

## ЕСТЕСТВЕННАЯ ГИБРИДИЗАЦИЯ ГАДЮК ВОСТОЧНОЙ СТЕПНОЙ *VIPERA RENARDI* И ОБЫКНОВЕННОЙ *V. BERUS*

© 2011 А.В. Павлов<sup>1</sup>, А.И. Зиненко<sup>2</sup>, У. Йогер<sup>3</sup>, Н. Штумпель<sup>3</sup>, И.В. Петрова<sup>4</sup>,  
А.Л. Маленев<sup>5</sup>, О.В. Зайцева<sup>5</sup>, И.В. Шуршина<sup>5</sup>, А.Г. Бакиев<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Казанский (Приволжский) Федеральный университет, г. Казань (Россия)

<sup>2</sup>Музей природы Харьковского национального университета имени В.Н. Каразина, г. Харьков (Украина)

<sup>3</sup>Государственный Музей Естественной Истории Брауншвейга, г. Брауншвейг (Германия)

<sup>4</sup>Институт проблем экологии и недропользования Академии наук Республики Татарстан, г. Казань (Россия)

<sup>5</sup>Институт экологии Волжского бассейна РАН, г. Тольятти (Россия)

Поступила 03.03.2011

Гибриды гадюк восточной степной *Vipera renardi* и обыкновенной *V. berus* обнаружены в Спасском районе Республики Татарстан. Гибридизация данных видов в естественных условиях подтверждается результатами анализа ядерных генов *WASH-1* и *Rag-1*, а также биохимическими и морфологическими данными и, скорее всего, имеет интрогрессивный характер. Обсуждаются причины разрушения репродуктивной изоляции вблизи северной границы ареала степной гадюки и ее возможное значение для происхождения гадюки Башкирова *V. renardi bashkirovi*.

**Ключевые слова:** *Vipera renardi*, *Vipera berus*, гибридизация, интрогрессия, морфология, свойства яда, генетический полиморфизм.

К настоящему времени накоплено достаточно много сведений о гибридизации в естественных условиях между некоторыми видами гадюк рода *Vipera*, например, *V. berus* × *V. ammodytes* [17, 28], *V. berus* × *V. aspis* [15], *V. aspis* × *V. seoanei* [24], *V. aspis* × *V. latastei* [20]. Имеются и экспериментальные данные о гибридизации ряда видов в условиях неволи – *V. lotievi* × *V. renardi* и др. [13, 26].

Обыкновенную гадюку *V. berus* и восточную степную, или гадюку Ренарда *V. renardi* относят к разным комплексам видов (*berus* и *ursinii* соответственно), выделяемым внутри подрода *Pelias*. Эти два вида, несмотря на обширные и местами совмещенные ареалы, хорошо дифференцированы биотопически: обыкновенная гадюка предпочитает лесные биотопы, степная – открытые [5]. Тем не менее, в литературе имеются отдельные замечания о переходных морфологических признаках между *V. berus* и *V. renardi* у некоторых особей в районах симпатрии [9, 12].

В 2008 г. в Спасском районе Республики Татарстан выявлено синтопическое обитание *V. berus* и *V. renardi* [23].

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Местообитание.** Открытый материковый участок левобережья Волги, где отмечена син-

топия, занимает площадь 4,5-5,0 км<sup>2</sup>. С северной и северо-западной стороны он граничит с потоками и заводами Куйбышевского водохранилища, с южной и юго-восточной – с лесным широколиственным массивом, что определяет характер формаций, включающих ксерофильные, мезофильные и гигрофильные виды. Основу сообщества представляет антропогенно-производный «кустарниковый луг» со степными элементами, обилием рудеральной растительности и ракитником русским. Биотопические особенности в целом близки к таковым типовой территории гадюки Башкирова *V. renardi bashkirovi* [4, 11], находящейся менее чем в 15 км выше по течению, на о. Спасский [6]. Различия связаны главным образом с антропогенным воздействием, которое обусловлено выпасом скота, сенокосением и рекреацией на материковом участке, а также близостью широколиственного леса. Сопредельный лесной массив является местообитанием *V. berus*, откуда она проникает на территорию синтопии.

