



19. Шляхтин Г. В., Завьялов Е. В. Морфологические и феногенетические индикаторы в мониторинге состояния окружающей среды нефтегазовых месторождений // Проблемы экологической безопасности Нижнего Поволжья в связи с разработкой и эксплуатацией нефтегазовых месторождений с высоким содержанием сероводорода : тез. докл. науч.-техн. конф. Саратов, 27–29 авг. 1996 г. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 1996. С. 128–129.
20. Тетельмин В. В., Когдин В. Н., Лескова Г. И., Шляхтин Г. В. Проблемы обеспечения экологической безопасности экспериментальных природоохранных территорий на примере экополигона «Балаково» // Проблемы экологической безопасности Нижнего Поволжья в связи с разработкой и эксплуатацией нефтегазовых месторождений с высоким содержанием сероводорода. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 1998. С. 38–45.
21. Шляхтин Г. В., Завьялов Е. В., Аникин В. В., Золотухин В. В., Спиринов В. П., Киреев Е. А., Табачишин В. Г., Тимофеева Е. Г., Якушев Н. Н., Забалуев С. А., Капранова Т. А., Лобачев Ю. Ю., Синичкина О. В. Комплексная оценка биологического разнообразия территории Астраханского газоконденсатного месторождения // Проблемы экологической безопасности Нижнего Поволжья в связи с разработкой и эксплуатацией нефтегазовых месторождений с высоким содержанием сероводорода. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 1998. С. 136–137.
22. Шляхтин Г. В., Завьялов Е. В. Принципы и методы биологического мониторинга зон повышенного экологического риска // Электромагнитная безопасность. Проблемы и пути решения : материалы науч.-практ. конф. Саратов, 28–30 авг. 2000 г. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2000. С. 35–36.
23. Шляхтин Г. В., Аникин В. В., Завьялов Е. В., Костецкий О. В., Зотова Е. А. Влияния электромагнитных полей на структуру и динамику биологических систем надорганизменного уровня // Электромагнитная безопасность. Проблемы, пути, решения : материалы науч.-практ. конф. Саратов, 28–30 авг. 2000 г. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2000. С. 34–35.
24. Биотест : Интегральная оценка здоровья экосистем и отдельных видов / под ред. В. М. Захарова, Д. М. Кларк. М. : Центр экол. политики России, 1993. 68 с.
25. Последствия чернобыльской катастрофы : здоровье среды / под ред. В. М. Захарова, Д. М. Кларк. М. : Центр экол. политики России, 1996. 170 с.
26. Захаров В. М., Баранов А. С., Борисов В. И., Валецкий А. В., Чубанишвили А. Т., Крысанов Е. Ю., Кражева А. Г., Пронин А. В., Чистякова Е. К. Здоровье среды : методика оценки. М. : Центр экол. политики России, 2000. 68 с.
27. Шляхтин Г. В., Батлуцкая И. В. Изучение фенетической структуры природных популяций клопа-солдатика при оценке экологического состояния среды обитания этого вида полужесткокрылых // Экология в теории и практике : в 2 т. Белгород : Изд-во БелГУ, 1992. Т. 1. С. 44–45.
28. Шляхтин Г. В., Батлуцкая И. В. Природа изменчивости меланизированных элементов переднеспинки полужесткокрылых // Сборник трудов молодых ученых / под ред. Е. В. Тонкова. Белгород : Изд-во БелГУ, 1997. С. 173–181.

УДК [598.115.33:575.22] (470.4)

## МОРФОГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПОПУЛЯЦИЙ ВОСТОЧНОЙ СТЕПНОЙ ГАДЮКИ *VIPERA RENARDI* НИЖНЕГО ПОВОЛЖЬЯ И СОПРЕДЕЛЬНЫХ ТЕРРИТОРИЙ

