



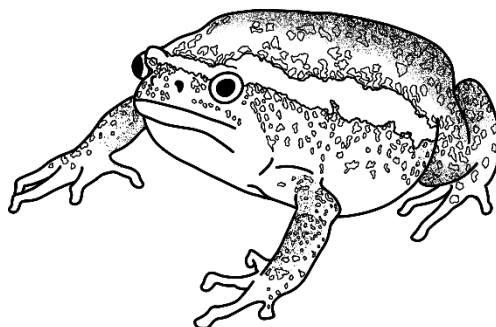
МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА

---

*На правах рукописи*

**Горин Владислав Анатольевич**

**Филогения, систематика и историческая биогеография  
узкоротов подсемейства *Microhylinae*  
(*Amphibia: Anura: Microhylidae*)**



Специальность 1.5.12 – зоология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Москва – 2022

Работа выполнена на кафедре зоологии позвоночных биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова.

**Руководитель**

**Поярков Николай Андреевич**  
кандидат биологических наук

**Официальные оппоненты:**

**Холодова Марина Владимировна**  
доктор биологических наук  
ФГБУН «Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова» РАН,  
кабинет методов молекулярной диагностики,  
гл. научный сотрудник

**Ананьева Наталья Борисовна**  
доктор биологических наук, профессор  
ФГБУН «Зоологический институт» РАН,  
лаборатория орнитологии и герпетологии,  
заведующая лабораторией

**Алёшин Владимир Вениаминович**  
доктор биологических наук  
ФГБУ ВО МГУ «НИИ физико-химической биологии имени А.Н. Белозерского»,  
Отдел эволюционной биохимии,  
вед. научный сотрудник

Защита диссертации состоится « 21 » ноября 2022 г. в 17:00 на заседании диссертационного совета МГУ.015.8 Московского государственного университета имени М.В.Ломоносова по адресу: 119234, Москва, Ленинские горы, д. 1/12, МГУ, биологический факультет, ауд. 389.

E-mail: [ksenperf@mail.ru](mailto:ksenperf@mail.ru)

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский просп., д.27) и на сайте ИАС «ИСТИНА»: <https://istina.msu.ru/dissertations/493536448/>

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2022 г.

Учёный секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат биологических наук



Перфильева К.С.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** На данный момент описано более 8400 видов амфибий (Frost, 2022). Большое число новых видов было выявлено благодаря использованию молекулярных методов и исследованию труднодоступных территорий (Biju, Bossuyt, 2003; Köhler et al., 2005; Vieites et al., 2009; Hasan et al., 2012; Gehara et al., 2014; Poyarkov et al., 2015). Вместе с тем, амфибии всегда рассматривались в качестве модельных объектов для изучения биогеографии из-за своего средового консерватизма, ограниченной способности к расселению и низкой толерантности к сухим условиям среды, низким температурам и солености водоемов (van der Meijden, Vences et al., 2007).

Азиатское подсемейство узкоротых лягушек *Microhylinae* Günther, 1858 (1843) (Anura: Microhylidae) представляет собой привлекательную модельную группу для исследования закономерностей и процессов, обусловивших формирование и развитие разнообразия земноводных тропической Азии. Сегодня это подсемейство насчитывает 116 видов (Frost, 2022), распространенных практически по всем тропическим регионам Южной, Юго-Восточной и Восточной Азии; причем ряд видов образует широкоареальные видовые комплексы, в то время как другие виды являются узкоареальными эндемиками. Лягушки этого подсемейства демонстрируют значительную морфологическую и экологическую пластичность, населяя различные биотопы и ландшафты (от почти пустынных прибрежных песчаных районов до влажных вечнозеленых тропических лесов на высотах более 2000 м н.у.м.). В подсемействе наблюдается разнообразие стратегий размножения и развития личинок, от типичных «дождевых лягушек», откладывающих сотни икринок во временные водоемы, из которых быстро развиваются многочисленные головастики-фильтраторы, до значительной степени эмбрионизации, сопряженной с откладкой небольшого количества крупных икринок в небольшие водоемы, расположенные в растениях. Кроме того, при внешнем сходстве узкороты подсемейства *Microhylinae* крайне разнообразны по размерам тела, который может колебаться от довольно крупных для бесхвостых амфибий (около 10 см) до наименьших из известных для наземных позвоночных (взрослые самцы ряда видов имеют длину около 1 см). Скелетное устройство этих лягушек существенно различается у разных групп, демонстрируя разные особенности, которые редки или вовсе отсутствуют у других клад бесхвостых амфибий (Noble, Parker, 1926; Parker, 1934; Zweifel, 1972; 1986; de Sá, Trueb, 1991). Наконец, незначительные способности к расселению таких небольших по размеру лягушек позволяют рассматривать их как удачный модельный объект для исследования биогеографии региона.

Все это делает узкоротов подсемейства *Microhylinae* крайне привлекательной модельной группой не только для изучения частных вопросов ее разнообразия, систематики и филогенетической истории, но и для исследования общих вопросов исторической биогеографии тропической Азии, а также эволюции стратегий размножения, размеров тела, образа жизни, репродуктивной биологии бесхвостых земноводных, и разработки мер по сохранению выявленного разнообразия.

**Цель и задачи исследования.** Целью настоящей работы является оценка таксономического разнообразия, реконструкция основных биогеографических событий, а также оценка роли миниатюризации в эволюционной истории лягушек подсемейства *Microhylinae* (Anura: Microhylidae).

Основные задачи исследования:

1. Выявить филогенетические связи представителей подсемейства по данным анализа мт- и яДНК-маркеров на максимально широком наборе таксонов.

2. Оценить таксономическое разнообразие подсемейства Microhylinae по данным фрагмента 12S рРНК — 16S рРНК (мтДНК), основываясь на обширном оригинальном материале и данных, опубликованных ранее.
3. По полученным филогенетическим данным применить метод молекулярных каллибровок для оценки вероятных времен основных кладогенетических событий в истории подсемейства Microhylinae
4. Провести анализ исторической биогеографии узкоротов Microhylinae по полученным данным о его филогении и сопоставить итоговый эволюционный сценарий для подсемейства с доступными данными о палеогеографии Азии.
5. Смоделировать эволюцию размеров тела в истории узкоротов подсемейства Microhylinae.

**Научная новизна работы.** Результаты работы формируют новое представление об эволюционных связях, генетическом, морфологическом и таксономическом разнообразии подсемейства Microhylinae. Впервые на основании обширного оригинального материала по данным анализа мтДНК и яДНК предложена филогенетическая гипотеза для семейства, включающая 102 вида (около 90% от известного разнообразия). Впервые проведено масштабное исследование разнообразия Microhylinae по данным мт- и яДНК от 528 экземпляров из 153 локалитетов практически со всего ареала семейства. В ходе работы были формально описаны восемь новых видов и один новый род лягушек Microhylinae. Показано наличие существенного криптического разнообразия в подсемействе Microhylinae, выявлено до 30 новых форм потенциально видового статуса. Впервые на основании обширного оригинального материала по интегративным данным предложена новая система подсемейства Microhylinae и разработан новый палеобиогеографический сценарий. Показана базальная радиация Microhylinae на три группировки в начале Палеоцена, и дифференциация на роды начиная с позднего Эоцена. Показано, что сухопутный мост между территориями Индийского субконтинента и Зондской Суши (современной Суматры) обеспечивал возможность фаунистического обмена и имел ключевое значение в эволюции всех групп Microhylinae. Представлены обновленные диагнозы по скелетным данным для всех родов подсемейства Microhylinae. Впервые продемонстрирован параллельный характер эволюции размеров тела и связанных морфологических адаптаций у подсемейства Microhylinae.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Впервые в масштабе мировой фауны проанализировано генетическое разнообразие узкоротов подсемейства Microhylinae; получено объективное представление о таксономическом разнообразии Microhylinae. Исследование вносит вклад в инвентаризацию разнообразия герпетофауны Юго-Восточной Азии, а также в понимание закономерностей формирования фаун и разработке мер по их сохранению. Полученные результаты по моделированию эволюции размеров тела и связанных с этим изменений вносят существенный вклад в представления о развитии конвергентных адаптаций у амфибий. Данные диссертации могут быть использованы при исследованиях процессов видообразования, криптических видов, миниатюризации у амфибий, а также исторической биогеографии Юго-Восточной Азии. Полученные данные могут быть полезны при преподавании курсов общей зоологии, зоологии позвоночных, герпетологии, морфологии и биогеографии в вузах.

**Методология и методы исследования.** Данная работа выполнена на основе мультилокусного молекулярно-генетического анализа собранного материала и последующего филогенетического анализа с использованием набора современных программ и алгоритмов. При интерпретации полученных данных использована литература по изменчивости, распространению и биологии узкоротов.

Оценка видового статуса обнаруженных линий проводилась с помощью альтернативных алгоритмов разграничения видов (species delimitation) по молекулярным данным. При интерпретации результатов мы могли опираться прежде всего на данные изменчивости мтДНК, но в ряде случаев располагали другими признаками (морфологическими, этологическими), используемыми при оценке видового статуса линий амфибий в рамках концепции интегративной систематики (Vieites et al., 2009).

Сбор материала проводился в ходе полевых исследований на территории Вьетнама (2016 г.), Шри-Ланки (2016 и 2020 гг.), Непала (2017 г.), Мьянмы (2018 и 2019 г.) и Таиланда (2022 г.). Молекулярно-генетические эксперименты, выделение ДНК, проведение ПЦР, подготовка к секвенированию, а также обработка данных проводились на оборудовании кабинета молекулярных методов в зоологии кафедры зоологии позвоночных биологического факультета МГУ. Секвенирование ДНК проводилось на базе лаборатории ЗАО «Евроген» (Москва).

**Положения, выносимые на защиту:**

- (1) Таксономическое разнообразие подсемейства остается в значительной степени недооцененным в связи с широким распространением криптических видов, узкоареальным эндемизмом и неизученностью тропической Азии
- (2) Биогеографическая история подсемейства Microhylinae в значительной степени определялась процессом фаунистического обмена между Индийским субконтинентом и континентальной Азией
- (3) Подсемейство Microhylinae характеризуется динамичной эволюцией размеров тела, миниатюризация в истории подсемейства происходила параллельно и приводила к различным морфологическим конвергенциям

**Личный вклад автора.** Соискатель принимал личное непосредственное участие на всех этапах исследования: при планировании работы и разработке её методологии, сборе данных в полевых условиях в течение полевых сезонов в различных районах Юго-Восточной Азии, осуществлении молекулярно-генетических экспериментов, обработке полученных данных и их филогенетическом анализе, обобщении и интерпретации результатов, подготовке и публикации статей и докладов, представлении результатов работы на всероссийских и международных конференциях.

**Степень достоверности результатов.** Достоверность полученных соискателем результатов обеспечивается большим объёмом оригинальных и сравнительных данных. Детальное описание методики молекулярно-генетических экспериментов и филогенетического анализа гарантирует воспроизводимость полученных результатов. Приготовленные скелеты депонированы в коллекции Зоомузея МГУ, а данные компьютерной томографии размещены в базе Morphosource. Использование набора современных методов анализа данных, их сопоставление с актуальными данными литературы и критический анализ результатов исследования обеспечивают корректность сделанных соискателем обобщений.

**Апробация работы.** Основные результаты работы были доложены на четырёх конференциях в виде семи устных и одного постерного доклада: VII Съезд Герпетологического общества им. А.М. Никольского при РАН (Махачкала, 2018) (устный доклад); 20-й Европейский герпетологический конгресс, XX European Congress of Herpetology (Милан, Италия, 2018) (устный доклад); Вторая международная молодежная конференция герпетологов России и сопредельных стран, посвященная 100-летию отделения герпетологии Зоологического института РАН: «Современная герпетология: проблемы и пути их решения» (Санкт-Петербург, 2019) (устный доклад); XXVIII Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых "Ломоносов 2021" (Москва, 2021) (устный доклад); VIII съезд Герпетологического

общества им. А. М. Никольского при РАН «Современные герпетологические исследования Евразии» (Звенигород, 2021) (3 устных, 1 постерный доклад).

