

УДК 597.6 + 598.1

Третья конференция герпетологов Поволжья: Материалы региональной конференции. - Тольятти, 2003. - 92 с.

Организационный комитет конференции:

А.Г. Бакаев
В.И. Гаранин
Д. Б. Гелашвили
А.Л. Маленев
А.Н. Песков
А.И. Файзулин

Редакционная коллегия:

А.Г. Бакиев
А.Л. Маленев
О.Л. Носкова

На первой странице обложки - зеленая жаба *Bufo viridis*. Рис. из: Лепехин (1771).

ISBN 5-93424-058-7

Россия, 445003, Самарская обл., г. Тольятти, ул. Комзина, 10,
Институт экологии Волжского бассейна РАН.
Факс (8482) 48-95-04. E-mail: ecolog@attack.ru

**Распространение двух криптических форм обыкновенной чесночницы
(*Pelobates fuscus*) на территории Волжского бассейна**

Л.Я. Боркин¹, С.Н. Литвинчук^{1,2}, Ю.М. Розанов², М.Д. Халтурин², Г.А. Лада¹,
А.Г. Борисовский³, К.Д. Мильто¹, А.И. Файзулин⁴

¹Зоологический институт РАН, г. Санкт-Петербург: borkin@spas.spb.su

²Институт цитологии РАН, г. Санкт-Петербург: slitvinchuk@yahoo.com

³Удмуртский государственный университет, г. Ижевск: Bag@uni.udm.ru

⁴Институт экологии Волжского бассейна РАН, г. Тольятти: ecology@avtograd.ru

Традиционно полагают, что обыкновенная чесночница *Pelobates fuscus* (Laurenti, 1768) практически на всем своем ареале, кроме долины По на севере Италии, представлена номинативным подвидом (*P. f. fuscus*). Анализируя с помощью метода проточной ДНК-цитометрии изменчивость размера генома (количество ДНК на ядро) у широко распространенных видов амфибий, мы в 1997 г. обнаружили, что выборки чесночниц из Псковской и Рязанской областей различались по размеру генома. Изученный в последующие годы обширный материал (408 особей из 62 выборок) показал, что эти различия были не случайны, а повторяемы и подтверждались при сравнении разных популяций в разные годы. Кроме того, оказалось, что выборки чесночниц, различающиеся по размеру генома, географически распределены не хаотически и образуют две группы: «западную» с меньшим количеством ядерной ДНК (8.70-9.01, в среднем 8.80 пг) и «восточную» с большим геномом (9.16-9.50, в среднем 9.33 пг). Различия между средними составляют примерно 5.8%, причем размах изменчивости обеих форм не перекрывается (Varabanov et al., 1998; Боркин и др., 2001; Borokin et al., 2001).

В рамках нашей программы по изучению амфибий Волжского бассейна анализ криптического видообразования у *P. fuscus* стал одним из приоритетов. К настоящему времени из этого региона нами изучены 243 особи из 29 популяций, обитающих в 13 областях и республиках (см. таблицу).

Таблица

Выборки *Pelobates fuscus* из Волжского бассейна, исследованные методом проточной ДНК-цитометрии (Ц) и белкового электрофореза (Э)

