

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра морфологии и
экологии животных

ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ СВЯЗИ
MESOBUTHUS EUPEUS (C.L. KOCH, 1839)
НИЖНЕГО ПОВОЛЖЬЯ

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студента 4 курса 423 группы
Специальности 06.03.01 – Биология
Биологического факультета
Поверенного Никиты Максимовича

Научный руководитель:

д.б.н., профессор



В.В. Аникин

Зав. кафедрой морфологии и экологии животных:

д.б.н., профессор



Саратов 2017

Г.В. Шляхтин

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Многие виды скорпионов хорошо известны уже на протяжении 2000 лет и описаны во множестве литературных источниках как массовые, широко распространенные виды членистоногих. Тем не менее, отдельные таксоны до сих пор остаются мало изученными. Так, внутри массового рода *Mesobuthus*, с течением времени в условиях, например географической изоляции (или других факторов), могли формироваться новые таксономические единицы (подвиды и даже виды).

Цели и задачи исследования

Целью работы является выявление филогенетических связей вида *Mesobuthus eurus* с территории Нижнего Поволжья с другими таксонами рода *Mesobuthus* и определение таксономического статуса скорпионов, обитающих на территории Саратовской области (памятника природы «Нижне-Банновский»), Астраханской области («Богдинско-Баскунчакский» заповедника), Волгоградской области (природного парка «Щербаковский»). Для достижения

цели были поставлены следующие *задачи*:

1. Провести анализ научных источников по данному вопросу;
2. Установить современные места обитания исследуемых таксонов на территории Нижнего Поволжья (в ООПТ – Богдинско-Баскунчакского заповедника, Астраханская обл., Ахтубинский р-н; памятника природы «Нижне-Банновский», Саратовская область, Красноармейский район, природного парка «Щербаковский», Волгоградская область, Камышинский район);
3. Выявить морфологические особенности представителей рода *Mesobuthus*, обитающих на территории Нижнего Поволжья;

4. Установить особенности экологии представителей рода *Mesobuthus*;
5. Сделать множественный анализ нуклеотидных последовательностей ДНК по гену *COI* с привлечением данных Gen Bank по видам рода *Mesobuthus*;
6. Определить филогенетические связи исследуемых скорпионов *Mesobuthus eurus* Нижнего Поволжья с другими видами рода *Mesobuthus*;

Научная новизна

Впервые проведён комплексный анализ *Mesobuthus eurus* с учётом внешней морфологии имаго, экологических предпочтений, молекулярно-генетического анализа.

Теоретическое и практическое значение работы

Результаты работы вносят вклад в изучение систематики, филогении, биологии и распространения представителей вида *Mesobuthus eurus* в Европейской части ареала. Анализ распространения ряда таксонов позволил дополнить существующую картину зоогеографического районирования. Большинство представителей рода, встречаются на территории ареала очень локально. Как показали современные данные иностранных учёных, некоторые виды рода подвержены сильной антропогенной нагрузке при уничтожении местообитаний (при выпасе скота, пожаре степной растительности и т.п.) поэтому сохранение видов, их мест обитания, особенно на границах ареала (север и северо-восток), является важной составляющей в природоохранном аспекте этого вопроса и заслуживает внимания при утверждении видов необходимых для внесения в региональные Красные книги Нижнего Поволжья (Калмыкии, Астраханской и Волгоградской областей).

Краткая характеристика материалов. Во введении сформулирована актуальность работы, поставлены цель и задачи исследований, определена

научная новизна, теоретическое и практическое значение работы. Первая глава «История изучения представителей рода *Mesobuthus*» посвящена обзору литературы по изучаемым видам скорпионов. Вторая глава «Материалы и методы исследования» посвящена методам сбора скорпионов; выделению ДНК; очистке ДНК; амплификации; обработке результатов сиквенсов с помощью множественного анализа ДНК. В третьей главе «Морфология имаго представителей вида и ее филогенетическое значение» описана морфология различных представителей рода *Mesobuthus*. В четвёртой главе «Распространение видов и центры видового разнообразия рода *Mesobuthus* в мире» описано распределение рода и его разнообразие в разных странах мира. В пятой главе «Места обитания видов рода *Mesobuthus* в Нижнем Поволжье» обозначены точки местонахождения представителей рода *Mesobuthus* в трёх регионах Нижнего Поволжья. Шестая глава «Питание и экология представителей рода *Mesobuthus*» посвящена описанию мест обитания, питанию и активности скорпионов в разное время суток. В седьмой главе «филогенетические связи представителей рода *Mesobuthus* на основе молекулярно-генетического анализа данных» представлены выводы на основе результатов морфологических, молекулярно-генетических исследований иностранных учёных, посвящённых филогенетическим связям. В восьмой главе «Результаты исследований» представлены результаты морфологического и множественного анализа сиквенсов выделенной ДНК представителей рода *Mesobuthus*. На основании проделанной работы сделаны выводы.