**Изученные экземпляры гадюк.** В августе 2008 г. на данной территории были обнаружены две беременные самки (цветная змея и меланист), у обеих имелось по одной апикальной чешуйке, соприкасающейся с межчелюстным щитком на верхнем переднем крае морды – диагностический признак *V. renardi* (у *V. berus* с ним соприкасаются две апикальные чешуйки). Цветная самка имела характерные для *V. renardi* ноздри, прорезанные в нижней части носового щитка; у черной самки ноздри прорезаны ближе к центру носового щитка, что характерно для *V. berus*. Отловленные самки содержались в неволе до момента рождения детенышей. Цветная самка родила 10 живых гадючат и одного мертвого 22

Павлов Алексей Владиленович, к.б.н., доц., zilant@ksu.ru; Зиненко Александр Иванович, к.б.н., в.н.с., zinenkoa@yahoo.com; Йогер Ульрих, доктор, проф., ulrich.joger@snhm.niedersachsen.de; Штумпель Николаус, nikolaus.stuempel@gmx.de; Петрова Инга Васильевна, н.с., avortepiv@gmail.ru; Маленев Андрей Львович, к.б.н., Зайцева Ольга Владимировна, асп.; Шуршина Инна Владимировна, асп.; Бакиев Андрей Геннадьевич, к.б.н., доц., с.н.с., herpetology@list.ru

августа 2008 г., черная – 7 живых и 6 мертвых 25 августа.

*Анализ морфологии.* Морфологию самок, потомства и сравнительных выборок анализировали, используя стандартные для гадюк признаки внешней морфологии и фолидоза. Измеряли длину тела, длину хвоста, отмечали тип окраски (криптическая или меланистическая), подсчитывали количество брюшных, подхвостовых щитков, рядов чешуй вокруг середины тела, количество верхне- и нижнегубных, апикальных, скуловых и чешуй вокруг глаза. В случае билатеральных признаков использовали сумму показателей с обеих сторон тела.

Данные по семи признакам щиткования (*Ventr.*, *Scd.*, *Sq.*, *Apical.*, *Supralab.*, *Sublab.*, *Cir.oc.*) анализировали с помощью программы Statistica 7.0. Для определения общего морфологического сходства анализируемых животных со степной и обыкновенной гадюками применяли канонический дискриминантный анализ. Для сравнения использовали выборки степной гадюки из Левобережной Украины и обыкновенной гадюки из России и Украины (Музей природы Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина), а также обыкновенной гадюки с Саралинского участка Волжско-Камского государственного природного биосферного заповедника (Лаишевский район Татарстана), собранных и обработанных прижизненно в 2006-2007 гг., и гадюк Башкирова с типовой территории, обработанных прижизненно в 2000-2001 гг.

*Протеолитическая активность яда.* Активность протеолитических ферментов в сухом ядовитом секрете обеих самок и некоторых особей из их потомства определяли с использованием казеина в качестве субстрата [21]. Инкубацию проводили в полиэтиленовых микропробирках при 37°C в течение 30 мин. Реакцию останавливали добавлением 5%-ной трихлоруксусной кислоты, отделяли осадок центрифугированием и при 670 нм измеряли оптическую плотность супернатанта. Удельную активность протеаз рассчитывали в мкг тирозина/мг белка в мин.

*Пептидный состав ядовитого секрета.* Электрофоретическое разделение пептидов яда проводили в вертикальных пластинах полиакриламидного геля в присутствии 0,1% SDS [18]. Концентрация акриламида в разделяющем геле составляла 12,5%, в концентрирующем – 5%. Разделение пептидов проводили с использованием трис-глицинового буфера ( $pH = 8,3$ ) при постоянном токе 25 мА в течение 4-5 часов. Затем гель фиксировали трихлоруксусной кислотой, окрашивали 0,1% Кумасси G-250, отмывали от красителя, сканировали и высушивали между двумя слоями целлулоидной пленки. В качестве маркеров молекулярного веса использовали стандартную смесь белков с известным молеку-

лярным весом («Dalton markers-VII», Sigma). Для расчета молекулярной массы и процентного содержания отдельных пептидов использовали программу «Gel Pro». Для сравнения с ядом обеих самок и их потомства взяты образцы яда гадюк из России: степной гадюки из Светлоярского района Волгоградской области (типичная территория *V. renardi*) и обыкновенной гадюки из Тоншаевского района Нижегородской области.

*Анализ последовательностей ДНК.* У трех гадюк из потомства черной самки с помощью набора DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen) экстрагировали тотальную геномную ДНК из образцов крови и тканей. До момента экстракции образцы хранили в 95%-ном этаноле.