**Публикации.** Всего по теме диссертации опубликовано девять работ на английском языке, в том числе восемь статей в международных рецензируемых журналах, индексируемых в международных базах данных Scopus и/или Web of Science, а также шесть тезисов конференций. Подготовка публикаций выполнена автором совместно с соавторами. Вклад автора в научных трудах составляет  $\frac{3}{4}$  за исключением работ «A new limestone-dwelling species of *Micryletta* (Amphibia: Anura: Microhylidae) from northern Vietnam» (Poyarkov et al., 2018), «A new species of the genus *Microhyala* Tschudi, 1838 (Amphibia: Anura: Microhylidae) from Tay Nguyen Plateau, Central Vietnam» (Nguyen et al., 2019) и «A new species of *Micryletta* (Amphibia: Microhylidae) from southern Thailand» (Suwannaroom et al., 2020), вклад в которые составил  $\frac{1}{4}$ . Автор принимал активное участие в постановке научных задач, анализе полученных результатов и представлении их в печати.

**Структура и объём диссертации.** Диссертация содержит следующие разделы: «Оглавление», «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы», «Результаты», «Обсуждение», «Заключение», «Выводы», «Благодарности», «Список литературы», включающий 118 источников, из них 1 – на русском и 117 – на иностранных языках, и «Приложения». Работа изложена на 217 страницах машинописного текста и включает 11 таблиц и 37 рисунков. Приложения представлены на 69 страницах и содержат 9 таблиц и 11 рисунков.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### 1. ВВЕДЕНИЕ

Во введении обоснована актуальность, сформулированы цели и задачи работы.

### 2. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В обзоре литературы приводятся общая характеристика семейства Microhylidae, основные молекулярные исследования узкородов Microhylidae, филогенетические связи подсемейства Microhylinae, краткая история изучения герпетофауны Юго-Восточной Азии, биогеографические представления о формировании фауны региона в целом и подсемейства Microhylinae в частности, дается общая характеристика скелетного устройства лягушек Microhylinae, кратко обозревается феномен миниатюризации у бесхвостых земноводных.

### 3. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**3.1. Сбор материала.** Материалом послужили пробы тканей от 230 экземпляров лягушек подсемейства Microhylinae, собранных лично автором или его коллегами, а также полученных из коллекции тканей амфибий кафедры зоологии позвоночных биологического факультета МГУ и музейных коллекций. Дополнительно исследована генетическая информация от 218 экземпляров Microhylinae, полученная из базы данных ГенБанк NCBI, а также геномные данные от 78 экземпляров из работы Ту с соавторами (Tu et al., 2018). В общей сложности проанализированы молекулярные данные от 528 экземпляров представителей Microhylinae из 153 локалитетов практически со всего ареала семейства от 102 признанных на сегодняшний день видов.

Исследование скелетных материалов основано на образцах, хранящихся в коллекциях Зоологического Музея МГУ, Гарвардского университета и Калифорнийской академии наук. В ходе работы были изготовлены и изучены 30 окрашенных препаратов скелетов Microhylinae. Методом компьютерной томографии была получена 31 3D-

модель скелетов лягушек *Microhylinae*, еще 23 модели были реконструированы по данным из базы Morphosource. Всего были исследованы остеологические данные от 72 видов лягушек всех 10 родов подсемейства *Microhylinae*.

**3.2. Молекулярно-генетические методы.** Выделение ДНК, ПЦР, очистку продуктов ПЦР, их секвенирование проводили по стандартным методикам. Исследовали следующие маркеры мтДНК: фрагменты генов малой (12S рРНК) и большой (16S рРНК) субъединиц рибосомальной РНК, транспортной РНК валина (тРНК<sup>Val</sup>). Также исследовали ядерный ген нейротрофического фактора мозга (BDNF). При ПЦР и секвенировании использовали 11 праймеров, из которых пять были разработаны в ходе работы. В общей сложности получено 230 конкатенированных последовательностей ДНК; еще 218 последовательностей были загружены из ГенБанка. Для разрешения глубоких узлов топологии мы также включили в анализ 78 последовательностей из работы Ту с соавторами (Tu et al., 2018), включающие 14 генов мтДНК (общей длиной 14143 пар оснований [далее — п.о.]) и 107 генов яДНК (общей длиной 98144 п.о.).

**3.3. Филогенетический анализ.** Последовательности ДНК выравнивали с помощью алгоритмов Clustal (Sievers et al., 2011) и MAFFT (Kato, Standley, 2013) и затем дорабатывали вручную в Bioedit 7.2.5 (Hall, 1999). Оценка разнообразия по гену 16S рРНК мтДНК проводилась отдельно для каждого из родов в программе MEGA 6.0 (Tamura et al., 2013), там же подсчитывали генетические дистанции.

Филогенетические связи оценивали с помощью двух алгоритмов: Байесова анализа (BI) в программе MrBayes 3.1.2 (Huelsenbeck, Ronquist, 2001; Ronquist, Huelsenbeck, 2003) и алгоритма Максимального правдоподобия (ML) с помощью программы IQ-TREE (Nguyen et al. 2015). При BI-анализе сходимость оценивали с помощью статистики ESS в Tracer 1.6 (Rambaut, Drummond, 2007). Стабильность узлов в Байесовом анализе (BI) оценивали с помощью постериорной вероятности (BI PP), в анализе по методу максимального правдоподобия (ML) – с помощью метода бутстрэпов с 10000 реплик (BS UFB) (Minh et al., 2013).

**3.4. Алгоритмы автоматического разделения видов.** Анализ таксономического разнообразия подсемейства *Microhylinae* осуществили с помощью исследования изменчивости фрагментов гена 16S рРНК (длиной от 450 до 1577 п.о.). При исследовании разнообразия семейства использовали четыре метода оценки видовых границ: алгоритм «Automatic Barcode Gap Discovery» в программе ABGD (Puillandre et al., 2011), байесовский алгоритм на основе Общей Юловой коалесценции (bGMYC) (Reid, Carstens, 2012), и алгоритмы на основе моделей пуассоновских процессов (PTP и bPTP) (Zhang et al., 2013).

**3.5 Анализ времен дивергенции.** Оценки времён дивергенции в истории *Microhylinae* проводили в программе BEAST 1.8.4 (Drummond et al., 2012). Мы использовали три значения, полученные из недавних крупномасштабных филогений микрохилид (Kurabayashi et al. 2011), а также палеонтологических находок *Gastrophryninae* (Sanchiz, 1998; Holman, 2003; De Sá et al., 2012) в качестве точек первичной калибровки. Мы также применили две дополнительные калибровочные точки, широко используемые при оценке времени расхождения *Anura*: максимальный возраст дивергенции между *Blommersia wittei* и *B. transmarina* с Коморских островов (Vences et al., 2003), и минимальный возраст дивергенции *Alytes muletensis* - *A. dickhilleni* (Fromhage, Vences & Veith, 2004).

**3.6 Биогеографический анализ и реконструкция предковых ареалов.** Реконструкцию исторической биогеографии подсемейства *Microhylinae* проводили с помощью алгоритма Lagrange в RASP (Yu et al., 2015), при этом учитывались сведения о палеогеографии Юго-Восточной Азии (Hall, 2012; Ding et al., 2017; Morley, 2018).

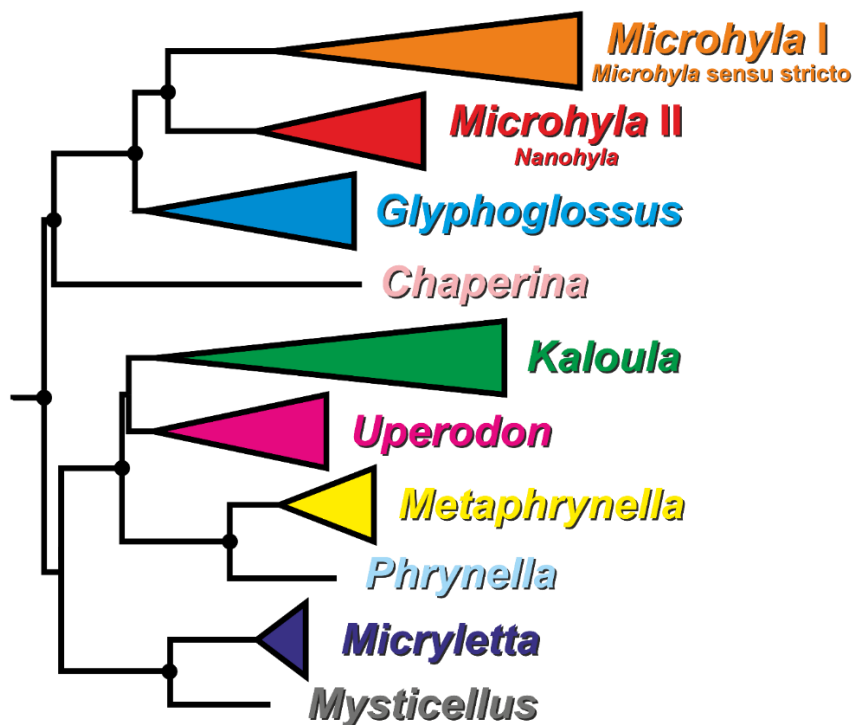
**3.7. Реконструкция изменения размеров тела в ходе эволюции.** Моделирование эволюции размеров тела в группировке *Microhyla-Nanohyla-Glyphoglossus* проводили по алгоритму максимального правдоподобия в R 3.6.3 (R Core Team, 2014) с помощью пакета *phytools* (Revell, 2012). Данные о максимальной длине тела (SVL) собирались для обоих полов, для каждого вида, из литературы и/или из собственных измерений ваучерных экземпляров. Чтобы усилить чувствительность метода при самых маленьких размерах, мы анализировали натуральные логарифмы значений SVL.

**3.8 Визуализация остеологических данных.** Для изучения как костных, так и хрящевых структур образцы были очищены и окрашены методом бескислотного дифференцирующего окрашивания альциановым синим и ализариновым красным (Walker, Kimmel, 2006) с последующим хранением в 99% глицерине.

Данные компьютерной микротомографии были получены на томографе SkyScan 1172 Геологического факультета МГУ и SkyScan 1272 Биологического факультета МГУ. Перевод снимков в серию поперечных срезов производили в программе NRecon1.6. Мы использовали 3D Slicer (Kikinis et al., 2014) и Amira-Avizo 3D Software (Thermo Fisher Scientific) для построения, обработки и визуализации 3D-моделей.

## 4. РЕЗУЛЬТАТЫ

**4.1. Филогенетические связи подсемейства *Microhylinae*.** Получившийся датасет включил данные от большого количества таксонов по одним и тем же маркерам (наши данные и данные из ГенБанка, представленные в основном фрагментом 12S–16S рРНК мтДНК) и данные по множеству маркеров от ограниченного числа таксонов (геномные данные *Tu* с соавт. (Tu et al., 2018)). Недавние исследования показывают, что суперматрицы с большим количеством недостающих фрагментов все равно достаточно эффективны, чтобы давать хорошие оценки топологий, поддержек и длин ветвей (McMahon, Sanderson, 2006; Sanderson et al., 2010; Thomson, Shaffer, 2010; Pyron, Wiens, 2011; Burleigh et al., 2015; Zheng, Wiens, 2016). Это делает возможным объединить все возможные данные по подсемейству *Microhylinae*, чтобы построить самую полную и точную филогению (Рис. 1).