№	Район сбора	Выборка	Размер генома (пг)	Ц	Э
<i>Pelobates fuscus</i> — «западный» тип					
1	Ярославская область	Борок	8,82	1	1
2	Московская область	Туголесский Бор	8,97	1	-
3	Тульская область	Барсуки	8,85-9,01	4	4
4	-//-	Скуратовский	8,80-8,90	11	-
<i>Pelobates fuscus</i> — «восточный» тип					
5	Рязанская область	Рязань	9,16-9,19	2	2
6	-//-	Гусь Железный	9,26-9,39	3	-
7	Тамбовская область	Чистые Пруды	9,38-9,44	2	-
8	-//-	Заречье	9,30-9,48	13	13
9	-//-	Большая Липовица	9,37-9,50	10	-
10	Нижегородская область	Ичалки	9,23-9,32	5	5
11	-//-	Решетиха	9,24-9,32	4	4
12	Мордовия	Ялга	9,39-9,41	2	-
13	-//-	Камчатка	9,35-9,42	14	.
14	-//-	Борский р-н	9,39-9,43	8	-
15	-//-	Андреевка	9,18-9,43	25	-
16	-//-	Симкино	9,24-9,34	9	-
17	Удмуртия	Кильмезь	9,23-9,36	15	7
18	-//-	Боярка	9,31-9,43	13	7
19	-//-	Крымская Слудка	9,30	1	1
20	-//-	Ижевск	9,38	1	-
21	Башкортостан	Амзя	9,36-9,48	5	5
22	Ульяновская область	Ульяновск	9,38-9,49	10	9
23	-//-	Димитровград	9,44-9,46	2	-
24	Самарская область	Шелехметь	9,31-9,40	4	4
25	-//-	Нижнее Санчелеево	9,36-9,50	37	-
26	-//-	Тимашёво	9,38-9,45	7	-
27	Саратовская область	Рассказань	9,31-9,48	23	-
28	Астраханская область	Джелга	9,17-9,39	10	-
29	-//-	Астрахань	9,29	1	1

Анализ полученного материала позволяет сделать следующие выводы:

1. Территорию Волжского бассейна населяют две формы *P. f. fuscus*, различающиеся по размеру генома, которые соответствуют «западной» и «восточной» группам (8.80-9.01 против 9.16-9.50 пг).

2. «Западная» форма (с меньшим размером генома) распространена на северо-западе региона и обнаружена в Ярославской, Московской и Тульской областях. Ареал этой формы уходит на запад в сторону Прибалтики, Белоруссии, Украины и Молдавии.

3. «Восточная» форма (с большим размером генома) занимает всю оставшуюся огромную часть Волжского бассейна на восток от Нижегородской, Рязанской и Тамбовской областей. Таким образом, именно «восточная» форма обыкновенной чесночницы характерна для Волжского бассейна, и только она обитает в собственно Поволжье. Можно добавить также, что эта форма была найдена нами на северо-западе Казахстана, в Оренбургской области, Ставропольском крае, Центрально-Черноземном районе России и на северо-востоке Украины (Харьковская область).

4. Между ареалами обеих «геномных» форм лежит промежуточная, пока неизученная зона шириной от 140 до 475 км. Наиболее географически близкими являются выборки из Тульской («западная» форма) и Рязанской («восточная» форма) областей.

Для оценки степени генетической изоляции и подсчета генетической дистанции между обеими формами *P. f. fuscus* нами был использован метод белкового электрофореза в полиакриламидном геле (Халтурин и др., 2003). Всего было изучено 149 особей из 20 выборок, в том числе 65 особей из 13 выборок Волжского бассейна (см. таблицу). Анализ изменчивости 14 белков, кодируемых предположительно 23 локусами, также выявил наличие двух генетических форм обыкновенной чесночницы, которые совпали с «западной» и «восточной» группами, ранее выделенными по размеру генома. Так, по аллозимным данным, чесночницы из Ярославской и Тульской областей принадлежали к одному кластеру, а особи из Рязанской, Тамбовской,

Нижегородской, Ульяновской, Самарской и Астраханской областей, а также из Удмуртии и Башкирии - к другому кластеру.

Генетическая дистанция (по Nei) между «западной» и «восточной» формами в среднем равны 0.311, что примерно соответствует нижним значениям генетических различий между обычными видами амфибий (см. Халтурин и др., 2003). Наличие «чужих» аллелей в выборках обеих форм позволяет говорить об определенном уровне обмена генами (интрогрессии), происходящего (или происходившего) в промежуточной зоне. Запланированные нами исследования животных из этой зоны должны ответить на вопрос о существовании (или отсутствии) реальной репродуктивной изоляции между «западной» и «восточной» формами, что следует считать решающим критерием для оценки их таксономического статуса (виды или подвиды).