О. А. Помазенко, В. Г. Табачишин<sup>1</sup>

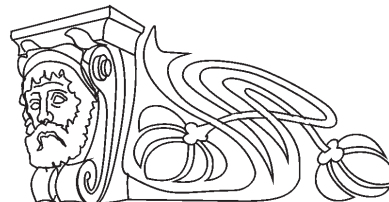
Саратовский государственный университет

E-mail: pomazenko-olesya@mail.ru

<sup>1</sup>Саратовский филиал Института проблем экологии

и эволюции им. А. Н. Северцова РАН

E-mail: tabachishinvg@sevin.ru



Рассматриваются морфологические и генетические различия популяций *Vipera (Peliás) renardi* Саратовской области и других регионов. Анализ морфологических признаков показал однородность исследуемых выборок. По характеру расположения основных щитков между лобным и надглазничными выявлено 39 вариантов. Наибольшее разнообразие комбинаций характерно для гадюк из Калмыкии. По участку гена цитох-

рома с выявлено 8 гаплотипов, по участку гена 12S рРНК – 4 гаплотипа. Наибольшее число замен выявлено у образцов из Предкавказья, Горного Крыма и севера распространения в Поволжье.

**Ключевые слова:** *Vipera (Peliás) renardi*, морфологические различия, генетическая структура, Саратовская область.



**Morphological and Genetic Characteristics of the Eastern Steppe Viper *Vipera (Pelias) Renardi* Populations in the Lower Volga Region and Adjacent Territories**

**O. A. Pomazenko, V. G. Tabachishin**

Morphological and genetic diversity of several populations of *Vipera (Pelias) renardi* in the Saratov region and other regions is considered. Our analysis of morphological characters has shown homogeneity of the tested samples of *V. (P.) renardi*. 39 variants were identified by the location nature of the main flaps between the frontal and supraorbital ones. The greatest variety of combinations is typical for *V. (P.) renardi* of Kalmykia. 8 and 4 haplotypes were revealed by the cytochrome c gene region and the 12S rRNA gene region, respectively. The greatest number of changes was detected in *V. (P.) renardi* of Ciscaucasia, the Crimean Mountains, and the north of its habitat along the Volga River.

**Key words:** *Vipera (Pelias) renardi*, morphological diversity, genetic structure, Saratov region.

Степная гадюка (*Vipera (Pelias) renardi* (Christoph, 1861)) – один из наиболее распространенных представителей семейства Viperidae юга европейской части России [1–4]. В настоящее время сведения о состоянии популяций вида в северной части Нижнего Поволжья недостаточно обширны: неизвестен таксономический статус змей из окраинных популяций, не выявлены границы распространения номинативного подвида [5, 6]. Для разрешения поставленных вопросов целесообразно использование комплексного подхода, включающего морфологические и молекулярные методы.

Цель настоящего исследования заключалась в выявлении различий между популяциями восточной степной гадюки на основе исследования морфологических признаков, а также анализа молекул ДНК.

Анализ морфологических признаков *V. (P.) renardi* основан на данных полевых исследований, проведенных в 2009–2013 гг., и коллекционных материалах Института экологии Волжского бассейна РАН, Зоологических музеев Зоологического института РАН, Саратовского университета им. Н. Г. Чернышевского (рис. 1). При изучении изменчивости признаков чешуйчатого покрова анализировались традиционные в морфологии (Viperidae) экстерьерные показатели: количество брюшных щитков (Ventr.), количество пар подхвостовых щитков от первой соприкасающейся пары до кончика хвоста (S.cd.), количество чешуй вокруг глаза (S.orgb.), количество верхнегубных (Lab.) щитков (слева и справа), количество нижнегубных (Sublab.), а также характер расположения и число основных щитков между лобным и надглазничным щитками. Всего в ходе исследований проанализировано 120 экземпляров гадюк.



Рис. 1. Географическая характеристика экземпляров восточной степной гадюки, использованных в морфологическом анализе: I. 1. – Самарская обл., окр. с. Красная Самарка; 2 – Ульяновская обл., окр. с. Вязовка; 3 – Саратовская обл., Хвалынский р-н, окр. с. Яблонка; 4 – Саратовская обл., Новобурасский р-н, окр. с. Аряш; 5 – Саратовская обл., Татищевский р-н, окр. пгт. Татищево; 6 – Саратовская обл., Красноармейский р-н, окр. с. Садовое; II. 7 – Саратовская обл., Перелюбский р-н, окр. с. Алексеевка; 8 – Саратовская обл., Дергачевский р-н, окр. с. Сафаровка; 9 – Саратовская обл., Александрово-Гайский р-н, окр. хут. Ветелки; 10 – Казахстан, Западно-Казахстанская обл., Теректинский р-н; III. 11 – Волгоградская обл., окр. оз. Булхута; 12 – Волгоградская обл., Балабановское ох/хоз. IV. 13 – Астраханская обл., Красноярский р-н, окр. с. Комсомольский; 14 – Астраханская обл., Харабалинский р-н, окр. ст. Сероглазово; V. 15 – Калмыкия, Малодербетовский р-н; 16 – Калмыкия, окр. г. Элиста