**Рис. 1.** Филогенетические связи между родами подсемейства *Microhylinae* по данным анализа 14 генов мтДНК и 107 генов яДНК. Здесь и далее значения поддержки узлов указаны для BI PP и ML BS; чёрный кружок – узлы с достоверной поддержкой (BI PP > 0.95; ML UFB > 95%), белый кружок обозначает узлы с высокой поддержкой в одном из анализов (BI PP > 0.95 / ML UFB > 95%), а отсутствие кружка – отсутствие поддержки (BI PP < 0.9; ML UFB < 90%).



Подсемейство *Microhylinae* монофилетично и включает три клады. Первая клада включает род *Chaperina* и близкородственную группировку из трех реципрокно монофилетичных родов: *Microhyla*, *Nanohyla* и *Glyphoglossus*. Согласно нашим данным, род *Glyphoglossus* занимает базальное положение в этой группировке, в то время как *Microhyla* и *Nanohyla* реконструируются в качестве ближайших родственников. При этом род *Nanohyla* был формально описан и выделен из состава *Microhyla* совсем недавно (см. далее). Следующая клада включает роды *Kaloula*, *Uperodon*, *Metaphrynella* и *Phrynella*. Базальное разрешение в этой кладе, несмотря на большое количество данных, отсутствует. Тем не менее, внутри этой клады род *Kaloula* группируется с родом *Uperodon* (без поддержки), а *Metaphrynella* — с родом *Phrynella*. Последняя клада объединяет два рода — *Micryletta* и *Mysticellus*. Далее представлены развернутые части общего дерева для каждой клады по отдельности.

Хотя в некоторых работах род *Chaperina* занимал обособленное положение и даже выделялся в отдельное подсемейство (*Chaperininae*) (Peloso et al., 2016), Наши результаты подтвердили положение этого внутри подсемейства *Microhylinae* в качестве ближайшего родственника *Microhyla-Nanohyla-Glyphoglossus*. Большинство узлов внутри группировки *Microhyla-Nanohyla-Glyphoglossus* получили высокие значения поддержки BI PP и ML UFB (Рис. 2). Наблюдаемые топологические паттерны в составе этого комплекса в целом совпадают и хорошо согласовывались с более ранними филогенетическими представлениями о связях группировки, хотя в нашем исследовании мы получили более высокие значения поддержки узлов. Все виды родов *Microhyla*, *Nanohyla* и *Glyphoglossus* были систематически сгруппированы в девять хорошо поддерживаемых клад (Рис. 2, А-Н). Род *Microhyla* включает семь основных клад и 43 генетические линии потенциально видового статуса:

(А) Клада А соответствует группе видов *M. achatina*. Филогенетические отношения внутри этой группы были разрешены плохо (Рис. 2, А). Филогенетическое положение *M. fodiens* из центральной Мьянмы, комплекса *M. heymonsi* и *M. pineticola* из Индокитая не выяснено. Другие виды образуют сильно поддерживаемую монофилию, которая далее подразделяется на две субклады: (А1), включающий виды из бывшей Зондской Суши (*M. borneensis*, *M. nepenthicola*, *Microhyla* sp. 1 из Сабаха, *M. malang*, *M. orientalis*, *M. mantheyi*) и южного Вьетнама (*M. minuta*) и (А2) также с видами из территорий Зондской суши (*M. achatina*, *M. gadjahmadai*), Мьянмы (*M. irrawaddy*, *Microhyla* sp. 2 из северной Мьянмы) и юга Индии (*M. kodial*).

(В) Клада В соответствует группе видов *M. fissipes* и состоит из двух хорошо поддерживаемых субклад (Рис. 2, В): (В1) включала виды из Индокитая и южного материкового Китая и Тайваня (*M. fissipes*, *M. mukhlesuri*) и виды из восточной Индии, Бангладеш и Андаманских островов (*M. mumsinghensis*, *M. chakrapanii*); (В2), охватывающий виды из материкового Китая (*M. mixtura*, *M. beilunensis*, *M. fanjingshanensis*) и японского архипелага Рюкю (*M. okinavensis*, *M. kuramotoi* с архипелага Яэяма).

(С) Клада С включает комплекс *M. berdmorei* и *M. pulchra* из Индокитая и южного Китая, а также *M. picta* из южного Вьетнама (Рис. 2, С). Клада С была реконструирована как сестринская для клад А + В.

(D) Клада D включает виды распространенные на Шри-Ланке (*M. zeylanica*, *M. karunaratnei*) и в южной Индии (*M. laterite*, *M. sholigari*, *M. darreli*) (D1), а также виды из северо-восточной Индии (*M. eos*), западного Таиланда (*M. tatrix* из Тенассерима) и Тайско-Малайского полуострова (*M. superciliaris*) (Рис. 2, D).

(Е) Клада Е сестринская к кладе D и включает виды с Индийского п-ова и Шри-Ланки, в том числе комплекс *M. ornata* (Е1, *M. ornata*, *M. nilphamariensis*, *M. taraiensis*) и представителей комплекса *M. rubra* (Е2, *M. rubra*, *M. mihintalei*) (Рис. 2, Е).

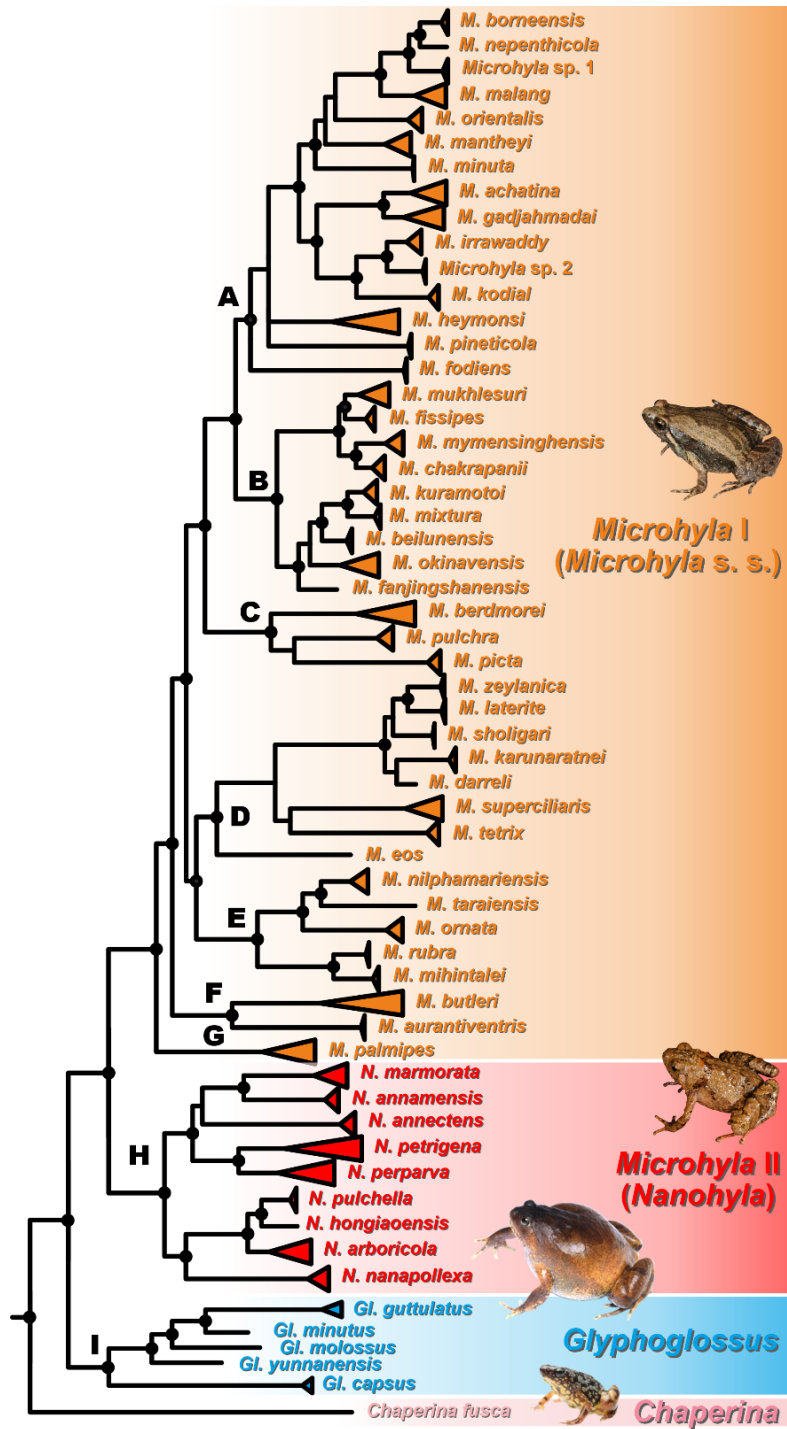


Рис. 2. Филогенетические связи трибы Microhyliini. Буквами (А-І) обозначены выделенные клады.

Наконец, роющие лягушки крупного размера из рода *Glyphoglossus* представлены в нашем анализе пятью из девяти признанных на сегодняшний день видов; *G. capsus* с Борнео была реконструирована как сестринская группа по отношению ко всем другим видам с Индокитая и Малайского полуострова (Рис. 2, I). Вид *G. molossus*, наиболее крупный и морфологически отличающийся от других видов, попал вглубь радиации этой клады и оказался родственным *G. minutus* и *G. guttulatus*.

Клада, объединяющая роды *Kaloula*, *Metaphrynella*, *Phrynella* и *Uperodon* имеет слабое базальное разрешение и вполне может изменить свою топологию при добавлении данных. Тем не менее, мы все равно представляем предварительное описание филогенетических связей этой группировки (Рис. 3).

(F) Клада F соответствует группе видов *M. butleri* и объединяет комплекс *M. butleri* из южного Китая и Юго-Восточной Азии с *M. aurantiventris* из центрального Вьетнама (Рис. 2, F). Клада F была подтверждена как родственная линия по отношению к Кладам А-Е.

(G) Клада G представлена комплексом видов *M. palmipes* с Явы и Суматры (Рис. 2, G); в роде *Microhyli* эта клада занимает базальное положение.

Род *Nanohyla* представлен одной кладой (H) и включает девять номинальных видов наземных или полудревесных лягушек размером от крошечных до мелких:

(H) Клада H соответствует группе видов *N. annectens* и была далее подразделена на две субклады: (H1) включает виды с Борнео (*N. perparva*, *N. petrigena*), Тайско-Малайского полуострова (*N. annectens*) и Аннамских гор (хребет Чыонгшог) Индокитая (*N. annamensis*, *N. marmorata* и *N. pulverata*); другая клада (H2) объединяет виды из центральной (*N. nanapollexa*) и южной части Аннамских гор (*N. arboricola*, *N. pulchella*, *N. hongiaoensis*) (Рис. 2, H).

