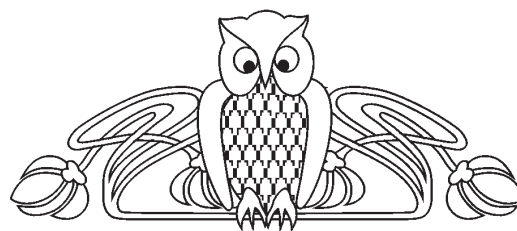




УДК 595.461

## ИЗУЧЕНИЕ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИХ СВЯЗЕЙ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *MESOBUTHUS* (ARACHNIDA: SCORPIONES) НА ОСНОВЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО АНАЛИЗА ДНК



Н. М. Поверенный, В. В. Аникин

Поверенный Никита Максимович, студент кафедры морфологии и экологии животных, учебная лаборатория молекулярной биологии, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского. E-mail: Nikitapov64@yandex.ru

Аникин Василий Викторович, профессор кафедры морфологии и экологии животных биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, доктор биологических наук. E-mail: anikinvasiliiv@mail.ru

Для определения филогенетических связей представителей скорпионов рода *Mesobuthus*, обитающих в Нижнем Поволжье, и их сравнение с другими таксонами (подвидами и видами этого рода) были собраны скорпионы на территории Нижнего Поволжья. Расшифрованы нуклеотидные последовательности собранных экземпляров и проведено сравнение их с последовательностями видов рода *Mesobuthus* из других регионов Палеарктики. Определены филогенетические связи исследуемых объектов. Сбор материала проводился общепринятыми методами в арахнологии. В тёмное время суток использовалась лампа ДРЛ и экран для насекомых для привлечения и сбора скорпионов.

**Ключевые слова:** территории, анализ, подвид, метод, сбор, секвенирование, ДНК, скорпионы.

DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-333-336

Для молекулярно-генетического анализа был выбран ген цитохром С оксидазы субъединица I. Выделялась ДНК из метасомы скорпиона с помощью набора «Diatom Prep 100» производства ООО «Лаборатория Изоген» (г. Москва, РФ) по соответствующим протоколам. ДНК без посторонних примесей и размер фрагментов в среднем составляет 7000–10000 пар нуклеотидов. Электрофорез проводился с помощью электрофоретической ванны методом гель-электрофореза. ПЦР реакция была поставлена с помощью прибора для ПЦР в реальном времени «АНК-32». В методе ферментативной очистки использовалась щелочная фосфатаза креветки, термостабильная, экзонуклеаза I, а также набор SAP-Eco Kit фирмы Jena Bioscience GmbH. Секвенирование ПЦР-продуктов осуществлялось с помощью генетического анализатора «НАНО-ФОР-05». Множественный анализ проводился с помощью программы MEGA 6. Филогенетическое древо было построено методом статистического конструктора UPGMA, филогенетический тест проводился методом Bootstrap. Множественный

анализ показал, что представители из популяций скорпионов, обитающих на территории г. Богдо (и его окрестностей), являются самостоятельным таксоном и претендуют на статус самостоятельного вида.

В ходе работы необходимо было определить филогенетические связи представителей скорпионов из рода *Mesobuthus*, обитающих в Богдинско-Баскунчакском заповеднике (Астраханская обл., Ахтубинский р-н), а также на территории памятника природы «Нижне-Банновский» (Саратовская обл., Красноармейский р-н), на территории природного парка «Щербаковский» Волгоградской области в сравнении с другими таксонами (подвидами и видами этого рода) скорпионов с других территорий Палеарктики. Исходя из поставленной цели решались следующие задачи.

1. Провести сборы скорпионов на территории Богдинско-Баскунчакского заповедника, на территории памятника природы «Нижне-Банновский», на территории природного парка «Щербаковский».

2. Выделить ДНК собранных экземпляров, амплифицировать фрагменты ДНК, секвенировать ПЦР-продукты.

3. Произвести множественный анализ нуклеотидных последовательностей относительно других подвидов вида *M. eupeus* относительно других видов рода *Mesobuthus*.

4. Определить филогенетические связи исследуемых объектов.

