

## ЗООЛОГИЯ

УДК 597.8 : 591.9 (471.1)  
doi: 10.17223/19988591/31/5

**Р.И. Замалетдинов<sup>1</sup>, А.В. Павлов<sup>2</sup>, М.М. Закс<sup>3</sup>,  
А.Ю. Иванов<sup>3</sup>, О.А. Ермаков<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Республика Татарстан, Россия

<sup>2</sup>Волжско-Камский государственный природный биосферный заповедник,  
п. Садовый, Зеленодольский район, Республика Татарстан, Россия

<sup>3</sup>Пензенский государственный университет, г. Пенза, Россия

### **Молекулярно-генетическая характеристика лягушек *Pelophylax esculentus* комплекса на восточной периферии ареала (Поволжье, Республика Татарстан)**

На основе анализа фрагмента первой субъединицы гена цитохром оксидазы (COI) мтДНК и интрона 1 гена сывороточного альбумина (SAI) яДНК исследовано 34 особи зеленых лягушек (*Pelophylax esculentus* комплекс) из 9 точек долины Волги с северо-запада Республики Татарстан. В Раифском участке Волжско-Камского заповедника продолжается процесс экспансии озерной лягушки из Волги в биотопы, населенные прудовой лягушкой. Выявлено 5 типов популяционных систем (R, L, R-L, L-E, R-E-L). На Саралинском участке предполагается существование популяции R-L-типа. На правом берегу Волги обнаружена новая точка обитания съедобной лягушки, отстоящая от известных близлежащих местообитаний на 135–180 км. На северной границе г. Казань в популяции E-типа донором ядерного и митохондриального генома является «восточная» форма озерной лягушки. В центре города обитает съедобная лягушка (предположительно E-L-тип). Аллели *P. cf. bedriagae* выявлены в 4 точках правобережья и 2 точках левобережья Волги, что свидетельствует о гибридизации «восточной» и «западной» форм озерной лягушки, позволяя расширить границу этой зоны к северу вдоль русла Волги почти до 56° с.ш. Находки носителей аллелей «восточной» формы на правом берегу Волги можно объяснить явлением орнитохории и/или проникновением путем антропогенного заноса с водным транспортом.

**Ключевые слова:** *Pelophylax esculentus* комплекс; *P. ridibundus*; *P. cf. bedriagae*; цитохром оксидаза; сывороточный альбумин; Поволжье; Республика Татарстан (РТ).

### **Введение**

Изучению европейских зеленых лягушек (*Pelophylax esculentus* complex) посвящено значительное количество исследований, затрагивающих разнообразные аспекты их биологии. Причиной такого интереса к видам, составля-

ющим комплекс, без сомнения является уникальным характер их взаимодействия в процессе воспроизводства, как во времени, так и в пространстве, что достаточно подробно описано в литературе начиная с Л. Бергера [1].

В настоящее время известно не менее 7 типов популяционно-генетических систем зеленых лягушек [2, 3]. Один из вопросов, связанных с существованием гибридного вида съедобной лягушки *Pelophylax esculentus* (Linnaeus, 1758) в рамках взаимодействия с родительскими видами – это особенности соотношения тех или иных популяционно-генетических систем в различных частях ареала. При анализе пространственного распределения видов на территории Волжского бассейна по сравнению с популяциями из более западных частей ареала «...создается впечатление о существовании определенного своеобразия в распространении зеленых лягушек...» [4]. В Поволжье наблюдается относительно частая встречаемость популяционных систем R-E-L-типа (включает все три вида комплекса – *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771), *P. esculentus*, *P. lessonae* (Camerano, 1882)) и смешанных популяций озерной и прудовой лягушек, размножающихся без образования гибридов (L-R-тип). Кроме того, в регионе съедобная лягушка распространена сравнительно редко. Одна из причин этого, по-видимому, связана с распространением в Поволжье прудовой и, как следствие, съедобной лягушек на восточной периферии ареала. В Республике Татарстан и на сопредельных территориях находки съедобной лягушки немногочисленны [5–8], на основании чего предложено внести вид во второе издание Красной книги РТ.

