

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М. В. ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи

Ильина Ирина Юрьевна

Популяционно-географическая дифференциация близкородственных видов птиц на примере пеночки-веснички (*Phylloscopus trochilus*) и пеночки-теньковки (*Phylloscopus collybita*)

1.5.12 – Зоология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2024

Диссертация подготовлена на кафедре зоологии позвоночных биологического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова.

Научный руководитель: *Марова-Кляйнбуб Ирина Михайловна*
доктор биологических наук

Официальные оппоненты: *Опаев Алексей Сергеевич*
доктор биологических наук
Институт проблем экологии и эволюции
имени А. Н. Северцова РАН
лаборатория сравнительной этологии и
биокоммуникации
ведущий научный сотрудник

Веденина Варвара Юрьевна
доктор биологических наук
Институт проблем передачи информации
имени А. А. Харкевича РАН
лаборатория обработки сенсорной информации
и.о. заведующего лабораторией

Рубцов Александр Сергеевич
кандидат биологических наук
ГБУК г. Москвы
«Государственный Дарвиновский музей»
Образовательный отдел
Старший научный сотрудник

Защита диссертации состоится 8 апреля 2024 г. в 15 часов 30 минут на заседании диссертационного совета МГУ.015.8 Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова по адресу: 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, МГУ, биологический факультет, ауд. М-1.

E-mail: ksenperf@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М. В. Ломоносова (Ломоносовский просп., д.27) и на портале: <https://dissovet.msu.ru/dissertation/2894>

Автореферат разослан « ___ » _____ 2024 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук



К.С. Перфильева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования и степень разработанности проблемы

Проблемы географической изменчивости и видообразования живых организмов, будучи тесно взаимосвязаны, остаются в центре внимания эволюционистов, биогеографов и систематиков на протяжении многих десятилетий, однако не утратили своей актуальности по сей день. В этой связи особый интерес представляют виды с обширными ареалами, в границах которых формируется значительное разнообразие условий обитания, стимулирующее процессы внутривидовой дифференциации и приводящее к появлению новых видов и подвидов. Таким образом, перспективным подходом к изучению географической изменчивости может быть сравнение близкородственных видов, отличающихся по структуре ареалов и степени таксономической дифференциации.

Пеночка-теньковка (*Phylloscopus collybita*) и пеночка-весничка (*Ph. trochilus*) часто фигурируют в орнитологической литературе как пример значительного морфологического сходства видов, контрастирующего с резкими отличиями в звучании их песен, что наблюдается на большей части их огромных транспалеарктических ареалов (Alström et al., 2018; Ticehurst, 1938; Helbig et al., 1996). Эти биологические особенности придают весничке и теньковке свойства перспективных объектов для проведения сравнительного анализа популяционно-географической дифференциации на всём пространстве их обширных ареалов, на большей части которых эти пеночки симпатричны и зачастую селятся бок о бок друг с другом.

В последние десятилетия, с развитием молекулярно-генетических методов, исследования близкородственных видов проводятся на основе интегративного подхода (integrative approach), подразумевающего изучение всей совокупности признаков: морфологических, генетических и биоакустических (Alström et al., 2018; Tietze et al., 2015). Последовательное применение комплексного подхода позволяет исследователям использовать принципиально более широкие возможности и, в частности, оказывается особенно продуктивным при изучении процессов внутривидовой и межпопуляционной дифференциации (в том числе таксономической).

Степень таксономической дифференциации веснички и теньковки глубоко различна. У веснички выделяют 3 слабо дифференцированных подвида (Hartert, 1934; Salomonsen, 1928; Ticehurst, 1938; Портенко, 1939; Glutz von Blotzheim & Bauer, 1991; Степанян, 1990; Clements et al., 2022; Shirihai and Svensson, 2018; Gill et al., 2023). В противоположность этому, у теньковки выделяют не менее 12 подвидов, большинство из которых характеризуются достаточно чётко обозначенными морфологическими отличиями, устраняющими сомнения в их таксономической валидности (Ticehurst, 1938; Helbig et al., 1996; del Hoyo et al., 2016; Racovich et al., 2019). Более того, в настоящее время теньковок обычно рассматривают в качестве надвидового комплекса, состоящего из нескольких видов (Helbig et al., 1996; del Hoyo et al., 2016).

С точки зрения географического распространения весничка и теньковка отчасти похожи (Рис. 1). Ареалы обоих видов включают практически всю полосу бореальных и неморальных лесов Палеарктики, простираясь к северу до границ распространения древесно-кустарниковой растительности в тундре и к востоку до Колымы (теньковка) и Анадыря (весничка). Наиболее важное отличие состоит в том, что весничка отсутствует на гнездовье во всех горных районах южной Палеарктики, тогда как теньковка распространена здесь достаточно широко, образуя при этом целый ряд хорошо обособленных форм преимущественно с аллопатричным распространением (Пиренеи, Эльбурс, Кавказ, Копетдаг, Памир, Гималаи).

Попытки реконструировать историю расселения веснички и теньковки предпринимались неоднократно (Thielke, Linsenmair, 1963, Martens, 1980, Симкин, 1990, Richman, Price, 1992). Однако сравнение масштабов дифференциации песни, а также морфологической и генетической дифференциации этих близких видов на всём пространстве их ареалов никогда не проводилось. Ключевой вопрос, как нам представляется, состоит в том, в какой мере указанные отличия в структуре ареалов теньковки и веснички отражаются на масштабах и формах внутривидовой морфологической, биоакустической и генетической дифференциации двух видов, а также насколько сопряжены эти три вектора изменчивости.

Цель данной работы состоит в сравнительном изучении популяционно-географической изменчивости морфологических, акустических и генетических признаков веснички и теньковки на пространстве их ареалов.

Для достижения цели мы поставили перед собой следующие **задачи**:

- На основе анализа музейных коллекций и полевого материала изучить морфологические параметры (окраска и размеры) веснички и теньковки.
- Изучить внутривидовую и межпопуляционную изменчивость акустических признаков веснички и теньковки на пространстве ареалов.
- На основе анализа митохондриальных и ядерных генов изучить внутривидовую генетическую структуру веснички и теньковки.
- Выявить возможные причины и закономерности формирования структуры ареалов изучаемых видов.

Научная новизна работы. Впервые на основе музейных коллекций и полевого материала проведен анализ морфологических параметров по всему ареалу веснички, а также в малоизученных популяциях теньковки. Впервые дана характеристика межпопуляционной изменчивости вокализации веснички и теньковки на всем пространстве их ареалов. Проведен филогенетический анализ митохондриальных и ядерных генов веснички и теньковки, уточнен статус ряда форм теньковки, обнаружен новый гаплотип теньковки в южной Турции. Открыта новая зона вторичного контакта в ареале теньковки в Предкавказье. Впервые описано разнообразие и изменчивость «вставочных элементов» в песне теньковки. Предложена гипотеза формирования современных ареалов теньковки и веснички на основе совокупности полученных данных и анализа миграционных стратегий видов.

Теоретическое и практическое значение работы. Результаты исследования вносят вклад в изучение внутривидовой генетической дифференциации пеночек –

веснички и теньковки на пространстве ареалов, что позволяет по-новому взглянуть на пути формирования данных видов и на закономерности параллельной эволюции морфологических, акустических и генетических признаков птиц. Комплексный сравнительный анализ данных видов по ряду признаков вносит вклад в изучение фундаментальной проблемы видообразования, закономерностей изменения признаков в пространстве и во времени. Данные диссертации могут быть использованы при исследовании процессов видообразования и микроэволюции, быть полезны при преподавании курсов общей зоологии, зоологии позвоночных, экологии, биоакустики и эволюции в высших учебных заведениях.

Методология и методы исследования. Материал собран в 2011–2019 гг. в ходе полевых исследований автора на территории России, Таджикистана, Армении, Турции. В анализ морфологических признаков вошли экземпляры преимущественно из коллекции Зоологического музея МГУ, а также отловленные в ходе полевых исследований. Отлов птиц производился паутиными сетями при помощи звуковых ловушек. Все манипуляции с птицами проводились прижизненно.

Биоакустический анализ включал запись песен в полевых условиях, измерение параметров звуков и их статистическую обработку. Пение записывали профессиональными цифровыми рекордерами: магнитофон Marantz PMD 222, 690, 620, минидисковый рекордер Sony MZ-RH с выносными конденсаторными микрофонами: Philips SBS ME 570 (с параболой Sony PBR-330), либо Sennheiser ME 66, 67 с модулем-предусилителем К6. Статистическая обработка проведена в программах R и STATISTICA 8.0.

Молекулярно-генетическую часть работы – выделение ДНК, проведение ПЦР, подготовку к секвенированию, а также обработку данных выполняли в кабинете молекулярных методов кафедры зоологии позвоночных биологического факультета МГУ, а также в лаборатории популяционной генетики Института общей генетики им. Н.И.Вавилова (ИОГЕН РАН). Секвенирование ДНК проводилось на базе лаборатории ЗАО «Евроген» (Москва). Молекулярно-генетические данные анализировали с помощью современных программ и алгоритмов.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Внутривидовая генетическая дифференциация на пространстве ареала теньковки значительно выше, чем у веснички, что свидетельствует о разных сроках и путях формирования этих близкородственных видов.
2. Отсутствие внутривидовой генетической дифференциации и слабая акустическая дифференциация свидетельствуют о недавнем быстром увеличении численности популяции веснички, сопровождавшемся расселением на север и восток ареала из одного рефугиума в Западной Европе.
3. Хозяйственная деятельность человека в Предкавказье привела к быстрому встречному расселению подвидов теньковки *caucasicus* и *abietinus* и возникновению новой зоны вторичного контакта с возможностью гибридизации.
4. «Вставочные элементы» в песне теньковки специфичны для подвидов и одинаковы на всем протяжении их ареалов. В зоне контакта и гибридизации

«вставочные элементы» обладают промежуточными акустическими характеристиками.

