

УДК 598.112.23:591.5(574.9)

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИЗМЕНЧИВОСТЬ И ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ АРЕАЛ *Darevskia rostombekowi* В ЗАКАВКАЗЬЕ

© 2021 г. Ф. А. Осипов*, @, А. А. Вергун**, *** , М. С. Аракелян****, Р. К. Петросян****, Н. Н. Дергунова*, Л. А. Неймарк*, В. Г. Петросян*

*Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН,
Ленинский пр., 33, Москва, 119071 Россия

**Институт биологии гена РАН, ул. Вавилова, 34/5, Москва, 119334 Россия

***Московский педагогический государственный университет,
Малая Пироговская ул. 1/1, Москва, 119991 Россия

****Биологический факультет Ереванского государственного университета,
ул. А. Манкуяна, 1, Ереван, 0025 Армения

@E-mail: osipov_feodor@mail.ru

Поступила в редакцию 26.08.2019 г.

После доработки 11.11.2019 г.

Принята к публикации 11.11.2019 г.

Представлены результаты анализа генетической изменчивости партеногенетического вида *Darevskia rostombekowi* (Darevsky, 1957) с использованием четырех микросателлит-содержащих локусов. На основе 118 записей с географическими координатами присутствия данного вида в Закавказье были созданы карты потенциального ареала. Анализ генетической структуры популяций показал, что, несмотря на установленную мультиклональность (7 клональных линий в 4 популяциях), *D. rostombekowi* образован в результате единичного акта гибридизации между близкими двуполовыми видами. Прогнозируемое распределение *D. rostombekowi* с помощью созданного потенциального ареала выявило новые небольшие местообитания, где присутствие вида ранее не сообщалось. Результаты этого исследования и отсутствие множественных актов гибридизации этих форм могут указывать на регрессию численности. Следовательно, оценка статуса сохранения партеногенетического вида представляется оправданной.

DOI: 10.31857/S1026347021050103

За последние 50 лет получены результаты цитогенетического, молекулярно-генетического анализа однополых и двуполых комплексов видов рода *Darevskia* (Даревский, 1967; Uzzell, Darevsky, 1975; Мартиросян и др., 2002; Малышева и др., 2006; Осипов и др., 2016; Ryskov *et al.*, 2017). Эти результаты указывают на концепцию гибридогенного видообразования у партеногенетических видов скальных ящериц, состоящую в формировании новых однополых гибридных видов, несущих в себе геномы, унаследованные от двух близкородственных родительских видов (Uzzell, Darevsky, 1975; Ryskov *et al.*, 2017). Проведенный комплексный анализ показал, что партеногенетический вид *D. rostombekowi* образован в результате естественной гибридизации между близкими двуполовыми видами *D. portschinskii* (отцовский вид) и *D. raddei raddei* (материнский вид) (Uzzell, Darevsky, 1975). Несмотря на определенные успехи исследования *D. rostombekowi* (MacCulloch *et al.*, 1997; Мартиросян и др., 2002; Осипов и др., 2016; Ryskov *et al.*, 2017), вопросы о границах его ареала

и видоспецифических параметров абиотических факторов среды, определяющих область распространения изолированных популяций, остаются открытыми. Анализ аллозимных локусов особей различных популяций *D. rostombekowi*, за исключением изолированной популяции Цовак (Tsovak), не выявил изменчивости, что предположительно указывало на моноклональную генетическую структуру (MacCulloch *et al.*, 1997).

Существуют фрагментарные данные по характеру распределения отдельных популяций на территории Армении. Известно, что ящерица *D. rostombekowi* (один из семи партеногенетически размножающихся видов скальных ящериц рода *Darevskia*) занимает сравнительно небольшой по площади ареал, состоящий из нескольких разных по величине изолированных популяций в пределах Северной Армении, прилежащих районах Северо-Западного Азербайджана, и оторванной от основного ареала, маленькой высокогорной реликтовой (~12 тыс. лет) популяции на юго-восточном побережье оз. Севан (MacCulloch *et al.*, 1997; Мар-

Таблица 1. Список исследованных образцов ДНК

Название популяции	Количество особей	Географические координаты
Гош	4	40°42'20.3" N 45°00'57.7" E
Цовак	8	40°10'45.0" N 45°37'22.7" E
Папанино	21	40°42'27.7" N 44°45'43.8" E
Спитак	9	40°48'50.0" N 44°16'48.7" E

тиросян и др., 2002; Arakelyan *et al.*, 2011, Petrosyan *et al.*, 2020a). Границы ареала вида в целом, а также отдельных популяций в литературе отсутствуют.

Цель исследования: 1) определить генетическую структуру популяций, обитающих в разных экологических условиях на территории Армении; 2) построить карту пространственного распределения вида *D. rostombekowi* на основе данных находок; 3) выявить биоклиматические, топографические и ландшафтные переменные, определяющие потенциальный ареал вида.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Молекулярно-генетический анализ

Для исследования были отобраны образцы ДНК партеногенетического вида *D. rostombekowi* ($n = 42$) из четырех популяций на территории Армении (табл. 1). Ящерицы были отловлены в период с 1997 по 2006 гг. в их естественных местах обитания. Все полевые исследования проводили до момента включения вида *D. rostombekowi* в Красную книгу Армении как вид, “находящийся в опасном состоянии” в соответствии с критериями МСОП (Endangered, EN B1ab) (Agasyan *et al.*, 2010). В работе анализ проводили на основе трех ранее описанных микросателлит-содержащих локусов Du215, Du281, Du323 (Ryskov *et al.*, 2017) и нового Du47G. Данные локусы были установлены для исследования других партеногенетических видов данного рода: *D. unisexualis* (Badaeva *et al.*, 2008), *D. dahli* (Vergun *et al.*, 2014).

Постановку локус-специфической полимеразной цепной реакции проводили с использованием ранее подобранных пар праймеров и условий амплификации (Korchagin *et al.*, 2007; Vergun *et al.*, 2014).

Методика выделения ДНК, анализ микросателлит-содержащих локусов Du215, Du281, Du323, Du47G представлены в работах (Korchagin *et al.*, 2007; Осипов и др., 2016; Ryskov *et al.*, 2017). Полученные в результате секвенирования последовательности были депонированы в GenBank

(KM573728–KM573762; HM014002–HM014003; KR559279KR559316; MK622868–MK622872).

Анализ и сопоставление полученных последовательностей проводили в программе MEGA v.7.0.21. Число аллелей, аллельное богатство как мера количества аллелей с поправкой на размер выборки и ожидаемая гетерозиготность как мера разнообразия генов были рассчитаны по каждому локусу и популяции с использованием Fstat v.2.9.3.2. GenePop v.4.2 и online версии POPTREEW. АМО-VA-анализ проводили с использованием пакета Poppr (Kamvar *et al.*, 2014). Реализацию множественных выравниваний последовательностей микросателлитных аллелей трех видов производили с помощью алгоритма MUSCLE (Edgar RC. *et al.*, 2004). Эти матрицы были использованы для строительства сети методом ближайшего соседа с помощью MEGA v.7.0.21 (Tamura *et al.*, 2013). Составление генотипов производили путем сравнения и анализа комбинаций аллельных вариантов в популяциях с помощью программы LabConvert v1. (Омельченко и др., 2016).

Создание карты потенциального ареала вида

Сбор полевых данных. Материалом для работы послужили данные, собранные соавторами во время полевых исследований в 1997–2019 гг., и коллекционные материалы кафедры зоологии Ереванского государственного университета (ЕРГУ), Зоологического музея МГУ им. М.В. Ломоносова (ZMMU), музея Зоологического института РАН (ZISP) и Канадского музея Royal Ontario Museum (ROM). Изучены потенциальные местообитания на маршрутах общей протяженностью 3000 км в 2018 г. и 1800 км в 2019 г. Учетные работы проводили в утренние солнечные безветренные часы. Для каждого локалитета географические координаты и высоты были определены с помощью GPS-навигатора Garmin Montana 680t (Garmin Corp., Olathe, KS, США) с погрешностью ± 3.5 м. Ящерицы с каждого участка были отловлены и определены в полевых условиях с помощью определителя (Darevsky, 1967; Arakelyan *et al.*, 2011).

