



Российские исследования Гималаев и Тибета - 2024



ПРИРОДА И КУЛЬТУРА



Распространение, цитогенетика и экология триплоидных зелёных жаб рода *Bufotes* в восточном высокогорье Химачал-Прадеша (Западные Гималаи, Индия)

Л.Я. Боркин¹, С.Н. Литвинчук², Д.А. Мельников¹ и Д.В. Скоринов²

¹ Зоологический институт Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия; Leo.Borkin@zin.ru; melnikovda@yandex.ru

² Институт цитологии Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия; litvinchukspartak@yandex.ru; skorinovd@yandex.ru

Distribution, cytogenetics, and ecology of triploid green toads of the genus *Bufotes* in the eastern highlands of Himachal Pradesh (the Western Himalaya, India)

L.J. Borkin¹, S.N. Litvinchuk², D.A. Melnikov¹, and D.V. Skorinov²

¹ Zoological Institute, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia; Leo.Borkin@zin.ru; melnikovda@yandex.ru

² Institute of Cytology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia; litvinchukspartak@yandex.ru; skorinovd@yandex.ru

Зелёные жабы (семейство Bufonidae) являются одной из характерных групп животных Палеарктики и могут считаться одним из индикаторов её южной границы. Долгое время их относили к роду *Bufo*. Собственно зелёная жаба (*Bufo viridis*) рассматривалась как вид с огромным ареалом от Атлантики до Индии. Применение цитогенетических и молекулярных методов позволило в начале XXI века выделить зелёных жаб в самостоятельный род *Bufotes*, который ныне насчитывает не менее 12 (Dufresnes et al., 2019) или даже 18 видов (Литвинчук и др., 2019). Удивительной чертой этого

рода стало наличие диплоидных ($2n = 22$), триплоидных ($3n = 33$) и тетраплоидных ($4n = 44$) особей, популяций и видов разного происхождения (авто- и аллополиплоиды). Полиплоидные виды обитают преимущественно в горных условиях Азии от Ирана до Индии. В горах Кавказа, Турции и Европы живут только диплоидные виды.

Летом 1996, 1997 и 2000 годов немецкий герпетолог Маттиас Штёк обнаружил в высокогорных долинах хребта Каракорум и прилегающих Западных Гималаев (Пакистан) популяции, состоящие только из триплоидных самцов и самок. Они были описаны как новый подвид *Bufo pseudoraddei baturae* (Stöck et al., 1999, 2001); латинское название связано с Батурским ледником (Batura Glacier) в районе Хунза (Hunza Valley), где и были пойманы жабы. Впоследствии этот таксон был поднят до ранга самостоятельного вида; ныне батурская жаба, *Bufotes baturae*. Нам удалось найти этот вид на Памире (Litvinchuk et al., 2011; Литвинчук и др., 2012).

Триплоидия батурской жабы у обоих полов была убедительно доказана подсчётом хромосом и определением количества содержащейся в ядре ДНК (размер генома, ng) методом проточной ДНК-цитометрии. Таким образом, впервые в истории зоологии был обнаружен уникальный вид позвоночных животных с *облигатной двуполной триплоидией*, что ранее в руководствах по генетике и цитологии животных считалось теоретически невозможным. Перманентная тотальная триплоидия допускалась только в случае однополого размножения, например, партеногенеза у рептилий.

Лабораторные скрещивания, а также молекулярные и цитогенетические исследования показали, что батурская жаба имеет гибридное происхождение и использует особый механизм размножения, получивший название *мейотического гибридогенеза*. В результате оогенеза яйцеклетка получает диплоидный хромосомный набор; в его 6-й паре один гомолог имеет ядрышковый организатор, а второй — нет. В процессе сперматогенеза образуется гаплоидная гамета с ядрышковым организатором на 6-й хромосоме; при этом второй хромосомный набор (без организатора) элиминируется и не попадает в сперматозоид. После слияния диплоидных ооцитов и гаплоидных сперматозоидов получаются триплоидные особи. Таким образом, у батурской жабы сочетаются процессы обычного (менделевского) и клонального наследования с избирательной элиминацией одного из геномов (Stöck & Lamatsch, 2002; Stöck et al., 2002, 2012).

В Индии зелёные жабы давно известны из двух регионов в Западных Гималаях. Особи в Кашмирской долине и западном

Ладакхе относятся к диплоидному виду *B. latastii*. Кроме того, зелёные жабы (“*Bufo viridis*”) были найдены на востоке нынешнего штата Химачал-Прадеш в верховьях реки Сатледж и её притока Спити на высотах 6000–15 000 футов (см. Stoliczka, 1870: 155–156), т.е. 1828–4572 м над уровнем моря.