Личный вклад автора. Соискатель лично принимал участие во всех этапах работы: в планировании исследования, сборе данных в полевых условиях, морфометрическом анализе, анализе звуков и молекулярно-генетическом анализе проб, статистической обработке данных, анализе и обобщении результатов, подготовке рукописей и публикации статей, написании докладов и представлении результатов работы на всероссийских и международных конференциях.

Степень достоверности результатов. Достоверность результатов обоснована достаточным объёмом данных, воспроизводимостью результатов, использованием современных методов как записи и анализа звуков, так и молекулярно-генетических методов; корректным применением статистических методов, критическим анализом результатов исследования и сопоставлением их с актуальными данными литературы.

Публикации. По материалам кандидатской диссертации опубликовано 6 печатных работ, из них: 3 статьи в рецензируемых журналах, индексируемых в международных базах данных Scopus и Web of Science. Во всех опубликованных работах вклад автора является определяющим. Автор принимал активное участие как в постановке научных задач, сборе материала и его обработке, так и в трактовке полученных результатов, подготовке текстов статей и представлении их в редакции журналов, а также в переписке с редакторами и рецензентами. Степень участия автора в публикациях указана для каждой публикации в списке публикаций по теме диссертации.

Апробация диссертационной работы. Материалы работы представлены на XXVI Международном орнитологическом конгрессе (Токио, Япония, 2014), Международном биоакустическом конгрессе (Мурнау, Германия, 2015), IV Международной орнитологической конференции Северной Евразии памяти М.А. Мензбира (Алматы, Казахстан, 2016), Международной орнитологической конференции «Птицы и сельское хозяйство: современное состояние, проблемы и перспективы изучения» (Якорная щель, Россия, 2018), Всероссийской конференции, посвященной 120-летию со дня рождения профессора Г.П.Дементьева (Звенигородская биостанция, Россия, 2018), Втором Всероссийском орнитологическом конгрессе (Санкт-Петербург, Россия, 2023). Результаты работы были доложены на заседании лабораторий экологии наземных позвоночных и орнитологии, а также на заседании кафедры зоологии позвоночных биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова (2023).

Структура и объем работы. Диссертационная работа изложена на 177 страницах, содержит 12 таблиц, 47 рисунков и состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты (в трёх главах), обсуждение результатов, заключение, выводы, список литературы и приложение. Список литературы включает 197 источников, из которых 148 – на английском языке.

Благодарности. Выражаю особую благодарность своему научному руководителю – д.б.н. И.М. Маровой за вдохновение, всестороннюю помощь и советы в ходе выполнения работы. Благодарю д.б.н., профессора В.В. Иваницкого за научные консультации и поддержку, а также помощь в обработке материала и работе над текстом диссертации. Благодарю к.б.н. П.В. Квартальнова и к.б.н. Я.А. Редькина за обучение и неоднократную помощь в сборе материала. Благодарю к.б.н. М.М. Белоконь, к.б.н. Ю.С. Белоконь и к.б.н. Е.Н. Соловьеву за обучение, помощь в обработке материала и обсуждение результатов. Благодарю д.б.н. Д.В. Политова за возможность работы в руководимой им лаборатории популяционной генетики ИОГЕН РАН. Благодарю к.б.н. В.И. Грабовского за помощь в сборе материала. Выражаю глубокую признательность своей семье, друзьям и коллегам за помощь и поддержку.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1. Введение

Во введении обоснована актуальность, сформулированы цели и задачи работы.

ГЛАВА 2. Обзор литературы

В первой части обзора литературы даётся характеристика рода Пеночек, вторая часть посвящена сравнительной характеристике веснички и теньковки. Охарактеризованы ареалы и внутривидовая систематика, морфологические особенности, вокализация, зимовки, пути миграций, экологическая специфика. Обсуждается традиционное разделение теньковок на «зелёные» («европейские») и «коричневые» («азиатские») формы.

ГЛАВА 3. Материалы и методика

Сбор материала. Полевые исследования проведены с 2011 по 2019 годы в следующих регионах (Рис. 1). В анализ вошли материалы как полученные лично автором в ходе полевых исследований в 12 географических точках, так и любезно предоставленные коллегами или взятые из открытых депозитариев (21 локация).

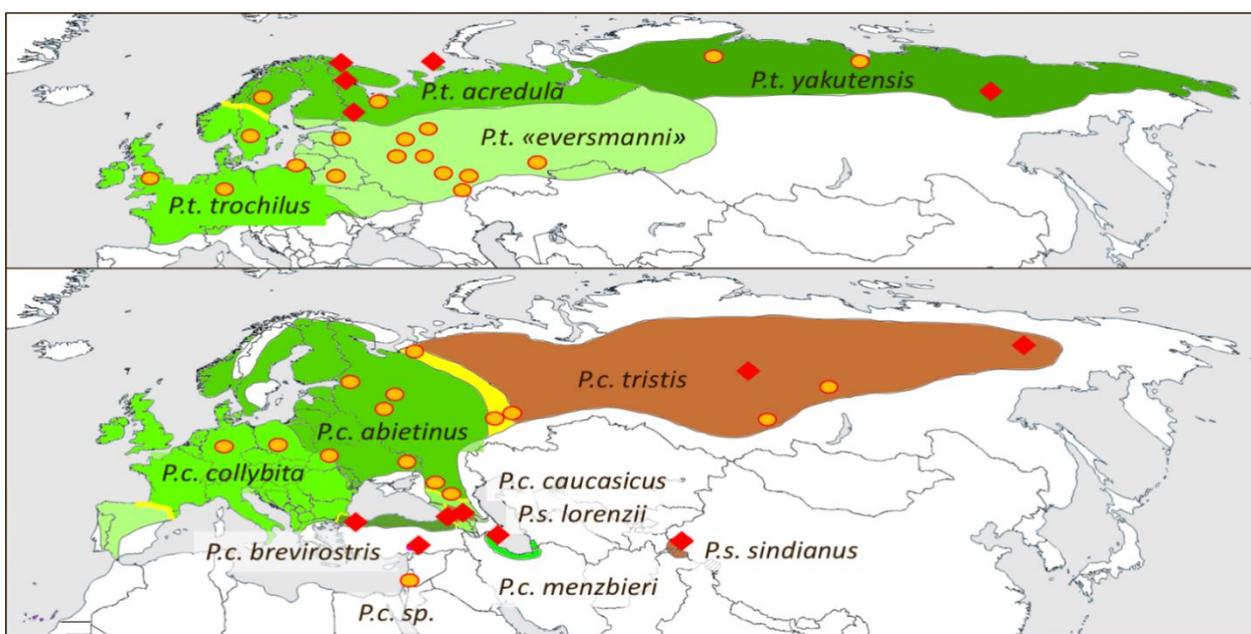


Рис. 1. Точки сбора материала веснички и теньковки. Красный – собрано лично автором, жёлтый – данные предоставлены коллегами или взяты из открытых депозитариев.

Генетический анализ. В качестве генетических маркеров для разделения форм исследуемых видов использовали митохондриальный ген цитохрома *b* (*cyt b*) и 8 ядерных микросателлитных локусов. Все полученные нуклеотидные последовательности цитохрома *b* опубликованы в GenBank. В анализ вошли гематологические образцы (кровь, высушенная на фильтровальной бумаге), полученные во время полевых исследований автора и коллег, а также образцы тканей (скелетные мышцы, печень), фиксированные в спирте, из коллекции Зоологического музея МГУ. Выделение ДНК, ПЦР, очистку продуктов ПЦР, их секвенирование проводили по стандартным методикам. Генотипировано 114 образцов 2 видов теньковки и 94 образца веснички; также в анализ были включены последовательности, доступные в GenBank.

Последовательности цитохрома *b* сначала выравнивали, а затем оптимизировали вручную с помощью редактора выравнивания последовательностей BioEdit 5.0.9 (Hall, 1999). Некоторые последовательности были короче 1016 п.н., поэтому все сиквенсы теньковок обрезали до 902 п.н. в длину, весничек – до 733 п.н. Разнообразие гаплотипов и нуклеотидов, тест нейтральности Таджима (Tajima, 1989) и общая генетическая изменчивость G_{ST} (Nei, 1973) и значения F_{ST} были получены из DnaSP v. 6.11.01 (Librado and Rozas, 2009). Филогенетические отношения между гаплотипами были реконструированы с помощью сети Median Joining (Bandelt et al., 1999) с использованием PopART v. 1.7 (Leigh and Bryant, 2015). Филогенетическое дерево для последовательностей *cyt b* было построено с использованием алгоритма максимального правдоподобия (ML) в программе MEGA 6.0 (Tamura et al., 2013). Достоверность топологии дерева была проверена с помощью непараметрического бутстреп-анализа (Felsenstein 1985) с 1000 повторений. Также был проведен филогенетический анализ с помощью байесовского анализа с помощью MrBayes v. 3.2.7 (Huelsenbeck and Ronquist 2001; Ronquist and Huelsenbeck 2003). Дерево было построено после запуска цепи Маркова Монте-Карло на 500 000 поколений с выработкой 10 000 поколений. Модель эволюции для обоих филогенетических анализов была НКУ (Hasegawa et al. 1985) и предсказана в программе MEGA (Tamura et al., 2013). Кроме того, последовательности обыкновенной теньковки (*Phylloscopus collybita*) были взяты в качестве внешней группы также из GenBank. Кроме того, последовательности веснички (*Phylloscopus trochilus*) были взяты в качестве внешней группы также из GenBank. Средние нескорректированные генетические дистанции (p-дистанции) между и внутри групп были определены с помощью MEGA 6.0 (Tamura et al. 2013).