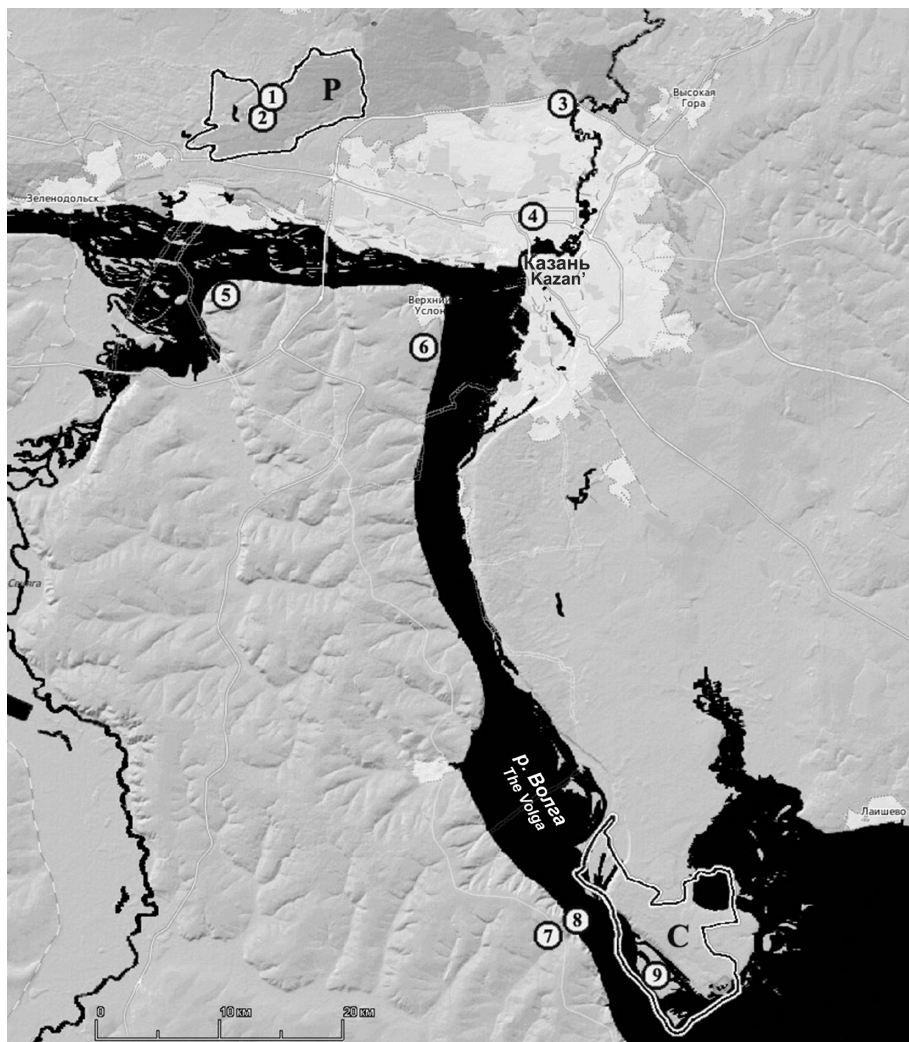
Ситуация осложняется присутствием в регионе выделяемой в последнее десятилетие «восточной» формы (*P.cf. bedriagae*), морфологически представляющей озерную лягушку. Последние работы, выполненные на основе генотипирования, свидетельствуют о достаточном присутствии аллелей «восточной» формы на территории Самарской, Саратовской и Пензенской областей [9–11].

В связи с вышесказанным цель исследования заключается в уточнении и анализе данных по распространению съедобной лягушки у восточной границы ареала и выявлении распределения двух форм озерной лягушки – «западной» и «восточной» – на основе генетических маркеров.

### Материалы и методики исследования

Материал собран в 2013–2014 гг. в долине р. Волга, в северо-западной части РТ. Для генетического анализа взяты пробы тканей у особей, морфологически определенных как озерная *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771), прудовая *P. esculentus* (Linnaeus, 1758) и съедобная *P. lessonae* (Camerano, 1882) лягушки.

В анализе использовано 34 зеленых лягушки из следующих локалитетов (рис. 1):



**Рис. 1.** Фрагмент карты Приказанья с точками сбора материала. Обозначения точек соответствуют нумерации, приведенной в тексте: P – Раифский участок, С – Саралинский участок Волжско-Камского заповедника [Fig. 1. Part of Prikazanie map with the points of material collection. Indications of the points correspond to the numbers in the text: P - Raifa site, C - Saralinsky site of the Volzhsko-Kamsky National Nature Biosphere Reserve]

1. «Шатуниха», оз. Шатуниха, полуоткрытое пойменное, охранная зона Раифского участка Волжско-Камского заповедника (далее – ВКГПБЗ), Зеленодольский р-н (N55°929671°; E48°773849°), n = 2.

2. «Белое Безводное», оз. Белое Безводное, карстовое озеро, Раифский участок ВКГПБЗ, Зеленодольский р-н (N55°924670°; E48°767112°), n = 2.

3. Озеро Большое Голубое, лесной водоем карстового происхождения, на границе г. Казани и Высокогорского р-на РТ (N55°899677°; E49°163693°), n = 2.

4. «Казань», водно-болотный комплекс у Парка Победы внутри городской застройки, г. Казань (N55'833292°; E49'112189°), n = 7.

5. «Свияга», берег водохранилища близ о. Свияжск, постоянный водоем в прибрежной приливной зоне, Зеленодольский р-н (N55'786148°; E48'7134317°), n = 11.

6. «Ключищи», берег водохранилища близ с. Ключищи, открытый водоем, образованный родниковыми стоками, Верхне-Услонский р-н (N55'682178; E48'967400), n = 3.

7. «Антоновка-1», озеро, пос. Антоновка, Камско-Устьинский р-н (N55'310464°; E49'142439°), n = 2.

8. «Антоновка-2», берег водохранилища, пос. Антоновка, Камско-Устьинский р-н (N55'316064°; E 49'162792°), n = 2.

9. «Саралы», берег водохранилища, Саралинский участок ВКГПБЗ, Лаишевский р-он (E49'25571°; N55'27598°), n = 3.

Для выделения ДНК использовалась часть пальца передней конечности амфибий, взятая прижизненно и зафиксированная в 96% этаноле. Молекулярно-генетический анализ проведен в лаборатории молекулярной экологии и систематики животных при кафедре зоологии и экологии Пензенского государственного университета по методикам, указанным в работах [9, 11]. Использовались 2 молекулярно-генетических маркера: для анализа материнских линий – фрагмент первой субъединицы гена цитохром оксидазы *COI* мтДНК («DNA barcodes», [12]), для идентификации криптических форм озерной лягушки, их гибридов и съедобной лягушки на геномном уровне – интрон 1 гена сывороточного альбумина *SAL-I* яДНК [13].

### Результаты исследования и обсуждение

Результаты молекулярно-генетического анализа изученных экземпляров зеленых лягушек приведены в таблице. В озерах Раифского участка ВКГПБЗ (точки 1 и 2) выявлены только «чистые» виды (с генотипом прудовой и «западной» формы озерной лягушки).