Для подтверждения гибридного происхождения подходят любые менделевские признаки, отличающиеся у родительских форм. Гибридные особи, унаследовавшие от родителей разные аллели одного и того же гена, должны быть гетерозиготны и при секвенировании давать хроматограмму с двойными пиками в позициях, в которых есть отличия между последовательностями в аллелях между родительскими особями. Мы использовали кодирующие последовательности двух ядерных генов – Rag-1 (V(D)J recombination-activating protein 1, амплифицировали фрагмент 2420 пар нуклеотидов) и Bach-1 (Transcription regulator protein BACH1, амплифицировали фрагмент 1150 пар нуклеотидов), амплифицированные с помощью пар праймеров Bach1F Bach1R, Rag1F1 Rag1R1 (Stuempel, 2011, in litt.). Фрагменты 968 и 786 пар нуклеотидов были прочитаны с помощью праймера Rag1F1 и внутреннего праймера Bach1F2 для Rag-1 и для Bach-1 генов соответственно. Последовательности этих генов степной гадюки и предположительного второго родительского вида – обыкновенной гадюки – были секвенированы у представителей той же популяции степной гадюки с островов Спасского архипелага Zv28 и Zv29 и одной пробы обыкновенной гадюки be28 из окрестностей с. Березовая Старица Красновишерского района Пермского края.

Для амплификации ДНК использовали TaKaRa Ex Taq™ набор для полимеразной цепной реакции, состоящий из 2,5 µl 10XBuffer, 2 µl смеси dNTP, 2.5 U полимеразы, по 1 µl прямого и обратного праймеров в концентрации 10 пМ, 1 µl геномной ДНК, доведенной до объема 25 µl бидистиллированной водой. Условия ПЦР реакции для гена Rag-1 включали начальную денатурацию при 95°C 2 мин, с последующими 35 циклами нагрева до 94°C в течение 40 с., 60°C – 40 с., 72°C – 1,1 мин и финальной элонгации при 72°C 5 мин, Bach-1 – начальную денатурацию при 95°C 2 мин, с последующими 35 циклами нагрева до 94°C в течении 20 с., 58°C – 30 с., 72°C – 1,3 мин и финальной элонгации при

72°C – 5 мин. Продукты реакции охлаждали и хранили до дальнейшего использования при 8°C, очищали с помощью набора QIAquick PCR Purification Kit и секвенировали в коммерческой компании.

Полученные хроматограммы просматривали и редактировали с помощью CodonCode Aligner 2.0.1, двойные пики на хроматограмме кодировали вручную [14]. Последовательности выравнивали, используя программу ClustalW [27], встроенную в программу Bioedit 7.0.9 [16]. Аллели, входящие в состав гетерозиготных последовательностей, получали, используя стандартные настройки в программе Phase 2.1 встроенной в программу DnaSP 5.00 [19], и сравнительные гомозиготные последовательности обыкновенной и степной гадюк.

**Таблица 1.** Значения признаков фоллидоза выборок гадюк (среднее значение/объем выборки)

Выборка	<i>Apical.</i>	<i>Supralab. R+L</i>	<i>Sublab. R+L</i>	<i>Cir.oc. R.+L.</i>	<i>Lor. R+L</i>	<i>Sq. dorsalia</i>
<i>V. renardi</i> «west» [22]	1,03/29	17,80/29	20,27/29	18,02/29	8,71/29	21,71/29
<i>V. renardi</i> [22]	1,04/59	17,89/53	20,29/55	18,80/55	8,89/54	21,33/43
<i>V. r. bashkirovi</i>	1,00/9	18,34/9	20,56/9	19,89/9	9,33/9	21,00/9
Криптическая самка и ее потомство	1,35/10	18,18/11	20,55/11	18,55/11	9,27/11	21,00/11
Черная самка и ее потомство	1,92/13	17,33/12	20,33/12	17,82/11	6,70/10	20,93/14
Симпатрическая популяция <i>V. berus</i>	2,00/5	17,20/5	20,8/5	18,4/5	6,40/5	21,00/5
<i>V. berus</i> , Саралинский участок Волжско-Камского заповедника	2,00/50	17,22/50	20,06/50	16,88/50	5,50/50	20,93/50

**Таблица 2.** Протеолитическая активность яда гадюк из потомства светлой и черной самок

Потомство	Пол	Протеолитическая активность (мкг тирозина/мг белка в мин)
Светлой самки	♂	61,8
	♂	57,7
	♂	34,1
	♀	33,3
	♀	60,5
	♂	83,1
	♀	11,9
Черной самки	♂	21,7
	♂	72,8
	♀	59,2

