

# МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОЗЕРНЫХ ЛЯГУШЕК *Pelophylax ridibundus* s.l. ИЗ ВЕРХНЕГО ПООЧЬЯ

А.Ю. Иванов<sup>1</sup>, В.А. Корзиков<sup>2</sup>, С.К. Алексеев<sup>3</sup>, О.А. Ермаков<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Пензенский государственный университет, г. Пенза

<sup>2</sup>Калужский государственный университет, г. Калуга

<sup>3</sup>Калужское общество изучения природы, г. Калуга

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

К настоящему времени установлено, что озерная лягушка *Pelophylax ridibundus* sensu lato представляет собой комплекс из нескольких морфологически сходных видов. На территории нашей страны по ряду физиологических и биохимических параметров были выделены две криптические формы озерной лягушки – «западная» и «восточная» (Боркин и др., 2004; Литвинчук и др., 2008).

Сравнение первичных последовательностей фрагментов ядерного (*SAI*) и митохондриального (*COI*) генов озерных лягушек обитающих на территории Поволжья с экземплярами из баз данных NCBI ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)) (Plötner et al., 2009, 2012) и BOLD ([www.boldsystems.org](http://www.boldsystems.org)) позволяет нам считать, что «западная» форма является конспецифичной центрально-европейской *P. ridibundus*, а «восточная» – азиатской *P. cf. bedriagae* (Ермаков О.А., неопубликованные данные).

Молекулярно-генетический анализ выборок *P. ridibundus* проведенный нами в Среднем Поволжье позволил выявить в регионе зону совместного обитания лягушек, генетические маркеры которых принадлежали как «западной» и «восточной» формам, так и особям гибридного происхождения (Ермаков и др., 2013, 2014; Закс и др., 2013).

Настоящее сообщение посвящено изучению распределения аллелей двух генетически дифференцированных криптических форм озерной лягушки на территории Верхнего Поочья. К исследованному региону относится западная часть бассейна р. Оки от впадения в нее р. Черепеть в Тульской области до впадения в нее р. Нары Московской области, в административном отношении большая часть этой территории приурочена к Калужской области.

## Материал и методы

Всего проанализировано 34 экз. зеленых лягушек из восьми географических пунктов Калужской области и одного Тульской. Ниже приведены названия и адрес локалитетов, координаты и количество исследованных экземпляров (номера локалитетов соответствуют таковым точкам на карте (рис.)):

1. Калужская обл., г. Калуга, р. Яченка (54°30'39,12" с.ш., 36°12'54,65" в.д.), *P. ridibundus*, *n* – 6 экз.

2. Калужская обл., г. Калуга, пруд в пойме р. Ока (54°30'04,50" с.ш., 36°19'52,24" в.д.), *n* – 6 экз.

3. Тульская область, Суворовский р-н., д. Варушицы (54°11'51,34" с.ш., 36°18'04,68" в.д.), *n* – 4 экз.

4. Калужская область, Дзержинский р-н, п. Товарково (54°40'37,17" с.ш., 35°55'39,15" в.д.), *n* – 4 экз.

5. Калужская область, Ферзиковский р-н, д. Бебелево (54°31'47,05" с.ш., 36°29'35,23" в.д.), *n* – 1 экз.

6. Калужская область, Ферзиковский р-н, д. Ладыгино (54°25'18,07" с.ш., 36°40'50,33" в.д.), *n* – 3 экз.

7. Калужская область, Сухиничский р-н, г. Сухиничи (54°07'25,33" с.ш., 35°20'39,05" в.д.), *n* – 3 экз.

8. Калужская область, Юхновский р-н, д. Натальинка, пруд (54°45'02,71" с.ш., 35°19'36,48" в.д.), *n* – 4 экз.

9. Калужская область, Юхновский р-н, д. Натальинка, р. Угра (54°45'43,64" с.ш., 35°18'45,11" в.д.), *n* – 3 экз.

Молекулярно-генетический анализ выполнен в лаборатории молекулярной экологии и систематики животных при кафедре зоологии и экологии Пензенского государственного университета. В качестве образцов тканей для выделения ДНК использовалась часть пальца передней конечности амфибий, взятая прижизненно. Использовались два молекулярно-генетических маркера: для митохондриальной ДНК (мтДНК), наследуемой по материнской линии – фрагмент первой субъединицы гена цитохром оксидазы *COI*, для ядерной ДНК (ядНК), имеющей «менделевский» тип наследования – интрон 1 гена сывороточного альбумина *SAl* (Plötner et al., 2009).

Генетическое типирование, позволяющее определять принадлежность гаплотипов мт- и яДНК к «восточной» или «западной» форме проводилось по методике опубликованной нами ранее (Закс и др., 2013). При расчете частот встречаемости гаплотипов учитывалось, что мтДНК является гаплоидной и формально может рассматриваться как один аллель, поэтому процентное соотношение аллелей и исследованных экземпляров равно. яДНК диплоидна, содержит два аллеля одного гена, соответственно доли аллелей и экземпляров той или иной формы различны в зависимости от соотношения гомо- и гетерозиготных особей.