Векторные слои мест находок. Для создания векторной базы данных (ВБД) в среде ArcGIS Desktop 10.4.1 использовали полевые, музейные и литературные данные (Даревский, 1967; Uzzell, Darevsky, 1975; MacCulloch *et al.*, 1997; Мартиросян и др., 2002; Arakelyan *et al.*, 2011; Ryskov *et al.*, 2017).

Растровые слои для построения карт ареала. Был проведен обзор литературы для выбора важнейших переменных, определяющих распространение скальных ящериц (Darevsky, 1967; Uzzell, Darevsky, 1975; Kaliontzopoulou *et al.*, 2008; Tarkh-nishvili *et al.*, 2010; Arakelyan *et al.*, 2011; Doronin, 2015; Freitas *et al.*, 2016, Petrosyan *et al.*, 2019,

2020b). Выбранные экологические переменные характеризуют климат, топографию и земельный покров/землепользование. Пространственные климатические переменные были взяты из набора данных WorldClim 2.0 (<http://worldclim.org/version2>) с разрешением 30 s, включающие 21 биоклиматических переменных. В работе анализ проводили для трех различных разрешений (3, 9 и 30 arc second, т.е. ~90, ~270 и ~900 м соответственно) растровых слоев рельефа, климатических параметров и ландшафта. Все эти слои были подготовлены с помощью соответствующего программного модуля Arc GIS Desktop 10.4.1 с использованием кубической функции аппроксимации. В результате этих преобразований все растровые слои были представлены с разрешением ~90, ~270 и ~900 м соответственно.

Для проверки пространственной автокорреляции точек находок из ВБД использовали двухшаговую процедуру, описанную в работах (ESRI, 2017; Aiello-Lammens *et al.*, 2015; Petrosyan *et al.*, 2020b).

Потенциальные модели распределения *D. rostombekowi* были определены с помощью метода максимальной энтропии с использованием MaxEnt 3.4.1 (Phillips *et al.*, 2006) из окружения EcoSpat (De Pous *et al.*, 2011; Di Cola *et al.*, 2017). Для построения модели распределения вида (SDM) использовали 10 запусков MaxEnt со случайным выбором тестовых и обучающих выборок. Во всех вариантах запуска MaxEnt 80% записей находок использовали как обучающие выборки, а 20% записей – как тестовые выборки. Мы использовали индекс Бойса (B_{ind}) для оценки пригодности моделей с помощью пакета EcoSpat (Di Cola *et al.*, 2017). Средний показатель индекса Бойса определяли усреднением индексов 10 моделей для каждого разрешения в отдельности. Важность каждой предикторной переменной определяли, используя таблицу вкладов MaxEnt (Phillips *et al.*, 2006). Важными переменными считались те, которые вносят существенный вклад в модель, т.е. имеют высокие значения перестановочной важности (PI) или высокие значения процента вклада (PC) (Phillips *et al.*, 2006).

Сходство экологических ниш. Сравнительный анализ экологических ниш популяций *D. rostombekowi*, полученных для различных наборов данных проводили с использованием общей концепции, представленной в работах (Petitpierre *et al.*, 2012; Di Cola *et al.*, 2017). Оценку перекрытия ниш, полученных на основе разных наборов точек присутствия, проводили с использованием индекса Schoener's D (Di Cola *et al.*, 2017).

Сравнительный анализ центроидов (средних значений переменных) ниш, определяющих пространственное расположение популяций *D. rostombekowi*, проводили с использованием процедуры общей линейной модели (GLM). В этой модели

был использован однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Если ANOVA показывал существенное различие центроидов, то с помощью методов множественного сравнения Post hoc Тьюки HSD определяли, какие именно центроиды отличались друг от друга.

Статистический анализ и построение диаграмм были выполнены в среде RStudio 1.1.463.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Генетическая характеристика популяций. Анализ четырех микросателлит-содержащих локусов Du215, Du281, Du323 и Du47G выявил, что все исследованные особи *D. rostombekowi* являются гетерозиготными по данным локусам. В исследованных популяциях было выявлено от 2 до 5 аллелей в зависимости от локуса. Аллельные варианты каждого локуса представлены в табл. 2.

Структурные различия микросателлитных локусов Du215, Du281 и D323 ранее были описаны (Осипов и др., 2016; Ryskov *et al.*, 2017). Анализ локуса Du47G позволил выявить 5 аллельных вариантов, которые различались структурой микросателлитного кластера, для которого характерны GATA- и GACA-повторы, а так же несовершенные звенья GAT. Кроме того аллельные варианты различались по фиксированным точечным заменам на флангах, по которым их можно разделить на две группы: 1) A (+7), A (+21), G (+52) T (+58), характерная для аллелей Du47G(rost)1 и Du47G(rost)5; 2) T (+7), T (+21), C (+52) T (+58), характерная для аллелей Du47G(rost)2-Du47G(rost)4 (табл. 2).

Количество генотипов было установлено по анализу сочетания аллельных вариантов каждой особи (табл. 3, рис. 1). Анализ аллельных комбинаций по 4 локусам выявил 7 генотипов, неравномерно распространенных в исследуемых популяциях. Особи с одинаковыми генотипами формировали клональные линии. Мажорный клон (генотип 1), был установлен у 24 особей (57% от всех исследованных особей) и представлен в трех популяциях – Гош, Папанино (окрестности г. Дилижан), Спитак. Клон с генотипом 2 встречался у 7 особей (17%). Клон с генотипами 3 (5 особей – 12%) и 4 (3 особи – 7%) были обнаружены только в изолированной севанской популяции Цовак. Остальные генотипы (5, 6 и 7) были представлены только одной особью (2%) и встречались в популяциях Гош, Папанино, Спитак.

Генотипы 1–7 отличаются друг от друга последовательностью микросателлитного кластера. Редкие генотипы, обнаруженные у единичных особей в популяциях, вероятно являются мутационными производными основного (представленного большим числом особей и распространенного в 3 из 4 исследованных популяциях) генотипа. Генотипы 3 и 4 представлены только в

Таблица 2. Структура аллельных вариантов микросателлитных локусов Du215, Du281, Du323 и Du47G партеногенетического вида *D. rostombekowi*

Аллель	Длина (п.о.)	Последовательность микросателлитного кластера	Фиксированные нуклеотидные замены на флангах*	Gene Bank ac. №
Du215 (rost)1	256	5' (GAT)(GATA) ₁₀ (GCAA) ₁₁ 3'	—	GU972528
Du215 (rost)2	252	5' (GAT)(GATA) ₉ (GCAA) ₁₁ 3'	—	GU972529
Du215 (rost)3	250	5' (GAT)(GATA) ₉ (GCAA) ₁₀ 3'	TT (-98/99)	GU972530
Du215 (rost)4	248	5' (GAT)(GATA) ₈ (GCAA) ₁₁ 3'	—	GU972531
Du215 (rost)5	227	5' (GAT)(GATA) ₄ (GAT)(GATA) ₇ (GCAA) ₂ 3'	—	GU972532
Du281 (rost)1	265	5' (GATA) ₂ (GAGAT)(GATA) ₁₁ (GAT)(GATA) ₁₂ (TA)(GATA) 3'	T (-84), A (-19), T (+15), A (+25)	HM114225
Du281 (rost)2	261	5' (GATA) ₂ (GAGAT)(GATA) ₁₀ (GAT)(GATA) ₁₂ (TA)(GATA) 3'	T (-84), A (-19), T (+15), A (+25)	HM070256
Du281 (rost)3	253	5' (GATA) ₂ (GAGAT)(GATA) ₁₁ (GAT)(GATA) ₉ (TA)(GATA) 3'	T (-84), A (-19), T (+15), A (+25)	HM070257
Du281 (rost)4	191	5' (GATA) ₁₀ 3'	C (-84), G (-19), C (+15), G (+25)	HM070258
Du323 (rost)1	195	5' (AC) ₆ ...(GATA) ₆ (GAT)(GATA) ₂ ...(GA) ₄ 3'	C (-23), T (+39)	HM013995
Du323 (rost)2	184	5' (AC) ₄ ...(GATA) (GGT)(GATA) ₃ (GAT)(GATA)...(GA) ₄ 3'	A (-23), C (+39)	HM013996
Du47G (rost)1	180	5' (GATA) ₈ (GACA) ₄ (GATA) ₂ (GAT)(GATA) ₂ 3'	A(+7), A(+21), G(+52)	MK622868
Du47G (rost)2	168	5' (GATA) ₉ (GACA)(GATA)(GAT)(GATA) ₂ 3'	T(+7), T(+21), C(+52)	MK622869
Du47G (rost)3	168	5' (GATA) ₈ (GACA)(GATA) ₂ (GAT)(GATA) ₂ 3'	T(+7), T(+21), C(+52)	MK622870
Du47G (rost)4	164	5' (GATA) ₈ (GACA)(GATA)(GAT)(GATA) ₂ 3'	T(+7), T(+21), C(+52)	MK622871
Du47G (rost)5	152	5' (GATA) ₂ (GACA)(GATA) ₄ (GAT)(GATA) ₂ 3'	A(+7), A(+21), G(+52)	MK622872

