

© 2008 Р.В. Ефимов, Е.В. Завьялов, О.А. Помазенко,
В.Г. Табачишин*

ОСОБЕННОСТИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИЙ ГАДЮК НИКОЛЬСКОГО (*VIPERA NIKOLSKII*) И ОБЫКНОВЕННОЙ (*VIPERA BERUS*) В ЗОНАХ ИХ СИМПАТРИЧЕСКОГО ОБИТАНИЯ В ПОВОЛЖЬЕ

На основе использования молекулярно-генетических маркеров по микросателлитному локусу 7-87 было установлено, что среди гадюк с территории Поволжья аллель размером 152 п.н. является высокоспецифичным для *Vipera nikolskii*. Абсолютное большинство экземпляров *V. berus* содержат аллели размером от 176 до 192 п.н., отмечена тенденция увеличения длины аллелей гадюк в направлении от Республики Мордовия до Пермского края. Выявлены особенности генетической структуры популяций *V. nikolskii* и *V. berus* в зоне перекрывания их ареалов в Поволжье (между 52-54° с.ш.). Предполагается гибридогенный характер формирования некоторых популяций гадюк в зоне их симпатрического обитания в Поволжье, которая относительно узка: глубина взаимного проникновения видоспецифичных аллелей гадюк в аллопатричные области ограничивается лишь несколькими десятками километров. В качестве барьеров, ограничивающих генные потоки змей, преимущественно выступают ландшафтные особенности изучаемой территории, когда довольно резко выражен переход от холмистой лесистой местности к открытой лесостепной равнине.

Ключевые слова: гадюковые змеи, Поволжье, популяционная структура, молекулярно-генетические маркеры, видоспецифичные локусы, зоны симпатрии, гибридизация.

R.V. Yefimov, E.V. Zavialov, O.A. Pomazenko, and V.G. Tabachishin GENETIC STRUCTURE FEATURES OF VIPERA NIKOLSKII AND VI- PERA BERUS POPULATIONS IN ZONES OF THEIR SYMPATRIC HA- BITATION IN VOLGA REGION

On the basis of molecular-genetic markers on the microsatellite 7-87 locus the 152 p.n. allele has been established to be high-specific for *Vipera nikolskii* among the vipers of the Volga region territory. Most specimens of *V. berus* contain alleles of sizes from 176 to 192 p.n., and trend of increasing the viper allele length in the direction from Republic Mordovia to the Perm region is noted. Features of the genetic structure of the *V. nikolskii* and *V. berus* populations in the zone of overlapping of their habitats in the Volga region (between 52-54°N) have been revealed. A hybridogeneous character of the formation of some viper populations in the zone of their sympatric habitation in the Volga region is supposed, this zone being rather narrow: the depth of mutual penetration of the species-specific alleles of vipers into allopatric areas is limited to several tens kilometers only. Landscape

* Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, г. Саратов

features of the territory under survey act mainly as barriers to limit genetic flows of snakes, when the transition from a hilly woody area to an open forest-steppe plain is rather sharply expressed.

Key words: *Vipera* snakes, Volga region, population structure, molecular-genetic markers, species-specific locus, sympatric zones, hybridization.

Виды гадюк рода *Vipera* Laurenti, 1768 остаются объектом пристального внимания исследователей на протяжении длительного времени. Широкая морфологическая изменчивость, экологическая пластичность и относительно высокие темпы эволюции гадюковых змей характеризуют их как традиционные модельные объекты, на которых апробируются и применяются методы таксономического анализа и популяционной экологии. В данном отношении являются весьма показательными гадюка Никольского (*Vipera nikolskii* Vedmederja, Grubant, Rudaeva, 1986) и обыкновенная гадюка (*Vipera berus* (Linnaeus, 1758)). Обширный ареал обыкновенной гадюки охватывает большую часть Северной Евразии до 46-52° на юге, а гадюка Никольского распространена в лесостепных ландшафтах Восточной Европы и обитает в пойменных и сопредельных биотопах (Табачишин, Завьялов, 2003; Ананьева и др., 2004; Tabatschischin, Sawjalow, 2004). Однако, несмотря на хорошо выраженную экологическую сегрегацию этих змей, в зонах их симпатрического распространения отмечаются особи, характеризующиеся признаками гибридогенного характера (Завьялов и др., 2006; Ефимов и др., 2007).

