



- cells // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1978. Vol. 85. P. 1551–1559.
21. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. 1976. Vol. 72. P. 248–254.
22. Матюшин Б. Н., Логинов А. С., Ткачев В. Д. Определе-ние супероксиддисмутазной активности в материале пункционной биопсии печени при ее хроническом поражении // Лаборат. дело. 1991. № 7. С. 16–19
23. Хайруллин Р. М., Яруллина Л. Г., Трошина Н. Б., Ахметова И. Э. Активация хитоолигосахаридами окисле-ния орто-фенилендиамина проростками пшеницы в присутствии щавелевой кислоты // Биохимия. 2001. Т. 66. С. 354–358.
24. Воскресенская О. Л., Алябьева Е. А., Половнико-ва М. Г. Большой практикум по биоэкологии : в 2 ч. Ч. 1 : учеб. пособие. Йошкар-Ола, 2006. 107 с.
25. Hurkman W. J., Tanaka C. K. Effect of salt stress on germin gene expression in barley roots // Plant Physiol. 1996. Vol. 110. P. 971–977.
26. Ястреб Т. О., Колупаев Ю. Е. Действие ароматических и дикарбоновых алифатических кислот на активность пероксидазы и оксалактоксидазы в изолированных ко-леоптилях пшеницы // Вестн. Харьк. нац. аграр. ун-та. Сер. биол. 2011. Вып. 3. С. 35–42.

УДК 598.115.33:575.17; 470.44

## РАСПРОСТРАНЕНИЕ И ОСОБЕННОСТИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИЙ *VIPERA (PELIAS) RENARDI* НА СЕВЕРЕ НИЖНЕГО ПОВОЛЖЬЯ

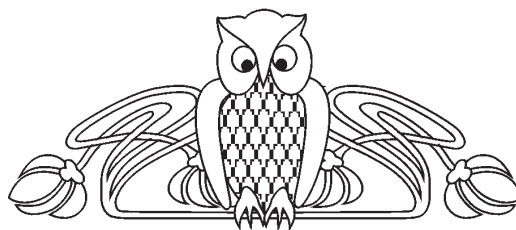
О. А. Помазенко, В. Г. Табачишин\*

Саратовский государственный университет

E-mail: pomazenko-olesya@mail.ru

\* Саратовский филиал Института проблем экологии  
и эволюции им. А. Н. Северцова РАН

E-mail: tabachishinvg@sevin.ru



Рассматриваются генетические различия локальных популяций *Vipera (Pelias) renardi* (Christoph, 1861) Саратовской области и других регионов на основе молекулярного анализа. По участку гена цитохрома *c* выявлено 8 гаплотипов. При этом наибольшее число замен по данному гену отмечено у *V. (P.) renardi* из севера саратовского Правобережья и Горного Крыма. По участку гена 12S рРНК выявлено 4 гаплотипа. Первый тип нуклеотидной последовательности характерен для *V. (P.) renardi* из Горного Крыма, второй – для *V. (P.) renardi* из Предкавказья, третий – *V. (P.) renardi* из крайнего севера саратовского Правобережья. У всех остальных исследуемых образцов *V. (P.) renardi* выявлен четвертый гаплотип. Выявленные отличия могут быть обусловлены как окраинным положением в пределах ареала *V. (P.) renardi*, так и самим характером проникновения *V. (P.) renardi* на эту территорию в историческом аспекте.

**Ключевые слова:** *Vipera (Pelias) renardi*, распространение, ге-нетическая структура, Саратовская область.

### Distribution and Genetic Structural Features of the *Vipera (Pelias) renardi* Populations in the Northern Lower-Volga Region

О. А. Pomazenko, V. G. Tabachishin

Genetic distinctions among the *Vipera (Pelias) renardi* (Christoph, 1861) populations from the territory of the Lower-Volga region (Republic

Kalmykia, the Astrakhan, Penza and Saratov regions) and other regions (Ciscaucasia, Krasnodar region and Crimean Mountains, Ukraine) are considered on the basis of molecular analysis. Eight haplotypes were revealed by a fragment of the cytochrome *c* gene. The maximum replacement number by this gene is noted for *V. (P.) renardi* from the Northern Saratov Right-Volga-bank region and Crimean Mountains. Four haplotypes were revealed by a fragment of the 12S rRNA gene. The first, second, and third type of the nucleotide sequence is characteristic of *V. (P.) renardi* from the Crimean Mountains, Ciscaucasia, and Extreme North of the Saratov Right-Volga-bank region, respectively. A fourth haplotype was revealed in all the other *V. (P.) renardi* specimens. The disclosed distinctions can be caused by the peripheral position within the *V. (P.) renardi* habitat as well as the character of *V. (P.) renardi* penetration into this territory in an historical aspect.

