

УДК 575.174.015.3

МОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА И ПОЛИМОРФИЗМ
МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ КАВКАЗСКИХ СКАЛЬНЫХ ЯЩЕРИЦ
Darevskia raddei ПОПУЛЯЦИИ “ЕРЕВАН” ИЗ АРМЕНИИ

© 2022 г. И. А. Мартиросян¹ *, А. А. Валяева^{1, 2}, М. С. Аракелян³, А. П. Рысков¹

¹Институт биологии гена Российской академии наук, Москва, 117334 Россия

²Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, Москва, 127434 Россия

³Ереванский государственный университет, Ереван, 0025 Армения

*e-mail: irena-m@yandex.ru

Поступила в редакцию 23.11.2021 г.

После доработки 26.11.2021 г.

Принята к публикации 30.11.2021 г.

Анализ полиморфизма микросателлитных локусов ядерного генома популяции *Darevskia raddei* г. Ереван позволил установить принадлежность этой популяции к подвиду *Darevskia raddei nairensis*.

Ключевые слова: микросателлитные локусы, полиморфизм, популяция, подвид.

DOI: 10.31857/S0016675822040087

Кавказские скальные ящерицы вида *Darevskia raddei* обитают на территории Армянского нагорья и представлены четырьмя подвидами (в том числе *D. raddei raddei* и *D. raddei nairensis*) [1], которые участвуют в образовании различных партеногенетических видов [2]. Установление принадлежности популяции к тому или иному подвиду представляет особый интерес. Таксономическое положение двух форм скальных ящериц рода *Darevskia raddei* “*nairensis*” и “*raddei*” вызывает споры уже давно [1, 3, 4]. Однако даже среди популяций, относимых И.С. Даревским к подвиду “*nairensis*” [5], особи ереванской популяции выделяются своими малыми размерами. К примеру, в нашей выборке длина тела (SVL) составила 52.91 мм ± 6.56 для 12 половозрелых самок и 56.30 мм ± 4.59 – для 15 взрослых самцов, при средней длине тела для вида 67 мм согласно данным И.С. Даревского [5]. Две формы “*nairensis*” и “*raddei*” отделены друг от друга не только по характерной окраске и рисунку, но и по способу удерживания самки во время спаривания, самцы формы “*raddei*” удерживают самку за бока тела, а самцы “*nairensis*” исключительно за бедро самки [5]. В ереванской популяции ящериц преобладает поза спаривания, характерная для “*nairensis*”, однако общие характеристики окраски и их размеры не являются характерными для этой формы. Следовательно, принадлежность этой популяции к одной из форм остается под вопросом, хотя исторически она числится под названием “*nairensis*”.

Цель настоящей работы – изучение молекулярной структуры и полиморфизма нестабильных ядерных локусов Du47G (GATA)_n и sc12962 (GCT)_n *D. raddei* популяции г. Ереван (“Ереван”). Микросателлитные локусы были получены на основе анализа геномной библиотеки партеногенетического вида *Darevskia unisexualis* [6], а также результатов полногеномного секвенирования ДНК партеногенетического вида ящериц *D. unisexualis* и его родительских видов *D. raddei* и *D. valentini*. Полиморфизм локусов изучался с помощью локус-специфической ПЦР с дальнейшим фракционированием продуктов амплификации в акриламидном геле и секвенированием индивидуальных фрагментов ДНК. Локусы Du47G и sc12962 были выбраны на основании ранее полученных результатов по изучению полиморфизма микросателлитных локусов у ящериц рода *Darevskia* [7–10]. Локус Du47G ранее был использован для установления видовой принадлежности анонимных образцов ДНК кавказских скальных ящериц [11]. Du47G содержит (GATA)_n микросателлитный кластер и в популяциях *D. raddei* представлен 11 аллельными вариантами. Особи подвида *D. r. nairensis* гомозиготны по Du47G и локус является мономорфным, в то время как среди особей *D. r. raddei* встречаются как гомозиготные, так и гетерозиготные особи. Локус sc12962 содержит (GCT)_n-микросателлит, согласно результатам фрагментного анализа данный локус представлен шестью аллельными вариантами, образующими девять генотипов. Аллели локуса sc12962 различаются под-