Для веснички был проведен микросателлитный анализ по восьми локусам: Phtr1, Phtr2, Phtr3 (Fridolfson et al., 1997); POCC2, POCC5, POCC8 (инвентарный номер: U59114, U59116, U59119, Bensch et al., 1997); Ase18 (AJ276375, Richardson et al., 2000); Pca3 (AJ279805, Dawson et al., 2000). Анализ длины амплифицированных фрагментов определяли с помощью вертикального электрофореза продуктов ПЦР в блоках 6% полиакриламидного геля (ПААГ) в ячейках для вертикального

электрофореза. Мы определяли длину фрагментов с помощью Photo-Capt версии 12.4 для Windows (Vilber Lourmat, Франция). Статистический анализ аллельного разнообразия и межпопуляционной генетической дифференциации (N_a – среднее число аллелей на локус, H_o – наблюдаемая гетерозиготность, H_e – ожидаемая гетерозиготность, F_{is} – коэффициент инбридинга) проводили в программах GenAlEx версии 6.5 (Peakall, Smouse 2006, 2012) и STRUCTURE 2.3.4 (Pritchard et al., 2000). Мы обнаружили наличие нулевого аллеля и рассчитали ожидаемые частоты аллелей, используя MicroChecker 2.2.3 (van Oosterhout et al., 2004). Индивидуальные генетические расстояния (GD) были рассчитаны GenAlEx для выполнения анализа основных координат (PCoA) для 94 образцов. Визуализацию результатов PCoA проводили с помощью программного обеспечения для анализа данных STATISTICA версии 8.0 (StatSoft, Inc., США, 2007 г.; www.statsoft.com). Наиболее вероятное количество кластеров генотипов (K) оценивали по методу Эванно (Evanno et al., 2005). Алгоритм байесовской кластеризации микросателлитов был изменен в STRUCTURE (Pritchard et al., 2000); количество поколений цепей Монте-Карло Маркова составило 100000, с приработкой 10000 поколений (для каждого значения K (от 2 до 5)). Последующая обработка и визуализация результатов для четырёх значений K были рассчитаны в CLUMPAK (Kopelman et al., 2015).

Анализ морфологических признаков. Мы проанализировали образцы веснички преимущественно из коллекций Зоологического музея МГУ. Они были дополнены материалами ЗИН РАН, Зоологического музея Киевского университета, Сибирского зоологического музея Института систематики и экологии животных СО РАН. Информация о географическом расположении, размерах выборки и подвидах представлена в дополнительной Таблице 3. Объемы выборок для самцов: *trochilus*, $n = 24$; *acredula*, $n = 78$; *eversmanni*, $n = 139$; *yakutensis*, $n = 36$; для самок: *trochilus*, $n = 9$; *acredula*, $n = 35$; *eversmanni*, $n = 44$; *yakutensis*, $n = 13$. Мы проанализировали окраску 744 экземпляров (*trochilus*, ad $n = 24$, sad $n = 6$; *acredula*, ad $n = 167$, sad $n = 62$; *eversmanni*, ad $n = 295$, sad $n = 130$; *yakutensis*, ad $n = 50$, sad $n = 10$). Отдельно сравнивалась окраска оперения взрослых экземпляров птиц, а также молодых птиц в свежем осеннем перье. В морфологический анализ теньковки вошли данные, полученные при отловах во время полевых исследований. Всего отловлено, измерено и сфотографировано 56 теньковок в Предкавказье, 12 – в Турции, 20 – в Армении, 13 – в Осетии (*caucasicus*) и 22 – в Московской области.

Анализ акустических признаков. В общей сложности автором получены фонограммы 230 самцов теньковок из 29 популяций и 146 самцов весничек из 26 популяций, что составляет около 30 часов звукозаписи. Используются также фонограммы, любезно предоставленные коллегами, а также размещенные в российских (Фонотека голосов животных ИПЭЭ РАН им. Б.Н. Вепринцева) и международных депозитариях (www.xeno-canto.org). Визуализация звуков и измерения были выполнены с помощью программ Syrinx (J. Burt, Seattle, WA, USA) и Avisoft SASLab Pro 4.1. Из фонограммы каждого самца теньковок мы включили в анализ 3 фрагмента песни продолжительностью 3 с. Для каждого фрагмента измеряли следующие параметры: максимальная и минимальная частота (kHz),

частотный диапазон (kHz), длина нот (сек), длина пауз между нотами (сек), общее число нот, скорость пения (нот/с), вокальный индекс (соотношение количества нот с восходящей и нисходящей частотной модуляцией для «коричневых» форм теньковки) (Марова и др., 2009), пиковая частота (для анализа теньковок южной ветви и «коричневых» форм). Помимо этого, для каждого самца теньковки был определен общий объем вокального репертуара. Для каждой популяции весничек были выбраны от 8 до 10 самцов (в зависимости от доступного материала). Для каждого самца отобрано по 10 песен в случайном порядке. Каждую песню, в свою очередь, анализировали по следующим параметрам: максимальная и минимальная частота, частотный диапазон, продолжительность песни, общее количество нот в песне, скорость эмиссии нот (отношение общего числа нот к продолжительности песни), количество различных типов нот в песне, количество нот из самой длинной серии нот в песне, индекс разнообразия песни (среднее значение отношения различных нот к общему количеству нот). В частотно-временном анализе для каждого самца по всем параметрам были вычислены медианы, которые могли быть использованы как независимые наблюдения (один самец – одна медиана для каждого параметра). В анализ вокализации веснички вошли самцы из 14 географических популяций со всего ареала; для каждой точки записано 9–10 самцов. Для анализа вокализации теньковки было создано несколько выборок из следующих популяций: теньковки северной ветви, обитающие на территории центральной Европы и Сибири (14 популяций), теньковки южной ветви, обитающие на Кавказе, Турции, Туркмении и Армении (11 популяций), «коричневые» теньковки, обитающие на Кавказе, в Сибири и Таджикистане (8 популяций), теньковки Ростовской области и Калмыкии – зона контакта в Предкавказье (8 популяций). Также была создана выборка для анализа «вставочных элементов» (13 популяций).

ГЛАВА 4. Результаты

Молекулярно-генетический анализ. Весничка. Мы генотипировали 94 образца по 8 микросателлитным локусам. Частоты аллелей всех локусов приведены в дополнительной таблице 3. Всего выявлен 131 аллель, наиболее полиморфным оказался локус *Pca3* (33 аллеля), наименее полиморфным – *POCC5* (6 аллелей). Частота уникальных аллелей не превышала 0,05. Все микросателлитные локусы полиморфны, N_a колеблется от 10 до 14. Уровень ожидаемой гетерозиготности относительно высок (среднее $H_e = 0,757$) и достоверно не различался для трёх групп. Среднее значение наблюдаемой гетерозиготности H_o составило 0,647. Средний индекс фиксации ($F_{is} = 0,156$) свидетельствовал о дефиците гетерозиготности на незначительном уровне для изучаемых групп. Значительное отклонение между наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготностью выявлено для локусов *Phtr3* и *POCC5*, вероятно, из-за сцепления этих локусов с полом (доля самок в исследованных выборках составила 21,2 %).

Таблица 1. Средние значения генетической изменчивости среди трёх подвидов пеночки-веснички по 8 микросателлитным локусам (над диагональю F_{st} – коэффициент инбридинга подвида по отношению к общей популяции, под диагональю N_{ei} – коэффициент генетической дистанции между подвидами).

Подвид	<i>yakutensis</i> (n = 20)	<i>acredula</i> (n = 27)	<i>eversmanni</i> (n = 47)
<i>yakutensis</i> (n = 20)	–	0,017	0,013
<i>acredula</i> (n = 27)	0,116	–	0,013
<i>eversmanni</i> (n = 47)	0,086	0,085	–

Попарное сравнение подвидов по критериям F_{st} и критерию генетических дистанций N_{ei} показало низкий уровень межподвидовой изменчивости, наши группы высоко гомогенны по 8 микросателлитным локусам (Табл. 1).

Результаты анализа главных координат (PCoA), выполненного на матрице значений генетических дистанций для 94 образцов из трёх групп, показали, что ординация в пространстве первых двух главных координат не выявила кластеризации образцов по их географическому местоположению/подвиду. Байесовский кластерный анализ аллелей микросателлитных локусов среди 94 генотипированных особей, выполненный с помощью STRUCTURE, не демонстрирует дифференциации образцов.

Мы идентифицировали 23 новых последовательности *cyt b* длиной 1016 п.н. из трёх групп подвидов (*yakutensis*, n = 5, *acredula*, n = 12, *eversmanni*, n = 6). Для анализа разнообразия гаплотипов мы включили в анализ 26 последовательностей из GenBank из разных регионов: Великобритании, Германии, Южной Финляндии (ЮФ) и Швеции. Некоторые последовательности GenBank были короче 1016 п.н., поэтому мы обрезали все сиквенсы до 773 п.н. в длину. Все 49 последовательностей мы разделили на шесть региональных групп: Архангельск/Кандалакша/Санкт-Петербург (n = 7), Москва (n = 6), Якутия/Чукотка (n = 5), Швеция (n = 18), Англия/Германия/Южная Финляндия (n = 8), о. Колгуев (n = 5).

Мы обнаружили 10 гаплотипов. Наиболее распространенные гаплотипы Н1, Н2, Н3 присутствуют во всех региональных группах, Н4 выявлен в Московской области и Швеции. Три гаплотипа (Н5, Н9, Н10) были обнаружены для группы Англия – Германия – Южная Финляндия (подвид *trochilus*), и еще три гаплотипа (Н6, Н7, Н8) – только в Швеции (по-видимому, подвид *acredula*). Гаплотипическое разнообразие Hd для выборки из 49 последовательностей составило $0,708 \pm 0,055$; нуклеотидное разнообразие низкое, $\pi = 0,00157 \pm 0,00031$. Среднее количество нуклеотидных различий Kt составило 1,214. Тест Таджима на нейтральность $D = -1,11939$ не значим ни для каждой группы, ни для всех 49 последовательностей. Общая генетическая дифференциация среди шести групп весничек была низкой ($F_{st} = 0,05391$, $G_{st} = -0,00916$).