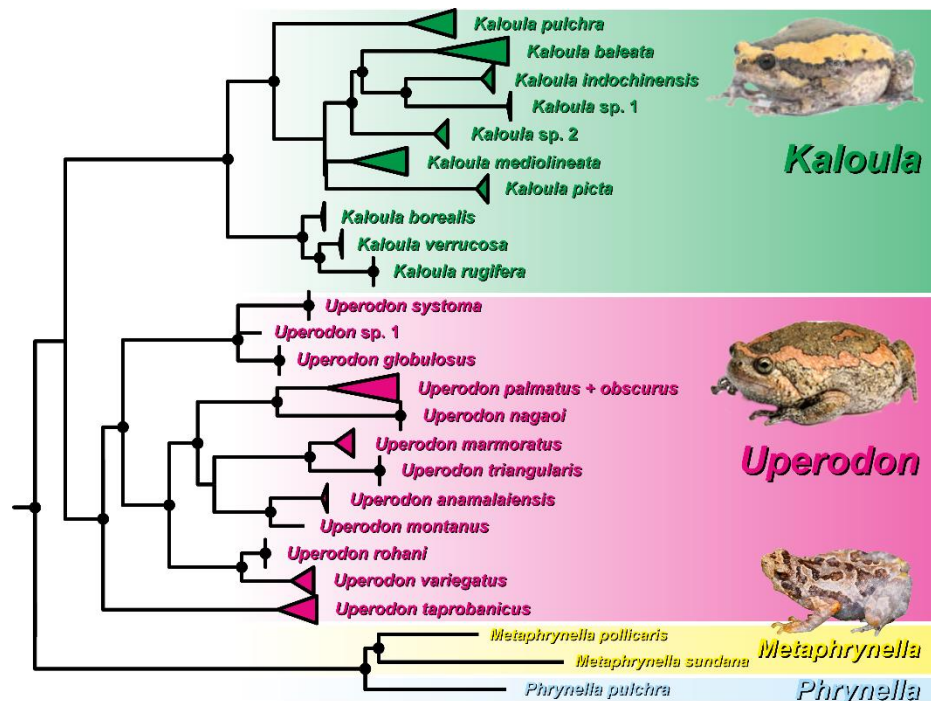


Рис. 3. Филогенетические связи трибы Kaloulini.

Род *Kaloula* группируется с родом *Uperodon*, хоть и без значимой поддержки. Внутри этого рода базально расположены восточноазиатские виды — *K. borealis*, *K. verrucosa* и *K. rugifera*. Среди оставшихся видов обособленное положение занимает *K. pulchra*, имеющая заметное генетическое разнообразие и, судя по всему, представляющая собой видовой комплекс. Оставшиеся виды — *K. baleata*, *K. indochinensis*, *Kaloula* sp. 1 и *Kaloula* sp. 2 — распространены преимущественно по Индокитаю и прилежащим территориям, причем *K. baleata* имеет значительную генетическую дифференциацию, что также может указывать на наличие неопisanного разнообразия в этом комплексе.

Внутри рода *Uperodon* базальное положение занимает широкоареальный вид *U. taprobanicus*, населяющий практически все территории полуострова Индостан. Среди оставшихся видов обособленное положение занимают виды, являющиеся эндемиками острова Цейлон — *U. systema*, *U. globulosus* и *Uperodon* sp. 1. Далее идет разветвление между еще одними эндемиками Шри-Ланки, *U. rohani* и *U. variegatus*, и группой, имеющей смешанное распространение на территориях Индии и Шри-Ланки — *U. marmoratus*, *U. triangularis*, *U. anamalaiensis* и *U. montanus*.

Наконец, роды *Metaphrynella* и *Phrynella* предсказуемо объединились в компактную кладу.

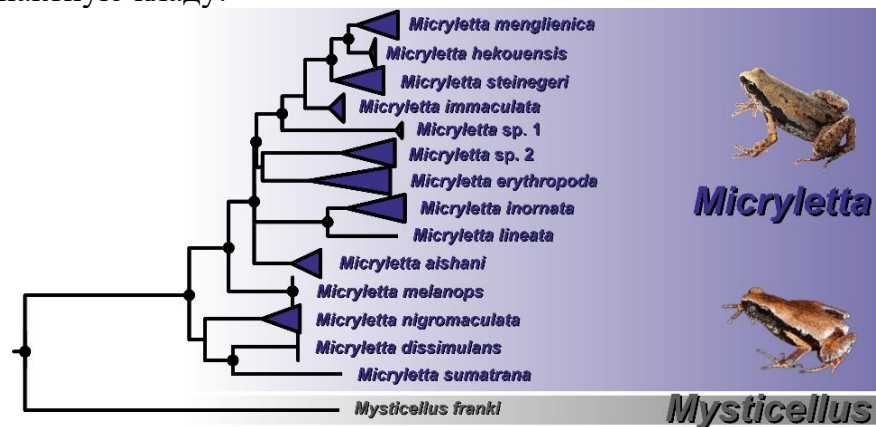


Рис. 4. Филогенетические связи трибы Micrylettini.

Род *Mysticellus*, недавно описанный из южной Индии и включающий единственный вид *Mysticellus franki*, группируется вместе с родом *Micryletta* (Рис. 4). В наш анализ вошли все известные на сегодняшний день виды рода *Micryletta*. Базально (хоть и без значимой поддержки)

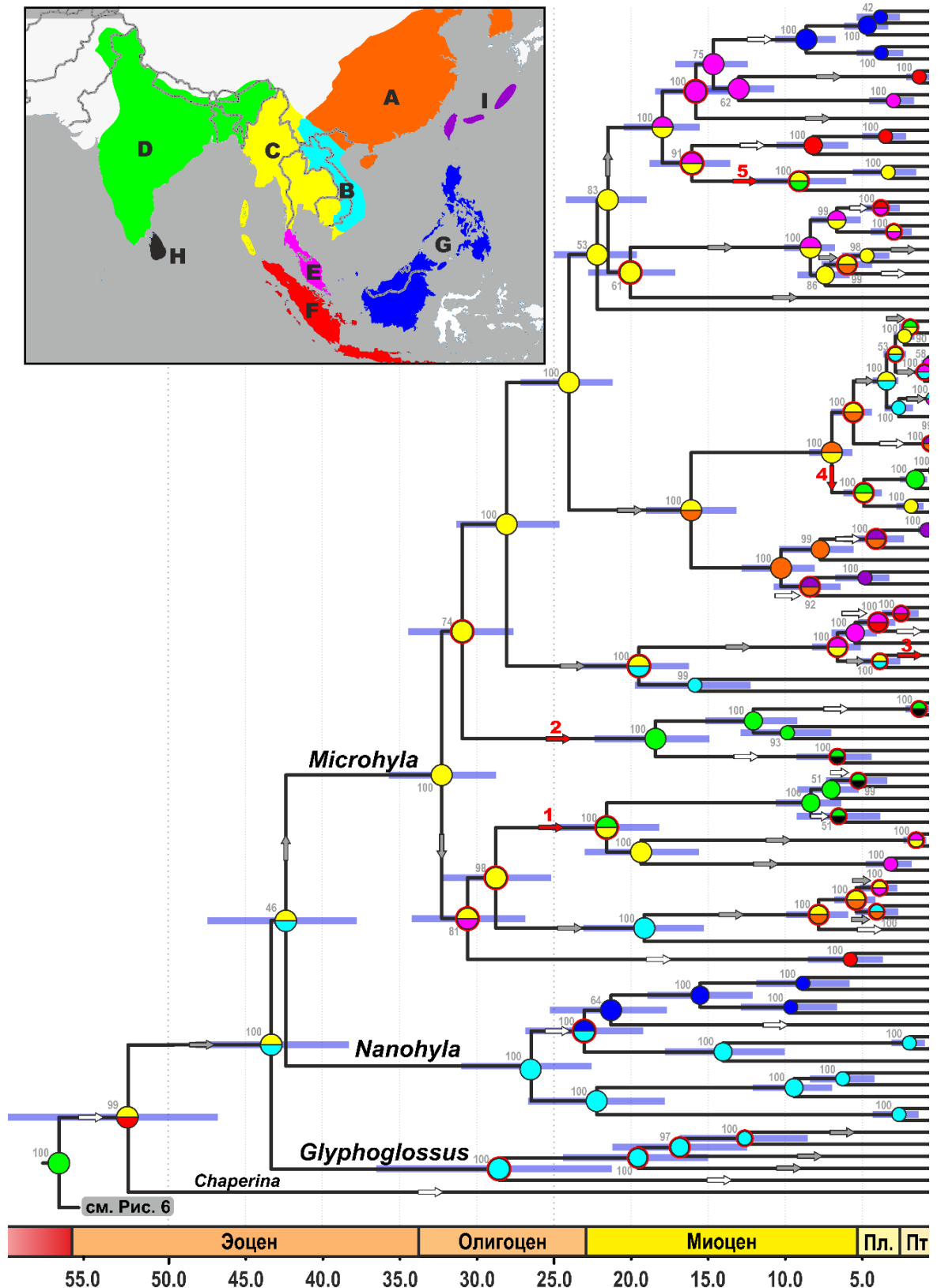
на дереве располагается клада, объединяющая *M. nigromaculata* из северного Вьетнама и *M. dissimulans* + *M. sumatrana* из южного Таиланда и Суматры, соответственно. Среди оставшихся видов, на нашем дереве ответвляется сначала *M. melanops* из Вьетнама. Филогенетически связи остальных видов *Micryletta* остаются слабо разрешенными, однако мы можем сказать, что *M. aishani*, известная из восточной Индии и Мьянмы, занимает обособленное положение, *M. inornata*, распространенная от Суматры до южного Таиланда, достоверно группируется с *M. lineata*, а *M. steinegeri* группируется с *M. hekouensis* и *M. menglienica* из южного Китая.

**4.2. Видовое разнообразие подсемейства Microhylinae.** Чтобы оценить количество линий потенциально видового статуса в пределах подсемейства *Microhylinae*, мы использовали четыре альтернативных подхода к разграничению видов с помощью анализов ABGD, bGMYC, PTP и bPTP. Эти методы демонстрируют различную производительность в зависимости от размеров выборки, скорости видообразования и других параметров, однако, когда эти методы согласуются, полученное разграничение становится правдоподобным (Dellicour, Flot 2018). Объединенные результаты анализов позволили выделить все описанные виды подсемейства *Microhylinae*, за исключением *N. pulverata*, который был неотличим от *N. marmorata*, и *U. palmatus*, объединяющийся с *U. obscurus*. Все анализы показывают, что видовое разнообразие в пределах подсемейства *Microhylinae* сильно недооценено: для 102 признанных видов этой группировки, включенных в нашу филогению, анализ ABGD восстановил 116 видов, bPTP — 122, PTP — 124, а bGMYC — 132. Наш анализ разграничения видов указывает на присутствие многих нераспознанных линий потенциально видового уровня в комплексах *M. heymonsi*, *M. bermodrei*, *M. malang*, *M. butleri*, *M. achatina*, *M. gadjahmadai*, *M. palmipes*, *N. perparva*, *N. petrigena*, *N. arboricola*, *K. pulchra*, *K. baleata*, *K. mediolineata* и *U. palmatus*.

**4.3. Оценки времен дивергенций основных кладогенетических событий в истории подсемейства Microhylinae.** Полученная в результате анализа хронограмма (Рис. 5 и 6) немного отличается по топологии от представленной ранее дендрограммы по Байесову алгоритму.

Согласно нашим результатам, последний общий предок (MRCA) *Chaperina* и *Microhyla*, *Nanohyla* и *Glyphoglossus* датируется ранним Эоценом, ок. 52,5 млн лет назад (46,0–57,9). Группировка *Microhyla-Nanohyla-Glyphoglossus* разошлась в течение относительно небольшого периода времени в среднем Эоцене около 43,8 млн лет назад (38,7–49,1). Диверсификация внутри родов *Microhyla*, *Nanohyla* и *Glyphoglossus* началась в раннем и среднем олигоцене (от 35 до 25 млн лет назад). Последний общий предок родов *Micryletta* и *Mysticellus* датируется средним Эоценом ок. 39,1 млн лет назад (33,8–44,7). Дифференциация внутри рода *Micryletta* происходила, начиная с среднего Миоцена ок. 13,8 млн лет назад (8,6–17,1). Наконец, клада, объединяющая роды *Kaloula*, *Uperodon*, *Metaphrynella* и *Phrynella* произошла в среднем Эоцене ок. 43,7 млн лет назад (35,9–50,5). Дифференциация рода *Uperodon* началась в среднем Олигоцене ок. 29,1 млн лет назад (24,6–34,1), а рода *Kaloula* — в начале Миоцена ок. 19,8 млн лет назад (15,4–23,9). Сестринские роды *Metaphrynella* и *Phrynella* разошлись так же в раннем Миоцене ок. 18,1 млн лет назад (14,5–22,3)

**4.4. Биогеографический анализ и моделирование предковых ареалов подсемейства Microhylinae.** Результаты реконструкции основных биогеографических процессов (викариция, расселение и маршруты колонизации) и предковых ареалов для рода *Chaperina* и группировки *Microhyla-Nanohyla-Glyphoglossus* представлены на Рисунке 5.