Известно, что в пределах *Pelophylax esculentus* комплекса существует определенная приуроченность к тому или иному типу биотопов для каждого из видов: озерная лягушка в большей степени приурочена к открытым биотопам (пойменные водоемы, водохранилища и карьеры), прудовая лягушка чаще всего отмечается в лесных биотопах (лесные озера, пруды, болота). Съедобная лягушка встречается чаще всего в опушечных, а в пределах Волжского бассейна занимает и сходные с прудовой лягушкой биотопы [14].

В пределах Раифского участка ВКГПБЗ ситуация несколько иная. В оз. Белое-Безводное (точка 2), относящемся к водоемам лесного типа, выявлена популяционная система R-типа, что подтверждает результаты анализов, полученные ранее методом проточной ДНК-цитометрии [6]. В оз. Шатуниха (точка 1), расположенном в 700 м от оз. Белое-Безводное, сосуществуют озерная и

прудовая лягушки (R-L-тип). Оба водоема входят в единую гидрологическую систему рек Сумка и Сер-Булак. К ней также относятся расположенные вблизи (1–4 км) озера Илантово, Гнилое и Линево, населенные популяциями L-типа (рис. 2). Водоток рек Сумка и Сер-Булак объединяет оз. Раифское. В настоящее время это единственное в Раифском участке озеро, где сосуществуют озерная, прудовая и съедобная лягушки (R-E-L-тип). Гибридизация также происходит в оз. Круглое, но здесь наблюдается наиболее распространенная популяционная система L-E-типа. В реках Сер-Булак и Сумка, представляющих собой основные водотоки Раифской части ВКГПБЗ и связывающих водоемы, отмечена только озерная лягушка (R-тип) [6].

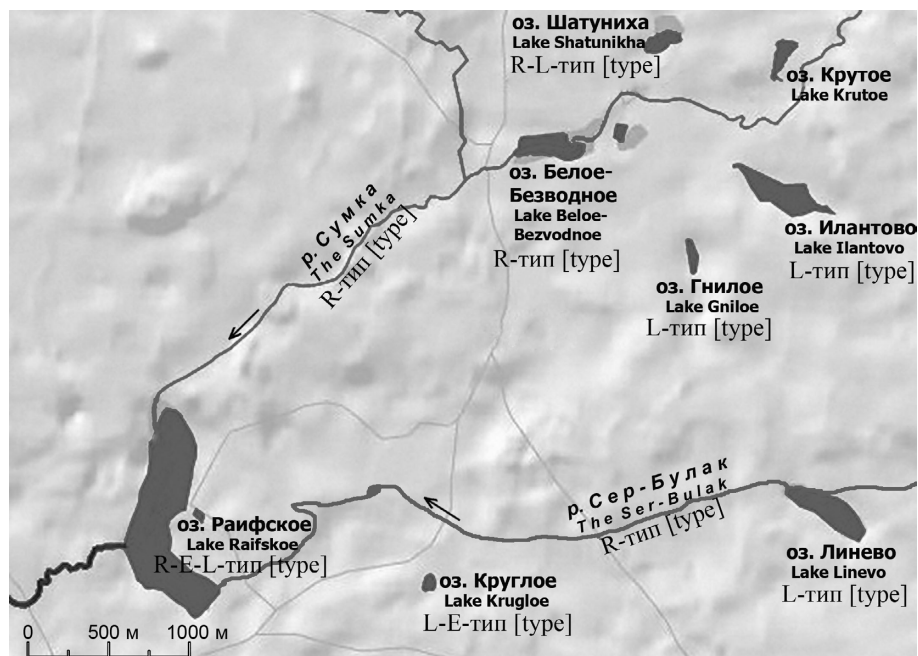
**Генетическая характеристика изученных выборок лягушек  
*Pelophylax esculentus* комплекса  
[Genetic characteristic of the studied samples of *Pelophylax esculentus* complex]**

№	Локалитет [Location]	Тип ПС [PS type]	Генотип [Genotype]		n
			яДНК [nuclear DNA]	мтДНК [mtDNA]	
1	Шатуниха [Shatunikha]	R-L	RR	R	1
			LL	L	1
2	Белое-Безводное [Beloe-Bezvodnoe]	R	RR	R	2
3	Большое Голубое [Bol'shoe Goluboe]	E	BL	B	2
4	Казань [Kazan']	E	RL	L	5
			RL	R	2
5	Свияга [Sviyaga]	R-E	RR	R	4
			RR	B	2
			RB	R	4
			RL	L	1
6	Ключищи [Klyuchishchi]	R	RR	R	2
7	Антоновка-1 [Antonovka-1]	R	RB	B	1
			RR	R	1
8	Антоновка-2 [Antonovka-2]	R	RR	R	1
			RR	B	1
9	Саралы [Saraly]	R	RR	B	3

*Примечание.* ПС – популяционная система; R – аллели «западной» формы озерной лягушки; B – «восточной» формы; L – прудовой лягушки.

[Note. PS - population system, R - alleles of *Rana ridibunda* “western” form, B - “eastern form”, L - *Rana esculenta*]

Таким образом, формирование смешанных популяционных систем в Раифской части ВКГПБЗ происходит за счет проникновения озерной лягушки из Волги в биотопы, населенные прудовой лягушкой. Смешанные популяционно-генетические типы (L-E, R-E-L) существуют в нижней части гидрологической сети исследованной территории. В водоемах лесной части гибридизация озерной и прудовой лягушек не отмечена. В перспективе данный процесс ведет к значительному изменению или замещению существующих популяционных систем.