Сеть гаплотипов не показала четкого разделения между группами (Рис. 2).

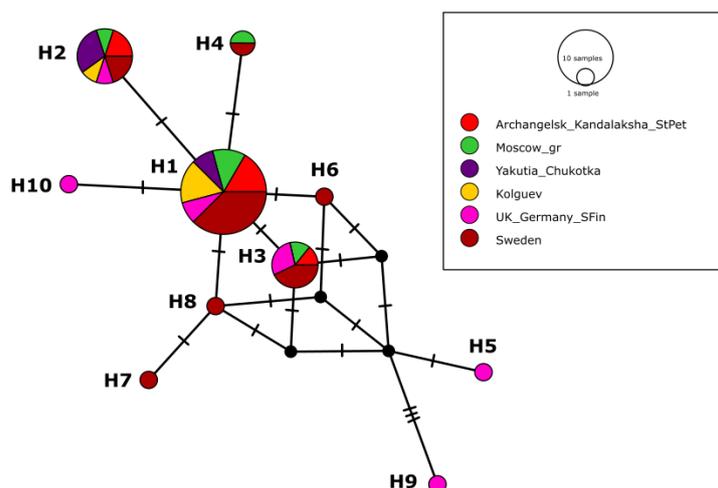


Рис. 2. Карта гаплотипов цитохрома *b* *Phylloscopus trochilus*. Размер круга пропорционален количеству особей; чёрточки указывают количество замен между гаплотипами по соответствующим соединительным линиям. Круговые диаграммы отображают наличие гаплотипов в региональной группе (Pina et al., в печати).

Филогенетический анализ. Теньковка. Филогенетический анализ цитохрома *b* изученных последовательностей 145 особей теньковки представлен на Рис. 3.

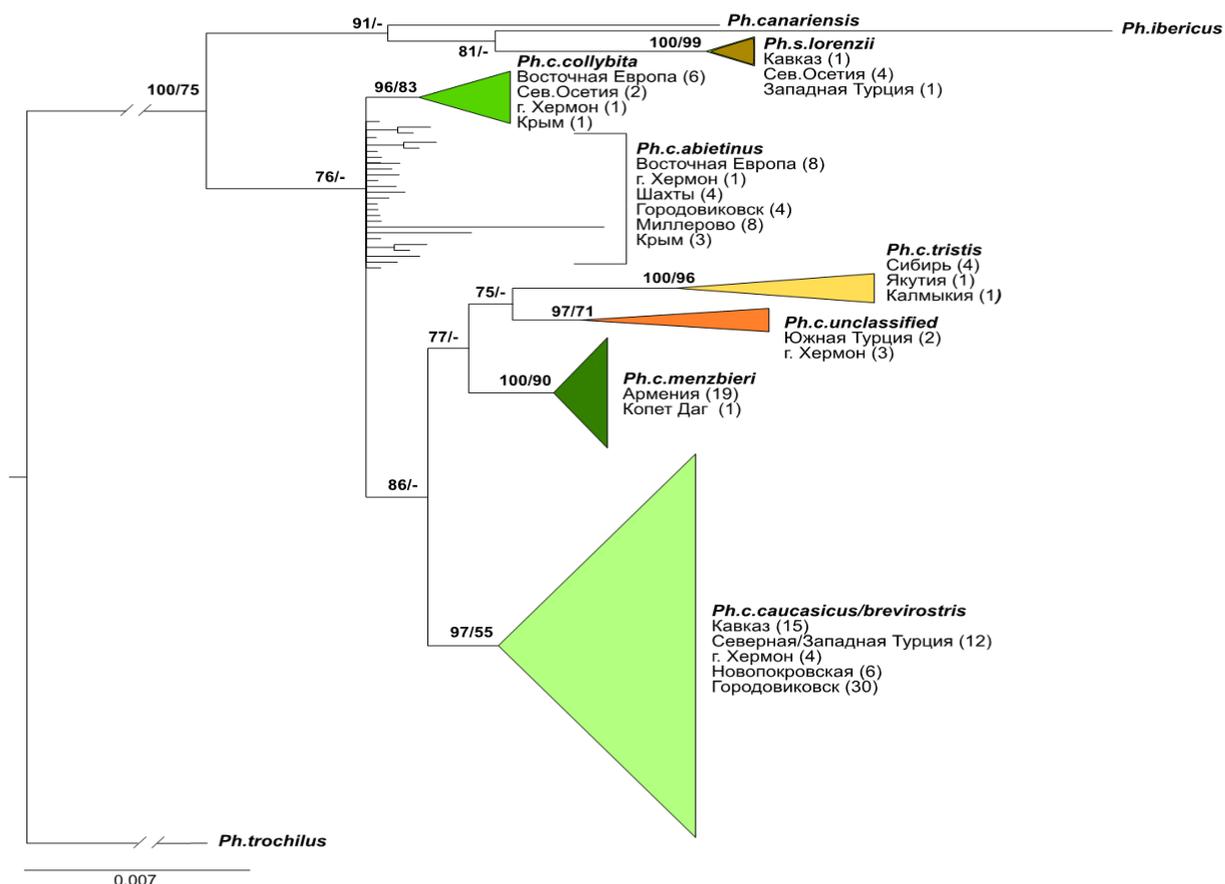


Рис. 3. Филогенетическое дерево гаплотипов цитохрома *b* *Phylloscopus collybita*, *Ph. sindianus*, *Ph. brehmii*, *Ph. canariensis*. Числа в скобках (справа от географических названий) указывают количество изученных особей. Числа в нижней части кластера показывают его поддержку (байесовский анализ уровень

бутстреп-поддержки/максимальное правдоподобие в процентах от 1000 повторений).

Согласно нашему анализу, все изученные подвиды теньковки делятся на 9 клад. Все основные клады соответствуют четырём хорошо разделённым видам, признанным в настоящее время. Первую кладу образует иберийская теньковка *Ph. brehmii*, вторую – теньковка канарская *Ph. canariensis*. Третья основная кладка соответствует горной теньковке *Ph. sindianus*. В нашем случае этот вид представлен подвидом *lorenzii*, встречающимся на Кавказе и в Восточной Турции. Данная кладка объединяет последовательности этого подвида из GenBank, Северной Осетии (Кавказ) и одного экземпляра из Восточной Турции в предгорьях Армянского нагорья. По окраске оперения эта птица явно принадлежала к «коричневым» теньковкам. Четвертая кладка сформирована номинативной формой *Ph. collybita* с 5 «зелёными» подвидами: *abietinus*, *caucasicus*, *brevirostris*, *menzbieri* и «коричневым» сибирским подвидом *tristis*. Далее эта кладка делится на несколько ветвей:

1. Линия *caucasicus/brevirostris* объединяет два подвида теньковок Кавказа, Предкавказья и Калмыкии (Калмыкия, Новопокровская, Городовиковск), Турции и Израиля, а также включает две последовательности GenBank, принадлежащие *caucasicus* и *brevirostris*. Помимо типичных *caucasicus* к данной группе относятся теньковки из Предкавказья, расселяющиеся на север по лесополосам. Гаплотипы *caucasicus* преобладают в большинстве исследованных районов как западного (Новопокровская), так и восточного (Городовиковск) Предкавказья. Также в данную кладку попали все «зелёные» теньковки, пойманные нами в Западной и Северной Турции от Босфора до Армянского нагорья, а также две «коричневые» теньковки из горных районов Восточной Турции. Две последние особи при отлове были идентифицированы по окраске оперения как типичные *lorenzii*, но анализ показал, что они несут гаплотип *caucasicus/brevirostris*. В эту же группу входят четыре теньковки из Израиля: 3 из них были пойманы на горе Хермон во время гнездования и 1 у Тивериадского озера зимой. Внутригрупповая изменчивость низкая ($p = 0,18\%$).

2. Линия *menzbieri* объединяет всех «зелёных» теньковок, отловленных нами в южной Армении (Мегринский район Сюникской области), с единственной особью *menzbieri* из Западного Копетдага, где известна только эта форма теньковки. Таким образом, наши данные подтверждают вывод Марко Раковича с соавт. (2019) о распространении *menzbieri* в Южном Закавказье. Внутригрупповая изменчивость низкая ($p = 0,09\%$).

3. Ливанская линия *Ph. c. unclassified* выглядит наиболее интересной. Она объединяет двух птиц, пойманных нами на юге Турции, с тремя птицами, пойманными ранее на горе Хермон на севере Израиля. Обе наши птицы имели довольно специфические черты в окраске оперения. Согласно предположению Раковича и соавт. (2019) все три израильские теньковки относятся к новой форме, ранее не описанной. Внутригрупповая изменчивость составляет $p = 0,49\%$.

4. Линия *tristis* соответствует сибирским теньковкам, встречающимся от Архангельска и Уральских гор до озера Байкал и Чукотского полуострова, и относится к «коричневым» таксонам. Чрезвычайно интересно, что линия *tristis* тесно связана с предыдущей ветвью – *Ph. c. unclassified*.

5. Линия *collybita* объединяет «зелёных» теньковок, относящихся к номинативному подвиду, обитающему в Западной Европе. В эту группу также входила одна птица из Израиля, 1 птица из Крыма и ещё 2 птицы, пойманные в Северной Осетии.

6. Линия *abietinus* объединяет «зелёных» теньковок – всех представителей формы *abietinus* из Восточной Европы (последовательности из GenBank) и птиц, обитающих на юге России (окр. пос. Миллерово и Шахты) и в Калмыкии. Гаплотип *abietinus* доминирует севернее Ростова-на-Дону. Также в данную кладу попали 3 птицы, отловленные в Крыму. Внутригрупповая изменчивость составляет $p = 0,31\%$.