Протеолитическая активность яда у светлой самки оказалась выше, чем у черной (67,7 и 41,6 мкг тирозина/мг белка в мин соответственно). Первое значение более характерно для восточной степной гадюки, а второе – для обыкновенной. По нашим данным [1-3], в Волжском бассейне яд *V. renardi* всегда имеет значения

## РЕЗУЛЬТАТЫ

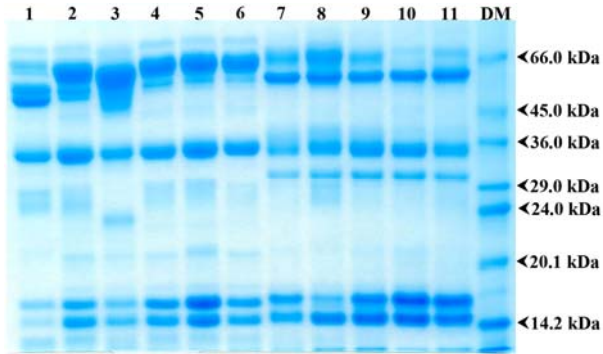
Потомство обеих самок имело промежуточный габитус между *V. renardi* и *V. berus*, диагностические для этих видов признаки (количество апикальных чешуй и расположение ноздри) оказались изменчивыми в пределах выводка (табл. 1). Так, в потомстве самки-меланиста один новорожденный имел единственную апикальную чешую, остальные – по две. У цветной самки 5 гадючат обладали одной апикальной чешуей, 2 новорожденных – двумя, у 3 апикальные чешуи были аномально сросшимися или деформированными, а у мертворожденного апикальная чешуя неразличима.

активности протеаз выше, а *V. berus* – ниже 50 мкг тирозина/мг белка в мин. Как видно из табл. 2, в потомстве обеих самок часть змей имеет протеолитическую активность яда, характерную для *V. renardi*, а часть – для *V. berus*.

**Пептидный состав яда.** Представленные на рис. 1 электрофореграммы №№ 2-6 ядов светлой самки и четырех детенышей из ее потомства имеют пептидный состав, характерный для *V. renardi*, а электрофореграммы №№ 7-10 ядов черной самки, новорожденной особи из потомства черной и двух новорожденных из потомства светлой самки – для *V. berus*. Таким образом, в потомстве одной самки одни особи продуцируют секрет с типичным пептидным составом яда обыкновенной гадюки, другие – восточной степной гадюки.

**Многомерный анализ признаков фоллидоза.** Предварительный сравнительный анализ по признакам внешней морфологии в выборках степных и обыкновенных гадюк и змей с территории симпатрического обитания показал их промежуточный характер (Павлов, Петрова, в печати). Перечень признаков и их значения в

сравниваемых группах гадюк представлены в табл. 1.