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

Восточная степная гадюка (*Vipera (Pelias) renardi* (Christoph, 1861)), обитающая на аридных и полуаридных территориях Северной Евразии [1, 2], относится к видам, чей таксономический статус на протяжении длительного времени носит дискуссионный характер. Причем обширные современные исследования показали, что популяции *V. (P.) renardi* на севере распространения вида в По-



волжье морфологически обособлены [3, 4]. Однако на основании только морфологических, экологических и кариологических данных обоснованные выводы в отношении таксономического положения этих гадюк сделать весьма затруднительно [5, 6]. Поэтому дальнейшие исследования по данной тематике целесообразно проводить с привлечением методов молекулярной биологии [7–9].

Цель настоящего исследования заключалась в выявлении генетических различий между популяциями *V. (P.) renardi* севера Нижнего Поволжья и сопредельных регионов на основе анализа молекул митохондриальной ДНК.

Изучение биотопической приуроченности гадюк основано на данных полевых исследований, проведенных в весенне-летний период 2000–2011 гг. в пределах Саратовской области и на сопредельных территориях. Кроме того, исследовались коллекционные материалы Зоологического музея Саратовского государственного университета.

Материалом для анализа молекул митохондриальной ДНК послужили образцы печени и крови *V. (P.) renardi*, хранящиеся в Зоологическом музее Саратовского государственного университета (таблица).

**Географическая и количественная характеристика сборов *Vipera (Pelias) renardi*, использованных в анализе**

№	Вид	Место сбора	Анализируемый ген
1	<i>V. (P.) renardi</i>	Саратовская обл., Хвалынский р-н	СО III, 12S
2	<i>V. (P.) renardi</i>	Саратовская обл., Хвалынский р-н	12S
3	<i>V. (P.) renardi</i>	Украина, АР Крым	СО III, 12S
4	<i>V. (P.) renardi</i>	Саратовская обл., Хвалынский р-н	12S
5	<i>V. (P.) renardi</i>	Краснодарский край, Горячеключенский р-н	12S
6	<i>V. (P.) renardi</i>	Краснодарский край, Ейский р-н	12S
7	<i>V. (P.) renardi</i>	Астраханская обл., Черноярский р-н	СО III, 12S
8	<i>V. (P.) renardi</i>	Республика Калмыкия, Приютненский р-н	СО III, 12S
9	<i>V. (P.) renardi</i>	Республика Калмыкия, Приютненский р-н	СО III, 12S
10	<i>V. (P.) renardi</i>	Республика Калмыкия, Приютненский р-н	СО III, 12S
11	<i>V. (P.) renardi</i>	Саратовская обл., Красноармейский р-н	СО III, 12S
12	<i>V. (P.) renardi</i>	Саратовская обл., Красноармейский р-н	СО III, 12S
13	<i>V. (P.) renardi</i>	Волгоградская обл., Камышенский р-н	СО III
14	<i>V. (P.) renardi</i>	Пензенская обл., Кунчеровская степь	12S
15	<i>V. (P.) renardi</i>	Саратовская обл., Новобурасский р-н	СО III, 12S
16	<i>V. (P.) renardi</i>	Саратовская обл., Александрово-Гайский р-н	СО III
17	<i>V. (P.) nikolskii</i>	Саратовская обл., Аркадакский р-н, окр. с. Ольшанка	СО III, 12S
18	<i>V. (P.) berus</i>	Самарская обл., Ставропольский р-н, урочище «Самарская Лука»	СО III, 12S

Тотальную ДНК выделяли по стандартной методике [10]. Для проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовали олигонуклеотидные праймеры, подобранные по нуклеотидным последовательностям из международной базы данных Genbank (Франция). Секвенирование очищенных двухцепочечных ПЦР-продуктов митохондриальных генов проводили по методу Сенджера [11]. Электрофоретическое разделение продуктов секвенирующей реакции осуществляли с помощью автоматического 8-капиллярного ДНК-секвенатора SEQ 2000XL (Bekman Coulter). Для выравнивания секвенированных нуклеотидных последовательностей митохондриальных генов использовали программы Clustal W и BioEdit Sequence Alignment Editor. Для построения

дендрограмм применяли пакет прикладных программ MEGA 4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis [12].