Структура и объем работы. Работа изложена на 43 страницах машинописного текста и включает в себя введение, 8 глав с 14 рисунками, выводы и 5 приложений. Список использованных источников содержит 41 наименование.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1 История изучения представителей рода *Mesobuthus*.

В данной главе рассматриваются литературные источники, посвященные по изучаемым видам скорпионов. Приводятся данные о первых исследованиях с XIX века с 1839 года. Рассматриваются вопросы изучения морфологии и географического распространения скорпионов в мире. Также рассматривается взгляд на положение рода *Mesobuthus* и вида *Mesobuthus eupeus* в системе семейства *Buthidae*. В 1837 году Кох систематизировал семейство *Buthidae*, где изначально вид «*eupeus*» он отнёс к роду *Androctonus*. Впервые этот вид был описан в книге «System der bayerischen Zoologie Die Arachniden – Band 5» выпущенной 1839 году. Бируля в 1900 году отнес этот вид к роду *Buthus*. Позже в 1950 году французский зоолог Макс Вашон разделил род *Buthus* (Leach, 1815) и выделил из него самостоятельный род *Mesobuthus*. Вашон повторно изучил вид отнёс его *eupeus* к роду *Mesobuthus*. Приводятся данные по нахождению скорпиона в Нижнем Поволжье где впервые был описан инфратаксон *Mesobuthus eupeus bogdoensis* Бирулей в 1896 в Астраханской области в окрестностях горы Богдо [6], а уже в 1905 году им же был найден в окрестностях села Нижняя Банновка и описан инфратаксон *Mesobuthus eupeus volgensis*.

В Волгоградской области о месте нахождения скорпиона вида *Mesobuthus eupeus*. Было известно из очерка «Долина реки Щербаковки - замечательный уголок Нижнего Поволжья» К.А. Гребенникова. В нём он описывает северные склоны природного парка «Щербаковский» как каменистую полупустыню. Также Гребеников отмечает, что Волгоградская популяция является самой северной.

В Саратовской области места обитания скорпионов известны только из Красноармейского района. По области проходит северо-восточная граница ареала вида *Mesobuthus eupeus*. Работа о нахождении мест обитания данного

вида была написана В.В. Аникиным в 1997. Им дано эколого-флористическое описание местообитания *Mesobuthus eupeus*. Особи данного вида предпочитают селиться на выходах мела по берегу реки Волги, на крутых обрывистых берегах.

1 Материал и методы исследования

Работа проводилась на базе кафедры морфологии и экологии животных и лаборатории молекулярной биологии биологического факультета Саратовского государственного национального исследовательского университета имени Н. Г. Чернышевского.

1.1 Материалы исследования

Объектом исследования является пёстрый скорпион *Mesobuthus eupeus* (C.L. Koch 1839).

Сборы материала проводились в апреле-сентябре 2014-2015г. на территории Саратовской области, памятника природы «Нижне-Банновский», Астраханской области на территории «Богдинско-Баскунчакского» заповедника в окрестностях горы Богдо, Волгоградской области на территории природного парка «Щербаковский». Всего было собрано и зафиксировано 23 экземпляра.

1.2 Методы исследования

Сбор материала проводился с помощью пинцета и контейнера. 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 сбора насекомых.

В нашей работе для молекулярно-генетического анализа был выбран ген цитохром С оксидазы субъединица I, к которому были подобраны специфические праймеры. ДНК была выделена из метасомы скорпиона с помощью набора «Diatom Prep 100» производства ООО «Лаборатория

Изоген» (г. Москва, РФ) по соответствующим протоколам. Электрофорез проводился с помощью электрофоретической ванны методом геля электрофореза. Электрофорез показал, что размер фрагментов выделенной ДНК в среднем составляет 7000-10000 пар нуклеотидов. ПЦР реакция была поставлена с помощью прибора для ПЦР в реальном времени «АНК-32». ДНК была очищена от посторонних примесей ферментативным методом с использованием набора SAP-Eco Kit фирмы Jena Bioscience GmbH, Германия (дистрибьютер - ООО «Спутник-К», Россия). В качестве ферментов были использованы: щелочная фосфатаза креветки (термолабильная), Экзонуклеаза I (термолабильная). Секвенирование ПЦР-продуктов осуществлялось с помощью генетического анализатора «НАНОФОР-05».