Уровень внешнеморфологических различий между обеими формами незначителен и не позволяет достоверно отнести особей к той или иной форме «на глаз», не зная их географического происхождения. В настоящее время нами проводится детальный сравнительный анализ изменчивости окраски и пропорций тела в выборках «западной» и «восточной» форм с целью диагностики этих форм. Отметим, что для чесночниц рода *Pelobates* очень характерна консервативность внешнего облика. Мы полагаем, что морфологический стазис у чесночниц можно объяснить с помощью стабилизирующего отбора, который поддерживает «оптимальный» фенотип, выработанный у чесночниц в ходе их адаптации к роющему, скрытному образу жизни.

Мы благодарны В.Ф. Орловой (Москва), С.А. Рябову (Тула), М.В. Пестову (Нижний Новгород) и А.Б. Ручину (Саранск) за помощь в сборе или предоставлении материала. Работа была поддержана фантами РФФИ (№ 02-04-49631 и № 02-04-63157), а также в рамках программы «Интеграция» (Э-0121).

Гибридогенный комплекс *Rana esculenta*: существует ли «волжский парадокс»?

Л.Я. Боркин¹, С.Н. Литвинчук^{1,2}, Ю.М. Розанов², Г.А. Лада¹, А.Б. Ручин³,
А.И. Файзулин⁴, Р.И. Замалетдинов³

¹Зоологический институт РАН, г. Санкт-Петербург: borkin@spas.spb.su

²Институт цитологии РАН: г. Санкт-Петербург: slitvinchuk@yahoo.com

³Мордовский государственный университет, г. Саранск: biotech@moris.ru

⁴Институт экологии Волжского бассейна РАН, г. Тольятти: ecology@avtograd.ru

⁵Институт экологии природных систем АН РТ,
г. Казань: biomonitoring@iens.kcn.ru

Зеленые лягушки представлены на востоке Европы тремя таксонами. Это - два обычных биологических вида, озерная (*Rana ridibundus*) и прудовая (*R. lessonae*) лягушки, а также съедобная лягушка (*R. esculenta*). Последняя демонстрирует весьма нестандартный модус видообразования. Эта форма возникла в результате гибридизации первых двух видов и существует, судя по палеонтологическим данным, не менее 5000 лет, а по молекулярным - гораздо больше. *R. esculenta* характеризуется сложными генетическими механизмами, вовлекающими так называемое полуююнальное (или мероклональное) наследование, полиплоидию, существование однополюх и двуполюх популяций, образующих вместе с родительскими видами разные варианты популяционных систем (см.: Боркин и др., 1987; Günther, 1990; Лада, 1995; Vinogradov et al., 1990, 1991).

Применение биохимических методов (электрофорез белков, ДНК-цитометрия), начавшееся в нашей стране в конце 1970-х годов, позволило выявить широкое распространение *R. esculenta* на западе европейской части бывшего СССР. К сожалению, территория России в этом отношении оказалась изученной довольно слабо, кроме Центрально-Черноземного района (Lada et al., 1995). В 1979 г. несколькими авторами была высказана гипотеза о том, что в центре и на востоке европейской России гибридная форма должна быть очень

редка или может даже отсутствовать. Это связывалось с усилением к востоку континентальное™ климата, при котором биотопическая и, как следствие, ее репродуктивная изоляция должна возрастать (Александровская, Быков, 1979). Начиная с 1-го Международного симпозиума по эволюционной генетике и экологии европейских зеленых лягушек (1978, Берлин), особый интерес в связи с этим привлекает территория Волжского бассейна, поскольку в докладе В.И. Гаранина было указано на обитание в Волжско-Камском крае только двух видов зеленых лягушек. Кроме того, он сообщил, что, несмотря на частое совместное обитание родительских видов (*R. lessonae* и *R. ridibunda*), гибриды не обнаруживаются (V.I. Garanin in Borkin et al., 1979; Гаранин, 1983). Таким образом, получается любопытная ситуация, которую можно было бы назвать «волжским парадоксом»: в отличие от центра Европы, где *R. esculenta* обычна, в Поволжье в зоне симпатрии зеленых лягушек гибридная форма отсутствует!