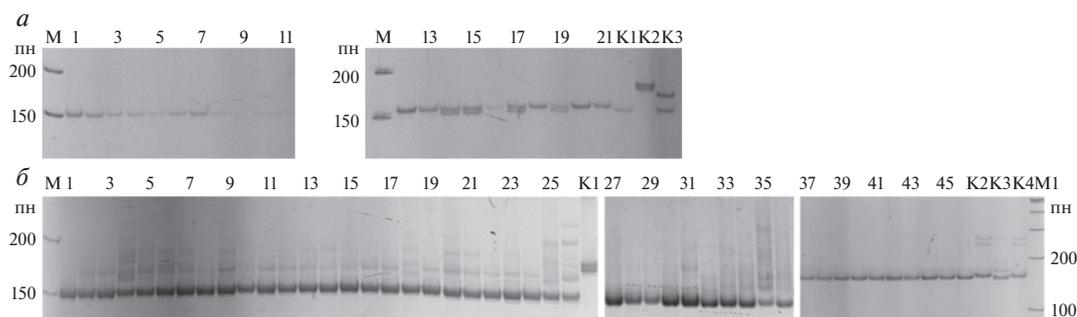


Рис. 1. Электрофоретическое фракционирование продуктов амплификации локуса Du47G особей *D. raddei*. *a*: дорожки 1–11 – особи *D. r. nairensis*, дорожки 12–21 – особи *D. r. raddei*, М – молекулярный маркер 50 bp (Fermentas), K1 – контроль 1 *D. r. nairensis*, K2 – контроль 2 *D. r. raddei*, K3 – контроль 3 *D. unisexualis*; *б*: дорожки 1–45 – особи *D. r. raddei* “Ереван”, М – молекулярный маркер 50 bp (Fermentas), M1 – молекулярный маркер Low range (Fermentas), K1, K2, K3, K4 – *D. r. raddei*.

видовым распределением: аллели, наблюдаемые у подвида *D. r. nairensis*, не встречаются в популяциях подвида *D. r. raddei*, а также аллели, характерные для *D. r. raddei*, не обнаружены у особей *D. r. nairensis* [9]. Таким образом, мы предположили, что результаты амплификации локусов Du47G и sc12962 позволят установить подвидовую принадлежность особей популяции “Ереван”. Всего было проанализировано 144 образца ДНК: 45 особей *D. r. nairensis*, 53 особи *D. r. raddei* и 46 особей *D. raddei* “Ереван”. Амплификацию проводили в объеме 20 мкл на 50 нг ДНК с использованием набора “GenPakPCRCore” (Isogene Laboratory) согласно протоколу фирмы-производителя. Для проведения реакции использовали следующие пары праймеров: sc12962 F5'-ATGAGTGAGGTGTTTATTCCT-3', sc12962 R5'-GTTCTTTCTTCCTCTCAGAA-3', конечная концентрация каждого праймера 0.2 мкМ; Du47G F5'-АТАСААССГСААТАААСААТА-3', Du47G R5'-GATGGAACGACTCACSTATG-3', конечная концентрация каждого праймера 0.5 мкМ. Амплификация локуса Du47G проводилась при условиях: 94°C 3 мин (1 цикл), 94°C 1 мин, 55°C 40 с, 72°C 40 с (40 циклов), завершающая элонгация – 72°C 5 мин (1 цикл). Условия амплификации локуса sc12962: 94°C 3 мин (1 цикл), 94°C 1 мин, 60°C 40 с, 72°C 30 с (30 циклов), завершающая элонгация – 72°C 5 мин (1 цикл).