Попарные генетические расстояния между видами комплекса теньковки (*Ph. collybita*, *brehmi*, *canariensis*, *sindianus*) на основе 902 нуклеотидов митохондриального гена цитохрома *b* колеблются от 3,19 до 5,58 %. Внутри таксона *Ph. collybita* (подвиды *collybita*, *abietinus*, *tristis*, *caucasicus/brevirostris*, *menzbieri*, а также гаплогруппа, состоящая из особей из Южной Турции и Израиля) значения попарной дивергенции последовательностей цитохрома *b* колеблются от 0,9 до 2,07%. Дивергенция исследованных последовательностей цитохрома *b* каждого таксона теньковки и веснички составляет 10,37–11,91%.

Медианная сеть гаплотипов 137 особей теньковки повторяет результаты филогенетического анализа (Рис. 4).

Всего мы обнаружили 61 гаплотип. Из них 50 были уникальными и встречались в данной выборке всего один раз. Самым распространенным оказался гаплотип H2 *caucasicus*, обнаруженный у 35 особей из 61 данного подвида, обитающих в Калмыкии, окрестностях станицы Новопокровская Краснодарского края и Краснодара. Среди 28 особей *abietinus* самый часто встречающийся гаплотип H1 был обнаружен у 10 птиц и распространен в Калмыкии, Миллерово, Шахты (Ростовская обл.) и Восточной Европе. Также 10 особей *caucasicus*, несущие другой популярный гаплотип, были обнаружены в Турции и Израиле (г. Хермон). Гаплотипическое разнообразие особей *menzbieri*, обитающих в Армении, невелико: 12 из 19 отловленных птиц несут общий гаплотип. Интересно, что общий гаплотип также были найдены у 5 особей *lorenzii*, обитающих в Восточной Турции и Северной Осетии.

Гаплотипическое разнообразие *Hd* выборки из 137 последовательностей составило $0,916 \pm 0,055$; нуклеотидное разнообразие низкое, $\pi = 0,01030 \pm$ (табл. 3). Среднее количество нуклеотидных различий $K_t = 9,267$. Тест нейтральности Таджима $D = -1,38273$ не был значимым для всех 137 последовательностей, но значим для группы *abietinus*. Общая генетическая дифференциация среди 12 групп теньковки: $F_{ST} = 0,68399$, $G_{ST} = 0,21682$).

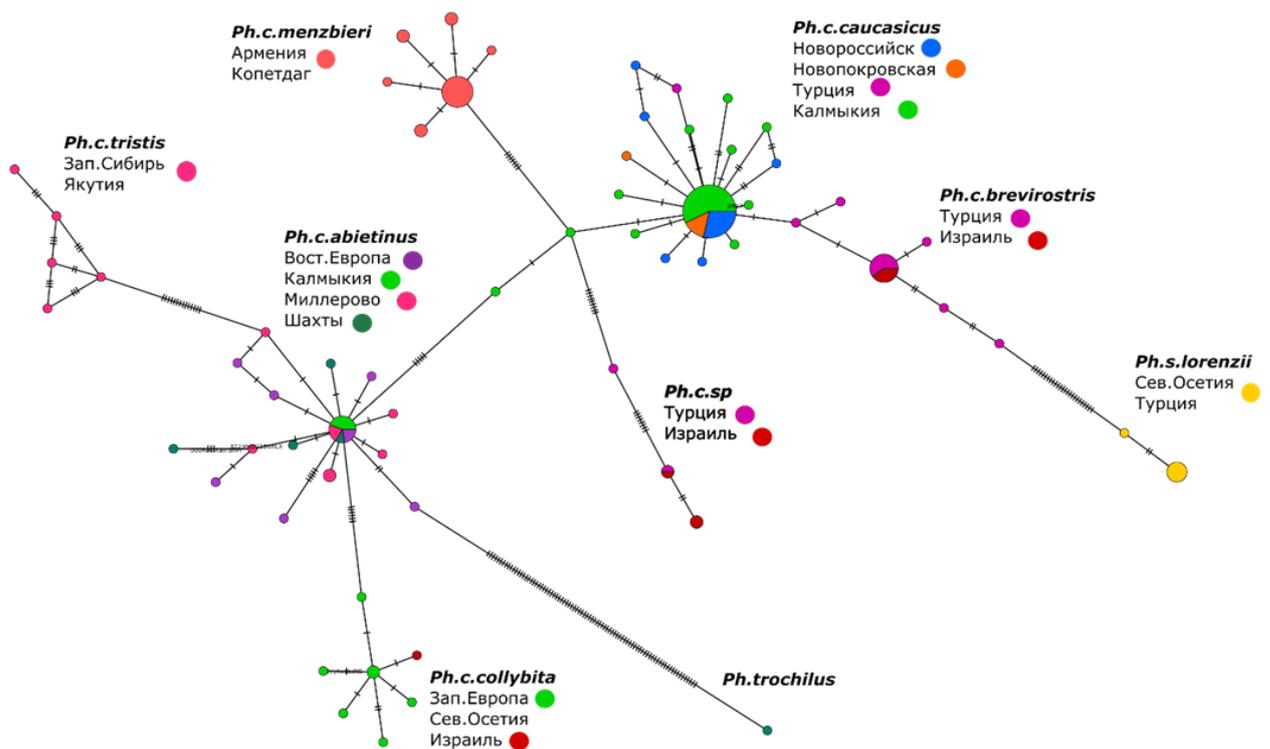


Рис. 4. Медианная сеть гаплотипов цитохрома *b* *Phylloscopus collybita* и *Ph. sindianus lorenzii*. Размер круга пропорционален количеству особей; черточки указывают количество замен между гаплотипами на соответствующих соединительных линиях.

Окраска оперения и размеры. Весничка. Мы проанализировали окраску 744 экземпляров (*trochilus*, ad n = 24, sad n = 6; *acredula*, ad n = 167, sad n = 62; *eversmanni*, ad n = 295, sad n = 130; *yakutensis*, ad n = 50, sad n = 10). Отдельно сравнивали окраску оперения взрослых экземпляров птиц, а также молодых птиц (sad) в свежем осеннем перье. По окраске оперения подвиды веснички явно делятся на две группы: *trochilus* и *eversmanni*, практически не имеющие тёмной окраски на нижней стороне тела, и *acredula* и *yakutensis* с тёмной окраской боков живота и размытыми темными продольными пестринами на груди.

Проведено межгрупповое сравнение 4 подвидов веснички по 6 морфологическим показателям с помощью непараметрического критерия Крускала-Уоллиса (самцы: *trochilus*, n = 24; *acredula*, n = 78; *eversmanni*, n = 139; *yakutensis*; n = 36; самки: *trochilus*, n = 9; *acredula*, n = 35; *eversmanni*, n = 44; *yakutensis*, n = 13). Результаты показали, что по 4 из 6 изученных признаков номинативный *trochilus* самый мелкий и статистически отличается от других подвидов. Напротив, самой крупной формой является восточный подвид *yakutensis*. Подвиды *acredula* и *eversmanni* занимают промежуточное положение между западным и восточным подвидами. Подвиды *acredula* и *eversmanni* отличаются только длиной вершины крыла (критерий Крускала-Уоллиса, p = 0,028). Все формы сходны по длине цевки и длине клюва (от ноздри).

Затем мы использовали анализ главных компонент для суммирования шести морфологических параметров для самцов и самок. В анализе самцов первая главная компонента (PC1) составила 36,2% дисперсии. PC1 демонстрирует значительную

подвидовую изменчивость (критерий Крускала-Уоллиса: $H_3 = 44,11$, $p < 0,01$), *trochilus* и *yakutensis* значительно отличаются от всех других форм, но *acredula* и *eversmanni* сходны. PC2 суммировал небольшое количество вариаций (22,3%) и значительно отделил от других подвидов только *yakutensis* (критерий Крускала-Уоллиса: $H_3 = 15,52$, $p < 0,01$).

Окраска оперения и размеры. Теньковка. В настоящей работе мы приводим только сравнительные характеристики отдельных малоизученных подвидов: *brevirostris*, *menzbieri*, *caucasicus* и *abietinus*, данные по которым были получены в ходе полевых исследований автора и коллег.

Непараметрический критерий Крускала-Уоллиса определяет, что подвидовые различия в длине крыльев и хвоста являются статистически значимыми ($p < 0,001$). По данным попарных сравнений, *brevirostris* достоверно отличается по длине крыла от каждого из трёх других подвидов ($p < 0,05$), в то время как между последними достоверных различий обнаружено не было. По длине хвоста значимые различия возникают в парах: *menzbieri/abietinus* ($p < 0,05$), *brevirostris/caucasicus* ($p < 0,01$) и *brevirostris/abietinus* ($p < 0,001$). Таким образом, *brevirostris* – самый мелкий среди всех четырёх подвидов «зелёных» теньковок (Marova, Pina et al., 2021).

Форма крыльев *caucasicus* и *menzbieri* оказалась идентичной (проекция 2-го махового между 7-м и 8-м). Вершина крыла у *abietinus* наиболее заострённая (проекция 2-го первостепенного махового между 6 и 7), а у *brevirostris* наиболее округлое крыло (проекция 2-го махового между 8–9 и 10–11); *menzbieri* и *caucasicus* занимают промежуточное положение и почти не отличаются друг от друга (проекция 2-го махового между 7 и 8 у обоих таксонов, хотя у *caucasicus* оно может быть и короче).

Две теньковки, пойманные на юге Турции, носители нового гаплотипа цитохрома *b*, имели необычную окраску оперения. Обе особи выглядели ярче типичных *brevirostris* и имели чёткие желтоватые пестрины на горле, груди, брюшке и даже на голове.

Окраска оперения теньковок *caucasicus* и *abietinus*, отловленных в Предкавказье в зоне симпатрии, оказалась гораздо более изменчивой по сравнению с аллопатрическими популяциями.