Примечание. Данные расстояния в н.п. до (-) и после (+) микросателлитного кластера

Таблица 3. Генотипическое разнообразие в популяциях *D. rostombekowi* по четырем микросателлитным локусам

Генотип	Комбинация аллельных вариантов	Популяции				Количество особей с данным генотипом
		Гош	Цовак	Папанино	Спитак	
1	Du215(2 + 5) + Du281(1 + 4) + Du323(1 + 2) + Du47G(4 + 5)	2	0	14	8	24
2	Du215(2 + 5) + Du281(2 + 4) + Du323(1 + 2) + Du47G(4 + 5)	0	0	6	1	7
3	Du215(4 + 5) + Du281(3 + 4) + Du323(1 + 2) + Du47G(2 + 1)	0	5	0	0	5
4	Du215(4 + 5) + Du281(3 + 4) + Du323(1 + 2) + Du47G(4 + 5)	0	3	0	0	3
5	Du215(2 + 5) + Du281(2 + 4) + Du323(1 + 2) + Du47G(3 + 5)	0	0	1	0	1
6	Du215(3 + 5) + Du281(2 + 4) + Du323(1 + 2) + Du47G(4 + 5)	1	0	0	0	1
7	Du215(1 + 5) + Du281(1 + 4) + Du323(1 + 2) + Du47G(4 + 5)	1	0	0	0	1
Общее количество особей		4	8	21	9	42
Генотипическое разнообразие		3	2	3	2	

изолированной популяции Цовак и являются самыми отдаленными от основного генотипа. Анализ пространственно-частотных распределений наиболее широко распространенных генотипов 1 и 2 и популяционно-специфических генотипов 3 и 4 выявил зависимость между частотами клонов и географическим разделением между тремя северными популяциями и севанской популяцией Цовак.

Принимая генотип 1(G1) за исходный, согласно модели Паркера (Parker *et al.*, 1989), мы можем считать, что остальные обнаруженные генотипы могли быть образованы в результате микросателлитных мутаций уже сформировавшегося основного клона. Это событие отражено на схеме (рис. 2), которая построена на основе сравнительного анализа сочетаний аллельных вариантов по каждому локусу с учетом распространения генотипа и частоты его встречаемости в популяциях. Как видно их схемы, генотипы G2, G7 отличаются от генотипа G1 одной GATA- мутацией в микросателлитном кластере по одному из 4 локусов (G1 отличается от G7 одной мутацией в локусе Du215, G1 от G2 – одной мутацией в локусе Du281). Такая же картина наблюдается между генотипами G2 и G5. Генотип G6 хоть и представлен в популяции Гош, однако имеет сходство с генотипом G2 (представленным в популяциях Спитак и Папанино) за исключением делеции одного GCAA звена в локусе Du215. Несмотря на то, что генотипы G3 и G4 не были обнаружены в других популяциях, кроме Цовак; они связаны с основным генотипом G1 общими аллельными вариантами, однако сильно “удалены” от него множественными изменениями внутри микросателлитного кластера.

В табл. 4 приведены данные расчетов индексов генетического разнообразия в популяциях парте-

новида по четырем микросателлитным локусам. Уровень ожидаемой гетерозиготности (H_E) варьируется от 0.533 до 0.783 (в среднем, 0.581), а число аллелей (N) от 2 до 4. Показатель степени аллельного богатства (R_s) варьируется от 1.995 до 4.000 (в среднем, 2.685). Самый высокий показатель данного значения установлен в популяции Гош по локусам Du215, Du281 и Du323.

Важнейшие предикторные переменные среды и потенциальный ареал партеногенетического вида. Мы собрали 118 записей с географическими координатами присутствия *D. rostombekowi* на территории Армении и Азербайджана (49 литературных данных и 69 собственных полевых записей). После удаления кластерных точек остались 56 записей, включенных в сокращенный набор для дальнейшего анализа. Эти записи в дальнейшем (полные: $n = 118$, сокращенные $n = 56$) использовали для построения моделей распределения видов и сравнения экологических ниш для трех решений ~90, ~270 и ~900 м соответственно.

Мы получили “высокие” значения индекса Бойса ($B_{ind} \pm SD$) и AUC ($\pm SD$) для всех моделей распределения вида. Вклады переменных для различных SDM моделей представлены в табл. 5. Из таблицы следует, что индекс AUC (Phillips *et al.*, 2006) имеет достаточно высокие значения и варьирует от 0.978 (± 0.007) до 0.985 (± 0.007), которые слабо различаются друг от друга. Последнее означает, что вне зависимости от типа использования данных (сокращенных, полных) и пространственного разрешения слоев, индекс AUC пригодности модели меняется слабо (табл. 5). В отличие от AUC, индекс Бойса чувствителен и позволяет выделять наилучшую модель. В нашем случае наиболее высокая точность модели распределения вида наблюдается только для одного

Таблица 4. Показатели генетического разнообразия в популяциях *D. rostombekowi* по четырем микросателлитным локусам

Локус	Популяция	N	R_s	H_E
Du215	Гош	4	4.000	0.750
	Цовак	2	2.000	0.533
	Папанино	2	1.997	0.512
	Спитак	2	2.000	0.529
	Σ	5	2.738	0.581
Du281	Гош	3	3.000	0.679
	Цовак	2	2.000	0.533
	Папанино	3	2.773	0.626
	Спитак	3	2.443	0.582
	Σ	4	3.127	0.605
Du323	Гош	2	2.000	0.571
	Цовак	2	2.000	0.533
	Папанино	2	1.997	0.512
	Спитак	2	2.000	0.529
	Σ	2	1.995	0.536
Du47G	Гош	2	2.000	0.571
	Цовак	4	3.774	0.783
	Папанино	3	2.186	0.535
	Спитак	2	2.000	0.529
	Σ	5	2.883	0.604
Все локусы		16	2.685	0.581

Примечание. N – число аллелей, R_s – уровень аллельного богатства, H_E – значение ожидаемой гетерозиготности.

случая, т.е. когда используются полные данные с пространственным разрешением ~ 90 м. В этом случае индекс Бойса составляет 0.958 ± 0.004 . Наихудшая модель по индексу Бойса $0.813 (\pm 0.02)$ построена при использовании сокращенных данных с пространственным разрешением ~ 270 м. Карты распределения вида для этих случаев представлены в рис. 3.