Предполагаемая зона гибридизации гадюк может быть выявлена с помощью генных маркеров, поскольку традиционные морфологические признаки зачастую не дают достаточно надежных результатов при определении этих видов и их гибридов. Поэтому целью данного исследования являлось получение сведений о генетической структуре популяций гадюк в зонах их симпатрического обитания на основе использования молекулярно-генетических маркеров. Материалом послужили полевые сборы змей, осуществленные в Саратовской, Самарской, Пензенской, Новгородской и Тульской областях, республиках Мордовия, Чувашия, Удмуртия и в Пермском крае с 2003 по 2007 гг., хранящиеся в Зоологическом музее Саратовского государственного университета (ЗМ СГУ) и Зоологическом институте РАН (ЗИН) (табл. 1). В качестве биологического материала использовали заспиртованные образцы печени гадюк. Тотальную ДНК из них выделяли по методике (Sambrook et al., 1989), традиционно применяемой в отношении рептилий. Тотальную ДНК из крови извлекали с использованием набора «Diatom Prep 100» (ГенЛаб) в соответствии с методикой фирмы изготовителя.

Для проведения полимеразной цепной реакции использовали олигонуклеотидные праймеры, подобранные по нуклеотидным последовательностям базы данных Genebank (Франция). Секвенирование очищенных двухцепочечных ПЦР продуктов митохондриальных генов проводили по методу Сенгера (Sanger et al., 1977). Электрофоретическое разделение про-

дуктов секвенирующей реакции осуществляли с помощью автоматического 8-капиллярного ДНК-секвенатора SEQ 2000XL (Bekman Coulter). Для выравнивания секвенированных нуклеотидных последовательностей митохондриальных генов использовали программы Clustal W и BioEdit Sequence Alignment Editor. При диагностике видов и определении генетической структуры популяций использован микросателлитный локус 7-87. Для построения дендрограмм применяли пакет прикладных программ MEGA 4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (Tamura et al., 2007).

Таблица 1

Географическая и количественная характеристика сборов гадюк, использованных в анализе

Место сбора материала	Вид	Количество особей	Источник материала
Саратовская область	<i>V. nikolskii</i>	23	ЗМ СГУ, ЗИН
Самарская область	<i>V. nikolskii?</i>	15	ЗМ СГУ, ЗИН
Республика Чувашия	<i>V. berus</i>	5	ЗМ СГУ, ЗИН
Пензенская область	<i>V. berus</i>	3	ЗМ СГУ
Республика Мордовия	<i>V. berus</i>	7	ЗМ СГУ
Пермский край	<i>V. berus</i>	7	ЗИН
Республика Удмуртия	<i>V. berus</i>	6	ЗИН
Тульская область	<i>V. berus</i>	9	ЗИН
Новгородская область	<i>V. berus</i>	5	ЗИН

В результате проведенного анализа было установлено, что большинство «саратовских» образцов имели в своем составе аллель размером 152 п.н. Он является высокоспецифичным для *V. nikolskii*. Вместе с тем, абсолютное большинство экземпляров *V. berus* содержали аллели размером от 176 до 192 п.н. Однако, некоторые экземпляры змей из Тульской области и Республики Мордовия, определенные по морфологическим признакам как обыкновенные гадюки, содержали аллель 152 п.н., характерный *V. nikolskii*. Особо следует выделить «тульскую» популяцию обыкновенной гадюки, высоко специфичную в генетическом отношении. Вероятно, выявленная картина возникает в результате симпатрического обитания и гибридизации изучаемых змей. Данное предположение подтверждается высокими адаптивными возможностями гадюки Никольского, которая на современном этапе в условиях внутривековой динамики климата проявляет тенденцию к расселению на север. Существуют также примеры, когда в сезоны с большим уровнем воды в период паводка обыкновенные гадюки скатываются вниз по течению рек, расширяя тем самым зону возможной гибридизации.

Аналогичными признаками гибридогенного характера характеризуются отдельные экземпляры змей из Новобурасского района Саратовской области, определенные по метрическим и меристическим параметрам как *V. nikolskii*. Однако на указанной территории не отмечаются особи, которых на основе анализа фенотипа можно было бы отнести к обыкновенной гадюке. Причиной данного явления могут быть случаи близкородственно-

го скрещивание гадюк Никольского, в результате чего утрачивается видоспецифичный аллель 152 п.н. и происходит переход генотипа в гомозиготное состояние с длиной аллелей 184 п.н. Данное предположение косвенно подтверждается локальным распространением змей на водоразделах, а также очень низкой численностью особей в изученных популяциях.