Множественный анализ проводился с помощью программы MEGA 6 [приложение 6]. Филогенетическое древо было построено методом статистического конструктора UPGMA, филогенетический тест Оценка достоверности полученной топологии выполнялась с использованием bootstrap-теста в 1000 повторностях (Felsenstein, 1985). Расчет границ нуклеотидной изменчивости выполнялся в пакете программ Statistica 8. Поддержка бутстреп составляет: у первого кластера – 67%, у второго – 47%, у первого субкластера – 62%, у второго – 26%, у третьего – 56% . 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. eureus* (2), 13 образцов подвида *M. e. thersites* (1,5), 6 у вида *M. e. phillipsi* (7), 1 у вида *M. caucasicus* (6).

3. Результаты исследований

3.1 Результаты морфологического анализа представителей рода *Mesobuthus*, собранных в Нижнем Поволжье

По результатам морфологического анализа определено, что у скорпиона длина тела 3 см. Головогрудь 4 мм, переднебрюшие 10 мм, заднебрюшие 16 мм. Тело вместе с конечностями имеет тёмно-песочный оттенок. На анальной доле два зубчика. На третьем каудальном сегменте (длина 2 мм) 8 зубчиков, задний концевой зубчик сильно увеличен, имеет форму конуса. Высота третьего каудального сегмента (1,7 мм) меньше, чем нижние кили того же сегмента (2 мм). Вентральная поверхность метасомы (пятый членистый постабдомен) сглажена. На цефалотораксе неотчётливый узор в виде тупых вершин разорванного по центру треугольника с отростками, соединяющимися по центру в петлевидное основание. За ним располагается трапецевидная фигура с параллельно-поперечными линиями, соединяющимися в центре. У пятого каудального сегмента высота меньше, длины остальных каудальных сегментов и он темнее остальных.

3.2 Результаты множественного анализа

Проведённый нами анализ, на основе сделанных сиквенсов наших образцов и данных Gen Bank (5 образцов подвида *M. e. philippovitschi* (3), 3 номинативного подвида *M. e. eurus* (2), 13 образцов подвида *M. e. thersites* (1,5), 6 вида *M. e. phillipsi* (7), 1 вида *M. caucasicus* (6)) показал, наличие двух 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 ирано-турецкими популяциями *M. caucasicus* (6) и *M. e. phillipsi* (7).

В целом, как видно на древе казахско-волжские изученные популяции скорпионов не имеют близких связей с кавказскими, т.е. распространение казахско-волжского таксона шло, несомненно, с востока, а не с юго-запада.