Из заспиртованных экземпляров *V. (P.) renardi* выделена общая ДНК (хромосомная и митохондриальная). С помощью специально подобранных и синтезированных праймеров (Синтол, г. Москва) получены ПЦР-продукты участка гена 12S рибосомальной РНК и СО III. Полученные ПЦР-продукты очищали и использовали для секвенирования в качестве ДНК-матрицы в концентрации 100 фМ.

Распространение *V. (P.) renardi* на исследуемой территории носит широкий, но мозаичный характер. При этом в саратовском Правобережье распространение гадюки ограничено западной



кромкой Приволжской возвышенности [13]. Обитание *V. (P.) renardi* связано с различными типами биотопов, преимущественно стациями со сложным микрорельефом (балки, овраги, склоны холмов, берега рек и др.) с зарослями кустарниковой растительности. Наиболее предпочитаемыми местообитаниями пресмыкающихся являются прогалины и поляны в смешанных лесах, зарастающие вырубki, облесенные склоны и днища оврагов и балок. Гадюки избегают агроценозов и заболоченных лесных участков пойм рек [5, 14].

Показатели численности *V. (P.) renardi* в значительной степени изменяются в пределах исследованной территории, что обусловлено высокой мозаичностью микростаций, динамикой показателей проективного покрытия растительности и ее особенностями. Так, в начале мая 2000–2006 и 2010 гг. в окрестностях с. Стар. Яблонка Хвалынского района обилие гадюк варьировало от 0.8 до 4.5 особ./га. Сходные показатели численности (1–7 особ./км маршрута) характерны для остепненных участков с кустарниковой растительностью в долине р. Чардым (окрестности с. Радищево, Новобурасский р-н), а также по склонам и днищам оврагов и балок на востоке Красноармейского района.

В саратовском Заволжье максимальные показатели обилия *V. (P.) renardi* (до 17 особ./2 км маршрута) характерны для участков с разнотравно-кустарниковой растительностью вблизи водоёмов открытого типа (лиманы, каналы, водохранилища) и в поймах рек Бол. и Мал. Узень на крайнем юге Александрово-Гайского

района. Несколько ниже обилие гадюк отмечено на севере Александрово-Гайского района и востоке Дергачевского, Перелюбского и Озинского районов. Так, в середине мая 2006–2011 гг. на участках разнотравной степи вблизи кустарниковых зарослей урочища Харламов сад (пойма р. Б. Узень) в окрестностях хут. Монахов (Александрово-Гайский р-н) численность вида изменялась от 1 (2007 г.) до 4 (2010 г.) особ./2 км маршрута.

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о том, что на территории Саратовской области *V. (P.) renardi* представлена в настоящее время относительно стабильными популяциями, её ареал здесь носит мозаичный характер.

В результате исследования у 13 экземпляров *V. (P.) renardi* определена первичная структура митохондриального гена CO III размером 572 пары нуклеотидов (п.н.). При анализе по данному участку было выявлено 8 гаплотипов. Анализируемая последовательность содержала 12 переменных сайтов. Экземпляры *V. (P.) renardi* из Горного Крыма отличались 2 транзициями и 2 трансверсиями в положениях 399, 428 п.н. и 173, 296 п.н. соответственно. В свою очередь, у образцов с крайнего севера саратовского Правобережья выявлены 3 транзиции и 2 трансверсии в положениях 206, 389, 542 п.н. и 173, 296 п.н. соответственно. Остальные исследованные образцы отличались 1–2 заменами. На основе полученных результатов построена дендрограмма (рис. 1). В качестве внешней группы взяты ранее секвенированные образцы *V. (P.) nikolskii* и *V. (P.) berus* [15, 16].