**Рис. 5.** Хронограмма и результаты реконструкции предковых ареалов родов *Chaperina*, *Microhyla*, *Nanohyla* и *Glyphoglossus*. Выделенные биогеографические регионы показаны на карте цветами. Здесь и далее цвет узла соответствует предполагаемому предковому ареалу; узловые значения соответствуют предельной вероятности для предковых ареалов (S-DIVA); рядом с узлами показаны 95% доверительные интервалы узловых значений; стрелки обозначают события расселения, красные – в Индию; по оси абсцисс указан возраст в млн. лет.

Согласно нашей модели, MRCA *Microhyla* + *Nanohyla* + *Glyphoglossus*, скорее всего, обитал в Индокитае. Восточный Индокитай был реконструирован как предковый ареал для родов *Nanohyla* и *Glyphoglossus*, а род *Microhyla*, вероятно, произошел

из западного Индокитая. Род *Nanohyla* в дальнейшем расширил свой ареал до Борнео и Малайского полуострова, в то время как род *Microhyla* распространился наиболее широко по всем биогеографическим регионам в пределах современного ареала группировки, включая по крайней мере пять независимых случаев расселения из западного Индокитая Индийского субконтинента. Результаты нашего анализа предполагают многочисленные случаи расселения с материковой части Азии на острова, включая Зондские острова, но только один случай обратного расселения (из Борнео на Малайский полуостров).

Результаты реконструкции основных биогеографических процессов и предковых ареалов для родов *Kaloula*, *Uperodon*, *Metaphrynella*, *Phrynella*, *Micryletta* и *Mysticellus* представлены на Рисунке 6.

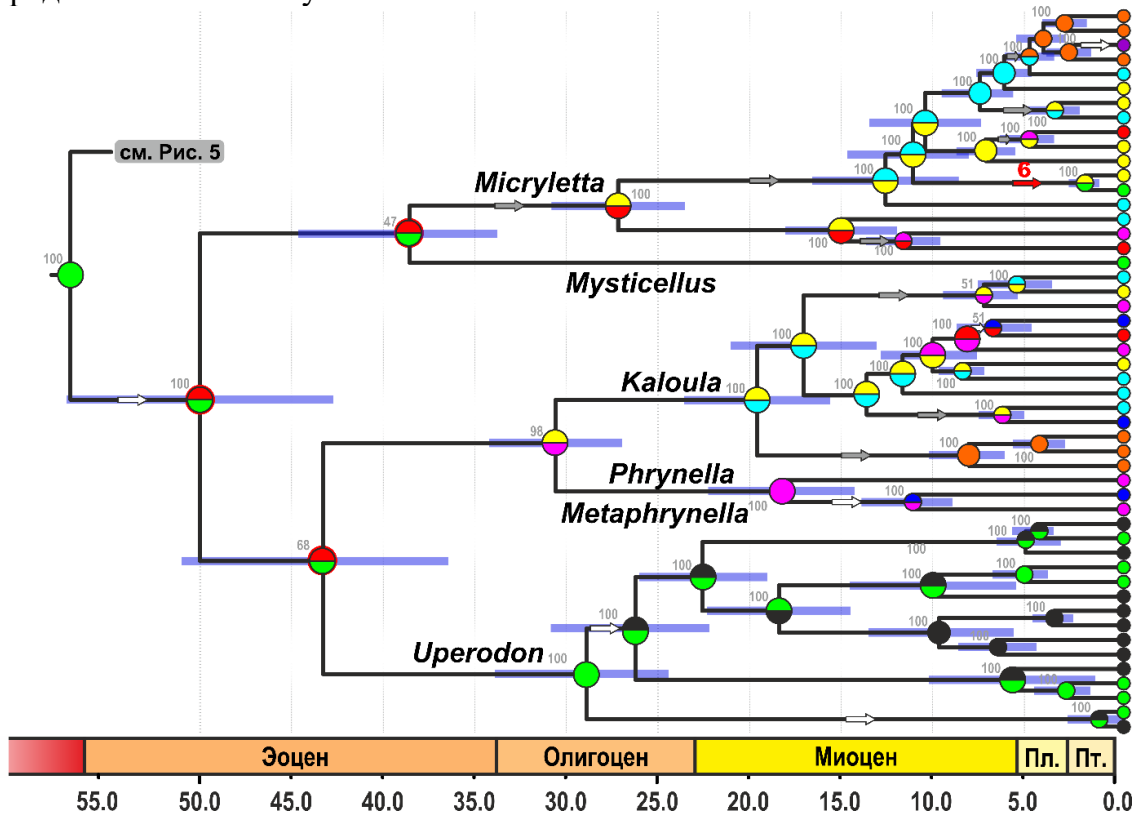
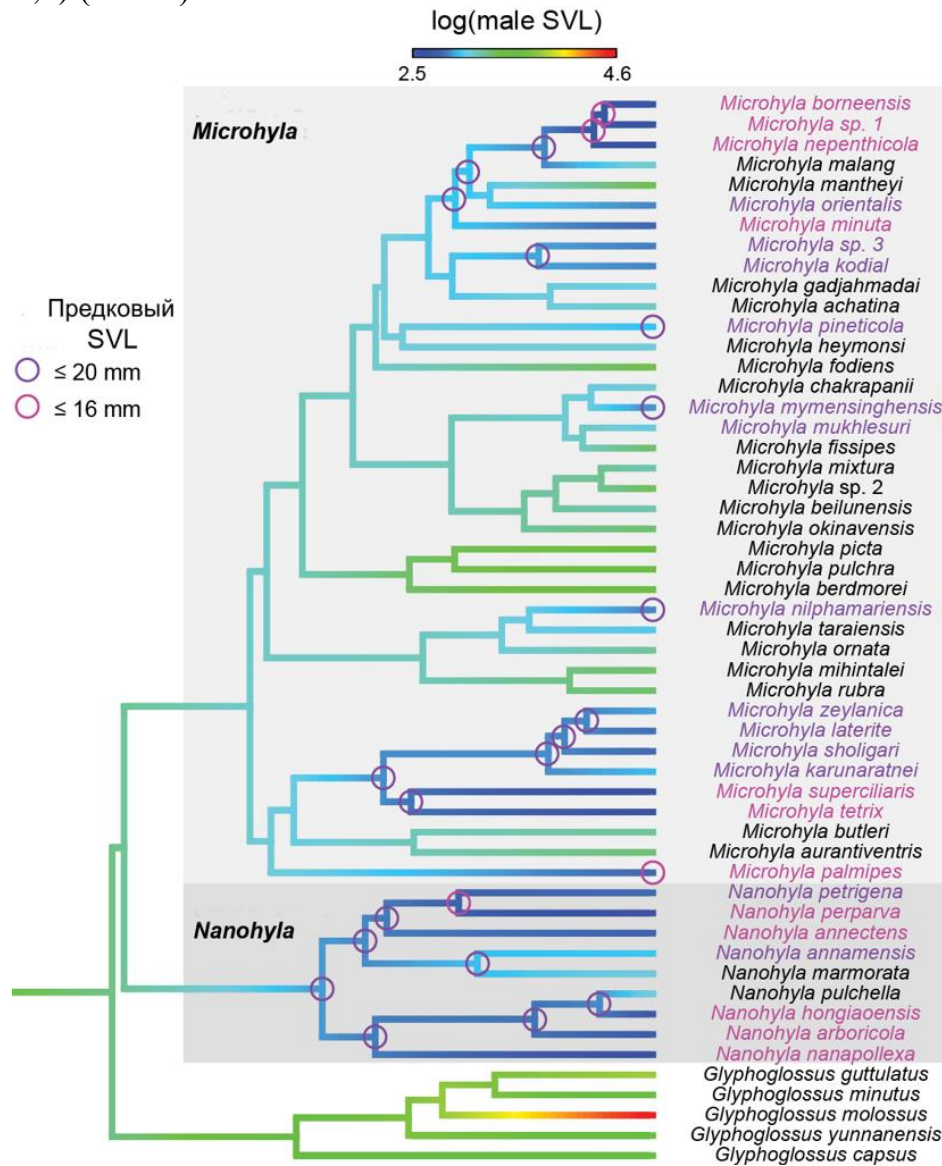


Рис. 6. Хронограмма и результаты реконструкции предковых ареалов родов *Micryletta*, *Mysticellus*, *Kaloula*, *Uperodon*, *Metaphrynella* и *Phrynella*. Обозначения см. Рис. 5.

Согласно нашей модели, MRCA этой группировки, скорее всего, обитал на Индийском континенте, который в тот момент контактировал с Зондской сушей через Суматру. Такие же ареалы занимали общие предки *Micryletta* + *Mysticellus* и *Uperodon* + (*Kaloula* + (*Metaphrynella* + *Phrynella*)). Род *Uperodon* возник на территории Индии и в дальнейшем несколько раз распространялся на Шри-Ланку. Результаты анализа не предполагают обратного расселения с острова на материк. Общий предок родов *Kaloula* и *Metaphrynella* + *Phrynella*, видимо, населял Малайский полуостров и западный Индокитай. В дальнейшем, предок *Metaphrynella* также расселился на территории Борнео, которые, видимо, никак не отделялись от материковой Азии. Центром возникновения рода *Kaloula* реконструируется Индокитай, причем в дальнейшем представители рода расселились очень широко, колонизировав как Восточную Азию с ее островами, так и Зондские острова (Борнео и Суматру) и Филиппины. Общий предок родов *Mysticellus* и *Micryletta*, по-видимому, викарировал, причем предок рода *Mysticellus* остался на территории Индии, в то время как предок рода *Micryletta* расселился на азиатские территории — Зондскую сушу и Индокитай. Затем предковые формы *Micryletta* продолжили дифференцироваться уже в Индокитае, заселив Восточную

Азию и оттуда острова, в то время как реликтовые группы — *Micryletta sumatrana* и *Micryletta dissimulans* остались в пределах предкового ареала.

**4.5. Эволюция размеров тела лягушек подсемейства Microhylinae.** Результаты нашего анализа предполагают, что *Microhyla* и *Nanohyla* независимо уменьшились в размерах от умеренно небольшого общего предка, с размером самцов 25,3 мм (18,8–34,2) (Рис. 7).