### Материалы и методы

Сборы материала проводились в 2014–2015 гг. в апреле-мае, сентябре-октябре на территории «Богдинско-Баскунчакского» заповедника в окрестностях горы Богдо (Астраханская область). Были обследованы два участка на территории заповедника: побережье озера Баскунчак, район Белой балки, окрестности Горькой речки в районе дамбы. Кроме того, были проведены сборы в Правобережье Саратовской области, где также обитают скорпионы на территории памятника природы «Нижне-Банновский» и в Волгоградской области (южнее от предыдущей точки на 20 км) на территории природного парка «Щербаковский». Всего было собрано и зафиксировано в этиловом спирте (96%-ном) 18 экземпляров.



Материал собирался с помощью пинцета в пластиковые контейнеры. Скорпион помещался в контейнер с песком, где находилась смоченная водой вата и два мраморных таракана (в качестве корма). В тёмное время суток использовалась лампа ДРЛ и экран для насекомых для привлечения и сбора скорпионов. В лабораторных условиях часть скорпионов была зафиксирована в пробирках с этиловым спиртом и заэтикетирована.

Помимо нуклеотидных последовательностей исследуемых образцов (4) в анализ были введены известные нуклеотидные последовательности, взятые из GEN BANK: 5 у подвида *M. e. philippovitschi* (3), 3 у номинативного подвида *M. e. eurus* (2), 13 образцов подвида *M. e. thersites* (1,5), 6 у вида *M. e. phillipsi* (7), 1 у вида *M. caucasicus* (6).

### Результаты и их обсуждение

Результаты сравнительного анализа показали наличие двух больших кластеров. Первый кластер состоит из трех субкластеров, где первый представлен сборной группой хоросано-туркменскими популяциями *M. e. thersites* (1), второй – из отдельной клады изолированной кавказской популяции *M. e. eurus* (2) и клады южно-каспийской популяции подвида *M. e. philippovitschi* (3). Третий субкластер сформирован двумя кладами, где первая представлена казахско-волжскими популяциями (собственные сиквенсы собранных скорпионов изученной территории Нижнего Поволжья) (4), а вторая – северо-казахскими популяциями *M. e. thersites* (5). Второй большой кластер сформирован иранско-турецкими популяциями *M. caucasicus* (6) и *M. e. phillipsi* (7). В целом, как видно на древе, казахско-волжские изученные популяции скорпи-

онов не имеют близких связей с кавказскими, т.е. распространение казахско-волжского таксона шло, несомненно, с востока, а не с юго-запада.

Таким образом, нами установлено, что скорпион, обитающий на территории г. Богдо (и ее окрестностей вокруг озера Баскунчак), представляет собой самостоятельный таксон и, исходя из географического положения и особенностей морфологии и молекулярно-генетических данных по нему, претендует на статус самостоятельного вида.

### Study of Phylogenetic Connections of Representatives of the Genus *Mesobuthus* (Arachnida: Scorpiones) on the Basis of Molecular DNA Analysis

N. M. Poverenniy, V. V. Anikin

Nikita M. Poverenniy, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, Nikitapov64@yandex.ru

Vasilii V. Anikin, Saratov State University, 83, Astrakhanskaya Str., Saratov, 410012, Russia, anikinvasiliiv@mail.ru

The aim of the research is to determine the phylogenetic connections of scorpion representatives of the genus *Mesobuthus* living in the Lower Volga region and their comparison with other taxa (subspecies and species of this genus). For this, scorpions were collected on the territory of the Lower Volga region. The nucleotide sequences of the collected specimens were deciphered and compared with the sequences of species of the genus *Mesobuthus* from other regions of the Palearctic. The phylogenetic connections of the investigated objects are determined. The collection of material was carried out by conventional methods in arachnology. During the dark hours, a DRL lamp and a screen for insects were used to attract and collect scorpions.

**Key words:** territory, analysis, subspecies, method, collection, sequencing, DNA, scorpions.

### Образец для цитирования:

Поверенный Н. М., Аникин В. В. Изучение филогенетических связей представителей рода *Mesobuthus* (Arachnida: Scorpiones) на основе молекулярного анализа ДНК // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2017. Т. 17, вып. 3. С. 333–334. DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-333-334.

### Cite this article as:

Poverenniy N. M., Anikin V. V. Study of Phylogenetic Connections of Representatives of the Genus *Mesobuthus* (Arachnida: Scorpiones) on the Basis of Molecular DNA Analysis. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2017, vol. 17, iss. 3, pp. 333–334 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2017-17-3-333-334.