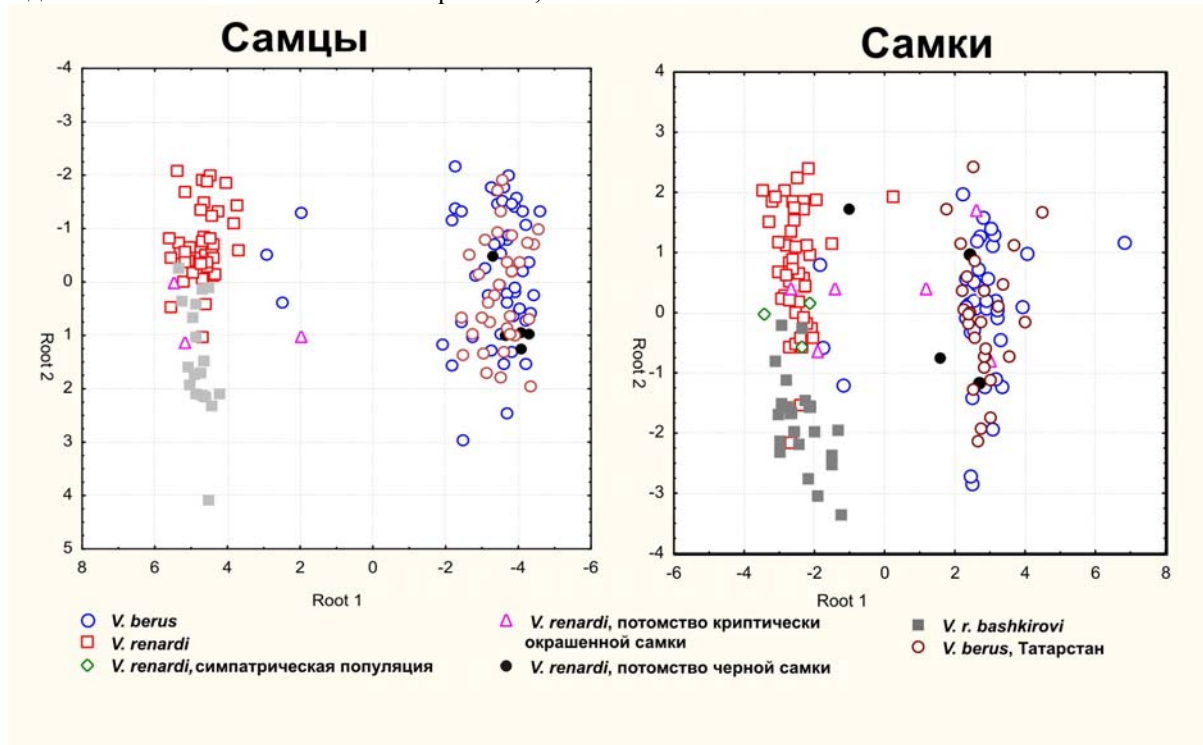


**Рис 1.** Картина электрофоретического разделения пептидов ядовитого секрета гадюк: 1 – *V. renardi* из Волгоградской области; 3 – светлая самка из Татарстана; 7 – черная самка из Татарстана; 2, 4-6, 9, 10 – потомство светлой самки; 8 – потомство черной самки; 11 – *V. berus* из Нижегородской области; DM – смесь маркерных белков

Результаты канонического дисперсионного анализа представлены на рис. 2. Сравнительные выборки обоих видов оказались хорошо разделены на графике вдоль оси X. Наибольшее влияние на разделение обыкновенной и степной гадюк в анализе оказывают такие признаки, как

количество апикальных щитков, число подхвостовых чешуй и количество верхнегубных щитков. Местные популяции степной гадюки *V. r. bashkirovi* с о. Спасский и обыкновенной гадюки с Саралинского участка Волжско-Камского заповедника показали сильное сходство со сравнительными выборками *V. renardi* и *V. berus* соответственно. Самки, от которых было получено предположительно гибридное потомство, были объединены в одну группу с другими степными гадюками, пойманными в том же месте, и также в целом демонстрируют близость к степной гадюке.

В отличие от них новорожденные особи заняли промежуточное положение на графике канонического дискриминантного анализа. Потомство черной самки на графике почти полностью оказалось в области, занятой выборкой обыкновенной гадюки. Точки, отражающие морфологию самок из потомства светлой степной гадюки, почти равномерно распределились между областями графика, характерными для обыкновенной и степной гадюк, а зона, занятая новорожденными самцами этой же самки, совпала с выборками степной гадюки.



**Рис. 2.** Расположение исследованных гадюк в пространстве двух первых корней канонической функции

**Последовательности ДНК ядерных генов.** Последовательности гена Rag-1 отличаются у обыкновенной и степной гадюк 9 мутациями в позициях 280 295 351 359 498 522 540 755 960. Двойные пики хроматограмм последовательностей гена Rag-1 у всех трех проанализированных экземпляров новорожденных от черной

самки оказались расположены в тех же местах и однозначно могут быть разложены на два аллеля, характерные степной и обыкновенной гадюкам.

Последовательности гена Vach-1 отличаются у обыкновенной и степной гадюк 7 мутациями в позициях 47 457 544 612 640 670 730. Двойные

пики хроматограмм последовательностей гена *Vach-1* у двух (ге21 и ге22) из трех особей предполагаемых гибридов оказались расположены в тех же местах и однозначно могут быть разложены на два аллеля, характерные степной и обыкновенной гадюкам. Проба ге23 оказалась гомозиготной по этому гену и имеет только аллель, характерный для обыкновенной гадюки.

Таким образом, все три экземпляра предположительного гибридного потомства гетерозиготны по одному или двум ядерным генам и являются гибридами между обыкновенной и степной гадюками. Наличие гомозиготной последовательности аллеля гена *Vach-1*, характерного обыкновенной гадюке, у новорожденной особи ге23 возможно только при условии рекомбинации в организме одного из ее родителей геномов обыкновенной и степной гадюки и говорит о том, что данная особь является гибридом второго или последующего поколений.

### ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные однозначно говорят о промежуточном положении между обыкновенной и степной гадюками изученного потомства и дают достаточно оснований, чтобы считать естественную гибридизацию между этими видами фактически подтвержденной.