Из табл. 5 следует, что из 8 предикторных переменных только пять (MeanTempDrQ, Sradmean, PrecipCoefVar, IsoTerm, PrecWarmQ) общие для всех 60 моделей (10 репликации \times 2 типа набора данных \times 3 разрешения). Важность переменной StdDivTemp выделяется почти для всех моделей за исключением моделей, полученных для сокращенных данных для разрешения ~ 90 м. Важность переменной HighWay, выделяется для всех моделей с разным разрешением при использовании полного набора данных точек находок, а также для моделей с разрешением ~ 90 м при использовании сокращенных данных. Единственная переменная, которая выделяется только для одного

сочетания набора данных (полных) и разрешения (~ 90 м), является высота над уровнем моря (Elevation).

Визуальный качественный анализ наилучшей (рис. 3а) и наихудшей (рис. 3б) карт показывает, что они, в целом, совпадают в общих чертах по границам ареала, но существует большое различие в деталях. Наилучшая карта (рис. 3а) указывает, что наиболее пригодные местообитания (с вероятностью >0.6) в основном расположены на севере Армении, включая все известные местообитания популяций (Севан, Спитак, Гош, Дилижан, Иджеван-Ноемберян), а также новые небольшие местообитания западной части оз. Севан и в восточной части Нагорного-Карабаха, северной части Армении на границе с Грузией. Наихудшая карта показывает обширные пригодные местообитания на западной части оз. Севана, обширную зону на восточной части Нагорного Карабаха, в северной Армении на границе с Грузией и участки в южной части Грузии.

Таблица 5. Наборы предикторных переменных, определяющих модели распределения *D. rostombekowi* с указанием индексов пригодности AUC и Бойса для карт потенциальных ареалов, полученных с помощью MaxEnt и Ecospat. Представлены только переменные, которые внесли вклад больше 5% либо по PC или по PI

Переменная*	Полный набор точек находок						Сокращенный набор точек находок					
	Разрешение											
	90 м		270 м		900 м		90 м		270 м		900 м	
	PC	PI	PC	PI	PC	PI	PC	PI	PC	PI	PC	PI
MeanTempDrQ	20.1	31.5	19.6	35.4	20.3	31.6	29	66.8	30	63.7	27.6	60
HighWay	17.6	1.2	12.9	0.5	9.7	1.4	6.2	0.9	4.6	0	4.6	0.1
Sradmean	15.7	17.9	1.2	6.4	4.3	9.4	16.2	5.5	0.7	6.1	3	6.8
PrecipCoefVar	11.2	17.3	19.3	21.7	21.2	23.4	19.6	13.5	21.4	12.1	22.3	16.8
IsoTerm	9.8	3.3	19.3	9	21.7	16.1	8.2	4.8	18.2	3.5	18.6	5.8
PrecWarmQ	7.9	3.5	15.8	6.2	14.3	7.7	9.8	2.6	14.3	3.4	15.2	3.5
StdDivTemp	4.2	18.3	3.7	18.6	1.7	5.0	4.9	4.9	5.2	9.5	4.2	5.8
Elevation	4.7	5.7	1.5	1.6	1	0.8	0.2	1	0.2	1	0.4	0.4
Индекс AUC	0.979 ± 0.011		0.98 ± 0.01		0.978 ± 0.007		0.979 ± 0.009		0.982 ± 0.007		0.985 ± 0.007	
Индекс Бойса	0.958 ± 0.004		0.926 ± 0.006		0.916 ± 0.003		0.814 ± 0.009		0.813 ± 0.02		0.939 ± 0.003	

Примечание. * MeanTempDrQ – средняя температура сухой четверти года (°C), HighWay – расстояние до дорог (м), Sradmean – средняя солнечная радиация (КДж м⁻² день⁻¹), PrecipCoefVar – коэффициент вариации осадков (%), IsoTerm – изотермичность (%), PrecWarmQ – сумма осадков в самой теплой четверти года (mm), StdDivTemp – стандартное отклонение температур (°C), Elevation – высота над уровнем моря (м).

Индексы сходства экологических ниш популяций партеногенетического вида. Результаты анализа перекрывания ниш для разных наборов данных представлены на рис. 4. Показано, что индекс сходства экологических ниш для разных разрешений изменяется в диапазоне от 86 до 90%, в зависимости от разрешения используемых слоев. Доля общих местообитаний, т.е. перекрытие ниш варьируется от 97.8 до 98.8%. Тест сходства экологических ниш, полученных на основе разных наборов данных, не отклоняется для всех разрешений ($P < 0.02$).

Несмотря на высокое сходство экологических ниш при использовании разных наборов данных, тем не менее, центроид по высоте смещается вверх для сокращенных данных (рис. 4г, 4д, 4е). Это означает, что разреживание с целью удаления кластеризованных точек приводит к значительному уменьшению количества точек в местообитаниях северных популяций (Спитак, Гош, Папанино, Иджеван-Ноемберян) и оставляет без изменения количества точек находок в южной части оз. Севан (Цовак). Это в итоге приводит к увеличению центроида высоты и увеличению пригодности обитания на высоте более 2000 м.

Сравнительный анализ центроидов ниш популяций партеногенетического вида. Для проверки статистической значимости различия центроидов ниш по абиотическим факторам среды разных популяций мы проводили их сравнительный анализ. Результаты сравнения средних значений предик-

торных переменных (центроидов ниш) объединенных северных популяций и изолированной популяции Цовак представлены на рис. 5. Из этого рисунка следует, что экологические условия популяции Цовак статистически значимо различаются от северных популяций по средней температуре и суммарными осадками сухой четверти года, средней солнечной радиацией, коэффициентом вариации осадков, изотермичностью и высотой над уровнем моря. Южная популяция различается от северных не только по расстоянию до дорог, но и по стандартному отклонению температуры.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Сравнительный анализ единичных нуклеотидных мутаций вне микросателлитного кластера (SNV) партеновида *D. rostombekowi* с родительскими видами (*D. r. raddei*, *D. portschinskii*) (Осипов и др., 2016, Ryskov *et al.*, 2017) позволяет утверждать, что партеновид мог образоваться в результате единичного акта гибридизации между близкими бисексуальными особями родительских видов, поскольку исследованные особи партеновида не различались по SNV во всех четырех микросателлитных локусах (рис. 1).

Анализ распределений наиболее широко распространенных генотипов 1 и 2 и популяционно-специфических генотипов 3 и 4 выявил зависимость между частотами клонов и географическим разделе-

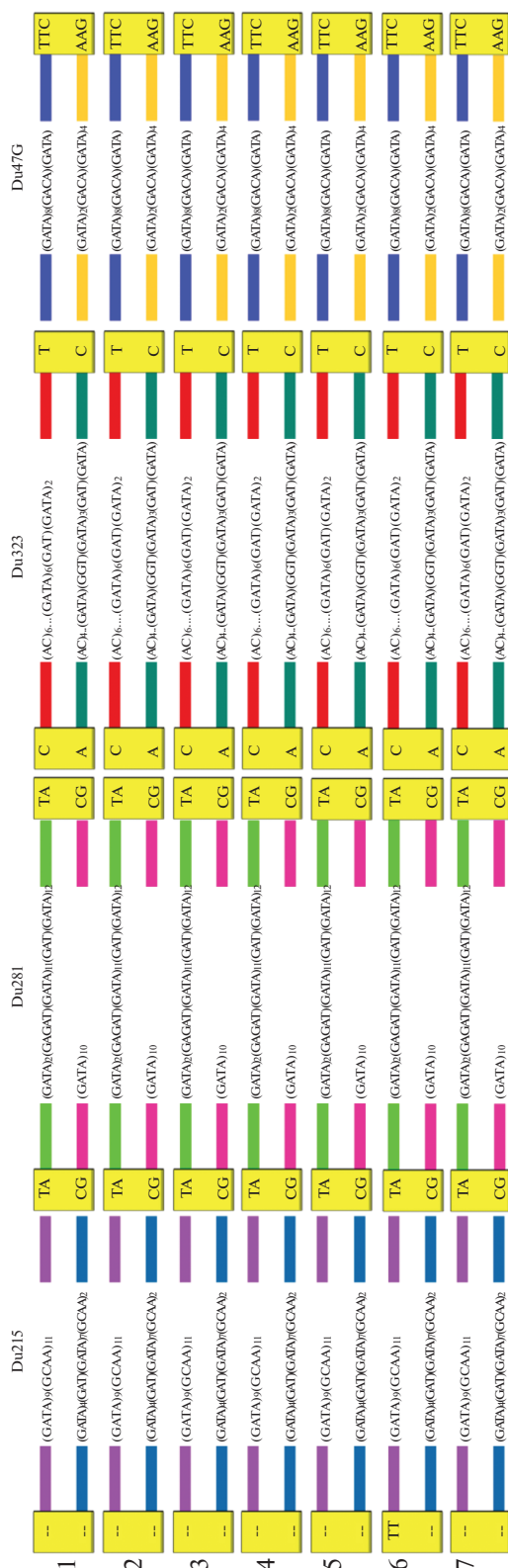


Рис. 1. Схематическое изображение семи генотипов, образованных аллельными комбинациями микросателлитных локусов Du215, Du281, Du323 и Du47G у 42 особей *D. rostombekowi*. Специфичные для родительских видов маркеры SNV показаны в квадратах. Вариабельные микросателлитные кластеры показаны для каждого аллеля.