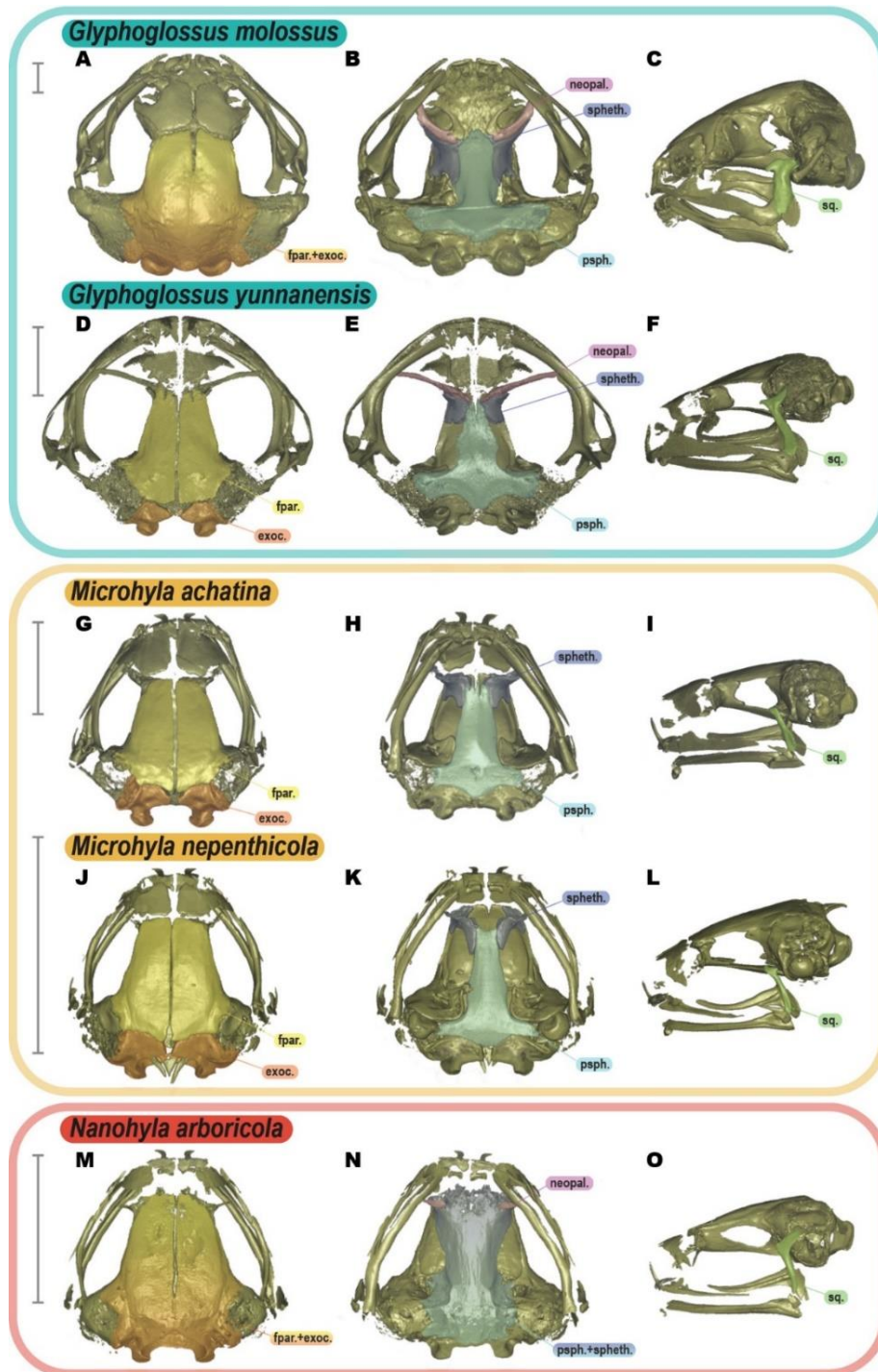


**Рис. 7.** Результаты реконструкции эволюции размеров тела группировки *Microhyla-Nanohyla-Glyphoglossus*. Фиолетовые кружки указывают переход к размерам тела менее 20мм, розовые – менее 16мм.

Внутри рода *Microhyla* как минимум две клады произошли от миниатюризированных общих предков: группа видов *Microhyla superciliaris* (общий предок оценивается в 17,7 мм) и группа видов *M. achatina* (общий предок оценивается в 19,6 мм; внутри нее клада, состоящая из *Microhyla* sp. 3 и *M. kodial*, которые вероятно независимо уменьшились в размерах с общим предком размером 18,3 мм). Несколько линий также независимо уменьшили размер тела ниже 20 мм, что дает в общей сложности восемь переходов к SVL <math>< 20\text{ мм}</math>. Общий предок всех видов рода *Nanohyla* был, по-видимому, уже миниатюризирован (SVL самцов оценивается в 18,1 мм), и в большинстве линий размеры продолжили уменьшаться. Две линии, *N. annamensis* + *N. marmorata* и *N. pulchella*, независимо и неоднократно увеличивали размер тела от миниатюрных предков до их современных размеров. У рода *Microhyla* группа видов *M. bermorei* существенно увеличилась в размерах. Среди рода *Glyphoglossus* лягушки вида *G. molossus* резко выделяется по размеру тела и в целом представители этого рода значительно больше, чем представители других родов группировки.

#### 4.6. Разнообразие скелетных признаков в подсемействе *Microhylinae*.

В общей сложности 72 вида от всех 10 родов *Microhylinae*, исследованных на предмет изменчивости остеологических признаков, позволили нам оценить сходства и различия в устройстве скелета между разными родами, а также внутри них, и представить обновленные остеологические диагнозы для родов подсемейства *Microhylinae*. Диагностические черепные признаки описанного в ходе работы рода *Nanohyla* представлены на Рисунке 8. Основные остеологические признаки для каждого рода суммированы в Таблице 1.



**Рис. 8.** Изменчивость остеологии черепа представителей группировки *Microhyla-Nanohyla-Glyphoglossus*. Черепа показаны при виде сверху / снизу / сбоку для *Glyphoglossus molossus* (A/B/C, соответственно), *Gl. guttulatulus* (D/E/F, соответственно), *Microhyla achatina* (G/H/I, соответственно), *M. nepenthicola* (J/K/L, соответственно) и *Nanohyla arboricola* (M/N/O, соответственно). Обозначения: fpar. – frontoparietale, exoc. – экзооципитале, spheth. – sphenethmoideum, psph. – parasphenoideum, neopal. – neopalatinum, sq. – squamosum. Масштабные линейки длиной 3 мм.

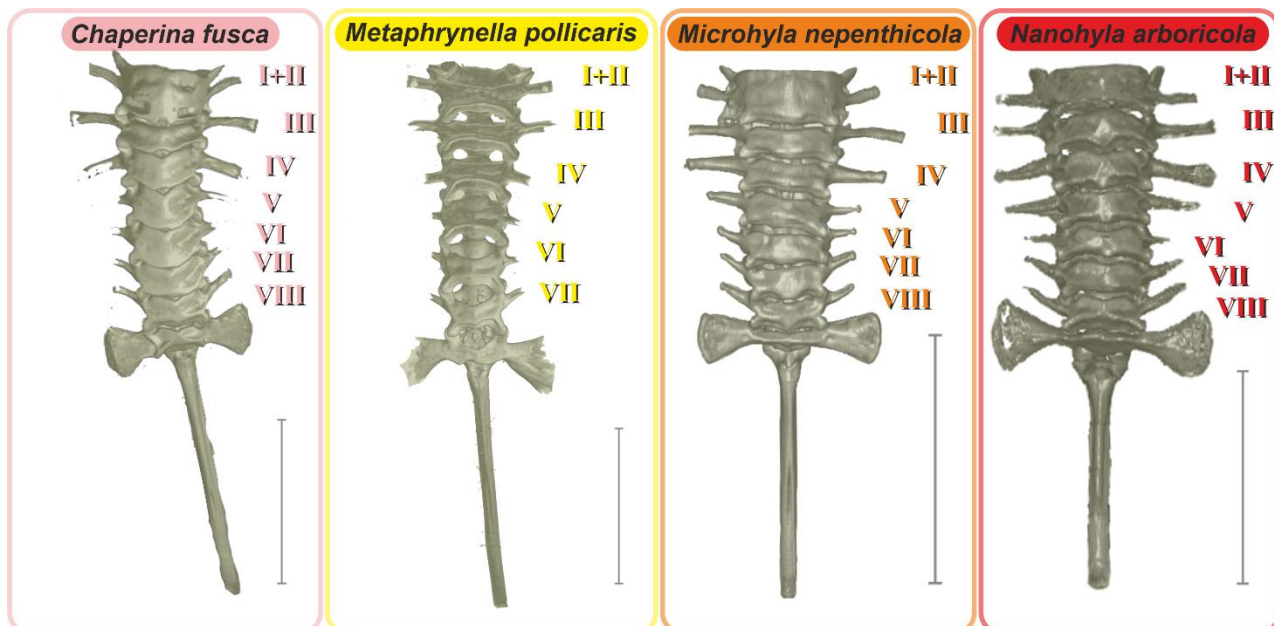
**Табл. 1.** Основные остеологические признаки диагностирующие роды подсемейства *Microhylinae*. Признаки: fpar. – frontoparietale, exoc. – экзооципитале, cap. nas. - носовые капсулы, den.mx.vom. - зубы на сошнике и верхней челюсти, vom. - vomer, pter. - petrygoideum, p.ant.pter. - передний отросток petrygoideum, spheth. – sphenethmoideum, psph. – parasphenoideum, neopal. – neopalatinum, sq. – squamosum., p.ot.sq. - слуховой отросток



squamosum, an.tymp. - тимпанальное кольцо, colum. - стремечко, crist.parot. - crista parotica, clav. - ключицы, prepoll. - prepollex, phal.dig. - форма концевых фаланг пальцев передней конечности; состояния признаков: отсутствует (-), присутствует (+), разделены (разд.), сросшены (срощ.), окостеневаает (1), минерализован (2), хрящевой (3), большой (бол.), маленький (мал.), широкий (шир.), тонкий (тон.), тупой (туп.), заостренный (остр.), Т-образный (Т), простой ( $\Delta$ ), гантелевидный ( $\bar{X}$ ), нет данных (?), или (/).

Признак	<i>Glyphoglossus</i>	<i>Microhyla</i>	<i>Nanohyla</i>	<i>Chaperina</i>	<i>Micryletta</i>	<i>Mysticellus</i>	<i>Kaloula</i>	<i>Uperodon</i>	<i>Metaphrynella</i> + <i>Phrynella</i>
frag. + exoc.	разд.	разд.	срощ.	срощ.	разд.	разд.	разд.	разд.	разд.
exoc.	разд.	разд.	срощ.	срощ.	разд. / срощ.	разд.	разд.	разд.	срощ.
cap.nas.	1	1 / 2 / 3	1 / 2 / 3	2	1	1	1 / 2	1	2
neopal.	+	+ / -	+	+	-	-	+	+	+ / -
den.mx.vom.	+ / - *	-	-	-	-	-	-	-	-
vom.	бол.	мал.	мал.	мал.	мал.	мал.	бол.	бол.	мал.
pter.	тон. / шир.	тон.	тон.	тон.	тон.	тон.	тон.	шир.	тон.
p.ant.pter.	туп.	туп.	остр.	туп.	остр.	туп.	туп.	туп.	остр.
speth. + psph.	разд.	разд.	срощ.	разд.	разд.	разд.	разд.	разд.	разд.
p.ot.sq.	бол.	мал.	бол.	бол.	мал.	мал.	мал.	мал.	мал.
an.tymp.	+	+ / -	+	?	+ / -	?	+	+	+
colum.	1	2	2	1	1	1	1	1	1
crist.parot.	1	2	3	3	3	3	1	1 / 2	3
clav.	+ / - *	-	-	+	-	-	-	-	-
prepoll.	1	2	3	2	3	3	1 / 2	1 / 2	3
phal.dig.	$\Delta$	$\Delta$ / $\bar{X}$ / Т	Т	Т	$\Delta$	$\Delta$	$\Delta$ / $\bar{X}$ / Т	$\Delta$ / $\bar{X}$ / Т	Т

Наиболее информативные части скелета — небный регион черепа и плечевой пояс, на которых строились ранние попытки систематизировать микрохилид (Parker 1934), судя по нашим данным эффективно работают только для диагностики таксонов высокого порядка — уровня подсемейства и выше. Сошники, представленные у микрохилид двумя частями, которые могут по-разному редуцироваться или разъединяться, достаточно изменчивы как между, так и в пределах родов *Kaloula* и *Uperodon*, несмотря на их близкое родство. Небные кости могут как отсутствовать, так и присутствовать в разной степени развитости, в пределах родов *Microhyla*, *Uperodon* и *Metaphrynella*. Кости плечевого пояса также крайне вариабельны, причем мы обнаружили, что ключицы и прокоракоиды могут присутствовать или отсутствовать внутри родов даже у близких видов, как например в родах *Nanohyla* и *Glyphoglossus*. Наконец, в позвоночных столбах ряда видов было обнаружено независимое уменьшение числа предкрестцовых позвонков (Рис. 9).