В рамках нашей программы по изучению амфибий Волжского бассейна нам удалось с помощью метода проточной ДНК-цитометрии достоверно доказать, что на территории этого обширного региона обитают все три вида зеленых лягушек. Впервые *R. esculenta* была надежно идентифицирована нами в бассейне реки Цна (Тамбовская область), входящей в систему Волжского бассейна (Lada et al., 1995). К настоящему времени гибридная форма обнаружена нами в рамках этого региона в Ивановской (Okulova et al., 1997), Московской, Тульской, Орловской, Тамбовской, Нижегородской, Ульяновской и Самарской областях, а также в республиках Мордовия, Чувашия, Татарстан и Удмуртия. Наиболее подробно распространение зеленых лягушек изучено нами в Удмуртии (Борисовский и др., 2000, 2001) и Нижегородской области (Borkin et al., 2002). Большая часть данных была получена нами в последние годы.

Надо заметить, что с помощью применяемого нами метода можно абсолютно надежно (со 100% гарантией) идентифицировать не только видовую принадлежность каждой особи, независимо от ее возраста и пола, но также и ее плоидность. Кроме того, для половозрелых самцов определяется геномный тип их гамет, что позволяет судить о структуре спаривания и геномном составе

гибридной или смешанной популяции. Это связано с высоким уровнем различий между *R. ridibunda* и *R. lessonae* по количеству ядерной ДНК (размеру генома), равному 16% для диплоидных клеток и 8% для гаплоидных (сперматозоидов) при ошибке измерения менее 2% (Боркин и др., 1987; Vinogradov et al., 1990).

Если выразить размер генома у зеленых лягушек в относительных (условных) единицах, например, как отношение к размеру генома у травяной лягушки (*R. temporaria*), т.е. в виде так называемого Rt-индекса, то для лягушек из Волжского бассейна мы получили следующие параметры (N = 451; данные за 1996-2002 гг.) (табл.).

Таблица

Размер генома у видов *R. esculenta* комплекса из Волжского бассейна, исследованных методом проточной ДНК-цитометрии

Вид	Число особей	Число выборок	Размер генома (Rt)
<i>R. lessonae</i>	181	45	1.27-1.32
<i>R. esculenta</i>	80	30	1.39-1.44
<i>R. ridibunda</i>	190	38	1.50-1.55

Как видно, размах изменчивости у всех трех видов одинаков и не перекрывается (в отличие от внешнеморфологических признаков).

Благодаря своим необычным генетическим особенностям, гибридогенная *R. esculenta* может образовывать в природе разные комбинации с родительскими видами. В связи с этим различают так называемые одновидовые (или «чистые») и смешанные (с участием двух или трех видов) типы популяционных систем, которые обозначаются по первым буквам видовых названий. На территории Волжского бассейна нами выявлены следующие типы таких систем.

1. L-тип: по-видимому, распространен во всех частях региона в пределах ареала вида.

реликтовое происхождение, связанное с периодом наступления степей на север в период постголоценового потепления (примерно 5000-7000 лет назад).

Мы благодарны А.Г. Борисовскому (Ижевск), К.Д. Мильто (Санкт-Петербург), М.В. Пестову (Нижний Новгород) и С.А. Рябову (Тула) за помощь в сборе или предоставлении материала. Работа была поддержана фантами РФФИ (№ 02-04-49631 и № 02-04-63157), а также программой «Интеграция» (Э-0121).