Материалом для генетического исследования послужили образцы печени и крови *V. (P.) renardi* (рис. 2), хранящиеся в Зоологическом музее Саратовского государственного университета. Тотальную ДНК выделяли по стандартной методике [7]. Для проведения полимеразной цепной реакции использовали олигонуклеотидные праймеры, подобранные по нуклеотидным последовательностям из международной базы данных Genebank (Франция). Секвенирование очищенных двухцепочечных ПЦР продуктов митохондриальных генов проводили по методу Сенгера [8]. Электрофоретическое разделение продуктов секвенирующей реакции осуществляли с помощью автоматического 8-капиллярного ДНК-секвенатора SEQ 2000XL (Bekman Coulter). Для выравнивания секвенированных нуклеотидных последовательностей митохондриальных генов использо-



вали программы Clustal W и BioEdit Sequence Alignment Editor. Для построения дендрограмм применяли пакет прикладных программ MEGA 4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis [9].

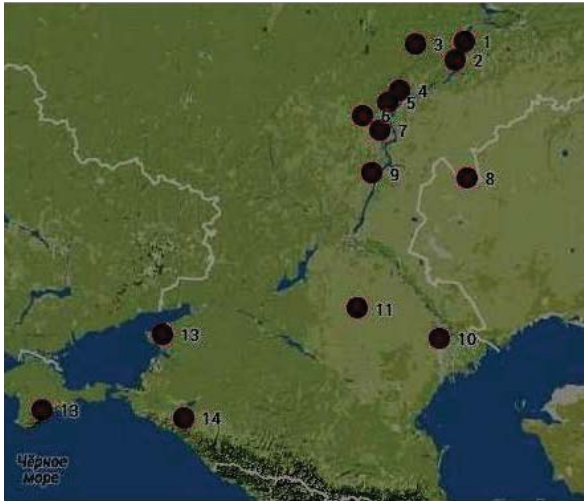


Рис. 2. Географическая характеристика экземпляров восточной степной гадюки, использованных в генетическом анализе: 1 – Ульяновская обл., окр. с. Вязовка; 2 – Саратовская обл., Хвалынский р-н, окр. с. С. Яблонка; 3 – Пензенская обл., Кунчеровская степь; 4 – Саратовская обл., Новобурасский р-н, окр. с. Аряш; 5 – Саратовская обл., Татищевский р-н, окр. ст. Евдокимовский; 6 – Саратовская обл., Лысогорский р-н, окр. с. Симоновка; 7 – Саратовская обл., Красноармейский р-н, окр. с. Садовое; 8 – Саратовская обл., Александрово-Гайский р-н, окр. хут. Ветелки; 9 – Волгоградская обл., окр. г. Камышин; 10 – Астраханская обл., Черноярский р-н, окр. с. Солёное Займище; 11 – Республика Калмыкия, Приютненский р-н; 12 – Краснодарский край, окр. пос. Молькино; 13 – Краснодарский край, Ейский р-н, окр. пос. Ясенская переправа; 14 – АР Крым

Статистическая обработка включала расчёт для каждого из исследуемых параметров средней арифметической, стандартного отклонения ( $SD$ ) и размаха варьирования ( $min - max$ ). Для обнаружения различий по морфологическим признакам исследуемых серий гадюк использовали непараметрический критерий Краскелла – Уоллиса (множественные сравнения популяций). Парные сравнения ( $post-hoc$  тест) проводили по критерию Манна – Уитни. Различия по статистическим критериям признавали значимыми при  $P < 0.05$ . Статистическую обработку материала проводили с использованием пакетов программ MS Excel (модуль AtteStat 12.5), PAST 2.04 и Statistica 6.0.