### Результаты и обсуждение

Результаты молекулярно-генетического анализа изученных экземпляров озерных лягушек приведены в таблице (табл. 1) и на карте (рис.).

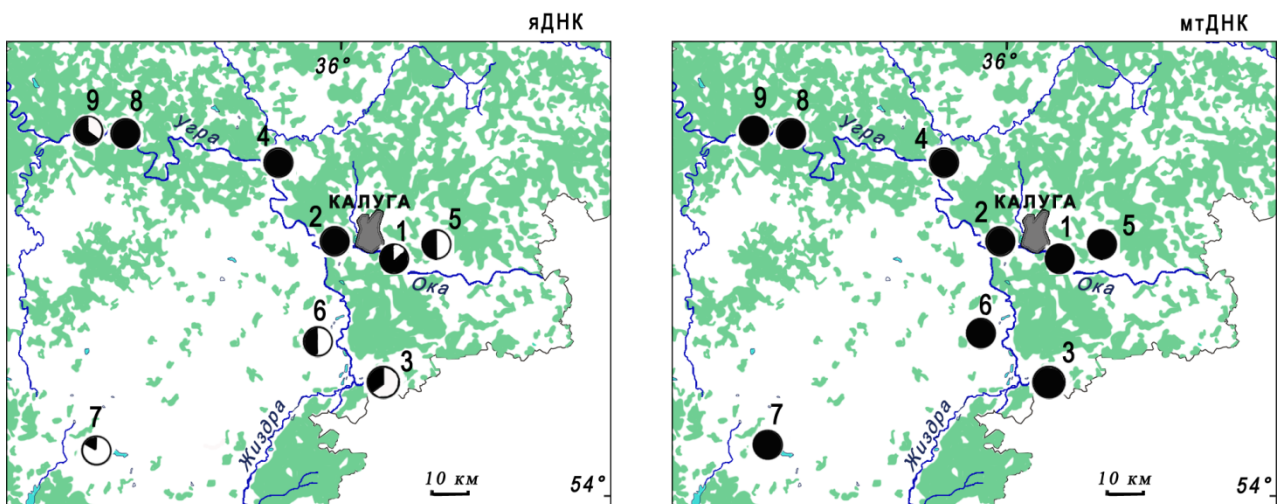
В первую очередь необходимо отметить отсутствие на исследованной территории специфичного для «восточной» формы типа мтДНК, т.е. у всех изученных экземпляров обнаружен только «западный» тип мтДНК. Преобладание аллелей «западной» формы обнаружено и при анализе маркера яДНК – 59% озерных лягушек являлись гомозиготами и диагностировались как «чистая» «западная» форма, 29% были гетерозиготами и лишь 12% были гомозиготами «восточной» формы. Аллели «западного» типа яДНК преобладали в пяти точках – 1, 2, 4, 8, 9, причём в трех из них – 2, 4, 8 аллели «восточного» типа не найдены. В двух точках – 5 и 6 наблюдается

равное соотношение аллелей как «западного», так и «восточного» типа, а к югу – точки 3 и 7, отмечается большее количество аллелей «восточного» типа.

**Таблица 1.** Распределение типов мт- и яДНК у особей озерной лягушки ( $n=34$ )

Локалитет	n	COI мтДНК		
		R		
		SAI-1 яДНК		
		RR	RB	BB
1. г. Калуга, р.Яченка	6	6	–	–
2. г. Калуга, р. Ока	6	4	2	–
3. д. Варушицы	4	1	1	2
4. п. Товарково	4	4	–	–
5. д. Бебелево	1	–	1	–
6. д. Ладыгино	3	–	3	–
7. г. Сухиничи	3	–	1	2
8. д. Натальинка, пруд	4	4	–	–
9. д. Натальинка, р. Угра	3	1	2	–
Итого	34 (100%)	20 (59%)	10 (29%)	4 (12%)

*Примечание к таблице 1:* **R** – аллели яДНК и гаплотипы мтДНК «западной» формы озерной лягушки, **B** – аллели яДНК и гаплотипы мтДНК «восточной» формы.



**Рис.** Распространение аллелей яДНК и гаплотипов мтДНК «западной» (отмечена черным цветом) и «восточной» (отмечена белым) форм озерной лягушки на территории Верхнего Поочья.

Сравнение частот гаплотипов мтДНК озерных лягушек из Верхнего Поочья с данными, полученными ранее в Поволжье (табл. 2), выявило статистически поддержанные различия по этому маркеру ( $\chi^2=105.34$ ,  $p<0.001$ ) между исследованными регионами. Однако при сравнении частот аллелей яДНК достоверных различий между исследованными территориями не

обнаружено ( $\chi^2=4.50$ ,  $p=0.051$ ) и в обоих случаях превалирует «западный» вариант ядерного генома.