Акустический анализ. Весничка. Результаты анализа с помощью теста Крускала-Уоллиса показали статистически достоверные различия между группами по 7 изучаемым параметрам. Песня *yakutensis* имеет достоверно меньшую максимальную частоту по сравнению с *trochilus* и *acredula*. По другим частотным признакам (минимальная частота и частотный диапазон) различий между группами обнаружено не было. Подвиды *trochilus* и *yakutensis* имеют значительно меньшую длину песни и общее количество нот песни. Количество различных нотных серий (типов нот) в песне значительно меньше только у *yakutensis*, остальные подвиды сходны по этому признаку. По скорости песни, темпу, индексу разнообразия песни и количеству нот из самой длинной нотной серии в песне только *trochilus* достоверно отличается от других подвидов.

Мы использовали метод главных компонент для сравнения подвидов, объединив девять исследуемых параметров песни. Ординация в пространстве первых двух главных компонент выявила кластеризацию выборок по подвидам *trochilus* и *yakutensis*. Первая главная компонента (PC1) отражает 29,8 % дисперсии, демонстрирует значительную подвидовую изменчивость для подвидов *trochilus* (критерий Крускала-Уоллиса: $H_3 = 36,08$, $p = 0,015$). PC2 объединяет небольшое количество вариаций (24,3%) и отделяет *yakutensis* (критерий Крускала-Уоллиса: $H_3 = 23,98$, $p = 0,0013$).

Акустический анализ. Теньковка. Северная ветвь распространения. Северная ветвь распространения теньковок включает в себя таксоны: *Ph. c. collybita*, *abietinus*, *tristis*. Частотные характеристики песни (8 параметров) 15 популяций теньковки демонстрируют значительную географическую изменчивость. Как максимальная, так и минимальная частота заметно падают в восточном направлении. Минимальное значение частоты особенно резко выделяет киевскую популяцию; по этому параметру она существенно отличается от всех других популяций. Среди восточных популяций теньковок (форма *tristis*) якутская популяция характеризуется самой низкой минимальной частотой. Было обнаружено, что скорость песни удивительно постоянна у всех популяций *collybita* и *abietinus*. В каждой из 6 популяций все самцы издают 8–10 нот в течение 3-х секунд. Такой выдержанный ритм песни поддерживается на огромной территории от Южной Германии до Урала, т.е. практически во всем ареале подвида *collybita* и *abietinus*. По скорости пения теньковки гибридной зоны и чистого сибирского диалекта с Енисея, Саян и Якутии существенно отличаются от европейских популяций; сходна с ними по этому признаку только Южно-Уральская популяция из долины р. Зуячки. Оба параметра – длина нот и пауз между нотами также резко различаются в европейских и азиатских популяциях. Длина нот и пауз восточных и гибридных популяций достоверно ниже. Южно-Уральская популяция долины р. Зуячки по данным параметрам также близка к европейским формам.

Для кластеризации разных популяций использовались 3 независимых подхода. В первом случае рассчитывали расстояния по данным коэффициента Жаккара (существование каждой конкретной ноты в репертуаре популяции), в другом случае считали расстояние по коэффициенту Брей-Куртис (доля самцов в популяции, в репертуаре которых имеется данная нота), в третьем кластере – эвклидово расстояние. В последнем случае кластер создан по матрице межгрупповых расстояний Махаланобиса, полученной в результатах дискриминантного анализа всех частотно-временных параметров песен. Объединение во всех кластерах произведено по парно-групповому среднему. Также мы провели анализ исследуемых 15 популяций методом главных компонент. Основные результаты: общий набор популяций чётко разделен на две группы с абсолютной поддержкой бутстрепа (в одну группу входят 2 популяции *collybita* и все аллопатрические популяции *abietinus*, в другую большую группу входят все гибридные популяции, а также ильменская и три сибирские популяции); на разных

наборах данных объединяются популяции из Германии и Закарпатья; надёжно отделяется якутская популяция по типам нот и объёму репертуара.

Южная ветвь распространения. Южная ветвь распространения теньковок включает в себя таксоны: *Ph. c. caucasicus*, *menzbieri*, *brevirostris* и *Ph. s. lorenzii*. В данный анализ для сравнения были также включены европейские подвиды: *collybita* и *abietinus*.

Основные результаты следующие: 1) среди всех «зелёных» теньковок песня *brevirostris* значительно выше по всем трём частотным параметрам. Остальные подвиды не отличаются друг от друга по частотным параметрам песни; 2) «коричневые» *lorenzii* исполняют более высокочастотную песню, чем все «зелёные» формы теньковок, кроме *brevirostris*. Частотный диапазон песни у *lorenzii* значительно уже по сравнению со всеми другими подвидами; 3) песни всех кавказских теньковок – *caucasicus*, *menzbieri* и *lorenzii* содержат резко выраженные ноты с острой V-образной первой модуляцией, тогда как в песнях *collybita* и *abietinus* преобладает плавная L-образная модуляция; 4) песня *brevirostris* чётко отличается по количеству частотных пиков в одной ноте; многие ноты содержат три и даже четыре пика; 5) песня *brevirostris* отличается положением первого (от начала ноты) минимума частоты; 6) ноты с восходящей модуляцией (на начальном участке) встречаются только в репертуаре «коричневых» *lorenzii* и полностью отсутствуют у всех «зелёных» форм. Следует отметить, что доля нот с восходящей модуляцией у *lorenzii* довольно мала (в среднем 10,2%), а некоторые сонограммы вообще лишены таких нот. Для сравнения, в песне *tristis* восходящих нот – около 50%; 7) в отличие от всех «коричневых» теньковок (включая *lorenzii*), все «зелёные» теньковки имеют тенденцию повторять одни и те же ноты во время пения. Эта особенность ярче выражена у *brevirostris*, *caucasicus* и *menzbieri*, в песнях которых встречается до 10–12 повторений одной и той же ноты.

«Коричневые» теньковки. «Коричневые» формы теньковок (*Ph. s. sindianus*, *Ph. s. lorenzii*, *Ph. c. tristis*) обладают более широким репертуаром пения, их песня включает ноты, начинающиеся с восходящей частоты, что не встречается в песне «зелёных» форм. Для всех «коричневых» теньковок характерна значительная дивергенция песни, особенно частотных характеристик. У *sindianus* высокочастотная и широкополосная песня. Верхняя и нижняя границы частотного диапазона достоверно выше, чем у других «коричневых» теньковок (тест Крускала-Уоллиса, $p < 0,01$), однако по величине пиковой частоты достоверных отличий от *lorenzii* не найдено. Самыми малыми значениями максимальной частоты и самым узким диапазоном обладает песня *tristis*. Вместе с тем, по значению пиковой частоты она не отличается от «зелёной» *caucasicus*. По скорости исполнения песни (плотность упаковки нот) с большим отрывом лидирует *tristis* (до 6–7 нот/с), отчего её пение резко отличается на слух от других форм теньковок. Отметим также значительный размах изменчивости по этому параметру именно у формы *tristis*, что заметно выделяет её среди прочих форм, в ряду которых относительно быстрой песней выделяется *lorenzii* (3–4 ноты/с). Самцы *sindianus* обычно исполняют 3 ноты/с.

Максимальной величиной вокального индекса (доля нот с восходящей частотной модуляцией от всех нот в данной песне) характеризуется пение *tristis*, которая по этому параметру достоверно отличается как от *lorenzii*, так и от *sindianus* (тест Крускала-Уоллиса; $p < 0,05$). В пении «коричневых» теньковок отсутствуют повторения нот, каждая следующая нота всегда отлична от предыдущей. В то же время для *tristis* типичны так называемые «мотивы» – многократные серийные повторения стереотипных последовательностей, состоящих из 3–5 нот. Основными параметрами для разделения подвидов по результатам построения дерева классификации являются скорость пения и максимальная частота песни.

«Вставочные элементы». «Вставочные элементы (ноты)» – своеобразные звуки, которые теньковки могут издавать в промежутке между строфами основной песни. Фонетически «вставочные элементы» заметно отличаются от нот основной песни. Последние состоят исключительно из тоновых звуков у всех таксонов теньковки; дополнительные частотные составляющие (обертоны, гармоники и т.п.) отсутствуют. Напротив, «вставочные элементы» всегда содержат несколько частотных составляющих, часто резко различающихся контуром частотной модуляции (повышение или понижение частоты) из-за явления двухголосия.

Типичный «вставочный элемент» состоит из двух коротких звуков, разделенных одинаково короткой паузой (Рис. 5).

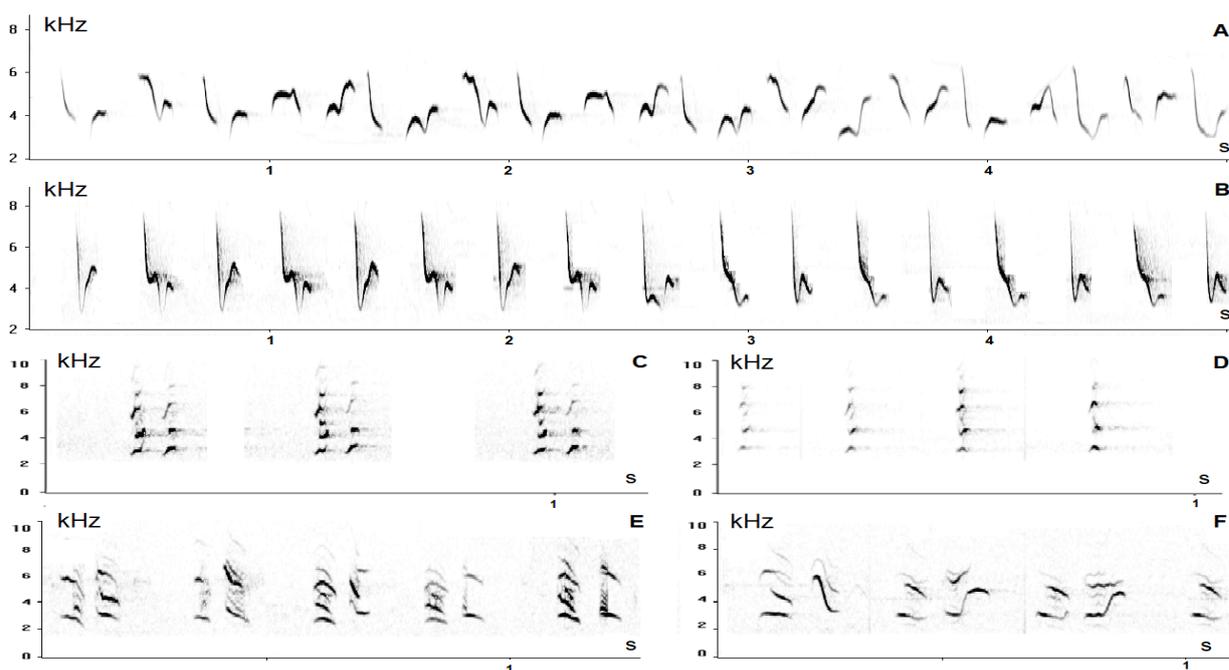


Рис. 5. Образцы сонограмм песни теньковок: А – *tristis*; В – *caucasicus* и «вставочных элементов»: С, D – *caucasicus*; Е, F – *tristis*. (Илина et al., 2019, Ivanitskii, Илина, Марова, 2020).