**Рис. 2.** Распределение популяционных систем зеленых лягушек в Раифском участке ВКГПБЗ

[Fig. 2. Distribution of *Pelophylax esculentus* complex population systems in Raifa site of the Volzhsko-Kamsky National Nature Biosphere Reserve]

До недавнего времени данные об обитании съедобной лягушки на территории РТ основаны на исследовании морфологических признаков [15–17]. В отдельных точках обитание вида подтверждено методом проточной ДНК-цитометрии [4]. Достоверно выявленные местообитания съедобной лягушки также известны на территории г. Казани и в Раифском участке ВКГПБЗ [6, 18].

Нами съедобная лягушка обнаружена к востоку от Раифского участка ВКГПБЗ, в оз. Голубое (точка 3), расположенном на северной окраине г. Казани. Озеро относится к пойме р. Казанка с ключами и выходами солоноватых вод, характеризуется холодноводным гидротермическим режимом и гидрокарбонатным типом воды. Такая специфика обуславливает низкую численность земноводных. Отметим, что у обеих отловленных здесь особей *P. esculentus* донором митохондриального и ядерного гаплотипов озерной лягушки выступает ее «восточная» форма *P. cf. bedriagae* (см. ниже).

Выборка из точки 4 (г. Казань, Парк Победы) целиком представлена съедобными лягушками, в ядерном геноме которых, в отличие от точки 3, обнаружены аллели «западной» формы *P. ridibundus*. По материнской линии две особи содержали мтДНК «западной» формы озерной лягушки, остальные пять – прудовой лягушки. Водно-болотные биотопы в этой точке являют-

ся остатком поймы р. Казанка, трансформированной в результате воздействия подпора водохранилища и нарушения гидрологического режима при застройке. Ранее в этой части поймы методом проточной ДНК-цитометрии выявлена прудовая лягушка [17]. Поскольку данных о наличии в этом водоеме озерной лягушки нет, можно говорить о формировании в этой точке популяционной системы E-L-типа.

В популяции зеленых лягушек близ устья р. Свияга (точка 5) преобладает озерная лягушка: из 11 особей четыре имели специфичную для *P. ridibundus* комбинацию маркеров мтДНК и яДНК, т.е. диагностировались как генетически «чистая» «западная» форма. Шесть лягушек имели гибридное происхождение, четыре из них представлены гетерозиготными по маркеру яДНК экземплярами с мтДНК «западной» формы, а две совмещали в генотипе маркеры двух форм – яДНК «западной» и мтДНК «восточной». Единственная особь съедобной лягушки имела вариант ядерного генома «западной» формы озерной лягушки, а митохондриального – *P. lessonae*.

Факт обнаружения *P. esculentus* в правобережье Волги близ устья р. Свияга отмечается впервые. Точка 5 географически отдалена от ближайших известных находок прудовой и съедобной лягушек на западе, севере и востоке [5, 7, 8] на расстояние порядка 135–180 км. Полученные данные позволяют предположить, что здесь формируется популяционная система R-E-типа. Сведения о популяциях такого типа в Поволжье имеются в Ульяновской области [4], указываются для Самарской области [19], в Мордовии известна единственная популяция [20]. Одним из объяснений находки может быть версия о проникновении прудовой или съедобной лягушек с левобережья Волги. В качестве способствующих проникновению факторов можно отметить зарегулированный сток, разнонаправленность течений Волги и Свияги (запад–восток и юг–север соответственно), а также множество островных включений и отмелей на обширном устьевом участке р. Свияга.

В остальных исследованных точках (6–8) Правобережья Волги съедобная лягушка не выявлена.

В пределах Саралинского участка ВКГПБЗ (точка 9) в силу различия условий наблюдается экологическая дифференциация зеленых лягушек, характерная для видов *Pelophylax esculentus* комплекса в бассейне р. Волга [14]. В акватории этой части заповедника обитают прудовая и озерная лягушки [15, 16, 21], микропопуляции которых занимают водоемы различного типа. В открытых частях Куйбышевского водохранилища держится исключительно озерная лягушка, а прибойные явления и отсутствие развитой водной растительности препятствуют проникновению *R. lessonae*. Поскольку сбор генетических образцов произведен только в прибойной линии водохранилища, гаплотипы прудовой лягушки в наших материалах отсутствуют. Закрытые протоки, внутренние и временные водоёмы биотопически тесно сообщаются с остальной частью водохранилища и населены особями с морфологией как озерной, так и прудовой лягушек (предположительно R-L-

тип). Открытость и связанность водоемов дают основание предполагать взаимопроникновение особей из различных экологических микропопуляций и гибридизацию видов.

В отношении «восточной» формы озерной лягушки недавно показано, что северная граница распространения ее аллелей в правобережном Поволжье практически достигает 54° параллели [9]. Выявленная нами генетическая структура прибрежных популяций Куйбышевского водохранилища (точки 5–8) (гетерозиготность по маркеру яДНК и наличие аллелей мтДНК обеих форм озерной лягушки), расположенных на достаточном удалении друг от друга ( $\approx 55$  км), свидетельствует о гибридизации «восточной» и «западной» форм и позволяет отодвинуть границу этой зоны к северу почти до 56° с. ш. Точка 3 в правобережье Волги севернее г. Казань (оз. Голубое), в которой выявлен гаплотип «восточной» формы, на сегодняшний день является крайним северо-восточным пунктом обнаружения в Поволжье мтДНК *P. cf. bedriagae*.