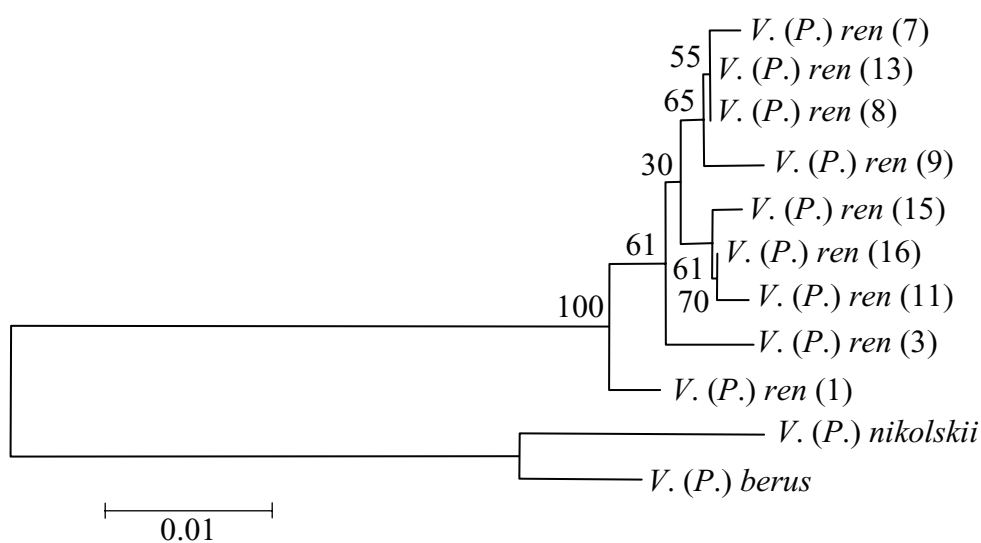


Рис. 1. NJ-«дерево», построенное по данным нуклеотидной последовательности фрагмента гена CO III



Учитывая результаты сравнения митохондриального гена цитохром *c* оксидазы, для анализа 12S рРНК выборка гадюк увеличена до 14 особей. У всех экземпляров *V. (P.) renardi* определена первичная структура 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 севера саратовского Правобережья выявлен третий гаплотип с тремя транзициями в положениях 21, 73, 118 п.н. Четвертый тип нуклеотидных последовательностей характерен для всех остальных анализируемых образцов. Реконструкция филогенетических отношений между гаплотипами исследованных *V. (P.) renardi* методом ближайшего соседа (NJ) и максимальной экономии (MP) привела к сходной топологии (рис. 2).

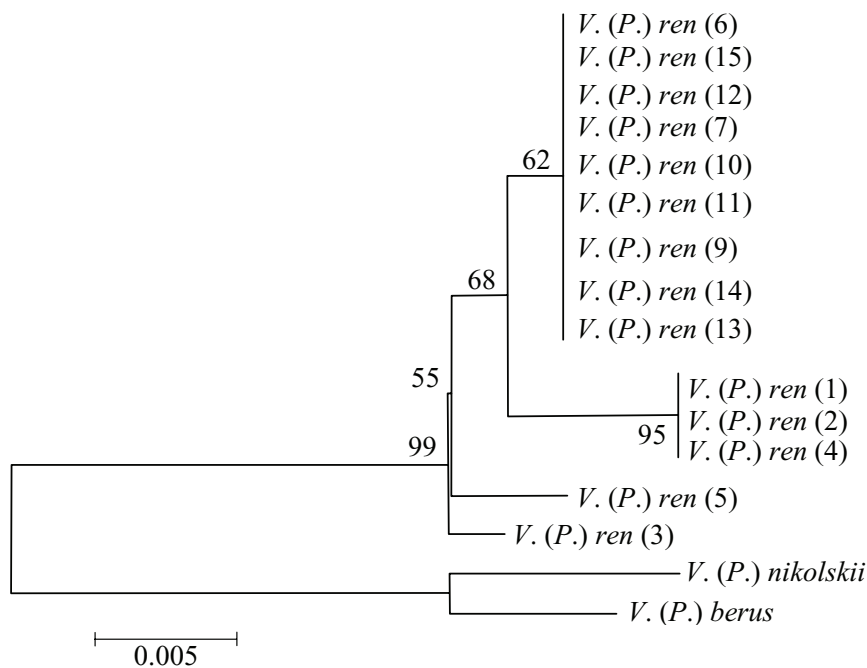


Рис. 2. NJ-«дерево», построенное по данным нуклеотидной последовательности фрагмента гена 12S рРНК

Таким образом, проведенные исследования показали, что популяции *V. (P.) renardi* на севере Нижнего Поволжья генетически специфичны по сравнению с гадюками других территорий. Эти отличия могут быть обусловлены крайним положением в пределах ареала вида, а также характером проникновения гадюк на эту территорию в историческом аспекте. Для определения таксономического статуса данных поселений необходимы дальнейшие исследования.

### Список литературы

1. 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) / Зоол. ин-т РАН. СПб., 2004. 232 с.