Осенью 2011, летом 2015 и осенью 2022 годов мы посетили эти места в рамках западно-гималайских комплексных экспедиций Санкт-Петербургского союза учёных. Анализ размера генома и кариотипов показал, что все обследованные жабы (81 особь) оказались триплоидами (оба пола). Таким образом, был обнаружен ещё один район обитания зелёных жаб с облигатной бисексуальной триплоидией, удалённый более чем на 550 км на юго-восток от триплоидов Пакистана (Литвинчук и др., 2012). В промежутке между ними на высотах 780–3300 м распространена диплоидная жаба Латаста. Все эти формы аллопатричны, т.е. их ареалы не соприкасаются (Litvinchuk et al., 2018).

Распространение. В 2011 и 2015 годах триплоидные жабы были найдены нами в 8 пунктах. Вдоль реки Спити (снизу вверх по течению) это — посёлок Нако (Nako, 3590–3660 м) в верхней части округа Киннаур (Kinnaur District), западные и восточные окрестности Табо (Tabo, 3282 и 3327 м), близ деревушки По (Poh, 3392 м), озера Данкар (Dhankar, 4169 м), селений Сичлинг (Sichling, 3349 м), Шего (Shego, 3542 м) и Каза (Kaza, 3656 м) в долине Спити (Spiti Valley), округ Лахул и Спити (Lahaul & Spiti District), недалеко от границы с китайским Тибетом. Особняком расположена находка жаб в 2015 году в посёлке Кальпа (Kalpa, 2827 м) в 54 км на юго-запад по прямой от Нако, лежащая заметно ниже от остальных на реке Сатледж (средний Киннаур). Таким образом, по нашим данным, триплоиды достоверно обитают на востоке Химачал-Прадеша на высотах 2827–4169 м.

Кариотип. Из клеток кишечного эпителия были получены препараты, которые показали, что жабы (Нако, Табо, По, Сичлинг, Каза, Кальпа) имели по 33 хромосомы (метацентрики и субметацентрики; 11 триплетов), т.е. были триплоидами. Шесть триплетов состояли из крупных хромосом, а пять — из мелких. Ядрышковый организатор расположен в терминальном положении на длинном плече хромосом 6-го триплета, где выражен только у двух гомологов из трёх; на третьем гомологе триплета он отсутствует (Литвинчук и др., 2012). Очень похожий кариотип был описан у триплоидной *B. baturae* из Пакистана (Stöck et al., 2002). Анализ мейотических кариотипов в семенниках жаб из Спити показал, что все они характеризуются одинаковым гаплоидным числом

бивалентов ($n = 11$). По количеству ядерной ДНК их спермии оказались гаплоидными. Подсчёт числа бивалентов в хромосомах типа ламповых щёток у незрелых ооцитов выявил их диплоидное количество ($n = 22$). Таким образом, как и у *B. baturaе*, изученные нами триплоиды имели гаплоидную сперму и диплоидные ооциты (Литвинчук и др., 2012).

Размер генома. По содержанию ядерной ДНК триплоиды из Спити и Кальпы заметно отличались от памирских *B. baturaе*. Среднее значение размера генома у первых (8 выборок, $n = 81$) составило 15.07 ± 0.1 пг при размахе 14.75–15.30 пг ($CV = 0.54\%$), тогда как у памирских (11 выборок, $n = 123$) эти значения были выше: 15.95 ± 0.17 пг (15.12–16.33) при $CV = 1.09\%$ (Литвинчук и др., 2012; наши данные).

Аллозимы. Жабы из района реки Спити и памирские выборки *B. baturaе* различаются также по локусам *Est-1*, *Gpi-1*, *Ldh-1* (Литвинчук и др., 2012).

Места обитания. Местность в долине Спити и в Нако, согласно принятой в Индии классификации, относится к экорегиону «холодные горные пустыни», где нет естественной древесной растительности и влияния тропических муссонов. Тем не менее вдоль реки Спити нередко густые высокие заросли облепихи и миркарии, а в Табо развиты яблоневые сады. Кальпа расположена в другом экорегионе («Западно-Гималайский субальпийский хвойный лес»). Она окружена хорошим кедровым лесом (*Cedrus deodara*); в садах чуть ниже выращиваются знаменитые киннаурские яблоки.

Жабы встречались как возле сельскохозяйственных территорий и посёлков, так и в полностью природных ландшафтах, преимущественно в оазисах возле водоёмов, в том числе временных, в стенках водных протоков в паре метров от текущей воды, с кустарником (По) или хорошим травяным покровом по берегам (Нако, нижний водоём), во влажной от тумана траве (окраина Кальпы).