Вместе с тем факты выявления аллелей «восточной» озерной лягушки в Заволжье, как на Саралинском участке ВКГПБЗ, так и в оз. Голубом, могут быть объяснены естественными и антропогенными причинами. В первом случае в качестве наиболее эффективного вектора распространения можно рассматривать явление орнитохории, поскольку долина Волги со всеми прилегающими водоемами исторически является одним из основных путей миграции птиц водного и околоводного комплекса [22]. Данное предположение не исключает заноса носителей и водным транспортом.

### Заключение

Полученные в результате молекулярно-генетического анализа данные расширяют наши представления о распространении видов *P. esculentus* комплекса на территории Республики Татарстан. Местообитания съедобной лягушки в большей степени связаны с водоемами, подвергшимися влиянию деятельности человека. Скудные сведения о распространении, численности и биологии съедобной лягушки вновь поднимают вопрос о включении вида в очередное издание Красной книги РТ со статусом «недостаточно изучен». Пример Раифского участка Волжско-Камского заповедника свидетельствует о продолжающемся процессе изменения и формирования популяционно-генетических систем зеленых лягушек.

Решение вопроса о видовой самостоятельности лягушки *P. cf. bedriagae*, исследование границ ее ареала и явления гибридизации представляют интерес в зоогеографическом и эволюционном аспектах. Данные молекулярно-генетического анализа расширяют зону симпатрии и гибридизации «западной» и «восточной» форм озерной лягушки в Поволжье до 56° с.ш.



### Литература

1. Berger L. Embryonal and larval development of F1 generation green frog different combinations // Acta zool. Cracow. 1967. Vol. 12, № 7. P. 123–160.
2. Лада Г.А. Среднеевропейские зеленые лягушки (гибридогенный комплекс *Rana esculenta*): введение в проблему // Флора и фауна Черноземья. Тамбов. 1995. С. 88–109.
3. Lada G.A., Borkin L.J., Vinogradov A.E. Distribution, population system and reproductive behavior of green frog (hybridogenetic *Rana esculenta* complex) in the Central Chernozem territory of Russia // Russian Journal of Herpetology. 1995. Vol. 2, № 1. P. 46–57.
4. Боркин Л.Я., Литвинчук С.Н., Розанов Ю.М., Лада Г.А., Ручин А.Б., Файзулин А.И., Замалетдинов Р.И. Гибридогенный комплекс *Ranaesculenta*: существует ли «Волжский парадокс» // Третья конференция герпетологов Поволжья. Тольятти, 2003. С. 7–12.
5. Борисовский А.Г., Боркин Л.Я., Литвинчук С.Н., Розанов Ю.М. Морфометрическая характеристика зеленых лягушек (комплекс *Rana esculenta*) Удмуртии // Вестник Удмуртского университета. Биология. Ижевск, 2000. № 5. С. 70–75.
6. Замалетдинов Р.И., Боркин Л.Я., Литвинчук С.Н., Розанов Ю.М. О структуре комплекса зеленых лягушек в Раифском участке Волжско-Камского заповедника // Тр. Волжско-Камского государственного природного заповедника. Казань, 2005. Вып. 6. С. 326–333.
7. Ручин А.Б., Боркин Л.Я., Лада Г.А., Литвинчук С.Н., Розанов Ю.М., Рыжов М.К. О фауне зеленых лягушек (*Rana esculenta* complex) Чувашии // Научные труды национ. парка «Чаваш вармане». Чебоксары: Новое время, 2010. Т. 3. С. 102–110.
8. Свинин А.О., Литвинчук С.Н., Боркин Л.Я., Розанов Ю.М. Распространение и типы популяционных систем зелёных лягушек рода *Pelophylax* Fitzinger, 1843 в республике Марий Эл // Современная герпетология. 2013. Т. 13, вып. 3/4. С. 137–147.
9. Ермаков О.А., Закс М.М., Тутов С.В. Диагностика и распространение «западной» и «восточной» форм озерной лягушки *Pelophylax ridibundus* s. L. в Пензенской области (по данным анализа гена COI мтДНК) // Вестник Тамбовского университета. Серия: Естественные и технические науки. 2013. Т. 18, вып. 6. С. 2999–3002.
10. Ермаков О.А., Файзулин А.И., Закс М.М., Кайбелева А.И., Зарипова Ф.Ф. Распространение «западной» и «восточной» форм озерной лягушки *Pelophylax ridibundus* L. на территории Самарской и Саратовской областей (по данным анализа митохондриальной и ядерной ДНК) // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2014. Т. 16, № 5 (1). С. 409–412.
11. Закс М.М., Быстракова Н.В., Ермаков О.А., Тутов С.В. Молекулярно-генетическая и морфологическая характеристика озёрных лягушек (*Pelophylax ridibundus*) из Пензенской области // Современная герпетология: проблемы и пути их решения : матер. докл. Первой междунар. молод. конф. герпетологов России и сопред. стран. СПб., 2013. С. 86–89.
12. Hebert P.D.N., Cywinska A., Ball S.L., de Waard J.R. Biological identifications through DNA barcodes // Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. 2003. Vol. 270. P. 313–321.
13. Plötner J., Köhler F., Uzzell T., Beerli P., Schreiber R., Guex G.D., Hotz H. Evolution of serum albumin intron-1 is shaped by a 5' truncated non-long terminal repeat retrotransposon in western Palearctic water frogs (Neobatrachia) // Molecular Phylogenetics and Evolution. 2009. Vol. 53. P. 784–791.
14. Гаранин В.И. Земноводные и пресмыкающиеся Волжско-Камского края. М. : Наука, 1983. 175 с.
15. Галеева Д.Н., Гаранин В.И., Замалетдинов Р.И., Павлов А.В. Материалы к кадастру земноводных и пресмыкающихся Республики Татарстан // Материалы к кадастру