Анализ признаков чешуйчатого покрова показал, что на большей части территории

рассматриваемых серий обитают *V. (P.) renardi* с числом *Ventr.* в среднем меньше 146 (для самцов) и 150 (для самок) (табл. 1). Причем исследованные популяции *V. (P.) renardi* значительно различаются по этому признаку (множественные сравнения, критерий Краскелла – Уоллиса:  $H = 10.00$ ,  $P < 0.04$  (для самцов) и  $H = 23.67$ ,  $P < 0.0001$  (для самок)). Различия обусловлены в основном обособленностью по этому признаку гадюк из Саратовского Правобережья и Астраханской области, где средние значения по данному признаку выше, чем в других исследуемых районах (см. табл. 1). Количество пар подхвостовых щитков от первой соприкасающейся пары до кончика хвоста незначительно варьирует в исследованных популяциях. Исключение составляют самки *V. (P.) renardi* астраханской популяции, где средние значения по данному признаку выше, чем в других исследуемых районах (множественные сравнения, критерий Краскелла – Уоллиса:  $H = 16.93$ ,  $P < 0.001$ ). Другие признаки в пределах изучаемой территории не обнаруживают направленной изменчивости.

Более вариативной характеристикой фоллидоза *V. (P.) renardi* считается характер расположения основных щитков между лобным и надглазничными щитками [10]. В ходе исследования было выявлено 39 вариантов щиткования этой области головы. Комбинации 1, 2, 3 были представлены во всех исследованных сериях (табл. 2). Во всех выборках встречались образцы, характеризующиеся наличием помимо основных также дополнительных щитков. Наибольший процент особей с таким характером щиткования отмечен для Калмыкии (37,5), наименьший – для Астраханской области (6,25). Наибольшее разнообразие комбинаций с дополнительными щитками характерно для Калмыкии. На долю асимметричных комбинаций в выборках I, II, III, V приходилось более 50%. Для выборки IV (Астраханская обл.), наоборот, характерно преобладание экземпляров с симметричными комбинациями (70,5%).

В ходе дальнейшего анализа у 12 экземпляров *V. (P.) renardi* была определена первичная структура митохондриального гена CO III размером 572 п.н. При анализе по данному участку было выявлено 8 гаплотипов. Анализируемая последовательность содержала 12 переменных сайтов. Экземпляры *V. renardi* из Предкавказья отличались 1 транзицией и 3 трансверсиями в положениях 4, 173, 296, 369 п.н. соответственно. В свою очередь, у образцов из Саратовской и Ульяновской областей выявлены 3 транзиции и 2 трансверсии в положениях 206, 389, 542 п.н.



Таблица 1

**Морфологическая характеристика популяций восточной степной гадюки**

Признак	Пол	Выборки				
		I (♂♂+♀♀, n = 45)	II (♂♂+♀♀, n = 8)	III (♂♂+♀♀, n = 22)	IV (♂♂+♀♀, n = 16)	V (♂♂+♀♀, n = 26)
<i>Ventr.</i>	♀	$\frac{149}{144-151}$	$\frac{146}{145-147}$	$\frac{145}{143-147}$	$\frac{150}{149-152}$	$\frac{145}{144-146}$
	♂	$\frac{145}{143-146}$	$\frac{144}{142-145}$	$\frac{144}{139-146}$	$\frac{146}{144-148}$	$\frac{143}{142-145}$
<i>S.cd</i>	♀	$\frac{26}{25-26}$	$\frac{25}{24-28}$	$\frac{25}{25-27}$	$\frac{28}{27-30}$	$\frac{26}{25-28}$
	♂	$\frac{35}{32-36}$	$\frac{35}{33-35}$	$\frac{36}{32-37}$	$\frac{36}{34-37}$	$\frac{35}{33-36}$
<i>S.orb</i>	♀	$\frac{21}{20-22}$	$\frac{20}{19-22}$	$\frac{21}{19-22}$	$\frac{20}{20-21}$	$\frac{20}{19-22}$
	♂	$\frac{20}{20-22}$	$\frac{23}{22-23}$	$\frac{21}{20-22}$	$\frac{21}{20-22}$	$\frac{21}{20-22}$
<i>Lab.</i>	♀	$\frac{18}{18}$	$\frac{18}{17-18}$	$\frac{18}{18}$	$\frac{18}{18}$	$\frac{18}{18}$
	♂	$\frac{18}{18}$	$\frac{18}{18}$	$\frac{18}{18}$	$\frac{18}{18}$	$\frac{18}{18}$
<i>Sublab.</i>	♀	$\frac{20}{20}$	$\frac{19}{18-20}$	$\frac{21}{20-23}$	$\frac{20}{20-21}$	$\frac{20}{20-21}$
	♂	$\frac{20}{19-21}$	$\frac{19}{18-20}$	$\frac{21}{20-22}$	$\frac{19}{18-20}$	$\frac{20}{20-21}$

Примечание. В числителе – медиана, в знаменателе – межквартильный размах.