2. Кузьмин С. Л., Семенов Д. В. Конспект фауны земноводных и пресмыкающихся России. М. : Т-во науч. изд. КМК, 2006. 139 с.
3. Ефимов Р. В., Завьялов Е. В., Табачишин В. Г. Аспекты экологической сегрегации и технология видовой идентификации гадюковых змей (Reptilia: Viperidae, *Vipera*) в Поволжье на основе генотипирования // Поволж. экол. журн. 2008. № 2. С. 147–153.
4. Завьялов Е. В., Ефимов Р. В., Табачишин В. Г., Помазенько О. А. Генетическая характеристика популяций степной гадюки – *Vipera renardi* (Reptilia: Viperidae) Нижнего Поволжья и сопредельных территорий по результатам секвенирования митохондриальных генов цитохрома *B* и *C*, НАДН-дегидрогеназы и 12S рибосомной РНК // Современная герпетология. 2009. Т. 9, вып. 1/2. С. 12–17.
5. Табачишина И. Е., Табачишин В. Г., Завьялов Е. В. Морфо-экологическая характеристика нижневолжских популяций степной гадюки (*Vipera ursinii*) // Поволж. экол. журн. 2002. № 1. С. 76–81.



6. Завьялов Е. В., Кайбелева 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.
7. Калябина-Хауф С. А., Ананьева Н. Б. Филогеография и внутривидовая структура широкоареального вида ящериц *Lacerta agilis* L. 1758 (Lacertidae, Sauria, Reptilia) (опыт использования митохондриального гена цитохрома *b*) / Зоол. ин-т РАН. СПб., 2004. 108 с.
8. Великов В. А., Ефимов Р. В., Завьялов Е. В., Кузнецов П. Е., Табачишин В. Г., Шляхтин Г. В., Кайбелева Э. И. Генетическая дивергенция некоторых видов гадюк (Reptilia: Viperidae, *Vipera*) по результатам секвенирования генов НАДН-дегидрогеназы и 12S рибосомальной РНК // Современная герпетология. 2006. Т. 5/6. С. 41–49.
9. Efimov R. V., Zav'yalov E. V., Velikov V. A., Tabachishin V. G. Genetic divergence of *Vipera berus* and *Vipera nikolskii* (Reptilia: Viperidae, *Vipera*) populations in Lower-Volga and adjacent territories assessed according to the sequences of cytochrome oxidase III and 12S ribosome RNA genes // Rus. J. of Genetics. 2008. Vol. 44, № 2. P. 240 – 243.
10. Sambrook J., Fritsch E.F., Maniatis T. Molecular cloning: A laboratory Manual. N.Y. : Cold Spring Harbor, 1989. 381 p.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. Ефимов Р. В., Завьялов Е. В., Великов В. А., Табачишин В. Г. Предварительные данные о генетической дифференциации нижеволжских популяций гадюки Никольского (*Vipera nikolskii*, Viperidae) по результатам секвенирования генов 12S рибосомной РНК и цитохромоксидазы III // Современная герпетология. 2007. Т. 7, вып. 1/2. С. 69–75.
16. 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.

УДК 633.174:58.084.1:581.1

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ И ОСОБЕННОСТЕЙ РАЗВИТИЯ ПРОРОСТКОВ ЗЕРНОВОГО СОРГО В УСЛОВИЯХ РАЗНОКАЧЕСТВЕННОГО ЗАСОЛЕНИЯ

В. В. Коробко, Д. П. Волков\*, Е. А. Жук\*, Р. В. Букарев

Саратовский государственный университет

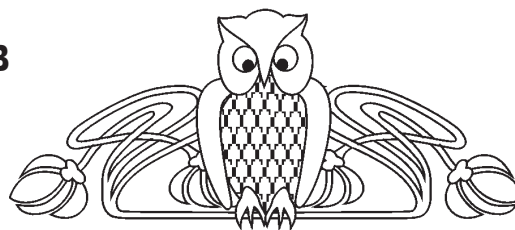
E-mail: v.v.korobko@mail.ru

\* ФГБНУ РосНИИСК «Россорго», Саратов

E-mail: rossorgo@yandex.ru

Определена всхожесть семян некоторых сортов зернового сорго в условиях различного засоления. Установлена степень устойчивости сортов к хлоридному, сульфатному и смешанному типам засоления. Выявлены некоторые особенности развития проростков сортов, различающихся по степени устойчивости к определенным типам засоления субстрата.

**Ключевые слова:** сорго, хлоридное засоление, сульфатное засоление, смешанное засоление, проросток, рост.



## The Salt Tolerance and Features of the Development of Seedlings of Some Varieties of Grain Sorghum in Various Types of Salinity

V. V. Korobko, D. P. Volkov, E. A. Zhuk, R. V. Bukarev

The authors determined the seed germination of some varieties of grain sorghum in different types of salinity. The degree of stability of