

ЗООЛОГИЯ

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

**Р.И. Замалетдинов¹, А.В. Павлов², М.М. Закс³,
А.Ю. Иванов³, О.А. Ермаков³**

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Республика Татарстан, Россия

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

³Пензенский 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):

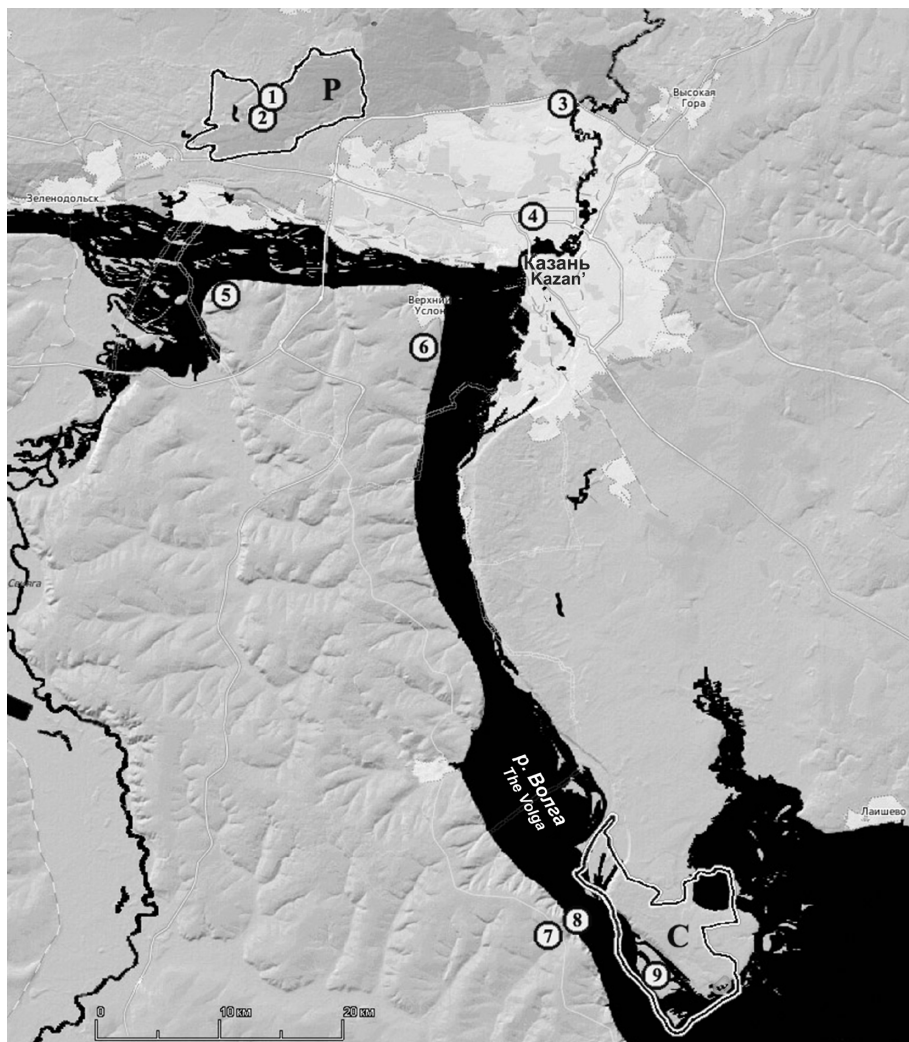


Рис. 1. Фрагмент карты Приказанья с точками сбора материала. Обозначения точек соответствуют нумерации, приведенной в тексте: P – Раифский участок, С – Саралинский участок Волжско-Камского заповедника [Fig. 1. Part of Prikazanie map with the points of material collection. Indications of the points correspond 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 [Shatunikhа]	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.

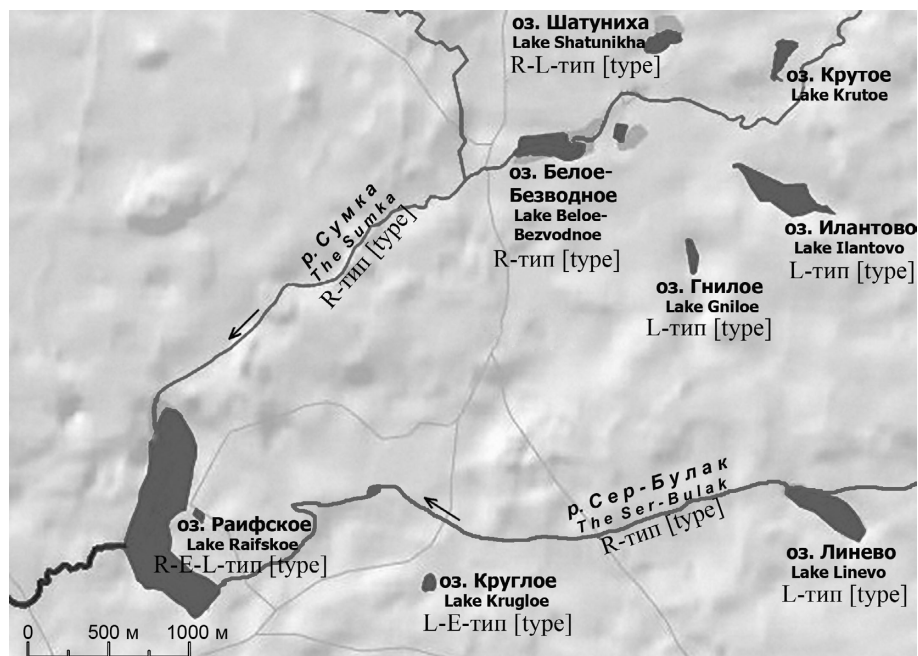


Рис. 2. Распределение популяционных систем зеленых лягушек в Раифском участке ВКГПБЗ

[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 (≈ 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

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

Иванов Александр Юрьевич – аспирант кафедры зоологии и экологии Пензенского государственного университета (г. Пенза, Россия). E-mail: 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

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. Zamaletdinov¹, Alexey V. Pavlov², Mikhail M. Zaks³, Alexandr Y. Ivanov³, Oleg A. Ermakov³

¹ Kazan (Volga Region) Federal University, Tatarstan Republic, Russian Federation

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

³ 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* [3rd 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 reptily basseyne 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

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

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

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

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