Вместе с тем, наибольший интерес представляет собой вопрос о характере гибридизации. Гибриды, в том числе и между удаленными друг от друга филогенетически «хорошими» видами, у гадюк известны давно, и сам факт регистрации первого поколения гибридов ни о чем, кроме ее принципиальной возможности, не говорит. Гораздо большее значение для гибридизирующих форм имеет генная интрогрессия за счет возвратных скрещиваний гибридов с родительскими особями, степень фертильности и жизнеспособности гибридного потомства, способности его конкурировать с родительскими видами или приобретать свою собственную экологическую нишу, отличную от ниш родительских видов.

Хотя на данный момент сведения о популяции, в которой были отловлены обе самки, весьма отрывочны, гибридный характер потомства у обеих самок говорит о том, что событие это, скорее всего, не редкое. Более того, черная самка сама представляет собой гибридную особь: белковый спектр ее ядовитого секрета имеет фракции, характерные для обыкновенной гадюки, внешняя морфология также имеет черты, сближающие ее с обыкновенной гадюкой, ее потомство больше смещается к обыкновенной гадюке по результатам многомерного анализа признаков фоллидоза по сравнению с гибридным потомством криптически окрашенной особи. Кроме того, наличие в ее потомстве одного экземпляра, имеющего гомозиготную последовательность гена по последовательности гена

*Vach-1* и в то же время гетерозиготную последовательность гена *Rag-1*, возможно лишь в случае рекомбинации геномов степной и обыкновенной гадюк у одного из родителей. Пониженная фертильность, хотя и не является специфическим индикатором гибридного дисгенеза, тем не менее также наблюдалась в экспериментах на зеленых ящерицах у возвратных гибридов [24].

Находка естественной гибридной зоны между степной и обыкновенной гадюками в непосредственной близости от типовой территории гадюки Башкирова, уклоняющейся по своей морфологии от большинства популяций восточной степной гадюки и имеющей довольно необычную для степной гадюки экологию, ставит вопрос об интрогрессии как возможной причине такой специфики. На о. Спасский у степной гадюки достаточно высока частота аномалий фоллидоза, что ранее объяснялось разбалансированностью развития [6], в качестве причин которой рассматривались инбридинг в малочисленной изолированной популяции и субоптимальные условия существования в крайней северной популяции вида. Однако и это, и большая изменчивость признаков внешней морфологии (в том числе и наличие цветковых форм, уникальных для этой популяции степной гадюки) также может быть следствием интрогрессивной гибридизации. Можно упомянуть, что уродства и аномалии отмечены в гибридном потомстве гадюки Никольского и номинативной формой обыкновенной гадюки [7]. Другая особенность гадюки Башкирова связана с распределением цветковых форм среди самцов и самок [6, 10]: среди самцов доля меланистов составляет более 60%, среди самок – около 40%. Подобная тенденция выявлена в проявлении окраски у гибридного потомства при скрещивании подвидов *V. b. berus* и *V. b. nikolskii*: у самцов черная окраска проявляется в онтогенезе раньше и устанавливается полностью в более раннем возрасте, чем у самок, которые и во взрослом состоянии сохраняют светлые элементы окраски [7]. Таким образом, соотношение меланистов и криптически окрашенных гадюк полов в популяции *V. r. bashkirovi* может быть результатом различий в проявлении меланизма между полами, а сам факт наличия меланистов может объясняться интрогрессией генов обыкновенной гадюки.

Механизмы репродуктивной изоляции у гадюк изучены недостаточно, но в целом поведенчески и физиологически виды изолированы слабо, что и является причиной большого количества межвидовых гибридов у мелких европейских гадюк. На большей части территории, где ареалы степной и обыкновенной гадюк перекрываются, эти виды хорошо разобщены экологически. Однако оба этих вида демонстрируют

определенное сходство в выборе микробиотопа, предпочитая открытые экотонные участки с хорошей освещенностью, наличием убежищ и т.п. [4, 29]. Возле границы своего ареала перечень открытых биотопов, доступных для степной гадюки, становится ограниченным, в то время как находящаяся в центре своего ареала обыкновенная гадюка должна иметь здесь наибольший спектр занимаемых биотопов. Все это приводит к тому, что ниши этих видов перекрываются и становится возможным синтопия, а вместе с ней – и интрогрессивная гибридизация.