Таблица 2

**Расположение основных щитков (лев./прав.) между лобным и надглазничными щитками**

№	Комбинации щитков	Частота встречаемости, %				
		I	II	III	IV	V
1	1,2,3/1,2,3*	37,7	37,5	22,7	50	25
2	1,2+3/1,2+3*	11,1	12,5	13,6	6,25	25
3	1,2,3/1,2+3	8,8	12,5	9,09	12,5	4,16
4	1+2,3/1+2,3*	2,2	12,5	4,54	–	–
5	1,2,3,4/1,2,3,4*	–	12,5	4,54	6,25	–
6	1,2,3,4/1,2,3	4,4	–	4,54	12,5	–
7	-,2,3/-,2,3*	–	–	–	6,25	4,16
8	1,2+3/1+2+3	4,4	–	–	–	4,16
9	1+2,3/1,2,3	6,66				
10	-,2+3/1,2,3	2,2	–	–	–	–
11	1+2+3/1+2+3*	2,2				
12	1+2+3/1,2,3	–	–	4,54	–	
	Варианты с добавочными щитками	15,5	25	31,8	6,25	37,5

Примечание. 1–4 – номера щитков; – – щиток отсутствует; + – слияние щитков; \* – симметричные комбинации.

и 173, 296 п.н. соответственно. Остальные исследованные образцы отличались 1–2 заменами. На основе полученных результатов построено

«филогенетическое дерево» (рис. 3). При этом в качестве внешней группы взяты ранее секвенированные образцы *V. nikolskii* и *V. berus* [11, 12].

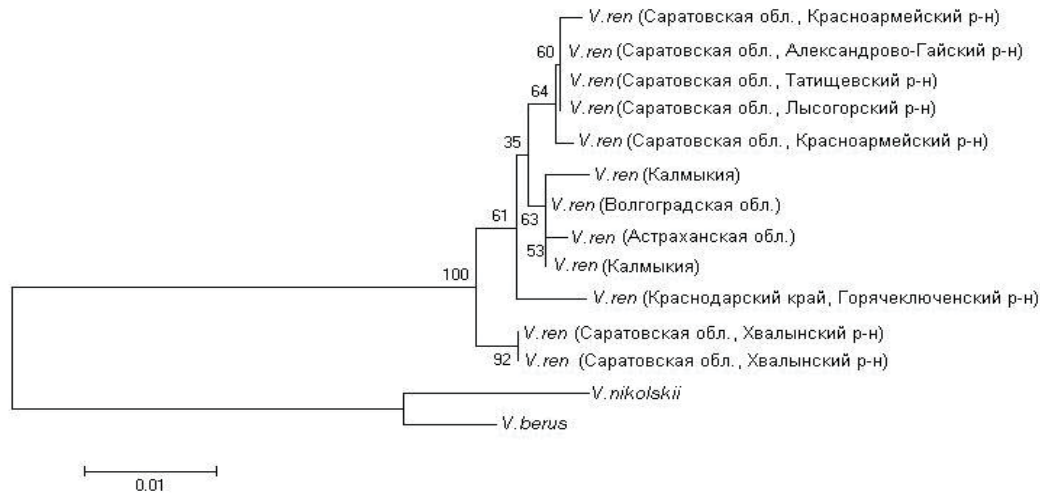


Рис. 3. «Филогенетическое дерево», построенное по данным нуклеотидной последовательности фрагмента гена CO III