**Рис. 9.** Позвоночники представителей подсемейства Microhylinae, размножающихся в фитотелматах. Римские цифры обозначают номера позвонков. Масштабные линейки длиной 3 мм.

## 5. ОБСУЖДЕНИЕ

**5.1. Филогения.** В настоящей работе мы представляем обновленную и почти полную филогению подсемейства, а также используем методами определения границ видов, чтобы разрешить несколько давних проблем в крупной группировке *Microhylla-Nanohyla-Glyphoglossus*. Наш анализ показывает, что, несмотря на недавний прогресс в таксономии этой группировки, текущее количество признанных видов в родах *Microhylla* и *Nanohyla* все еще сильно недооценено. Из-за возможного перекрытия уровней внутривидовой и межвидовой дифференциации определение видов у *Microhylla* и *Nanohyla* только на основе генетической дифференциации представляется не слишком эффективным и перспективным (Garg et al., 2019). Для дальнейшего прогресса в разрешении таксономических вопросов рода *Microhylla* необходимо применить интегративный подход, включающий также морфологию и акустику (Rakotoarison et al., 2017).

Даже с учетом ограниченности данных по родам *Kaloula*, *Uperodon*, *Metaphrynella*, *Phrynella*, *Micryletta* и *Mysticellus*, наши результаты показывают наличие неопisanного разнообразия в этих родах, а также подчеркивают генетическую дифференциацию ряда видов (вроде *Kaloula baleata* и *K. pulchra*), которая потенциально можно указывать на наличие криптических видов.

**5.2. Систематика.** В процессе выполнения данной работы мы обнаружили огромное количество неописанных таксонов, часть из которых нам уже удалось описать. Список описанных в ходе данной работе групп включает следующие таксоны:

1. Вид *Micryletta nigromaculata* Poyarkov, Nguyen, Duong, Gorin, & Yang, 2018
2. Вид *Microhylla aurantiventris* Nguyen, Poyarkov, Nguyen, Nguyen, Tran, Gorin, Murphy, & Nguyen, 2019
3. Вид *Microhylla fodiens* Poyarkov, Gorin, Zaw, Kretova, Gogoleva, Pawangkhanant, & Che, 2019
4. Вид *Microhylla irrawaddy* Poyarkov, Gorin, Zaw, Kretova, Gogoleva, Pawangkhanant, & Che, 2019
5. Вид *Microhylla tetrax* Poyarkov, Pawangkhanant, Gorin, Juthong, & Suwannapoom, 2020
6. Вид *Microhylla neglecta* Poyarkov, Nguyen, Trofimets, & Gorin, 2020

7. Вид *Micryletta dissimulans* Suwannapoom, Nguyen, Pawangkhanant, Gorin, Chomdej, Che, & Poyarkov, 2020
8. Род *Nanohyla* Poyarkov, Gorin, & Scherz, 2021

Совокупные данные остеологии, внешней морфологии, генетической дифференциации, а также молекулярного датирования указывали на глубокую и древнюю дифференциацию внутри рода *Microhyla*, а также на возможную парафилию входящих в нее групп относительно рода *Glyphoglossus* (Matsui et al., 2011). Чтобы стабилизировать таксономическую систему, а также отобразить существенную морфологическую дифференциацию и древность расхождения филогенетических линий, мы выделили новый род *Nanohyla* из рода *Microhyla* Tschudi, 1838. Представители этого рода населяют преимущественно горные лесные местообитания и характеризуются очень маленькими размерами тела, на сегодняшний день известно девять видов этого рода.

Напротив, лягушки *Metaphrynella* и *Phrynella* не имеют высокой генетической дифференциации, разошлись во времени позже, чем другие роды подсемейства, а также крайне схожи по морфологии, поэтому мы предлагаем рассматривать род *Metaphrynella* в качестве младшего синонима рода *Phrynella*, включающего три вида.

Предлагаемая система подсемейства Microhylinae обобщена ниже:

### **Класс Amphibia Linnaeus, 1758**

Отряд Anura Fischer von Waldheim, 1813

Семейство Microhylidae Günther, 1858 (1843)

Подсемейство Microhylinae Günther, 1858 (1843)

Триба Microhylini Günther, 1858 (1843)

Род *Microhyla* Tschudi, 1838 (48 видов)

Род *Nanohyla* Poyarkov, Gorin & Scherz, 2021 (9 видов)

Род *Glyphoglossus* Gunther, 1869 "1868" (10 видов)

Род *Chaperina* Mocquard, 1892 (1 вид)

Триба Kaloulini Noble, 1931

Род *Kaloula* Gray, 1831 (19 видов)

Род *Uperodon* Duméril & Bibron, 1841 (12 видов)

Род *Phrynella* Boulenger, 1887 (3 вида)

Триба Micrylettini Dubois, Ohler & Pyron, 2021,

Род *Micryletta* Dubois, 1987 (13 видов)

Род *Mysticellus* Garg & Bijju, 2019 (1 вид)

**5.3. Историческая биогеография.** Наши результаты полностью подтверждают гипотезу о существовании сухопутных мостов между Индией и Евразией до непосредственного столкновения. Последний общий предок *Kaloula*, *Uperodon*, *Metaphrynella*, *Phrynella*, *Micryletta* и *Mysticellus*, согласно нашей реконструкции, населял как раз территории Индии и Суматры, которые были связаны напрямую на ранних стадиях эволюции подсемейства. При этом некоторые группы, такие как *Mysticellus* и *Uperodon*, остались в пределах своего предкового ареала, другие же — такие как *Kaloula* и *Micryletta* — расселились через Индокитай по всей Юго-Восточной и Восточной Азии. Биогеографический анализ явно свидетельствует о том, что последний общий предок *Microhyla-Nanohyla-Glyphoglossu*, а также предок *Microhyla* + *Nanohyla* населяли Индокитай, который в то время напрямую был связан с Зондской Сушей. Таким образом, наши результаты подтверждают юго-восточноазиатское происхождение группировки *Microhyla-Nanohyla-Glyphoglossus*. Наш биогеографический анализ выявил по крайней мере пять независимых случаев расселения разных линий *Microhyla* из Западного Индокитая в Индийский субконтинент. Результирующий биогеографический сценарий подсемейства Microhylinae иллюстрирует как гипотезу происхождения фауны из Индии (*Micryletta* и *Mysticellus*, *Kaloula* и *Uperodon*) (например, Macey et al., 2000;

Cooper et al., 2001; Bossuyt, Milinkovitch, 2001; Klaus et al., 2010), так и гипотезу происхождения фауны из Азии (группировка *Microhyla-Nanohyla-Glyphoglossus*) (например, Рахworthy et al., 2002; Renner, 2004; Koehler, Glaubrecht, 2007). Таким образом, наши результаты по исторической биогеографии подсемейства Microhylinae наглядно показывают, что представители этого подсемейства являются идеальными кандидатами для такого рода реконструкций и позволяют продемонстрировать всю огромную сложность происходивших за обозреваемый промежуток времени фаунистических процессов.

**5.4. Миниатюризация.** Наши результаты показывают, что группировка *Microhyla-Nanohyla-Glyphoglossus* подвергалась многократным событиям миниатюризации, причем клада *Nanohyla* независимо от сестринской клады *Microhyla*; их последним общим предком была небольшая лягушка (около 25 мм). Внутри рода *Microhyla* две большие клады независимо пришли к диапазону минимальных размеров, а также еще шесть других линий независимо стали миниатюризированными (пересекая порог SVL <20 мм). Эти повторные случаи миниатюризации дают возможность понять взаимосвязь определенных морфологических особенностей с крайним уменьшением размеров тела. Миниатюризация рода *Nanohyla*, по-видимому, связана с редукцией первого пальца, который у представителей *Nanohyla* часто уменьшается до размера бугорка, тогда как у *Microhyla* первый палец никогда не бывает меньше половины второго. Это напоминает паттерны, наблюдаемые у лягушек рода *Stumpffia* Boettger, 1881 с Мадагаскара, где уменьшение числа пальцев является отличительной чертой каждой крупной клады и где первый палец всегда сокращается первым, относительно других пальцев (Rakotoarison et al., 2017). Тем не менее, ни *Nanohyla*, ни *Microhyla* в ходе эволюции не потеряли фаланги, даже когда пальцы уменьшились в длину, тогда как у других миниатюризированных лягушек часто наблюдается уменьшение фаланговой формулы (Alberch, Gale 1983, Alberch, Gale 1985, Scherz et al., 2019). Тем не менее, существует тенденция перехода формы концевой фаланги первого пальца от Т-образной к раздвоенной и к простой в ходе миниатюризации, что свидетельствует о сильной редукции, даже несмотря на то, что этот элемент до конца не исчезает.

Еще одна заметная особенность скелета - полное отсутствие ключиц у всех родов, кроме *Chaperina* и *Glyphoglossus* (за исключением *Gl. molossus*). Как было показано ранее (Emerson, 1984), фирмистернальное устройство плечевого пояса может поддерживать структурную целостность и без ключиц, функция которых заключается в стабилизации сустава во время приземления (Jenkins Jr 1974). В случае редукции ключиц, их функции берут на себя коракоиды. Поскольку чем меньше масса тела, тем ниже требуется жесткость скелета (Currey, 1967), ключицы являются очевидным кандидатом для полной или частичной редукции в ходе эволюции у лягушек небольшого размера. Согласно нашей реконструкции, общий предок *Nanohyla* и *Microhyla* был умеренно маленьким, что дает возможность размышлять о причине редукции ключиц в ходе эволюции этих лягушек. Причины редукции ключиц в родах *Kaloula* и *Uperodon*, отличающихся в целом крупными размерами, остаются неясными.

В позвоночнике *Microhyla nepenthicola* и *Nanohyla arboricola*, размножающихся в заполненных водой полостях растений – фитотелматах, обнаруживается срастание первых двух предкрестцовых позвонков, что потенциально может быть связано с их крайне маленьким размером тела. Однако, сращение позвонков также наблюдается и в родах *Chaperina* и *Metaphrynella*, которые ведут полудревесный образ жизни, и тоже размножаются в фитотелматах, при этом обладая средними для микрохилин размерами тела (SVL >20 мм). Таким образом, редукция числа позвонков может быть связана со специфическим образом жизни и особенностями размножения древесных видов микрохилин.

Интересно, что некоторые виды в пределах *Nanohyla* и *Microhyla* снова увеличили размер тела по сравнению с размером тела предков, который был <18 мм. Эти виды заслуживают дальнейшего исследования, потому что случаи увеличения размеров тела после миниатюризации могут демонстрировать отличительные черты (например, потенциально безвозвратную потерю анатомических особенностей, таких как пальцы), что может привести к морфологическим инновациям (Hanken, Wake 1993). Наконец, стоит упомянуть об особенностях остеологии *Glyphoglossus* и особенно причудливого вида *G. molossus*, у которого наблюдается радикальная остеологическая модификация, связанная с его более роющим образом жизни, от утолщенных костей задних и передних конечностей до небольшого округлого черепа и сильно измененного первого предкрестцового позвонка. Своеобразная приплюснутая морда у этого вида образована большой хондрифицированной структурой, напоминающей бороду, которая не срослась с какими-либо костями передней части черепа и челюстей. Его особенности в строении конечностей и черепа напоминают других хорошо роющих лягушек (Van Dijk 2001; Menzies 2020) и заслуживают дополнительных исследований, поскольку особенности, возникающие при эволюционном увеличении размеров тела, могут представлять не меньший интерес, чем миниатюризация.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе мы представляем обновленную филогенетическую гипотезу для подсемейства *Microhylinae*. Исчерпывающая таксономическая ревизия для этой группы крайне затруднительна из-за большого количества узкоареальных или эндемичных видов в труднодоступных частях Южной и Юго-Восточной Азии. В настоящем исследовании, мы изучили данные мтДНК и яДНК от 102 из 116 признанных видов *Microhylinae* (90% всего разнообразия), при этом восемь таксонов было описаны нами в ходе выполнения данной работы. Проведенная работа позволила получить наиболее полные данные о филогении для *Microhylinae* на сегодняшний день. Наши данные также подчеркивают важность полномасштабных исследований для оценки глобального биоразнообразия, филогенетических отношений и эволюционных паттернов в таких интригующих группах, как микрохилиды.