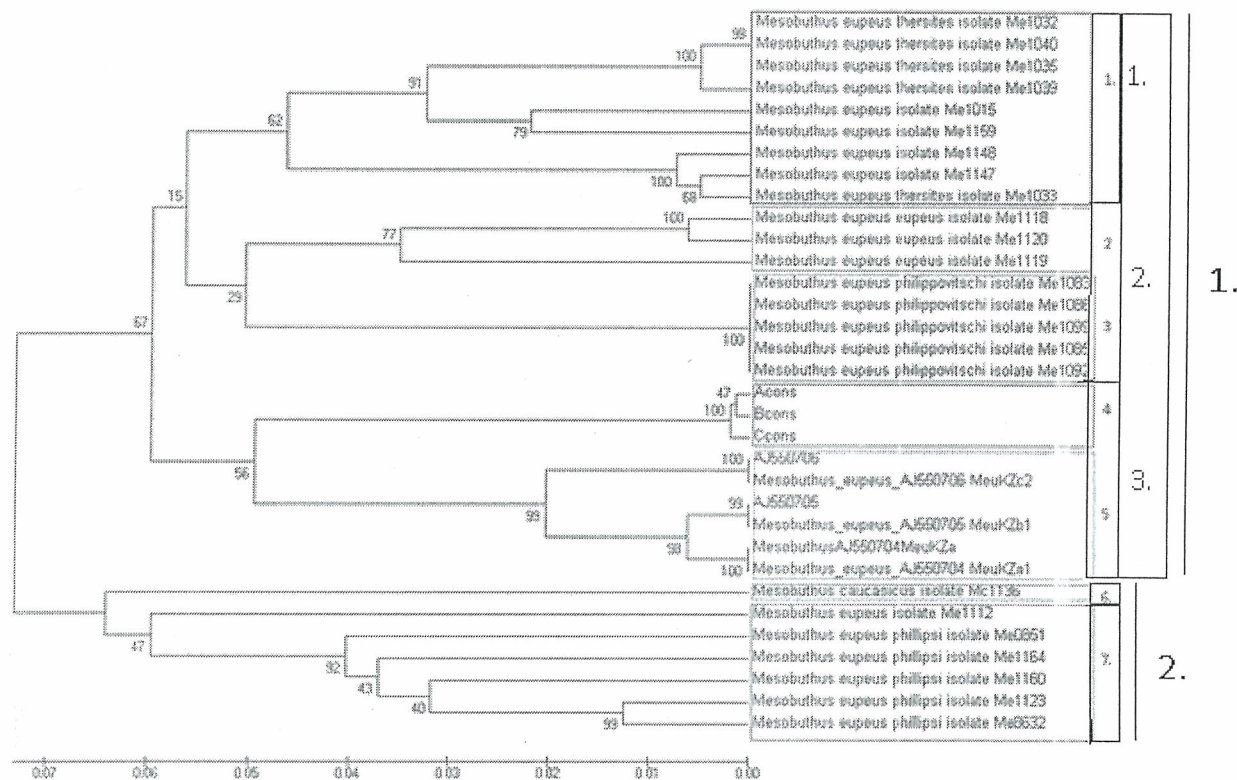


Рисунок 1 – результаты множественного анализа ДНК представителей рода *Mesobuthus*.

Таким образом, нами установлено, что скорпион, обитающий на территории Нижнего Поволжья, представляет собой самостоятельный таксон и, исходя из географического положения, особенностей морфологии и молекулярно-генетических данных по нему, претендует на статус самостоятельного вида.

ВЫВОДЫ

1. Анализ литературных источников показал (существует всего 5 работ) крайне слабую изученность данного вопроса.
2. Материал собранный на территории Богдинско-Баскунчакского заповедника (Астраханская обл., Ахтубинский р-н), памятника природы «Нижне-Банновский» (Саратовская обл, Красноармейский район) природного парка «Щербаковский» (Волгоградская обл., Камышинский р-н) позволил установить места современного обитания скорпионов по северной границе своего ареала в Европейской части России.
3. К особенностям морфологии скорпионов рода *Mesobuthus* обитающих на территории Нижнего Поволжья относятся: тело вместе с конечностями имеет тёмно-песочный оттенок, на анальной доле имеется два зубчика, на третьем каудальном сегменте (длина 2,5 мм) имеется 8 зубчиков, задний концевой зубчик сильно увеличен и имеет форму конуса. Высота третьего каудального сегмента (2 мм) меньше, чем нижние кили того же сегмента (2,5 мм), а вентральная поверхность метасомы (пятый членистый постабдомен) гладкая. На цефалотораксе есть неотчётливый узор, из закруглённых тупых вершин треугольника. У пятого каудального сегмента высота (1,7 мм) меньше длины (2,5 мм) каждого из остальных каудальных сегментов и он темнее остальных.
4. Скорпионы на территории Нижнего Поволжья обитают исключительно в субаридных ландшафтах сухих степей Левобережья и в степных ландшафтах на меловых субстратах приволжских венцов правого берега р. Волги. Активно охотятся на протяжении всей ночи на кузнечиков (*Orthoptera*), тараканов (*Blattoptera*), пауков (*Araneae*), а при случайных встречах могут питаться мухами (*Diptera*) и фалангами (*Solifugae*).

5. Как показала филограмма, построенная на основе данных сиквенсов по гену *COI* изученные популяции скорпионов не имеют близких связей с кавказским видом, т.е. распространение казахско-волжского таксона шло, несомненно, с востока, а не с юго-запада, как можно было бы предположить ранее.
6. Вид скорпиона обитающего на территории Нижнего Поволжья, исходя из его распространения, особенностей морфологии и молекулярно-генетических данных, представляет собой самостоятельный таксон.