**Таблица 2.** Соотношение «западных» (R) и «восточных» (B) гаплотипов мтДНК и аллелей яДНК у озерных лягушек в изученных регионах

Регион	n	R	B	Публикация
<b>мтДНК</b>				
Верхнее Поочье	34	100%	0%	Данная работа
Поволжье (Пензенская, Самарская и Саратовская области)	214	31%	69%	Ермаков и др., 2013, 2014
<b>яДНК</b>				
Верхнее Поочье	68	74%	26%	Данная работа
Поволжье (Пензенская, Самарская и Саратовская области)	342	86%	14%	Ермаков и др., 2013, 2014

Полученные результаты выявили несоответствие частот распределения маркеров мт- и яДНК у озерных лягушек из Верхнего Поочья, а именно отсутствие «восточных» гаплотипов мтДНК при наличии «восточных» аллелей в ядерном геноме. Подобная ситуация может объясняться двумя причинами. Первая: в расселении «восточной» формы участвуют преимущественно самцы и при скрещивании с «западными» самками следы гибридизации можно обнаружить только в ядерном геноме, а мтДНК в силу наследования по материнской линии, остается «западной». Вторая: наличие у озерных лягушек двух вариантов ядерных маркеров «западного» и «восточного» является проявлением анцестрального полиморфизма.

### **Литература**

- Боркин Л.Я., Литвинчук С.Н., Розанов Ю.М., Скоринов Д.В.** // О криптических видах (на примере амфибий) // Зоологический журнал. 2004. Т. 83. Вып. 8. С. 936–960.
- Ермаков О.А., Закс М.М., Титов 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 ТГУ. 2013. Т.18, вып.6. С. 2999–3002.
- Ермаков О.А., Файзулин А.И., Закс М.М., Кайбелева Э.И., Зарипова Ф.Ф.** Распространение «западной» и «восточной» форм озерной лягушки *Pelophylax ridibundus* s.l. на территории Самарской и Саратовской областей (по данным анализа митохондриальной и ядерной ДНК) // Известия Самарского центра РАН. 2014. Т. 16. №5(1). С. 409–412.
- Закс М.М., Быстракова Н.В., Ермаков О.А., Титов С.В.** Молекулярно-генетическая и морфологическая характеристика озерных лягушек (*Pelophylax ridibundus*) из Пензенской области // Современная герпетология: проблемы и пути их решения. Статьи по материалам докладов Первой международной молодежной конференции герпетологов России и сопредельных стран. СПб., 2013. С. 86–89.
- Литвинчук С.Н., Розанов Ю.М., Боркин Л.Я., Скоринов Д.В.** Молекулярно-биохимические и цитогенетические аспекты микроэволюции у бесхвостых амфибий фауны России и сопредельных стран // Вопросы герпетологии. Материалы Третьего съезда Герпетологического общества им. А. М. Никольского. СПб: 2008. С. 247–257.

- 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. V. 53. P. 784–791.
- Plötner J., Baier F., Akin C., Mazepa G., Schreiber R., Beerli P., Litvinchuk S.N., Bilgin C.C., Borkin L., Uzzell T. Genetic data reveal that water frogs of Cyprus (genus *Pelophylax*) are an endemic species of Messinian origin // Zoosystematics and Evolution. 2012. Vol. 88. Issue 2. P. 261–283.

### **Summary**

#### ***A.Yu. Ivanov, V.A. Korzikov, S.K. Alekseev, O.A. Ermakov* Molecular and genetic characteristic of Marsh frogs of *Pelophylax ridibundus* s.l. from top Poochye**

The received results brought discrepancy of frequencies of distribution of markers the mitochondrial and nuclear DNA at Marsh frogs from the top Poochye, namely lack of "east" haplotypes of mt-DNA in the presence "east" alleles in a nuclear genome. The similar situation can speak two reasons. The first: males participate in moving of "east" form mainly and when crossing with the "western" female's traces of hybridization can be found only in a nuclear genome, and mt-DNA owing to inheritance on the maternal line, remains "western". The second: existence at Marsh frogs of two options of nuclear markers "western" and "east" is manifestation of ancestral polymorphism.

---

## **РАСПРОСТРАНЕНИЕ И ПРОБЛЕМЫ ОХРАНЫ КАМЫШОВОЙ ЖАБЫ (*Epidalea calamita*) В БЕЛАРУСИ**

***С.М. Дробенков***

ГНПО «НПЦ Национальной академии наук Беларуси по биоресурсам»  
[bel\\_gerpetology@rambler.ru](mailto:bel_gerpetology@rambler.ru)

Камышовая жаба (*Epidalea calamita* Laurenti, 1768) – преимущественно западноевропейский вид, численность популяций которого к северу и востоку прогрессивно снижаются (Beebee, 1979). На большей части ареала отмечается спорадичность распространения и низкая численность этого вида, которые связываются с разными причинами: характером водоемов размножения и низким успехом метаморфоза (Tejedo, Reques, 1994; Beebee et al., 1996), воздействием конкуренции и прямого хищничества со стороны других видов земноводных в водной фазе жизненного цикла (Banks, Beebee, 1987), влиянием антропогенных факторов (Denton, Beebee, 1993; Beebee et al., 1996).

В восточной части ареала – в Литве, Латвии, Эстонии, Беларуси, Украине и России, камышовая жаба – редкий, малочисленный вид