Мы впервые предлагаем подробный биогеографический сценарий для лягушек подсемейства *Microhylinae*. По нашим данным ранние этапы дифференциации подсемейства связаны с Индийским субконтинентом и Зондской сушей. Последний общий предок *Microhyla-Nanohyla-Glyphoglossus* очень рано проник в Индокитай, откуда затем происходило расселение по всем территориям Восточной и Юго-Восточной Азии, а также вторичная колонизация Индостана и Шри-Ланки. Общий предок родов *Kaloula*, *Uperodon*, *Metaphrynella*, *Phrynella*, *Micryletta* и *Mysticellus* напротив дифференцировался на территориях Индийского субконтинента, и оттуда в дальнейшем расселялся по всей Восточной и Юго-Восточной Азии и даже на Филиппины. Таким образом, подсемейство *Microhylinae* является идеальной модельной группой для изучения закономерностей формирования фауны, а полученные нами результаты демонстрируют сложную двустороннюю направленность фаунистических обменов между Индией и Евразией.

Группировка *Microhyla-Nanohyla-Glyphoglossus* демонстрирует очень динамичную эволюцию размеров тела и склонность к миниатюризации, по крайней мере, с девятью независимыми событиями миниатюризации, реконструируемыми для *Microhyla* и *Nanohyla*. Конвергенция размеров тела у этих двух родов породила некоторое количество гомоплазий, но оба рода имеют уникальные апоморфные признаки. Ясно, однако, что для того, чтобы получить более полное представление об эволюции

размеров у этих лягушек, необходима более обширная выборка. Тем не менее, наши результаты наглядно показывают, почему лягушки Microhylidae составляют идеальную группу для изучения эволюции миниатюризации (Moen et al. 2016).

## ВЫВОДЫ

1. Новая предлагаемая система подсемейства Microhylinae включает три трибы, девять родов и 116 видов (нами исследовано 102 из 116 номинальных видов подсемейства). На основании интегративного таксономического подхода показана родовая самостоятельность двух линий рода *Microhyla* sensu lato и описан новый для науки род — *Nanohyla*.
2. Роды *Microhyla*, *Nanohyla*, *Micryletta* и *Kaloula* характеризуются высоким уровнем генетической дифференциации и криптического разнообразия. По данным нашей работы описано восемь новых видов для науки видов в родах *Microhyla* и *Micryletta*, а один из видов *Microhyla* сведен в младшие синонимы.
3. Подсемейство Microhylinae обособилось на границе мела и палеоцена, стволовая радиация подсемейства происходила начиная с эоцена. По нашим результатам, группировка *Microhyla-Nanohyla-Glyphoglossus* дифференцировалась в короткий промежуток времени в среднем эоцене, а формирование остальных родов происходило начиная с позднего эоцена.
4. Ранние этапы дифференциации Microhylinae определялись взаимодействием между Индийским субконтинентом и Зондской сушей. Последний общий предок трибы Microhylini происходит из Индокитая, откуда он расселился по территориям Восточной, Юго-Восточной Азии и Южной Азии. Происхождение триб Kaloulini и Micrylettini связано с Индийским субконтинентом, откуда в дальнейшем происходило их расселение в Восточную и Юго-Восточную Азию.
5. Миниатюризация в разных линиях Microhylinae происходила параллельно и привела к конвергенции по ряду морфологических признаков. Наиболее миниатюризированные формы наблюдаются в родах *Microhyla* и *Nanohyla* и их размеры могут быть связаны с особенностями экологии и размножения.

**Благодарности.** Выражаю благодарность Н. А. Пояркову за ценные советы, наставления и помощь на всех этапах работы, А.А. Банниковой, Е. Н. Соловьевой, И. В. Артюшину, Зыонгу Ван Тангу, А.Н. Кузнецову, В.В. Шахпаронову и М.Д. Шерцу за ценные замечания, консультации, критику и помощь в выборе методов обработки материала, а также всем сотрудникам молекулярного кабинета кафедры Зоологии Позвоночных за содействие при выполнении данной работы. Благодарен А.Б. Васильевой, Е.А. Галояну, Н.Л. Орлову, К.Д. Мильто, А. Хаасу, Т. Амарасингху, Д.М.С.С. Карунаратне, Тан Зо, Мэй Ту Чит, Тун Тун Оо, П. Павангкхананту, Ч. Суваннапуму, М. Хасану, Л.Т. Нгуену, Х. Окамии, И. Дасу, С. Шонлебену и Д. Бикфорду за помощь в сборе материалов для генетической части данной работы. Крайне признателен В.Ф. Орловой и Р.А. Назарову за предоставление доступа к коллекциям Зоомузея МГУ, Д.В. Коросту, А.А. Полилову и Н.В. Крюковой за помощь с получением остеологических данных.

Работа была выполнена при поддержке гранта РФФ (22-14-00037) и гранта РФФИ (19-34-90167).

## ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

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

1. 2021 Consequences of parallel miniaturisation in Microhylinae (Anura, Microhylidae), with the description of a new genus of diminutive South East Asian frogs **Gorin V. A.**, Scherz M. D., Korost D. V., Poyarkov N. A. // *Zoosystematics and evolution* : Т. 97(1). С. 21-54. JCR IF: 1.65
2. 2021 A new species of *Micryletta* (Amphibia: Anura: Microhylidae) from Langbian Plateau in southern Vietnam Poyarkov, N. A., Van Nguyen, T., Yang, J. H., & **Gorin, V. A.** // *Zoological research*. Т 42(6). С. 726-733. JCR IF: 3.68
3. 2020 A little frog leaps a long way: compounded colonizations of the Indian Subcontinent discovered in the tiny Oriental frog genus *Microhyla* (Amphibia: Microhylidae) **Gorin V.A.**, Solovyeva E.N., Hasan M., Okamiya H., Karunarathna D.M.S.S, Pawangkhanant P., de Silva A., Juthong W., Milto K.D., Nguyen L.T., Suwannapoom C., Haas A., Bickford D.P., Das I., Poyarkov N.A. // *PeerJ*. Т. 8: e9411. JCR IF: 2.41
4. 2020 A new species of *Micryletta* (Amphibia: Microhylidae) from southern Thailand Suwannapoom C., Nguyen T.V., Pawangkhanant P., **Gorin V.A.**, Chomdej S., Che J., Poyarkov N.A. // *Zoological research* Т. 41. С. 1-8. JCR IF: 3.68
5. 2020 A new species of miniaturized narrow-mouth frog of the genus *Microhyla* Tschudi, 1838 (Amphibia: Anura: Microhylidae) from northern Tenasserim, Thailand Poyarkov N.A., Pawangkhanant P., **Gorin V.A.**, Juthong W., Suwannapoom C. // *Journal of Natural History*. Т. 54(23-24). С. 1525-1558. JCR IF: 1.01
6. 2019 A new species of the genus *Microhyla* Tschudi, 1838 (Amphibia: Anura: Microhylidae) from Tay Nguyen Plateau, Central Vietnam Nguyen L.T., Poyarkov N.A., Nguyen T.T., Nguyen T.A., Nguyen V.H., **Gorin V.A.**, Murphy R.W., Nguyen S.N. // *Zootaxa*, Т. 4543(4). С. 549-580. JCR IF: 1.09
7. 2019 On the road to Mandalay: a contribution to the *Microhyla* Tschudi, 1838 (Amphibia: Anura: Microhylidae) fauna of Myanmar with description of two new species Poyarkov N.A., **Gorin V.A.**, Than Zaw, Kretova V.D., Gogoleva S.S., Pawangkhanant P., Che J. // *Zoological research*. Т. 40(4). С. 1-33. JCR IF: 3.68
8. 2018 A new limestone-dwelling species of *Micryletta* (Amphibia: Anura: Microhylidae) from northern Vietnam Poyarkov N.A., Nguyen T.V., Duong T.V., **Gorin V.A.**, Yang J.H. // *PeerJ*. Т. 6: e5771. JCR IF: 2.41

### Публикации в других рецензируемых изданиях:

1. 2020 A new cryptic species of the genus *Microhyla* (Amphibia: Microhylidae) from Langbian Plateau, Vietnam Poyarkov N.A., Nguyen T.V., Trofimets A.V., **Gorin V.A.** // *Tropbanica* Т. 9(2). С. 136-163.

### Материалы и тезисы международных и всероссийских конференций:

1. Трофимец А.В., **Горин В.А.**, Поярков Н.А. 2021 Дифференциация широкоареального комплекса *Microhyla heymonsi* Vogt, 1911 (Amphibia: Microhylidae) во времени и пространстве: to split or not to split? // Вопросы герпетологии: VIII съезд Герпетологического общества имени А. М. Никольского при РАН «Современные герпетологические исследования Евразии» (под редакцией Е. А. Дунаева и Н. А. Пояркова). С. 250-252.
2. **Горин В.А.**, Трофимец А.В., Суваннапум Ч., Поярков Н.А. 2021 Новый сценарий формирования разнообразия лягушек Юго-Восточной Азии на примере узкоротов рода *Micryletta* (Amphibia: Microhylidae) // Вопросы герпетологии: VIII съезд Герпетологического общества имени А. М. Никольского при РАН «Современные

- герпетологические исследования Евразии» (под редакцией Е. А. Дунаева и Н. А. Пояркова). С. 73-74.
3. Трофимец А.В., **Горин В.А.**, Поярков Н.А. 2021 Первые данные о филогеографической структуре узкороотов видового комплекса *Microhyla butleri* Boulenger, 1900 (Amphibia: Microhylidae) // Вопросы герпетологии: VIII съезд Герпетологического общества имени А. М. Никольского при РАН «Современные герпетологические исследования Евразии» (под редакцией Е. А. Дунаева и Н. А. Пояркова). С. 253-255.
  4. **Горин В.А.**, Поярков Н.А. 2021 Последствия параллельной миниатюризации узкороотых лягушек рода *Microhyla* (Amphibia: Microhylidae): конфликт традиционной и молекулярной систематики // Вопросы герпетологии: VIII съезд Герпетологического общества имени А. М. Никольского при РАН «Современные герпетологические исследования Евразии» (под редакцией Е. А. Дунаева и Н. А. Пояркова). С. 71-72.
  5. **Gorin V.A.**, Solovyeva E.N., Karunarathna S., Hasan M., Das I., Poyarkov N.A. 2019 Phylogeny and biogeography of Narrow-mouthed frogs of the genus *Microhyla* (Amphibia: Microhylidae) // Program & Abstracts of the XX European Congress of Herpetology, Milan, 2-6 September 2019, Università degli Studi di Milano. С. 99-99.
  6. **Горин В.А.**, Окамия Х., Поярков Н.А. 2019 Многократная колонизация японского архипелага Рюкю узкороотыми лягушками рода *Microhyla* (Amphibia; Microhylidae) // Современная герпетология: проблемы и пути их решения. Материалы Второй международной молодежной конференции герпетологов России и сопредельных стран, посвященной 100-летию отделения герпетологии Зоологического института РАН. С. 42-42.