Такая двухсложная структура строго преобладает у *collybita* и *abietinus*, однако теньковки других таксонов часто издают односложные «вставочные элементы». Последние регулярно встречаются у *tristis*, но особенно характерны для *caucasicus*, *lorenzii* и *sindianus*. «Вставочные элементы», состоящие из трёх звуков, лишь изредка издаются всеми теньковками. При интенсивном пении самцы *abietinus*

исполняли «вставочные элементы» с интервалом $0,42 \pm 0,13$ с ($0,23-0,86$ с; $n = 98$), самцы *tristis* – с интервалом $0,49 \pm 0,13$ с ($0,29-0,92$ с, $n = 120$). По нашим данным, паузы между песенными нотами в строфах *abietinus* составляли $0,19 \pm 0,02$ с ($0,13-0,26$ с; $n = 113$), а у *tristis* — $0,07 \pm 0,03$ с ($0,03-0,18$ с; $n = 162$). Таким образом, темп исполнения нот в строфах песен различался почти в три раза. Напротив, частота «вставочных элементов» у этих двух таксонов почти одинакова (U-критерий Манна-Уитни, $p = 0,11$). Аналогичные паузы между «вставочными элементами» обнаружены и у других таксонов: *caucasicus* – $0,31 \pm 0,08$ с; *menzbieri* – $0,36 \pm 0,11$ с; *lorenzii* – $0,40 \pm 0,11$ с; *sindianus* – $0,34 \pm 0,07$ с (дисперсионный анализ Крускала-Уоллиса, $p = 0,08$). Тест Мантеля не выявил статистически значимой корреляции между частотными параметрами «вставочных элементов» и нот песни у всех исследованных таксонов.

Структура «вставочных элементов» однородна у всех самцов, принадлежащих к одному таксону, но разнообразие этих звуков между таксонами относительно высоко. Отличия между разными популяциями одних и тех же таксонов гораздо меньше, чем между разными таксонами. «Вставочные элементы» особенно однородны у «зелёных» *collybita* и *abietinus* (Ivanitskii, Marova, Pina, 2020). Они очень сходны по всему совокупному ареалу этих близкородственных таксонов от юга Германии до Южного Урала. Как правило, это короткие сигналы длительностью 70–80 мс, включающие два одинаковых импульса (примерно по 20–25 мс каждый). «Вставочные элементы» «коричневой» *tristis* также часто состоят из двух парных импульсов, которые, однако, заметно отличаются по структуре, занимают более широкий диапазон (2,5–6,5 кГц) и всегда наряду с гармониками содержат частотные составляющие, не совпадающие с контуром модуляции. В отличие от весьма стереотипных криков *abietinus* «вставочные элементы» *tristis* гораздо более вариабельны. «Вставочные элементы» *caucasicus* и *lorenzii* также оказались сходными по набору признаков. Напротив, их песни не обнаруживают сходства прежде всего из-за явных различий в частотных диапазонах и частотной модуляции составляющих нот (Martens, 1982; Ivanitskii, Marova, Pina, 2020). Таким образом, различия между таксонами теньковки в их «вставочных элементах», а также в их основной песенной структуре включают широкий спектр временных и частотных параметров.

Зона контакта в Предкавказье. В данном регионе в настоящее время формируется новая зона контакта и вероятной гибридизации *caucasicus* – *abietinus* за счёт встречного распространения двух форм по лесополосам (Ivanitskii, Marova, Pina et al., в печати). Всего проанализированы записи 132 самцов из восьми популяций, которые соответствует переходу от чистых *abietinus* (на севере) к чистым *caucasicus* (на юге).

Всего в наших записях идентифицировано 74 типа нот. Ноты с характерной V-образной частотной модуляцией характерны для песни *caucasicus* и отсутствуют в песне *abietinus*. Специфических нот у *abietinus* обнаружено не было, в репертуаре *caucasicus* присутствуют все типы нот, характерные для *abietinus*. Парадоксально, но в зоне контакта (Шахты и Миллерово) характерные для *caucasicus* «вставочные

элементы» встречаются в песне теньковок, несущих гаплотип *abietinus* и не имеющих в песне характерных для *caucasicus* нот. По частотно-временным параметрам песни *abietinus* и *caucasicus* достоверно различаются; песня теньковок из Предкавказья занимает промежуточное положение между песнями двух этих форм по всем параметрам.

ГЛАВА 5. Общее обсуждение

Филогеография веснички. Формирование современной подвидовой структуры веснички происходило в Палеарктике в плейстоценовый период, включавший не менее четырёх ледниковых периодов с несколькими межледниковыми циклами. Во время оледенений многие виды были изолированы в нескольких горных рефугиумах в Европе и Азии. Выдвинуто несколько гипотез истории формирования и расселения веснички. Различия в генотипах и фенотипических признаках у *trochilus* и *acredula* позволили описать узкую и чётко очерченную зону контакта в центральной Скандинавии и гораздо более широкий диффузный клин, где подвиды плавно переходят друг в друга, к востоку от Балтийского моря (Bensch et al. 2009). Хотя полученных нами данных недостаточно, чтобы точно очертить границы распространения *acredula* и *yakutensis* на всём ареале, можно предположить, что эти подвиды в зонах контакта также формируют широкие зоны интерградации, как на восточном побережье Балтийского моря. Это подтверждает гипотезу недавней и быстрой экспансии веснички на север и восток. Бенч и коллеги (Bensch et al., 2006) предполагают, что предки веснички распространились из одного ледникового рефугиума, а современные фенотипы *trochilus* и *acredula* сформировались постепенно при колонизации Скандинавии с двух направлений. Мы же предполагаем, что изоляция веснички в ледниковый период происходила в разных рефугиумах юго-западной Палеарктики: в Иберийском, Итальянском или Балканском. Это предположение может объяснить различия в миграционном поведении подвидов: *trochilus* мигрирует в Западную Африку, *acredula* и *yakutensis* летят в Южную Африку. Весничка – экологически пластичный вид, она размножается не только в зоне лесов, но и в редколесьях от умеренной до арктических зон. Предполагают, что широта экологической ниши веснички позволила ей быстро следовать за отступающим ледником и осуществить экспансию на север и северо-восток Палеарктики (Симкин, 1990). Полученные нами результаты генетического анализа о низком уровне изменчивости между подвидами свидетельствуют в пользу этого предположения, а также соответствуют гипотезе о том, что виды с высокой экологической пластичностью и дальние мигранты имеют более низкий уровень генетической дифференциации популяций и скорость видообразования, чем узкоспециализированные и оседлые виды (Hung, 2017, Wink, 2021).

Таксономический статус формы *eversmanni*. Подвид *eversmanni*, населяющий, как полагали, всю Восточную Европу, выделяли ранее на основе отличий в окраске от *acredula* (Salomonsen, 1928; и др.). Мы не обнаружили ни генетических, ни акустических, ни размерных особенностей данной формы, которые

отличали бы её от подвида *acredula*, поэтому не видим достаточных оснований придавать ей подвидовой статус.

Особенности «южных» подвигов теньковки: *brevirostris*, *menzbieri* и *lorenzii*. Наше исследование показало, что *brevirostris* наиболее выделяется среди всех трёх «зелёных» таксонов из-за небольшого размера, формулы крыла и особого вокального диалекта. По всем этим характеристикам *brevirostris* явно отличается от *caucasicus* и *menzbieri*, а *caucasicus* и *menzbieri*, в свою очередь, более похожи друг на друга. Как это ни парадоксально, митохондриальная ДНК *brevirostris* оказалась почти идентичной *caucasicus*, тогда как *menzbieri* в этом отношении сильно отличается от них обоих (Helbig et al., 1996).

Этот парадокс можно объяснить, если предположить, что *caucasicus* возникла в результате древней гибридизации *brevirostris* и *menzbieri* (Marova, Pyina et al., 2021). Результатом может быть полная замена митохондриальной ДНК в популяции одного из двух гибридизирующих видов; такие ситуации описаны у некоторых видов птиц (Tegelström 1987; Irwin et al. 2009). Историю можно представить следующим образом. Форма *brevirostris* возникла в горах северной Турции, которые когда-то были покрыты широколиственными лесами. Отсюда она двинулась на восток в Закавказье, вдоль побережья Черного моря и по долинам рек Армянского нагорья. Когда *brevirostris* добралась до Закавказья, она встретила здесь *menzbieri*, которая расселялась на запад от своей родины в широколиственных лесах Эльбурса и западного Копетдага. В результате последующей гибридизации *caucasicus* возникла как гибридная форма, быстро заселившая Закавказье, Кавказ и сейчас расселяющаяся на север по лесополосам Предкавказья (Иваницкий, Марова, Ильина и др., 2018). Фенотипически и генетически чистые популяции *menzbieri* сохранились в Южном Закавказье, Эльбурсе и Копетдаге. На северном пределе распространения *menzbieri*, в Закавказье, её гибридизация с *caucasicus* представляется весьма вероятной (Racovich et al., 2019), учитывая сходство их местообитаний, внешнего вида и особенно пения.