нием между тремя северными популяциями и севанской популяцией Цовак. Остается нерешенным вопрос, какой из 7 установленных клонов *D. rostombekowi* образовался первым. Предполагая, что у партеновида, образованного в результате одного гибридизационного события, имеется распространенный и чаще всего встречающийся “мажорный” клон с несколькими “минорными” клонами (Parker *et al.*, 1989), то, вероятно, генотип G1 мог быть исходным. Остальные же генотипы являются мутациями G1. Мутации *de novo* во всех четырех исследованных локусах обусловлены делецией или вставкой микросателлитного повтора (рис. 1, табл. 2). Заметные различия генотипов G3 и G4 от основного генотипа G1 и обнаруженных в популяциях Гош, Папанино и Спитак генотипов G2, G5, G6, G7 могут быть связаны со значительными различиями в экологических условиях их местообитаний (рис. 5). Вероятно, другие (переходные клональные линии) между генотипами 1–3 и 4 могли быть утеряны в результате сокращения и/или разрыва ареала *D. rostombekowi*.

В работе показано, что SDM является важным инструментом, который можно использовать для выявления экологических требований популяций *D. rostombekowi* к среде и выбора наиболее важных переменных, определяющих их пространственное распределение. Дополнительный анализ с помощью метода ординации позволяет проводить сравнительный анализ экологических ниш различных популяций и определить меру их пересечения, сходства и выявить значимые сдвиги ниш при определении потенциальных ареалов на основе разных наборов данных точек находок и разрешений слоев предикторных переменных. Эти два подхода, а также генетическая структура популяций, позволяют выявить их особенности и оценить роль экологических факторов в формировании северных и южной популяций данного вида.

Важнейшие переменные, определяющие модель размещения партеногенетического вида. Как показали SDM средняя температура и суммарные осадки в сухой и теплой четверти года, солнечная радиация, коэффициент вариации осадков, изотермичность и высота над уровнем моря являются важными факторами среды, которые оказывают влияние на формирование пространственного распределения ящериц на территории Армении, Нагорного Карабаха и Азербайджана (рис. 3, табл. 5). Из этого следует, что набор переменных, определяющих пригодные местообитания, в значительной степени связаны с термическими условиями и влажностью в сухой и теплый период года соответственно, а также годовыми коэффициентами вариации этих переменных. Причем изотермичность должна быть в пределах 28–34%, а коэффициент влажности осадков 41–52% (рис. 4). Важно отметить, что изотермичность, отражаю-

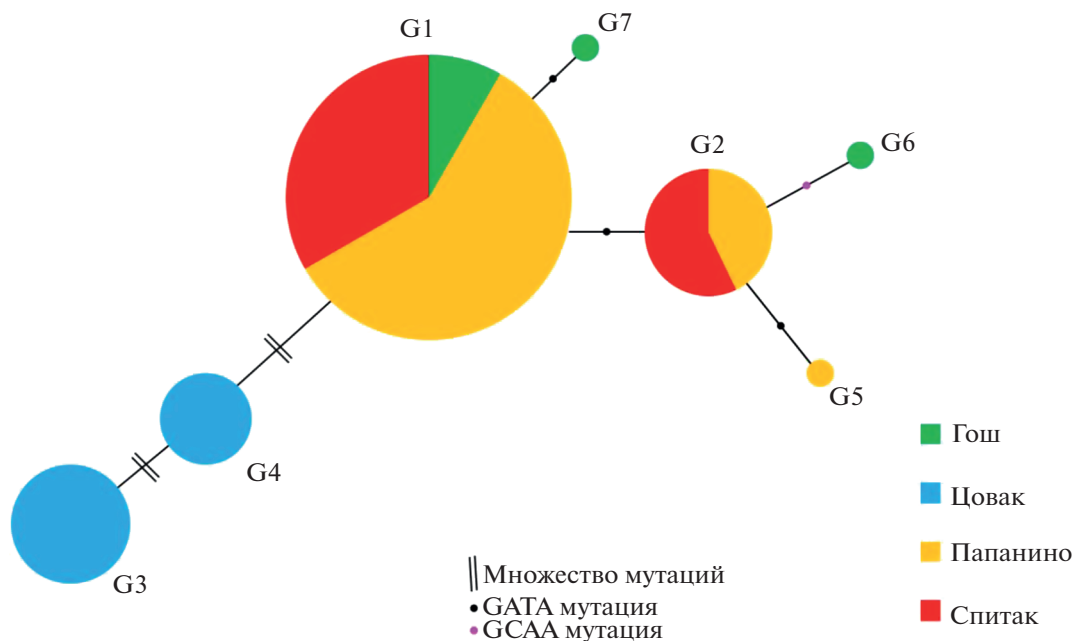


Рис. 2. Схематическое изображение, отражающее взаимоотношения между генотипами 1–7 (G1–G7) в исследованных популяциях *D. rostrombekowi*. Размер кругов соответствует представленности генотипа в популяции.

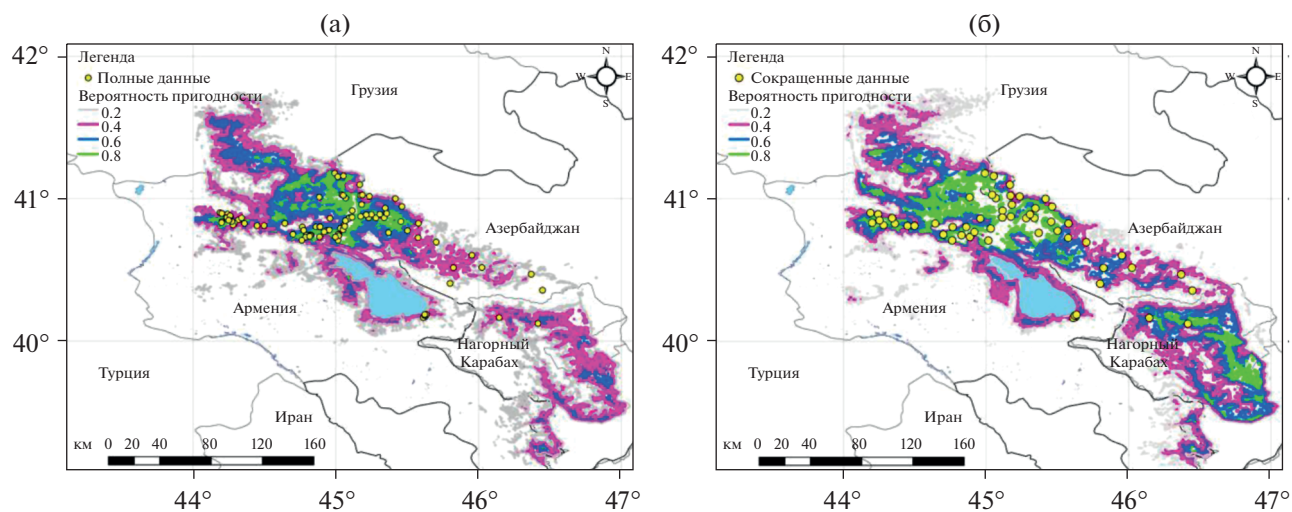


Рис. 3. Карты распределения *D. rostrombekowi* с использованием разных наборов данных и разрешений. (а) Полный набор точек находок и пространственное разрешение 90 м, (б) сокращенный набор данных и пространственное разрешение 270 м.