На следующем этапе исследования у 16 образцов гадюк была определена первичная структура участка митохондриального гена 12S рРНК размером 511 п.н. Анализируемый участок содержал 8 вариабельных сайтов. В исследуемой группе гадюк выявлено 4 гаплотипа. Первый тип нуклеотидной последовательности принадлежал *V. (P.) renardi* из Горного Крыма, отличающейся транзицией в положении 111 п.н. Второй гаплотип обнаружен у гадюк из Предкавказья, который отличался трансверсией и транзицией в положениях 202 п.н. и 493 п.н. соответственно. У трех экземпляров *V. (P.) renardi* с Правобережья выявлен третий гаплотип с тремя транзициями

в положениях 21, 73, 118 п.н. Четвертый тип нуклеотидных последовательностей характерен для всех остальных анализируемых образцов. В последнюю группу попал образец гадюки из Лысогорского района (долина р. Медведицы), по морфологическим признакам также отнесенный к восточной степной гадюке. Ранее на данной территории было отмечено обитание лишь гадюки Никольского (*Vipera (Pelias) nikolskii* Vedmederja, Grubant, Rudaeva, 1986) [13, 14]. Реконструкция филогенетических отношений между гаплотипами исследованных *V. renardi* методом ближайшего соседа (NJ) и максимальной экономии (MP) привела к сходной топологии (рис. 4).

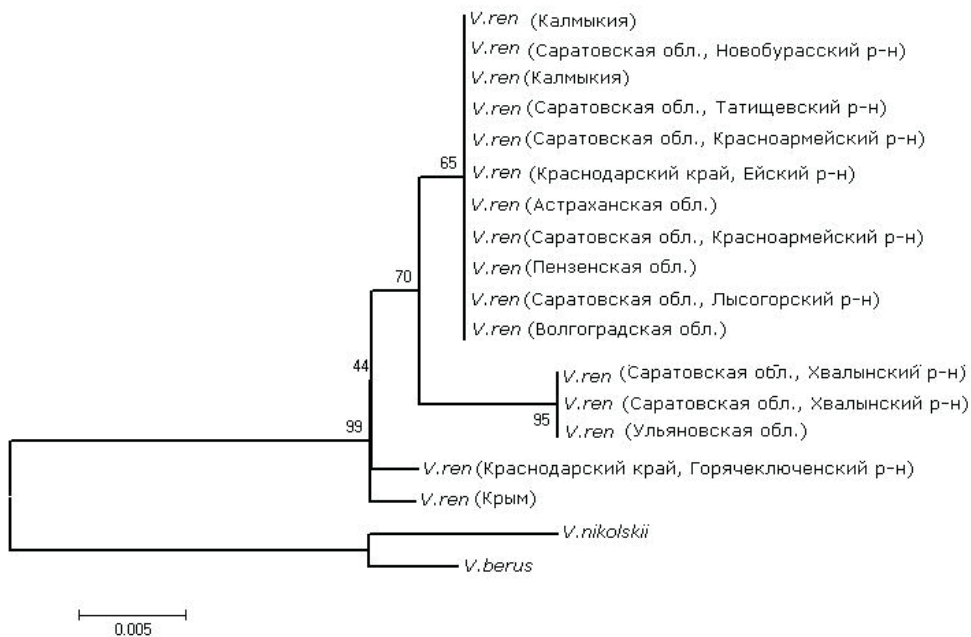


Рис. 4. «Филогенетическое дерево», построенное по данным нуклеотидной последовательности фрагмента гена 12S рРНК



Таким образом, морфологический анализ показал относительную однородность исследованных серий гадюк. Некоторая специфичность по ряду морфологических признаков (*Ventr.*, *S.cd*) характерна для *V. (P.) renardi* из Саратовского Правобережья и Астраханской области. Однако на молекулярном уровне, в свою очередь, по исследуемым маркерам различий между образцами из данных популяций и других регионов не обнаружено.