Новый гаплотип теньковки с территории Турции. Две теньковки, пойманные на юге Турции, имели необычную окраску оперения. Песня этих двух теньковок явно соответствовала диалекту *brevirostris*, хотя и имела некоторую особенность. По результатам филогенетического анализа митохондриальной ДНК оба гаплотипа образовали общую кладу с тремя гаплотипами теньковок из Израиля с высокой бутстреп-поддержкой. Мы предполагаем, что два экземпляра из южной Турции принадлежат к этой же особой, ранее неизвестной популяции, найденной Раковичем и др. (Racovich et al., 2019) в Израиле.

«Вставочные элементы» в песне теньковки. «Вставочные элементы» имеют спектрально сложную структуру и этим существенно отличаются от чистых тональных нот основной песни. У разных таксонов теньковки мы описали большое разнообразие «вставочных элементов», что позволяет использовать их в качестве надёжного акустического признака в исследованиях таксономии и филогении надвидового комплекса *Phylloscopus collybita*. Отличия во «вставочных элементах» могут быть полезными при анализе пространственного распределения различных

таксонов теньковки, схожих по другим признакам, включая основное пение. Но разнообразие «вставочных элементов» не всегда соответствует разнообразию признанных в настоящее время таксонов. Например, генетически близкородственные *collybita* и *abietinus* (Helbig et al., 1996), имеют очень похожие «вставочные элементы» на всём пространстве их ареалов от Германии до Урала. Противоположный пример – три разные популяции *tristis*: теньковки, встречающиеся в среднем течении Енисея и в Саянских горах на расстоянии 900 км друг от друга, имеют сходные «вставочные элементы», но теньковки из северо-восточной Якутии, также относимые к *tristis*, издают «вставочные элементы», сильно отличающиеся как от енисейских, так и от саянских. Это может свидетельствовать о неоднородности огромного ареала сибирской теньковки, простирающегося на восток от Уральских гор до реки Колымы.

Функциональное значение «вставочных элементов» в песне теньковки остается неизученным. Важно подчеркнуть кажущуюся гибкость использования «вставочных элементов» во время пения. Возможно, что песни с «вставочными элементами» и без них выполняют разные коммуникативные функции, например, они могут быть связаны преимущественно с половым или территориальным поведением.

Зона контакта в Предкавказье. Территории современного Предкавказья были коренным образом преобразованы аграрной деятельностью человека, что повлекло за собой формирование новой орнитофауны, ранее не свойственной данному региону, и образование новых зон контакта между видами и подвидами (Белик, 2009, Иваницкий и др., 2018). Мы нашли новую зону контакта и вероятной гибридизации между двумя подвидами теньковки *abietinus* и *caucasicus* в Предкавказье. Весомым аргументом в пользу предположения о гибридизации служит несовпадение гаплотипов и других признаков (Marova et al., 2017). Например, теньковки из Шахт и Миллерово несут гаплотипы *abietinus*, а их песни не содержат слогов, характерных для *caucasicus*. Однако в их песнях присутствуют «вставочные элементы», характерные для *caucasicus*, а не для *abietinus*. Как отмечалось ранее, «вставочные элементы» в песнях теньковок большинства подвидов, в самых отдаленных популяциях подвида как правило исполняются без изменений (Ivanitskii et al., 2021). Это говорит о предполагаемой врождённой природе этих слогов, несовпадение которых с гаплотипом можно рассматривать как свидетельство гибридизации. Среди всех известных к настоящему времени зон контакта между формами пеночки-теньковки наибольшее сходство с ситуацией в Предкавказье имеет зона контакта в Швеции (Hansson et al., 2000). В обоих случаях в настоящий момент происходят самые первые этапы формирования зоны контакта.

ГЛАВА 6. Заключение

Пеночка-весничка и пеночка-теньковка – близкородственные виды, монофилетическое происхождение которых подтверждается последними молекулярно-генетическими данными (Alström et al., 2018). Они обладают значительным морфологическим и экологическим сходством, огромные транспалеарктические ареалы этих пеночек имеют похожую конфигурацию, и на

значительной их части весничка и теньковка симпатричны. Полученные нами данные свидетельствуют о значительно более масштабной биоакустической и генетической дифференциации подвидов и географических популяций теньковки по сравнению с весничкой. Эти различия в полной мере проявляются даже при анализе подвидов, имеющих относительно сплошное распространение в границах бореальной и субарктической зон Палеарктики. Возможно, ключ к формированию столь разнообразных структур дифференциации форм теньковки и веснички кроется в истории происхождения видов и образования их ареалов. Монолитный ареал веснички свидетельствует о её происхождении в Западной Европе и стремительном недавнем расселении на восток. Принципиально иная ситуация сложилась с теньковкой, имеющей не менее гигантский транспалеарктический ареал, который отчётливо разобщен на две ветви: северную и южную.

ГЛАВА 7. ВЫВОДЫ

1. Сроки и пути формирования двух близкородственных видов - теньковки и веснички существенно отличались, что привело к разному уровню генетической дифференциации на пространстве ареалов этих видов.
2. Отсутствие внутривидовой генетической дифференциации и слабая акустическая дифференциация свидетельствуют о недавнем и быстром увеличении численности популяции веснички. Учитывая также разное миграционное поведение подвидов веснички, можно предполагать, что в плейстоцене произошло быстрое расселение на север и восток из одного рефугиума в южной и западной Европе.
3. Высокая степень внутривидовой генетической, акустической и морфологической дифференциации теньковки свидетельствует о её расселении из нескольких отдалённых друг от друга европейских и азиатских горных рефугиумов, что привело к возникновению целого ряда обособленных форм, населяющих в том числе высокогорные регионы.
4. Подвиды теньковки *caucasicus* и *brevirostris* имеют близкие гаплотипы, но достоверно различаются по параметрам песни и морфологическим признакам, что подтверждает обоснованность разделения этих подвидов.
5. Генетические, биоакустические и морфометрические данные не дают оснований для выделения подвида веснички *eversmanni*.
6. Обнаружена новая гаплогруппа цитохрома *b* теньковки, объединяющая особей из Турции и Израиля. Оба турецких экземпляра отличаются по окраске от доминирующего в этом регионе подвида *brevirostris* и, по-видимому, представляют собой новую, ещё не описанную форму теньковки, имеющую реликтовое распространение.
7. Найденная нами новая зона вторичного контакта и вероятной гибридизации между подвидами пеночки-теньковки сформировалась в результате встречного расселения кавказского и восточноевропейского подвидов (*caucasicus* и *abietinus*) по антропогенно трансформированным ландшафтам Предкавказья.

8. «Вставочные элементы» в песне пеночки-теньковки специфичны для подвидов и одинаковы на всём протяжении их ареалов. В зоне контакта и гибридизации сибирского и восточноевропейского подвидов (*tristis* и *abietinus*) «вставочные элементы» обладают промежуточными акустическими характеристиками. В зоне контакта кавказского и восточноевропейского (*caucasicus* и *abietinus*) подвидов теньковки распространение «вставочных элементов» не совпадает с распространением гаплотипов и базовых нот песни.

Публикации по теме диссертации

Статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ имени М. В. Ломоносова:

1. Marova I.M., **Пыина I.Y.**, Kvartalnov P.V., Grabovsky V.I., Belokon M.M., Solovyova E.N., Ivanitskii V.V. From the Bosphorus to Kopet Dagh: morphological, genetic and bioacoustic variation in the Chiffchaff in Turkey, the Caucasus and western Turkmenistan // *Ardea* – 2021. – V. 109(2). – P. 1-16. DOI:10.5253/arde.v109i3.a3. SJR 2022 0.27. 0.9 п.л./0.8 п.л.
2. Ivanitskii V.V., **Пыина I.Y.**, Marova I.M. The sounds between the strophes: different chiffchaff taxa perform different tret calls in their song // *Bioacoustics*. – 2021. – V. 30 – P. 402-417. DOI:10.1080/09524622.2020.1796788. SJR 2022 0.62. 0.9 п.л./0.8 п.л.
3. **Ильина И.Ю.**, Марова И.М., Квартальнов П.В., Иваницкий В.В. О дивергенции песни в группе «коричневых» форм пеночки-теньковки (*Phylloscopus collybita sensu lato*) // *Зоологический журнал (Москва)*. – 2020. – Т.99, №1. – С. 85-92. DOI:10.31857/S0044513419110072. SJR 2022 0.16. 0.4 п.л./0.3 п.л.

Статьи в других рецензируемых изданиях:

1. Kvartalnov P.V., Abdalnazarov A.A., Samotskaya V.N., Poznyakova Y.A., **Пыина I.Y.**, Bannikova A.A., Solovyeva E.N. Nesting of the Large-billed Reed-warbler: a preliminary report // *Forktail*. – 2013. – V. 29. – P. 37-42. 0.3 п.л./0.2 п.л.
2. Квартальнов П.В., **Ильина И.Ю.**, Абдулназаров А.Г., Грабовский А.В. Гнездовая биология горной теньковки (*Phylloscopus sindianus*: Aves, Phylloscopidae) // *Бюллетень Московского общества испытателей природы. Отдел биологический*. – 2015. – Т.120, №2. – С. 11-27. 1 п.л./0.7 п.л.
3. Марова И.М., **Ильина И.Ю.**, Иваницкий В.В. Неожиданная встреча в начале лета: гибрид сибирской *Phylloscopus tristis* и европейской *Ph. collybita* теньковок в Ростовской области // *Русский орнитологический журнал*. – 2018. – Т.27, Экспресс-выпуск № 1604. – С. 2093-2099. 0.4 п.л./0.2 п.л.