Гибридизация и интрогрессия традиционно рассматривались в зоологии как негативные явления для биологического вида: интрогрессия разрушает адаптивный комплекс генов, характерный для вида и обеспечивающий его успешное существование в пределах своей экологической ниши, если не снижает жизнеспособности популяции прямо из-за гибридного дисгенеза, пониженной фертильности гибридов и т.п. [8]. Однако гены другого вида могут быть полезны для краевых популяций вида, существующих в экстремальных условиях, а негативные последствия гибридизации могут быть скомпенсированы заимствованием потенциально адаптивных признаков, таких как черная окраска. Такая ситуация полностью соответствует тому, что наблюдается в популяции гадюки Башкирова в Татарстане, и дальнейшее ее изучение сможет подтвердить или опровергнуть эту гипотезу и определить значение интрогрессивной гибридизации для эволюции гадюк.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бакиев А.Г., Гаранин В.И., Павлов А.В., Шуришина И.В., Маленев А.Л. Восточная степная гадюка *Vipera renardi* (Reptilia, Viperidae) в Волжском бассейне: материалы по биологии, экологии и токсинологии // Бюл. «Самарская Лука». 2008. Т. 17, № 4. С. 817-845.
2. Бакиев А.Г., Маленев А.Л., Зайцева О.В., Шуришина И.В. Змеи Самарской области. Тольятти: Кассандра, 2009. 170 с.
3. Бакиев А.Г., Маленев А.Л., Четанов Н.А., Зайцева О.В., Песков А.Н. Обыкновенная гадюка *Vipera berus* (Reptilia, Viperidae) в Волжском бассейне: материалы по биологии, экологии и токсинологии // Бюл. «Самарская Лука». 2008. Т. 17, № 4. С. 759-816.
4. Бакин О.В., Павлов А.В. К характеристике экотопов степной гадюки – *Vipera ursinii* (Bonaparte, 1835) на северном пределе ее ареала // Актуальные экологические проблемы Республики Татарстан. Казань, 2000. С. 23-24.
5. Гаранин В.И. Земноводные и пресмыкающиеся Волжско-Камского края. М.: Наука, 1983. 175 с.
6. Гаранин В.И., Павлов А.В., Бакиев А.Г. Степная гадюка, или гадюка Ренарда (Christoph, 1861) // Змеи Волжско-Камского края. Самара: СамНЦ РАН, 2004. С. 61-90.
7. Зиненко А.И. Гибриды первого поколения между гадюкой Никольского, *Vipera nikolskii*, и обыкновенной гадюкой *Vipera berus* (Reptilia, Serpentes, Viperidae) // Вестник зоологии. 2003. Вып. 37, № 1. С. 101-104.
8. Майр Э. Зоологический вид и эволюция. М.: Мир, 1968. 598 с.
9. Никольский А.М. Фауна России и сопредельных стран: Пресмыкающиеся (Reptilia). Т. 2. Ophidia. Петроград, 1916. 350 с.
10. Павлов А.В. Особенности морфологии степной гадюки *Vipera ursini* на северной границе ареала // Актуальные проблемы герпетологии и токсинологии: Сб. науч.тр. Вып. 3. Тольятти, 1999. С. 76-81.
11. Павлов А.В., Бакин О.В. О находках степной гадюки (*Vipera ursinii*) на островах Куйбышевского водохранилища // Вопросы герпетологии. Пушино, 2001. С. 220-222.
12. Цемпи І.О. До систематики та географічного поширення амфібій та рептилій на Україні // Студенські наукові праці. № 4. Київський Державний Університет ім. Т.Г. Шевченка. 1939. С. 103-117.
13. Ширяев К.А. Исследования репродуктивной биологии гадюк рода *Vipera* в Тульском областном экзотариуме // Змеи Восточной Европы: Материалы междунар. конф. Тольятти, 2003. С. 90-92.
14. Cornish-Bowden A. IUPAC-IUB symbols for nucleotide nomenclature // Nucl. Acids Res. 1985. V. 13. P. 3021-3030.
15. Duguay R, Martinez Rica J-P, Saint Girons H. La repartition des viperes dans les Pyrenes et dans les regions voisines de l'Espagne // Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse. 1979. № 115. P. 359-377.
16. Hall T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucl. Acids. Symp. Ser., 1999. P. 41, 95-98.
17. Ispas G., Ghira I., Rakosy L., Kirsch M. An improved method to analyze snake chromosome complement // Evolution and Adaptation. 2000. T. 6. P. 157-160.
18. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. 1970. V. 227. P. 680-685.
19. Librado P., Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data // Bioinformatics. 2009. V. 25. P. 1451-1452.
20. Martinez F., Brito J.C., Lizanaavia M. Intermediate forms and syntopy among vipers (*Vipera aspis* and *V. latastei*) in Northern Iberian Peninsula // Herpetol. bull. 2006. № 97. P. 14-18.
21. Murata Y., Satake M., Suzuki T. Studies on snake venom. XII. Distribution of proteinase activities among Japanese and Formosan snake venoms // J. Biochem. 1963. V. 53, № 6. P. 431-437.
22. Nilson G., Andrén C. The meadow and steppe vipers of Europe and Asia – The *Vipera (Acridophaga) ursini* complex // Acta zool. Acad. Sci. Hungaricae. 2001. V. 47, № 2-3. P. 87-267.
23. Pavlov A., Petrova I., Malenyov A., Bakiev A., Shurshina I. First data on the syntopic habitat of steppe viper (*Vipera renardi*) and adder (*Vipera berus*) and chance for their hybridization // 3 Biology of the Vipers Conference. University of Pisa, Italy, 2010. P. 50-51.
24. Rykena S. Experimental hybridization in Green Lizards (*Lacerta s. str.*), a tool to study species boundaries. Merntensiella. 2001. V. 13. P. 78-88.
25. Saint Girons H. Morphologie comparée des hybrides de *Vipera seoanei* Lataste, 1879 x *Vipera aspis* (L.) // Amphibia-Reptilia, Leiden. 1990. V. 11, № 2. P. 197-200.
26. Shiryayev K.A. New Data on Reproductive Biology of Caucasian Species of the Genus *Vipera* // Herpetologia Petropolitana. Saint-Petersburg, 2005. P. 213-215.
27. Thompson J.D., Higgins D.G., Gibson T.J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, posi-