Суточная и сезонная активность. Взрослые жабы попадались и в светлое время суток, но преимущественно в ходе ночных обследований территорий (20:30–22:30 местного времени). Сеголетки обычно прячутся в траве, а также под камнями или среди них по берегам водоёмов (По, 6–7 октября 2011). 8 июня 2015 года в небольшом нижнем водоёме (Нако, рН = 7.6) нами зарегистрированы жабы разного возраста, от молодых до взрослых, а также головастики. Взрослые, конечно, выходят из зимовки гораздо раньше. В тот же день ещё большие скопления головастиков, активно плавающих на мелководье близ берега, были видны и в более

крупном верхнем озере Нако (рН = 9.8), где, вероятно, размножается гораздо большее число жаб. В 2015 году головастики были отмечены также в водоёмах Табо (8 июня, рН = 8.1), По (8–9 июня, рН = 8.9) и Шего (9 июня, рН = 8.0).

На зимовку в Спити жабы, по-видимому, уходят осенью перед первыми заморозками. В 2011 году мы находили взрослых и сеголеток 5–7 октября (Нако, По, Сичлинг). Однако 16 октября 2022 года в Нако лужи были покрыты корочкой льда, и жаб уже не было. По словам местных жителей, они исчезли несколько дней тому назад. 14 октября 2022 мы также не нашли жаб в По, несмотря на тщательные поиски.

Враги. 8 июня 2015 года по краям небольшого нижнего водоёма Нако мы насчитали не менее 12 взрослых жаб, расклёванных с брюшной стороны, где в отличие от спинной, нет кожных ядовитых желёз. По словам участника экспедиции орнитолога А.В. Андреева, это могли сделать альпийские галки (*Pyrhocorax graculus*) или клушицы (*Pyrhocorax pyrrhocorax himalayanus*), которых он наблюдал неподалёку. Несколько раздавленных автотранспортом взрослых жаб было найдено нами на дороге на окраине Нако.

Происхождение жаб Спити. Помимо *B. baturae*, в горном Пакистане и Афганистане ныне известно ещё два вида с двуполой триплоидией: *B. pseudoraddei* и *B. zugmayeri*. Все они, а также жабы Химачал-Прадеша имеют гибридное происхождение, по-видимому, от следующих скрещиваний диплоидных видов (Dufresnes et al., 2019: 18, Table 1):

$B. baturae = \text{♂ } B. latastii \times \text{♀ } B. turanensis^5$

$B. pseudoraddei (+ B. \text{“}zabdaensis\text{”}, \text{ Спити}) = \text{♂ } B. latastii \times \text{♀ } B. perrini^6$

$B. zugmayeri = \text{♂ } B. latastii? \times \text{♀ } B. perrini$

Их геномный состав может быть выражен формулой LLT или LLP, соответственно. В ходе гаметогенеза геномы *latastii* рекомбинируют между собой, тогда как геном *perrini* (или *turanensis* у *B. baturae*) наследуется клонально. Митохондриальный геном, передающийся по материнской линии, близок к таковому у

⁵ В предыдущих статьях мы (Litvinchuk et al., 2011; Боркин и др., 2012; Литвинчук и др., 2012: 162, 2019: 81) указывали вид *B. shaartusienis*, который потом был синонимизирован с *B. turanensis* (Dufresnes et al., 2019: 20). Таким образом, *B. shaartusienis* = *B. turanensis*, а часть бывшей *B. turanensis* = *B. perrini*.

⁶ Таксономический комитет Европейского герпетологического общества (Spreyboeck et al., 2020: 148) рекомендовал считать *B. perrini* подвидом зелёной жабы, *B. viridis perrini*.

B. turanensis, что, возможно, связано с захватом его при гибридизации с *B. baturae* (Литвинчук и др., 2012, 2019; Dufresnes et al., 2019).