На рис. 1, *a* представлены результаты фракционирования в акриламидном геле продуктов амплификации локуса Du47G небольшой выборки образцов *D. r. nairensis* и *D. r. raddei* из разных популяций. Представленные результаты характеризуют наблюдаемую картину распределения аллелей данного локуса у разных подвидов *D. raddei*. Согласно полученным результатам все особи *D. r. nairensis* гомозиготны по локусу Du47G, а также данный локус является мономорфным. На рис. 1, *б* показаны результаты фракционирования продуктов амплификации локуса Du47G образцов *D. raddei* “Ереван” (46 особей). Этот локус в

изучаемой популяции является мономорфным, а также все особи гомозиготны. Аллельные варианты, наблюдаемые в популяциях подвида *D. r. nairensis* и в популяции *D. raddei* “Ереван”, совпадают по электрофоретической подвижности.

В табл. 1 представлены результаты фрагментного анализа локуса sc12962 в популяциях *D. raddei*. На выборке из 143 особей *D. raddei* (45 *D. r. nairensis*, 53 *D. r. raddei*, 45 *D. raddei* “Ереван”) было выявлено различие по встречаемости аллелей в популяциях разных подвидов. У особей *D. r. nairensis* присутствуют аллели длиной 118, 145 и 151 пн. У особей *D. r. raddei* аллели такого размера обнаружены не были, однако выявлены аллели длиной 127, 130 и 148 пн. У особей *D. raddei* “Ереван” были выявлены аллели, соответствующие подвиду *D. r. nairensis*, а также уникальный аллель размером 124 пн. В табл. 2 представлены нуклеотидные последовательности микросателлитных кластеров индивидуальных аллельных вариантов. Микросателлитный кластер аллелей локуса sc12962 является сложным, представлен повторяющимся GCT-триплетом, а также АСТ-тринуклеотидом. Аллели различаются числом GCT и АСТ триплетов, а также строением прилегающего к микросателлиту кластера GT(T/G)GTC.

Таким образом, в настоящей работе проведен анализ полиморфизма локусов Du47G и sc12962 в популяции *D. raddei* г. Ереван. Согласно полученным результатам популяция *D. raddei* г. Ереван имеет большее генетическое сходство с популяциями подвида *Darevskia raddei nairensis*, нежели с популяциями подвида *D. raddei raddei*, и можно предположить принадлежность популяции *D. raddei* г. Ереван к подвиду *Darevskia raddei nairensis*.

Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ № 19-14-00083.

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

Таблица 1. Распространение аллелей локуса sc12962 среди особей вида *D. raddei*

Подвид	Число особей	Число особей, несущих аллели разной длины						
		a118	a124	a127	a130	a145	a148	a151
<i>D. r. nairensis</i>	45	41	0	0	0	8	0	2
<i>D. r. raddei</i>	53	0	0	52	5	0	2	0
<i>D. raddei</i> “Ереван”	45	43	9	0	0	4	0	0
Общее число особей	143	84	9	53	5	12	2	2

a118, a124, a127, a130, a145, a148, a151 – индивидуальные аллели.

Таблица 2. Структура микросателлитного кластера аллельных вариантов локуса sc12962 *D. raddei*

Аллель	Микросателлитный кластер	Длина аллеля, пн
a118	(ACT) ₂ (GCT) ₃ GTG	118
a124	(ACT)(GCT) ₆ GTC	124
a127	(ACT) ₂ (GCT) ₆ GTC	127
a130	(ACT) ₂ (GCT) ₇ GTG	130
a145	(ACT)(GCT) ₁₂ GTTGTC	145
a148	(ACT)(GCT) ₁₄ GTC	148
a151	(ACT)(GCT) ₁₄ GTTGTC	151