- амфибий и рептилий бассейна Средней Волги. Н. Новгород : Международный Социально-экологический союз; Экоцентр «Дронт», 2002. С. 186–221.
16. Павлов А.В., Замалетдинов Р.И. Животный мир Республики Татарстан. Амфибии и рептилии. Методы их изучения. Казань, 2002. 92 с.
  17. Замалетдинов Р.И. Экология земноводных в условиях большого города (на примере г. Казани) : дис. ... канд. биол. наук. Казань : ИнЭПС АН РТ, 2003. 167 с.
  18. Ручин А.Б., Лада Г.А., Боркин Л.Я., Литвинчук С.Н., Розанов Ю.М., Рыжов М.К., Замалетдинов Р.И. О биотопическом распределении трех видов зеленых лягушек (*Rana esculenta* complex) в бассейне р. Волги // Поволжский экологический журнал. 2009. № 2. 137–147.
  19. Файзуллин А.И., Чихляев И.В., Кузовенко А.Е. Амфибии Самарской области. Тольятти : Кассандра, 2013. 140 с.
  20. Ручин А.Б., Рыжов М.К. Амфибии и рептилии Мордовии: видовое разнообразие, распространение, численность. Саранск : Изд-во Морд. ун-та, 2006. 160 с.
  21. Garanin V.I. The distribution of amphibians in the Volga-Kama region // Advances in Amphibian Research in the Former Soviet Union. Sofia-Moscow. 2000. Vol. 5. P. 79–132.
  22. Попов В.А., Некрасов Б.В., Гориков П.К., Артемьев Ю.Т., Соколов Б.В., Мингалеев И.В., Тазетдинов М.Г., Попов А.В. Результаты визуального изучения пролета птиц в устьевом участке Камы за 1956–1964 гг. // Природные ресурсы Волжско-Камского края. Животный мир. М. : Наука, 1964. С. 71–84.

Поступила в редакцию 19.02.2015 г.; повторно 05.05.2015 г.; принята 15.07.2015 г.

#### Авторский коллектив:

**Замалетдинов Ренат Ирекович** – канд. биол. наук, ст. преподаватель кафедры природообустройства и водопользования Института управления, экономики и финансов Казанского (Приволжского) федерального университета (г. Казань, Россия). E-mail: <https://i.ricinus@rambler.ru>

**Павлов Алексей Владиленович** – канд. биол. наук, с. н. с. Волжско-Камского государственного природного биосферного заповедника (п. Садовый, Зеленодольский р-н Республики Татарстан, Россия). E-mail: [zilantelan@mail.ru](mailto:zilantelan@mail.ru)

**Закс Михаил Михайлович** – канд. биол. наук, лаборант-исследователь кафедры зоологии и экологии Пензенского государственного университета (г. Пенза, Россия). E-mail: [zaks.pnz@gmail.com](mailto:zaks.pnz@gmail.com)

**Иванов Александр Юрьевич** – аспирант кафедры зоологии и экологии Пензенского государственного университета (г. Пенза, Россия). E-mail: [akella58@mail.ru](mailto:akella58@mail.ru)

**Ермаков Олег Александрович** – канд. биол. наук, доцент, кафедры зоологии и экологии Пензенского государственного университета (г. Пенза, Россия). E-mail: [oaermakov@list.ru](mailto:oaermakov@list.ru)

Zamaletdinov RI, Pavlov AV, Zaks MM, Ivanov AY, Ermakov OA. Molecular-genetic characteristic of *Pelophylax esculentus* complex from the eastern range of distribution (Volga region, Tatarstan Republic). *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya – Tomsk State University Journal of Biology*. 2015;3(31):54-66. doi: 10.17223/19988591/31/5. In Russian, English summary

**Renat I. Zamaletdinov<sup>1</sup>, Alexey V. Pavlov<sup>2</sup>, Mikhail M. Zaks<sup>3</sup>, Alexandr Y. Ivanov<sup>3</sup>, Oleg A. Ermakov<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Kazan (Volga Region) Federal University, Tatarstan Republic, Russian Federation

<sup>2</sup> Volzhsko-Kamsky National Nature Biosphere Reserve, Sadoviy set., Zelenodolsk dist., Tatarstan Republic, Russian Federation

<sup>3</sup> Penza State University, Penza, Russian Federation

### **Molecular-genetic characteristic of *Pelophylax esculentus* complex from the eastern range of distribution (Volga region, Tatarstan Republic)**

We studied patterns of the *Pelophylax esculentus* complex population-genetic system at the eastern border of their distribution range (Volga region, Tatarstan Republic) and such cryptic forms as *Pelophylax ridibundus* (Pallas, 1771) and *P. cf. bedriagae*.

A total of 34 frogs were captured in 9 spots of the Prikazanie (an area around Kazan City at the range of 70 km). Tissue specimens (a bit of finger) were fixed in 96% ethanol. We used a short fragment of mtDNA from cytochrome c oxidase 1 (COI) region to identify maternal species («DNA barcodes», Hebert et al., 2003). Analyses of cryptic forms and their hybrids were performed by means of intron-1 of the serum albumin gene (SAI-1) (Plötner et al., 2009). Detailed analysis protocol was described according to Ermakov et al., 2013; Zaks et al., 2013.