щая достаточно высокую стабильность температуры и низкие ее колебания в местообитаниях, ранее не была отмечена для других видов ящериц, как важная предикторная переменная (Kaliotzouroulou *et al.*, 2008; De Pous *et al.*, 2011). Узкий диапазон изменения этих переменных означает достаточно высокую чувствительность вида к изменению климата. Установленные переменные объясняют экологические особенности, связанные с распределением *D. rostrombekowi* и дают представле-

ние о факторах, ограничивающих его распространение. Другая важная переменная — солнечная радиация, которая обеспечивает прогреваемость грунта в местообитаниях и меняется в узком диапазоне 4.1–4.2 кВт · ч/м². Высота над уровнем моря является важной переменной только для одной — наилучшей модели, которая была получена с использованием слоев с разрешением 90 м (3 s) (табл. 5).

Потенциальный ареал партеногенетического вида. Точки находок и потенциальный ареал *D. ros-*

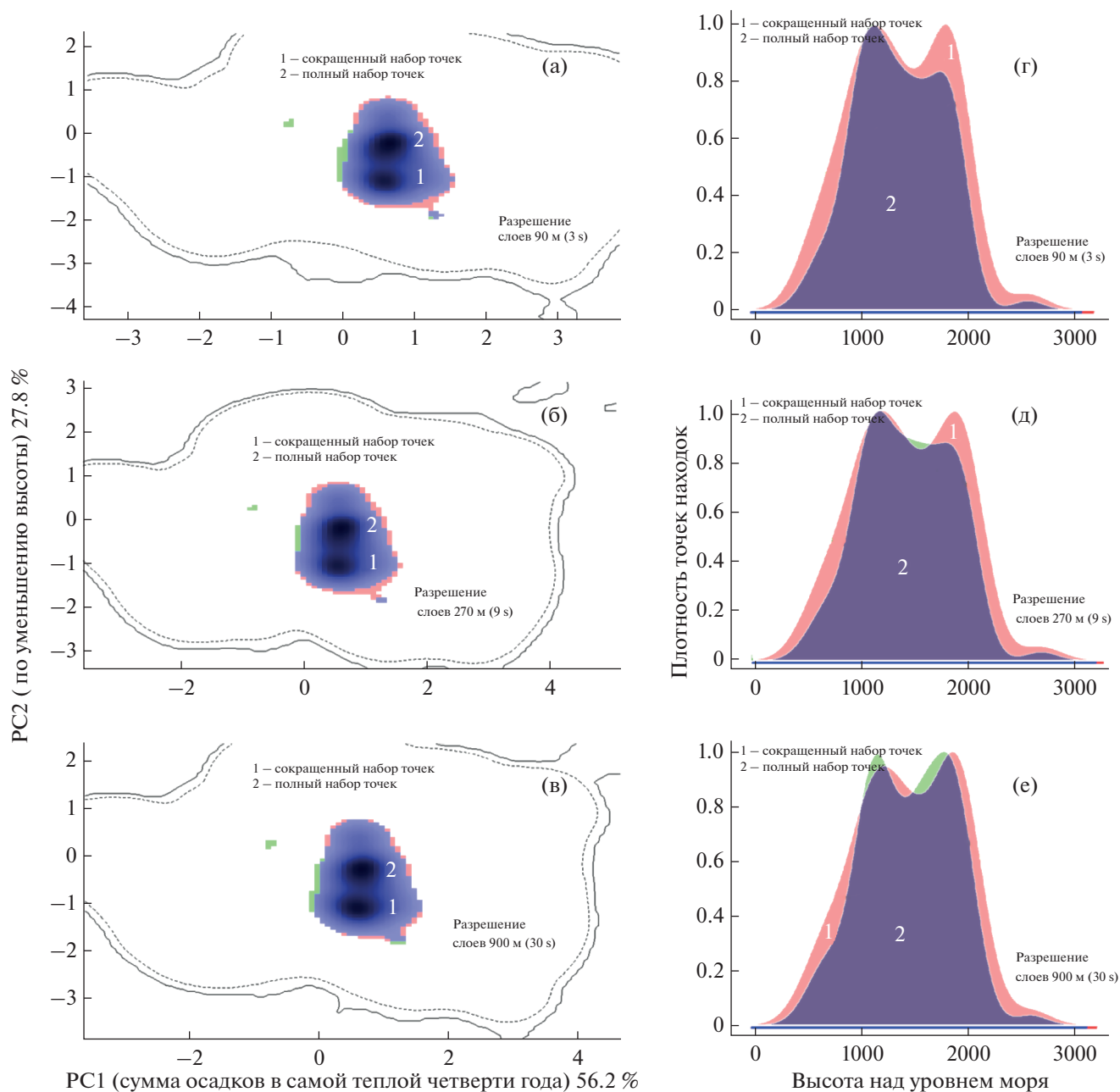


Рис. 4. Экологические ниши *D. rostombekowi* (а), (б), (в), представленные с использованием двух осей главных компонент, и сдвиги центроидов ниш (г), (д), (е) по высоте, полученных на основе сокращенных точек находок относительно полных. Затемненные области показывают реализованные ниши для разных наборов точек и разрешений, пунктирная и сплошная линии на рис. (а), (б), (в) – 90, 100% площади района исследования.

tombekowi показывают, что вид распространен достаточно широко в северо-восточной части Армении, в северо-западной части Азербайджана и на территории Нагорного Карабаха (рис. 3а). Большинство мест, где ранее наблюдался *D. rostombekowi*, хорошо поддаются предсказанию с помощью SDM (Darevsky, 1967; Uzzell, 1975; Мартиросян и др., 2003; Arakelyan *et al.*, 2011). Фактически, модель потенциального ареала *D. rostombekowi* предска-

ла более широкий диапазон распространения за пределами уже известных подходящих мест обитания популяций Спитак, Гош, Папанино, Иджеван, Ноемберян, Тавуш, а также южной популяции на берегу оз. Севан, где уже был зарегистрирован вид. Кроме этого, модель выделяет новые небольшие потенциальные местообитания западной части оз. Севан и восточной части Нагорного-Карабаха, северной части Армении на границе с Грузией. В