В отношении изучаемых гадюк из Пермского края, республик Чувашии, Мордовии и Удмуртии выявлено разнообразие аллелей по микросателлитному локусу 7-87. При этом отмечена тенденция увеличения длины аллелей в направлении от Республики Мордовия до Пермского края (табл. 2).

Таблица 2

Изменение длины аллелей по микросателлитному локусу 7-87

Место сбора материала	Генетический профиль (п.н.)
Саратовская область	148, 152, 156, 166, 176, 182, 184, 188, 190
Тульская область	152, 176, 184, 188
Самарская область	176, 184
Республика Мордовия	152, 176, 178, 182, 184, 186, 188
Республика Чувашия	176, 180, 184, 186, 188
Республика Удмуртия	176, 184, 188
Пермский край	184, 186, 188, 192
Новгородская область	176, 184

Таким образом, выявлена генетическая структура популяций *V. nikolskii* и *V. berus* в зоне перекрывания их ареалов в Поволжье (между 52-54° с.ш.). Вполне вероятно, что она имеет гибридогенный характер, как это было отмечено, например, в зоне гибридизации изучаемых видов на Украине вблизи г. Канева (Зиненко, Ружиленко, 2003). Зона симпатрического обитания гадюк в Поволжье относительно узка, а глубина взаимного проникновения видоспецифичных аллелей гадюк в аллопатричные области ограничивается лишь несколькими десятками километров (Ефимов и др., 2008). В качестве барьеров, ограничивающих генные потоки змей, преимущественно выступают ландшафтные особенности изучаемой территории, где довольно резко выражен переход от холмистой лесистой местности к открытой лесостепной равнине. Кроме того, в данной ситуации немаловажным является тот факт, что Поволжье является восточным пределом распространения гадюки Никольского. Представленные материалы по особенностям генетической структуры популяций гадюк в зонах их симпатрического обитания носят предварительный характер и требуют подтверждения на более обширном материале.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Ананьева Н.Б., Орлов Н.Л., Халиков Р.Г., Даревский И.С., Рябов С.А., Барбанов А.В. Атлас пресмыкающихся Северной Евразии (таксономическое разнообразие, географическое распространение и природоохранный статус). СПб., 2004. 232 с.

Ефимов Р.В., Завьялов Е.В., Великов В.А., Табачишин В.Г. Предварительные данные о генетической дифференциации нижеволжских популяций гадюки Никольского (*Vipera nikolskii*, Viperidae) по результатам секвенирования генов 12S рибосомной

РНК и цитохромоксидазы III // Современная герпетология. 2007. Т. 7, вып. 1/2. С. 69-75.
– **Ефимов Р.В., Завьялов Е.В., Табачишин В.Г.** Аспекты экологической сегрегации и технология видовой идентификации гадюковых змей (Reptilia: Viperidae, *Vipera*) в Поволжье на основе генотипирования // Поволжский экол. журн. 2008, № 2. С. 137-142.

Завьялов Е.В., Кайбелева Э.И., Табачишин В.Г. Сравнительная кариологическая характеристика гадюки Никольского (*Vipera (Peliast) nikolskii*) из пойм малых рек Волжского и Донского бассейнов // Современная герпетология. 2006. Т. 5/6. С. 100-103.

– **Зиненко А.И., Ружиленко Н.С.** О систематической принадлежности гадюки, обитающей на территории Каневского природного заповедника // Заповідна справа в Україні. 2003. Т. 9, вип. 1. С. 51-55.

Табачишин В.Г., Завьялов Е.В. Распространение гадюки Никольского на юге Подольской возвышенности // Поволжский экол. журн. 2003. № 2. С. 202-203.

Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual. New York, 1989. 381 p. – **Sanger F., Nicklen S., Coulson A.R.** DNA Sequencing with chain-termination inhibitors // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1977. Vol. 74. P. 5436-5467.

Tabatschischin W.G., Sawjalow E.W. Zur präzisierung der südlichen Grenze des Verbreitungsareals der Waldsteppenotter (*Vipera nikolskii*) im europäischen Teil Russlands // Mauritiana (Altenburg). 2004. Bd. 19, heft 1. P. 83-85. – **Tamura K., Dudley J.L., Nei M., Kumar S.** MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) Software Version 4.0 // Molecular biology and evolution. 2007. № 24 (8). P. 1596-1599.

Поступила в редакцию
15 мая 2008 г.