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Freitas S., Rocha S., Campos J. et al. Parthenogenesis through the ice ages: A biogeographic analysis of the parthenogenetic rock lizards genus *Darevskia* and their sexual maternal species *Darevskia raddei* // Mol. Phylogenet. Evol. 2016. V. 102. P. 117–127. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2016.05.035>
- Даревский И.С. Эволюция и экология партеногенетического размножения у пресмыкающихся // Современные проблемы теории эволюции. М.: Наука, 1993. С. 89–109.
- Омельченко А.В., Гирный А.Е., Осипов Ф.А. и др. Генетическая дифференциация природных популяций ящериц комплекса *Darevskia raddei* по данным микросателлитного маркирования геномов // Генетика. 2016. Т. 52. № 2. С. 260–264.
- Arakelyan M.S., Danielyan F.D., Corti C. et al. Herpetofauna of Armenia and Nagorno-Karabakh. Salt Lake City: Society for the Study of Amphibians and Reptiles, 2011. 355 p.
- Даревский И.С. Скальные ящерицы Кавказа. Систематика, экология и филогения полиморфной группы кавказских ящериц подрода *Archaeolacerta*. М.: Наука, 1967. 209 с.
- Korchagin V.I., Badaeva T.N., Tokarskaya O.N. et al. Molecular characterization of allelic variants of (GATA)_n microsatellite loci in parthenogenetic lizards *Darevskia unisexualis* (Lacertidae) // Gene. 2007. V. 392. № 1–2. P. 126–133. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2006.11.020>
- Бадеева Т.Н. Изучение структурной организации и полиморфизма микросателлитных локусов у партеногенетической ящерицы *Darevskia unisexualis*: Дис. ... канд. биол. наук. М.: Ин-т биологии гена РАН, 2008. 126 с.
- Рысков А.П., Мартиросян И.А., Вергун А.А. и др. Молекулярная структура аллельных вариантов микросателлитных локусов Du281 и Du47 у представителей однополых и двуполых видов ящериц рода *Darevskia* // Изв. РАН. Серия биол. 2009. № 2. С. 201–208.
- Одегов Д.О., Корчагин В.И., Мартиросян И.А. Генетический полиморфизм и дифференциация ящериц комплекса *Darevskia raddei* // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология: Тез. докл. 2021. Т. 39. № 1–2. С. 39–40. <https://doi.org/10.17116/molgen2021390129>
- Валяева А.А., Мартиросян И.А. Генетический полиморфизм локуса Du47G в популяциях скальных ящериц *Darevskia raddei* Армении. Актуальные вопросы зоологии, экологии и охраны природы. Вып. 3 // Материалы третьей Межд. научно-практ. конф., посвященной Всемирному дню Земли и началу Десятилетия по восстановлению Экосистем. 22 апреля 2021 г. М.: ООО НПО “Сельскохозяйственные технологии”, 2021. С. 30–35.
- Spangenberg V., Arakelyan M., Galoyan E. et al. Meiotic synapsis of homeologous chromosomes and mismatch repair protein detection in the parthenogenetic rock lizard *Darevskia unisexualis* // Mol. Reprod. Dev. 2021. V. 88. № 2. P. 119–127. <https://doi.org/10.1002/mrd.23450>

Molecular Structure and Polymorphism of Microsatellite Loci of Caucasian Rock Lizards *Darevskia raddei* of the “Yerevan” Population from Armenia

I. A. Martirosyan^{a, *}, A. A. Valyaeva^{a, b}, M. S. Arakelyan^c, and A. P. Ryskov^a

^a*Institute of Gene Biology Russian Academy of Sciences, Moscow, 117334 Russia*

^b*Timiryazev Russian State Agrarian University – MAA, Moscow, 127434 Russia*

^c*Yerevan State University, Yerevan, 0025 Armenia*

^{*}*e-mail: irena-m@yandex.ru*

The analysis of polymorphism of microsatellite loci of *D. raddei* “Yerevan” allowed us to establish that the population of *D. raddei* “Yerevan” belongs to the subspecies *Darevskia raddei nairensis*.

Keywords: microsatellite loci, polymorphism, population, subspecies.