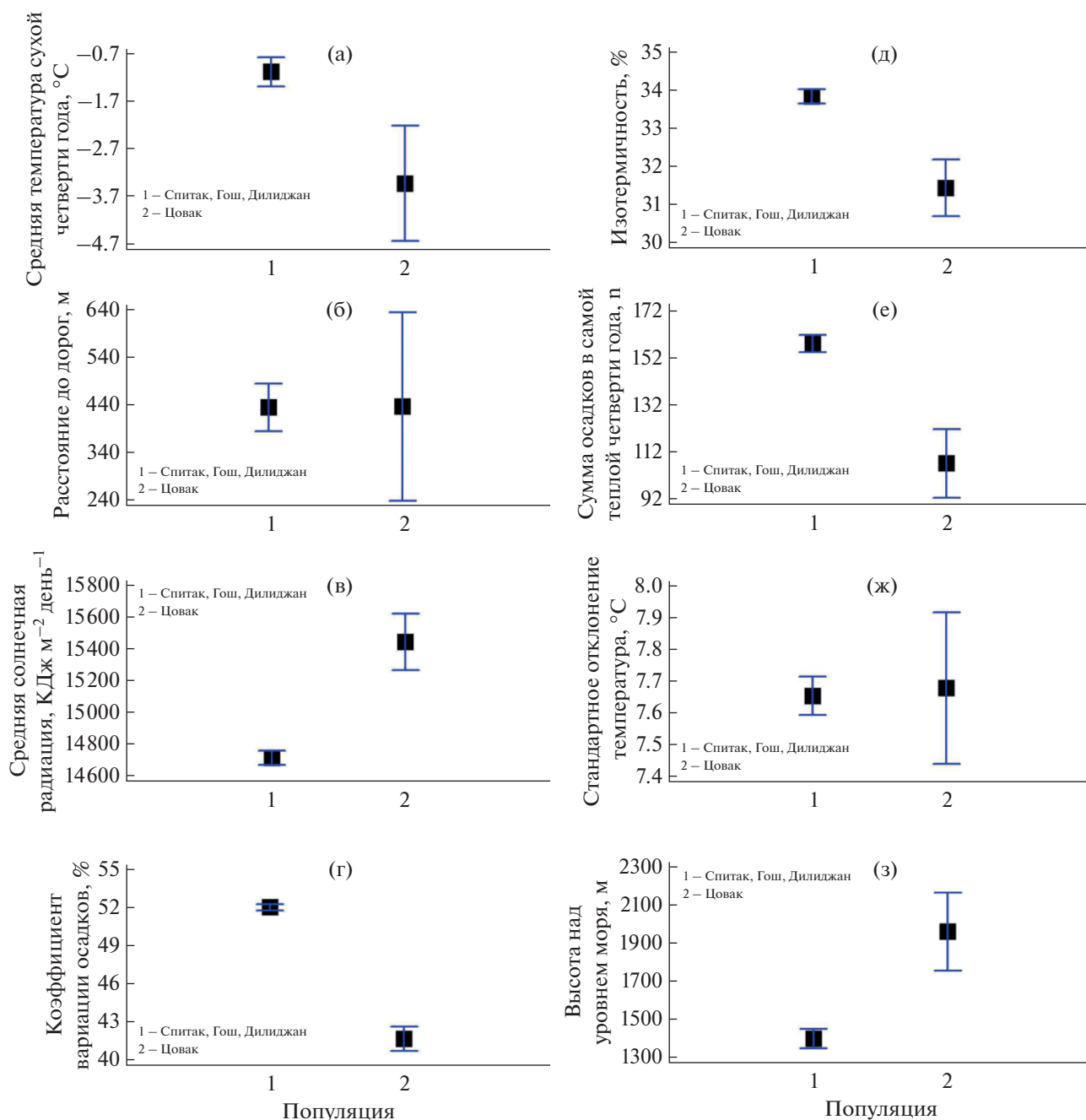


Рис. 5. Сравнение средних значений предикторных переменных (центроидов) серверных популяций и изолированной популяции Цовак. На графике представлены средние значения с 95% доверительными интервалами Тьюки с использованием ANOVA GLM: (а) $F = 6.9$; $P = 0.01$; (б) $F = 0.001$; $P = 0.99$; (в) $F = 30.95$, $P \ll 0.001$; (г) $F = 212.8$, $P \ll 0.001$; (д) $F = 18.98$, $P \ll 0.001$; (е) $F = 22.36$, $P \ll 0.001$; (ж) $F = 0.02$, $P = 0.89$; (з) $F = 13.9$, $P = 0.0003$.

целом, не высокое требование вида к растительности по результатам моделирования MaxEnt, отражено в потенциальной модели распределения, включающей в себя районы, которые расположены в лесной зоне (64%), горных лугах (12%), горных степей (14%) и антропогенно-трансформированных местообитаниях 9% на высотах характерных для горных лесов (1394 ± 37 м) и горных лугов и

степей (1957 ± 146 м). Северные популяции в основном расположены в лесной зоне, изолированная популяция Севан – в горных лугах и степях.

Данное исследование систематизировало знания о генетической изменчивости и распределении партеногенетического вида *D. rostombekowi* в нативной части ареала с использованием четырех микросателлит-содержащих локусов Du215, Du281,

Du323, Du47G и 118 записей с географическими координатами присутствия вида на территории Армении, Азербайджана и Нагорного Карабаха, охватывающих большую часть его ареала. В ходе исследования мы дополняли имеющиеся литературные данные собственными полевыми наблюдениями и построили потенциальный ареал вида (ПАВ) на основе анализа климатических, топографических и ландшафтных переменных среды. Результаты генетического анализа структуры (ГС) популяций показали, что, несмотря на наличие семи клональных линий, партеновид характеризуется одной монофилетической формой, т.е. образован в результате единичного акта гибридизации между близкими бисексуальными особями родительских видов. Анализ ПАВ и ГС указал на различие изолированной популяции юго-востока оз. Севан и северных популяций в Армении. Эти различия выражаются как в сдвиге экологических ниш этих популяций относительно друг от друга, так и в различии установленных генотипов. Прогнозируемое в настоящее время распределение *D. rostombekovi* с помощью ПАВ выявило новые небольшие местообитания западной части оз. Севан и восточной части Нагорного Карабаха, северной части Армении на границе с Грузией, где присутствие вида ранее не сообщалось в литературе. Результаты этого исследования и отсутствие полифилетических форм могут указывать на его регрессию. Следовательно, оценка статуса сохранения вида представляется оправданной. Результаты ценны для содействия будущим исследованиям и могут использоваться для ориентации природоохранительных организаций, с целью сохранения наиболее важных местообитаний изучаемого вида.

Благодарности. Авторы благодарны международной организации ERSI за предоставление бесплатной лицензии для использования ArcGIS Desktop 10.4.1 по линии Conservation Grant (Esri Sales Order number 3128913; Esri Delivery number – 81833751, Sold-To/End-user customer number – 535452).

Финансирование. Сбор, анализ и подготовка материалов для статьи стали возможными благодаря финансовой поддержке грантов РФФИ (18-34-00361) и (17-00-00427). Молекулярно-генетические исследования выполнены при финансовой поддержке РФФИ (19-14-00083).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Даревский И.С. Скальные ящерицы Кавказа: систематика, экология, филогения полиморфных ящериц подрода *Archaeolacerta*. Л.: Наука, 1967. 214 с.

Мальшева Д.Н., Даревский И.С., Токарская О.Н., Петросян В.Г., Мартиросян И.А., Рысков А.П. Изучение генетической изменчивости у однополых и двуполых видов ящериц Юго-Восточной Азии рода *Leiolepis* // Генетика. 2006. Т. 42. № 5. С. 581–586.

Мартиросян И.А., Рысков А.П., Петросян В.Г., Аракелян М.С., Асланян А.В., Даниелян Ф.Д., Даревский И.С., Токарская О.Н. Изменчивость мини- и микросателлитных маркеров ДНК в популяциях партеногенетической скальной ящерицы *Darevskia rostombekovi* // Генетика. 2002. Т. 38. № 6. С. 828–835.

Омельченко А.В., Вергун А.А., Омельченко Е.В., Лушикова А.А. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2016610517 Лабораторный конвертер № 1 – LabConverterV1, дата регистрации 13.01.16 (<https://patentinform.ru/programs/reg-2016610517.html>, проверено 26.08.2019).

Осинов Ф.А., Вергун А.А., Гирнык А.Е., Кутузова Н.М., Рысков А.П. Молекулярно-генетическая характеристика аллельных вариантов микросателлитных локусов Du281, Du215 и Du323 у партеногенетических ящериц *Darevskia rostombekovi* (сем. Lacertidae) // Мол. генетика, микробиология и вирусология. 2016. Т. 34. № 2. С. 58–61.

Agasyan A.L., Kalashyan M.Yu. (eds.). The Red Book of Animals of the Republic of Armenia. Yerevan. Zangak publ. 2010. 368 p.

Aiello-Lammens M.E., Boria R.A., Radosavljevic A., Vilela B., Anderson R.P. SpThin: an R package for spatial thinning of species occurrence records for use in ecological niche models // Ecography. 2015. № 38. P. 541–545.