We revealed 5 types of population-genetic systems (R, L, R-L, L-E, R-E-L) in Raifa site of the Volga-Kama Reserve. The invasion of *P. ridibundus* in *P. lessonae* (Camerano, 1882) habitats from the Volga River is a formation factor of mixed population systems (L-E, R-E-L). Both species hybridization is not recorded in lakes and rivers of forest biotopes. We observe the existence of R-L population in Saraly part of the Reserve. Outside the Reserve, on the right bank of the Volga River a new single *P. esculentus* (Linnaeus, 1758) population is found, which is situated within 135-180 km range from the nearest known points of the species. E-type population, that is unique in Volga Region, is found on the northern border of Kazan City. The "eastern" form of *P. ridibundus* is a maternal species in the population. *P. esculentus* inhabits the pond in the center of the City (presumably E-L system).

We identified the alleles of *P. cf. bedriagae* in 4 points on the right bank and 2 points on the left bank of the Volga River, which indicates the hybridization of the *P. ridibundus* "eastern" and "western" forms. It allows moving the boundary of the hybridization zone to the north along the Volga River nearly at 56° N. Identification of *P. ridibundus* "eastern" form on the left bank of the Volga River can explain the phenomenon of ornitochore and/or anthropogenic introduction by river transportation

*The article contains 2 Figures, 1 Table, 22 References.*

**Key words:** Pelophylax esculentus complex; *P. ridibundus*; *P. cf. bedriagae*; cytochrome oxidase; serum albumin; Volga Region; Tatarstan Republic.

## References

- Berger L. Embryonal and larval development of F1 generation green frogs different combinations. *Acta zoologica cracovensia*. 1967;12(7):123-160.
- Lada GA. Sredneevropeyskie zelenye lyagushki (gibridogennyy kompleks *Rana esculenta*): vvedenie v problemu [European water frogs (hybridogenetic *Rana esculenta* complex): introduction to the problem]. In: *Flora i fauna Chernozem'ya* [Flora and fauna of the Chernozem zone]. Tambov: Tambov State University Publ.; 1995. pp. 88-109. In Russian
- Lada GA, Borkin LYa, Vinogradov AE. Distribution, population system and reproductive behavior of green frog (hybridogenetic *Rana esculenta* complex) in the Central Chernozem territory of Russia. *Russian Journal of Herpetology*. 1995;2(1):46-57.
- Borkin LYa, Litvinchuk SN, Rozanov YuM, Lada GA, Ruchin AB, Fayzulin AI, Zamaletdinov RI. Gibridogennyy kompleks *Rana esculenta*: sushchestvuet li «Volzhskiy paradoks» [Hybridogenetic *Rana esculenta* complex: Does "the Volga paradox" exist?]. In: *Tret'ya konferentsiya gerpetologov Povolzh'ya* [3<sup>rd</sup> Conference of the Volga Region herpetologists. Proc. of the Sci. Conf. Tol'yatti, 5-7 February 2003]. 2003. pp. 7-12. In Russian
- Borisovskiy AG, Borkin LYa, Litvinchuk SN, Rosanov YuM. Morphometric characteristics of green frogs (*Rana esculenta* complex) in Udmurtia. *Bulletin of Udmurt University*. 2000;5:70-75. In Russian
- Zamaletdinov RI, Borkin LYa, Litvinchuk SN, Rozanov YuM. O strukture kompleksa zelenykh lyagushek v Raifskom uchastke Volzhsko-Kamskogo zapovednika [On the structure of green water frog complex in Raifa site of the Volzhsko-Kamsky Reserve]. In:

- Trydi Volzhsko-Kamskogo gosudarstvennogo prirodnogo zapovednika*. 2005;6:326-333. In Russian
7. Ruchin AB, Borkin LYa, Lada GA, Litvinchuk SN, Rozanov YuM, Ryzhov MK. O faune zelenykh lyagushek (*Rana esculenta* complex) Chuvashii [On the fauna of green water frogs (*Rana esculenta* complex) in Chuvashia]. In: *Nauchnie trydi natsional'nogo parka "Chavash varmane"* [Proc. of the National Reserve "Chavash varmane"]. Vol. 3. Cheboksary: Novoe vremya Publ.; 2010. pp. 102-110. In Russian
  8. Svinin AO, Litvinchuk SN, Borkin LJ, Rosanov JM. Distribution and population system types of green frogs (*Pelophylax* Fitzinger, 1843) in Mari El Republic. *Sovremennaya gerpetologiya*. 2013;13(3/4):137-147. In Russian, English summary
  9. Ermakov OA, Zaks MM, Titov SV. Diagnostics and distribution of "western" and "eastern" forms the marsh frog *Pelophylax ridibundus* s. l. in the Penza region by analysis of mtDNA cytochrome oxidase gene. *Tambov University reports. Series: Natural and Technical Sciences*. 2013;18(6): 2999-3002. In Russian, English summary
  10. Ermakov OA, Fayzulin AI, Zaks MM, Kaybeleva EI, Zaripova FF. Distribution "western" and "eastern" forms of marsh frog *Pelophylax ridibundus* s. l. in the Samara and Saratov region (on data of analysis of mtDNA and nDNA). *Proceedings of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*. 2014;16(5(1)):409-412. In Russian, English summary
  11. Zaks MM, Bystrakova NV, Ermakov OA, Titov SV. Molekulyarno-geneticheskaya i morfologicheskaya kharakteristika ozernykh lyagushek (*Pelophylax ridibundus*) iz Penzenskoy oblasti [Molecular-genetic and morphological characteristics of *Pelophylax ridibundus* in Penza oblast]. In: *Sovremennaya gerpetologiya: problemy i puti ikh resheniya*. Pervaya mezhd. molod. konfer. gerpetologov Rossii i sopred. Stran [Modern herpetology: problems and ways of their solution. Proc. of the 1th International Youth Conference of herpetologists of Russia and neighboring countries (St. Petersburg, Russia, 25-27 November 2013)]. Zoologicheskii in-t RAN. 2013:86-89. In Russian
  12. Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, de Waard JR. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London. Series Biological Sciences*. 2003;270:313-322. doi: [10.1098/rspb.2002.2218](https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218)
  13. Plötner J, Köhler F, Uzzell T, Beerli P, Schreiber R, Guex GD, Hotz H. Evolution of serum albumin intron-1 is shaped by a 5' truncated non-long terminal repeat retrotransposon in western Palearctic water frogs (Neobatrachia). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2009;53:784-791. doi: [10.1016/j.ympev.2009.07.037](https://doi.org/10.1016/j.ympev.2009.07.037)
  14. Garanin VI. Zemnovodnye i presmykayushchiesya Volzhsko-Kamskogo kraya [Amphibians and Reptiles of the Volga-Kama region]. Moscow: Nauka Publ.; 1983. 175 p. In Russian
  15. Galeeva DN, Garanin VI, Zamaletdinov RI, Pavlov AV. Materialy k kadastru zemnovodnykh i presmykayushchikhsya Respubliki Tatarstan [Data on the inventory of amphibians and reptiles of the Tatarstan Republic]. In: *Materialy k kadastru amfibiy i reptilyi basseyna Sredney Volgi* [Data on the inventory of amphibians and reptiles of the Middle Volga Basin]. Nizhniy Novgorod: Dront Publ.; 2002. pp. 186-221. In Russian
  16. Pavlov AV, Zamaletdinov RI. Zhivotnyy mir Respubliki Tatarstan. Amfibii i reptilii. Metody ikh izucheniya [Animal world of the Tatarstan Republic. Amphibians and reptiles. Methods of their investigation]. Kazan'. 2002. 92 p. In Russian
  17. Zamaletdinov RI. Ekologiya zemnovodnykh v usloviyakh bol'shogo goroda (na primere g. Kazani) [Ecology of amphibians in a big city (by the example of Kazan). CandSci. Dissertation, Biology]. Kazan': Institute of Ecology of Natural Ecosystems, Tatarstan Academy of Sciences; 2003. 167 p. In Russian
  18. Ruchin AB, Lada GA, Borkin LYa, Litvinchuk SN, Rosanov YuM, Ryzhov MK, Zamaletdinov RI. On habitat distribution of three green frog species of the *Rana esculenta* complex in the Volga River basin. *Povolzhskiy Journal of Ecology*. 2009;2:137-147. In Russian, English summary

19. Fayzullin AI, Chikhlyayev IV, Kuzovenko AE. Amfibii Samarskoy oblasti [Amphibians of Samara oblast']. Tol'yatti: Kassandra Publ.; 2013. 140 p. In Russian
20. Ruchin AB, Ryzhov MK. Amfibii i reptilii Mordovii: vidovoe raznoobrazie, rasprostranenie, chislennost' [Amphibians and reptiles of Mordovia: species diversity, distribution and abundance]. Saransk: Mordovia University Publ.; 2006. 160 p. In Russian
21. Garanin VI. The distribution of amphibians in the Volga-Kama region. *Advances in Amphibian Reserch in the Former Soviet Union*. Sofia-Moscow, 2000;5:79-132.
22. Popov VA, Nekrasov BV, Gorshkov PK, Artem'ev YuT, Sokolov BV, Mingaleev IV, Tazetdinov MG, Popov AV. Rezul'taty vizual'nogo izucheniya proleta ptits v ust'evom uchastke Kamy za 1956-1964 gg. [Results of visual investigation of bird flight in the mouth of the Kama for 1956-1964]. In: *Prirodnye resursy Volzhsko-Kamskogo kraya. Zhivotnyy mir* [Nature resources of Volga-Kama region. Animal world]. Moscow: Nauka Publ.; 1964. pp. 71-84.

*Received 2 February 2015;*

*Revised 5 May 2015;*

*Accepted 15 July 2015*

**Authors info:**

**Zamaletdinov Renat I**, Cand. Sci. (Biol.), Senior Lecturer, Department of Environmental Engineering and Water Management, Institute of Management, Economics and Finance, Kazan (Volga Region) Federal University, 18 Kremlyovskaya Str., Kazan 420008, Russian Federation.

E-mail: [i.ricinus@rambler.ru](mailto:i.ricinus@rambler.ru)

**Pavlov Alexey V**, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Volzhsko-Kamsky National Nature Biosphere Reserve, 1 Vekhova Str., Sadoviy Set., Zelenodolsk Dist., Tatarstan Republic 422537, Russian Federation.

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

**Zaks Mikhail M**, Cand. Sci. (Biol.), Assistant Researcher, Department of Zoology and Ecology, Penza State University, 40 Krasnaya Str., Penza 440026, Russian Federation.

E-mail: [zaks.pnz@gmail.com](mailto:zaks.pnz@gmail.com)

**Ivanov Alexandr Y**, PhD. Student, Department of Zoology and Ecology, Penza State University, 40 Krasnaya St., Penza 440026, Russian Federation.

E-mail: [akella58@mail.ru](mailto:akella58@mail.ru)

**Ermakov Oleg A**, Cand. Sci. (Biol.), Assistant Professor, Department of Zoology and Ecology, Penza State University, 40 Krasnaya Str., Penza 440026, Russian Federation.

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