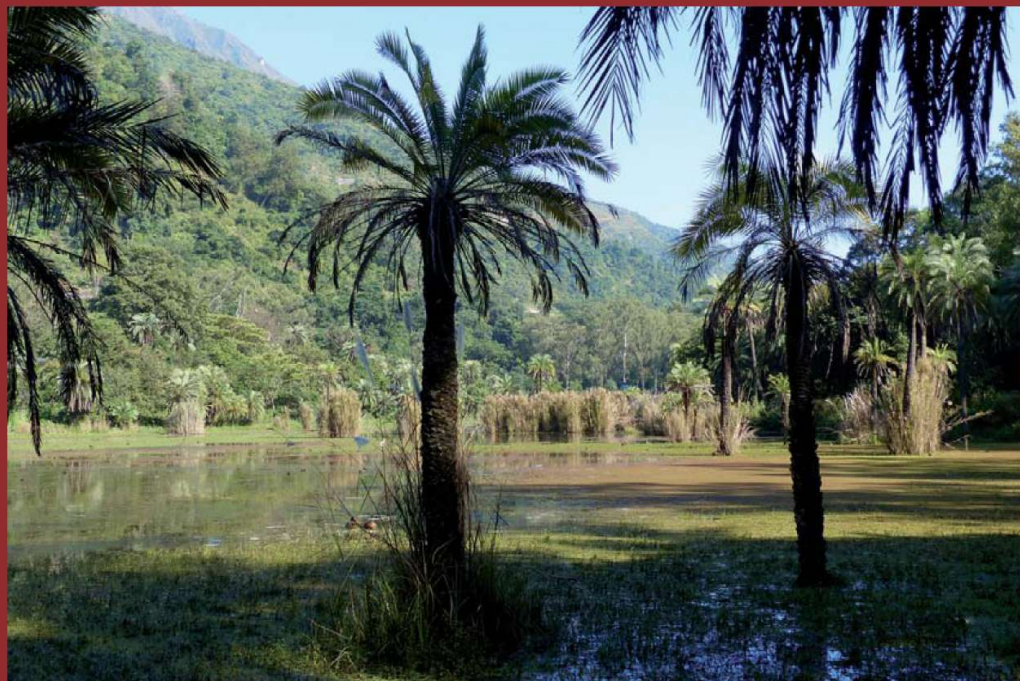
Согласно молекулярным часам, общий предок триплоидных видов *B. pseudoraddei* и *B. zugmayeri* мог появиться около 2.0 млн лет назад. Возраст триплоидного вида *B. baturae* датируется около 1.3 млн лет. Около 1.0 млн лет назад обособились *B. pseudoraddei* и *B. zugmayeri*. Время возникновения триплоидной химачальской формы пока не установлено, но её митохондриальный геном практически не отличается от такового у диплоидной *B. turanensis* и триплоидной *B. baturae* (Литвинчук и др., 2012, 2019). Таким образом, гималайские триплоиды несут митохондриальную ДНК *B. turanensis*, несмотря на то, что их ядерный геном (данные ddRAD секвенирования) состоит из хромосом, полученных от диплоидных родительских видов *B. latastii* (♂) и *B. perrini* (♀). Возможно, это связано с тем, что они позаимствовали «чужой» митохондриальный геном при гибридизации с *B. baturae* (Dufresnes et al., 2019).

Таксономический статус жаб Химачал-Прадеша. Первоначально мы (Боркин и др., 2012; Литвинчук и др., 2011, 2012, 2017, 2019) условно идентифицировали триплоидов из бассейна Спити (от Нако до Казы) с *Bufo zamdaensis* Fei, Ye, Huang et Chen, 1999. Этот вид был описан по 5 самцам и 3 неполовозрелым особям, пойманным выше по течению Сатледжа на смежной территории китайских Гималаев (округ Замда, Zamda District, Ngari Province, Xizang). Мы полагали, что между этими географически соседними популяциями могла быть связь вдоль Сатледжа. Однако затем "*B. zamdaensis*" из Спити были отнесены к *B. pseudoraddei* (см. Dufresnes et al., 2019: 20). Пloidность собственно *B. zamdaensis* из Китая в то время не была известна. Недавно выяснилось, что этот вид является тетраплоидным, а его митохондриальный геном близок к диплоидной *B. turanensis* и триплоидным *B. pseudoraddei* и *B. baturae* (Li et al., 2019; Xu et al., 2021; Chen et al., 2023).

Из-за слабой дивергенции по митохондриальной и ядерной ДНК между *B. pseudoraddei* и жабами из Спити последние были отнесены именно к этому виду, так как предполагалось, что пространственная связь популяций из Индии и Пакистана была прервана лишь в позднечетвертичное время после максимального похолодания, LGM (Dufresnes et al., 2019: 20), т.е. примерно 26.5–19.0 тысяч лет назад. Однако, учитывая большую географическую дистанцию между жабами Пакистана и Химачал-Прадеша, нельзя исключать, что последние могут быть выделены в качестве отдельного подвида.

Благодарности. Мы благодарны Санкт-Петербургскому союзу учёных за организацию экспедиций. Исследование выполнено в рамках темы ЗИН РАН № 122031100282–2 (Л.Я. Боркин, Д.А.Мельников).





978 5 8015 0437 7



Европейский Дом