia) inferred from mt and nuDNA markers / **E.N. Solovyeva**, N.A. Poyarkov // Molecular Phylogenetics – 3, programs and abstracts, 31 July – 4 August 2012. – P. 30.
11. **Solovyeva E.N.** Toad-headed agamas: some new insights on phylogeny of the genus *Phrynocephalus* (Agamidae, Reptilia) inferred from mt and nuDNA markers / **E.N. Solovyeva**, N.A. Poyarkov // WCH-7, programs and abstracts, 8–14 August 2012. – P. 673.
12. **Solovyeva E.N.** Molecular phylogeny of toad-headed agamas (Agamidae, *Phrynocephalus*) inferred from mitochondrial and nuclear DNA / **E.N. Solovyeva**, N.A. Poyarkov, E.A. Dunayev // MAPEEG-2013, programs and abstracts, 2–6 September 2013. – P. 4.