### Список литературы

1. Гаранин В. И. Земноводные и пресмыкающиеся Волжско-Камского края. М. : Наука, 1983. 176 с.
2. Ананьева Н. Б., Орлов Н. Л., Халиков Р. Г., Даревский И. С., Рябов С. А., Барабанов А. В. Атлас пресмыкающихся Северной Евразии (таксономическое разнообразие, географическое распространение и природоохранный статус). СПб. : Изд-во Зоол. ин-та РАН, 2004. 232 с.
3. Шляхтин Г. В., Табачишин В. Г., Завьялов Е. В., Табачишина И. Е. Животный мир Саратовской области : в 4 кн. Кн. 4. Амфибии и рептилии. Саратов : Изд-во Саратов. ун-та, 2005. 116 с.
4. Белик В. П. Ревизия фауны рептилий степного Придонья // Современная герпетология. 2011. Т. 11, вып. 1/2. С. 3–27.
5. Табачишина И. Е., Табачишин В. Г., Шляхтин Г. В. К уточнению северной границы распространения восточной степной гадюки (*Vipera renardi*) в Поволжье // Поволж. экол. журн. 2007. №3. С. 271–277.
6. Помазенко О. А., Табачишин В. Г. Распространение и особенности генетической структуры популяций *Vipera (Pelias) renardi* на севере Нижнего Поволжья // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2012. Т. 12, вып. 4. С. 63–67.
7. Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. Molecular cloning : A laboratory Manual. N.Y. : Cold Spring Harbor, 1989. 381 p.
8. Sanger F., Nicklen S., Coulson A. R. DNA Sequencing with Chain-Termination Inhibitors // Proc. of the National Academy of Sciences USA. 1977. Vol. 74. P. 5436–5467.
9. Tamura K., Dudley J.L., Nei M., Kumar S. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) Software Version 4.0 // Molecular Biology and Evolution. 2007. Vol. 24, № 8. P. 1596–1599.
10. Островских С. В. Изменчивость внешней морфологии восточной степной гадюки – *Vipera (Pelias) renardi* на Северо-Западном Кавказе // Современная герпетология. 2007. Т. 5/6. С. 61–70.
11. Ефимов Р. В. Эколого-генетическая характеристика гадюковых змей (Reptilia, Viperidae) в Нижнем Поволжье и на сопредельных территориях : автореф. ... дис. канд. биол. наук. Саратов, 2008. 20 с.
12. Ефимов Р. В., Завьялов Е. В., Великов В. А., Табачишин В. Г. Генетическая дивергенция популяций *Vipera berus* и *Vipera nikolskii* (Reptilia: Viperidae, *Vipera*) Нижнего Поволжья и сопредельных территорий по результатам секвенирования генов цитохромоксидазы III и 12S рибосомной РНК // Генетика. 2008. Т. 44, № 2. С. 283–286.
13. Tabatschischin W. G., Sawjalow E. W. Zur präzisierung der südlichen Grenze des Verbreitungsareals der Waldsteppenotter (*Vipera nikolskii*) im europäischen Teil Russlands // Mauritiana. 2004. Bd. 19, heft 1. S. 83–85.
14. Завьялов Е. В., Каибелева Э. И., Табачишин В. Г. Сравнительная кариологическая характеристика гадюки Никольского (*Vipera (Pelias) nikolskii*) из пойм малых рек Волжского и Донского бассейнов // Современная герпетология. 2006. Т. 5/6. С. 100–103.

УДК 502.175 (470.44-25)

## ЭКОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ БИОЦЕНОЗОВ МОДЕЛЬНОГО УЧАСТКА ПЕРИФЕРИЙНОЙ ЧАСТИ ПРИРОДНОГО ПАРКА «КУМЫСНАЯ ПОЛЯНА» ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ИССЛЕДОВАНИЙ 2013 ГОДА

Е. Е. Морозова<sup>1</sup>, Ю. И. Буланый<sup>1</sup>, Ю. А. Малинина<sup>2</sup>, М. В. Буланая<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Саратовский государственный университет  
E-mail: moroz @snp.ru

<sup>2</sup>Саратовское отделение ФГБНУ ГОСНИОРХ

Представлена экологическая характеристика модельного участка природного парка «Кумысная поляна», тесно прилегающего к жилым массивам города. Использовались маршрутные, флористические, гидробиологические, сравнительно-морфологические популяционные методы исследования. Проведённое исследование выявило основные формы воздействия рекреации на состояние фито- и гидроценозов природного парка: вытаптывание территории, замусоривание,

загрязнение и зарастание водоёмов, повреждения древесных форм растений. Отмечено изменение видового состава и структуры фитоценозов: лесные виды растений постепенно уступают место луговым, степным и сорным. Предложены и организованы природоохранные мероприятия на территории природного парка.

**Ключевые слова:** природный парк, природоохранные мероприятия, фитоценозы, гидроценозы.