- tions-specific gap penalties and weight matrix choice // Nucleic Acids Res. 1994. V. 22. P. 4673-4680.
28. Venczel M., Ghira I. A preliminary study on the osteology of nose-horned viper (*Vipera ammodytes ammodytes* L. 1758) from Boiu de Sus, Romania. // «Sargetia» Series Scientia Naturae. 1994. V. XVI. P. 145-150.
29. Völkl W., Thiesmeier B. Die Kreuzotter: ein Leben in festen Bahnen? Bielefeld: Laurenti-Verl., 2002. 159 S.

## NATURAL HYBRIDIZATION OF THE EASTERN STEPPE VIPER *VIPERA RENARDI* AND THE COMMON ADDER *V. BERUS*

© 2011 A.V. Pavlov<sup>1</sup>, O.I. Zinenko<sup>2</sup>, U. Joger<sup>3</sup>, N. Stümpel<sup>3</sup>, I.V. Petrova<sup>4</sup>, A.L. Malenyov<sup>5</sup>, O.V. Zaitseva<sup>5</sup>, I.V. Shurshina<sup>5</sup>, A.G. Bakiev<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Kazan Federal University, Kazan (Russia)

<sup>2</sup>The Museum of Nature at V. N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv (Ukraine)

<sup>3</sup>Staatliches Naturhistorisches Museum Braunschweig, Braunschweig (Germany)

<sup>4</sup>Institute of Problems of Ecology and Earth interior utilization of Academy of Science of Tatarstan Republic, Kazan (Russia)

<sup>5</sup>Institute of Ecology of Volga river Basin of Russian Academy of Science, Togliatti (Russia)

Natural hybrids between *V. berus* and *V. renardi* were found in Spassk district of Tatarstan Republic. Hybridization is confirmed by results of sequencing of nuclear genes BACH-1 and Rag-1, as well as biochemical and morphological data and apparently is introgressive. Causes of absence of reproductive isolation near northern border of distribution of Steppe viper are discussed. Hybridization and its potential significance for origin of Bashkirov viper *V. renardi bashkirovi* is considered.

**Key words:** *Vipera renardi*, *Vipera berus*, hybridization, introgression, morphology, characteristics of venom, genetic polymorphism.

---

Pavlov Alexey Vladilenovich, PhD. biol., Associated Professor, zilant@ksu.ru; Zinenko Oleksandr Ivanovych, PhD. biol., leading scientist; Joger Ulrich, Doctor, Professor, Director, ulrich.joger@snhm.niedersachsen.de; Stümpel Nikolaus, nikolaus.stuempel@gmx.de; Petrova Inga Vasilyevna, research worker, avortepiv@gmail.ru; Malenyov Andrey Lvovich, PhD. biol., Head of laboratory; Zaitseva Olga Vladimirovna, post-graduate student; Shurshina Inna Vladimirovna, post-graduate student; Bakiev Andrey Gennadievich, PhD. biol., dozent, Senior scientist, herpetology@list.ru