Arakelyan M.S., Danielyan F.D., Corti C., Sindaco R., Leviton A.E. Herpetofauna of Armenia and Nagorno-Karabakh. SSAR Publications. 2011. Salt Lake City. 154 p.

Badaeva T.N., Malysheva D.N., Korchagin V.I., Ryskov A.P. Genetic variation and de novo mutations in the parthenogenetic Caucasian rock lizard *Darevskia unisexualis* // PLoS ONE. 2008. V. 3. P. 2730. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002730> PMID: 18648496

De Pous P., Mora E., Metallinou M., Escoriza D., Comas M., Donaire D., Pleguezuelos J.M., Carranza S. Elusive but widespread? The potential distribution and genetic variation of *Hyalosaurus koellikeri* (Günther, 1873) in the Maghreb // Amphib-Reptil. 2011. № 32. P. 385–397.

Doronin I.V. Distribution data of rock lizards from the *Darevskia* (praticola) complex (Sauria: Lacertidae) // Curr. Studies Herpet. 2015. V. 15. № 1/2. P. 3–38.

Di Cola V., Broennimann O., Petitpierre B., Breiner F.T., D'Amen M., Randin C., Engler R., Pottier J., Pio D., Dubuis L., Pellissier R.G., Mateo W., Hordijk N., Salamin N., Guisan A. Ecospat: an R package to support spatial analyses and modeling of species niches and distributions // Ecography. 2017. V. 40. P. 1–14.

Edgar R.C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. // Nucl. Acids Res. 2004. V. 32. P. 1792–1797. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340> PMID: 15034147

ESRI (Environmental Systems Research Institute) (2017): Arc GIS Desktop 10.4.1 – ESRI. Redlands. California.

Freitas S., Rocha S., Campos J., Ahmadzadeh F., Corti C., Sillero N., Ilgaz Ç., Kumlutaş Y., Arakelyan M., Harris D.J., Carretero M.A. Parthenogenesis through the Ice Ages: a biogeographic analysis of Caucasian rock lizards (genus *Darevskia*) // Mol. Phylogen. Evol. 2016. V. 102: 117–127.

- Kalioztzopoulou A., Brito J., Carretero M.A., Larbes S., Harris D.J.* Modelling the partially unknown distribution of wall lizards *Podarcis* in North Africa: ecological affinities, potential areas of occurrence and methodological constraint // *Can. J. Zoology*. 2008. V. 86. P. 992–1101.
- Kamvar Z.N., Tabima J.F., GruÈnwald N.J.* Poppr: an R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction // *Peer. J.* 2014. V. 2. P. 281.
<https://doi.org/10.7717/peerj.281>
- Korchagin V.I., Badaeva T.N., Tokarskaya O.N., Martirosyan I.A., Darevsky I.S., Ryskov A.P.* Molecular characterization of allelic variants of (GATA)_n microsatellite loci in parthenogenetic lizards *Darevskia unisexualis* (Lacertidae) // *Gene*. 2007. V. 292. P. 126–133.
- MacCulloch R.D., Murphy R.W., Kupriyanova L.A., Darevsky I.S.* The Caucasian rock lizard *Lacerta rostombekovi*: a monoclonal parthenogenetic vertebrate // *Biochem. Syst. Ecol.* 1997. V. 25. P. 33–37.
- Parker E.D., Walker J.M., Paulissen M.A.* Clonal diversity in *Cnemidophorus*: ecological and morphological consequences. In: Dawley RM, Bogart JP, editors. *Evolution and Ecology of Unisexual vertebrates*. Albany: New York State Museum Bulletin 466. 1989. P. 72–76.
- Petitpierre B., Kueffer C., Broennimann O., Randin C., Daehler C., Guisan A.* Climatic niche shifts are rare among terrestrial plant invaders // *Science*. 2012. V. 335. P. 1344–1348.
- Petrosyan V., Osipov F., Bobrov V., Dergunova N., Nazarenko E., Omelchenko A., Danielyan F., Arakelyan M.* Analysis of geographical distribution of the parthenogenetic rock lizard *Darevskia armeniaca* and its parental species (*D. mixta*, *D. valentini*) based on ecological modeling // *Salamandra*. 2019. V. 55. P. 173–190.
- Petrosyan V.G., Osipov F.A., Bobrov V.V., Dergunova N.N., Kropachev I.I., Danielyan F.D., Arakelyan M.S.* New records and geographic distribution of the sympatric zones of unisexual and bisexual rock lizards of the genus *Darevskia* in Armenia and adjacent territories // *Biodiversity Data J.* 2020a. V.8. P. e56030.
<https://doi.org/10.3897/BDJ.8.e56030>
- Petrosyan V., Osipov F., Bobrov V., Dergunova N., Omelchenko A., Varshavskiy A., Danielyan F., Arakelyan M.* Species Distribution Models and Niche Partitioning among Unisexual *Darevskia dahli* and Its Parental Bisexual (*D. portschinskii*, *D. mixta*) Rock Lizards in the Caucasus // *Mathematics*. 2020b. V. 8(8).
<https://doi.org/10.3390/math8081329>
- Phillips S.J., Anderson R.P., Schapire R.E.* Maximum entropy modeling of species geographic distributions // *Ecol. Model.* 2006. V. 190. P. 231–259.
- Ryskov A.P., Osipov F.A., Omelchenko A.V., Semyenova S.K., Girnyk A.E., Korchagin V.I., Vergun A.A., Murphy R.W.* The origin of multiple clones in the parthenogenetic lizard species *Darevskia rostombekovi* // *PLoS ONE*. 2017. V. 12(9). e0185161.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185161>
- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipowski A., Kumar S.* MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 // *Mol. Biol. Evol.* 2013. V. 30. P. 2725–2729.
- Tarkhnishvili D., Gavashelishvili A., Avaliani A., Murtskhvaladze M., Mumladze L.* Unisexual rock lizard might be out competing its bisexual progenitors in the Caucasus. // *Biol. J. Linn. Soc.* 2010. V. 101. P. 447–460.
- Uzzell T., Darevsky I.S.* Biochemical evidence for the hybrid origin of the parthenogenetic species of *Lacerta saxicola* complex (*Sauria*: Lacertidae) with a discussion of some ecological and evolutionary implications // *Copeia*. 1975. V. 2. P. 204–222.
- Vergun A.A., Martirosyan I.A., Semyenova S.K., Omelchenko A.V., Petrosyan V.G., Lazebny O.E.* Clonal diversity and clone formation in the parthenogenetic Caucasian rock lizard *Darevskia dahli* // *PLoS ONE*. 2014. V. 9(3): e91674.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091674> PMID: 24618670

Genetic Diversity and Potential Range of *Darevskia rostombekovi* in Transcaucasia

F. A. Osipov^{1, #}, A. A. Vergun^{2, 3}, M. S. Arakelyan⁴, R. K. Petrosyan⁴, N. N. Dergunova¹, L. A. Neymark¹, and V. G. Petrosyan¹

¹Severtsov Institute of Ecology and Evolution, RAS, Leninsky pr., 33, Moscow, 119071 Russia

²Institute of Gene Biology of the RAS, ul. Vavilova, 34/5, Moscow, 119334 Russia

³Moscow State Pedagogical University, ul. M. Pirogovskaya, 1/1, Moscow, 119991 Russia

⁴Department of Biology, Yerevan State University, ul. Alex Manoogian 1, Yerevan, 0025 Armenia

e-mail: osipov_feodor@mail.ru

The results of the analysis of genetic diversity of *Darevskia rostombekovi* (Darevsky, 1957) parthenogenetic species using four microsatellite loci are presented. On the basis of 118 records with the geographical coordinates of the species occurrence in Transcaucasia, maps of the potential range were created. Analysis of the genetic structure of populations showed that, despite the established multiclinality (seven clonal lines in four populations), *D. rostombekovi* was formed as a result of a single act of hybridization between closely related bisexual species. Modelling of *D. rostombekovi* predicted distribution range revealed new small habitats where the presence of the species was not previously reported. The results of this study and the absence of multiple events of hybridization of these forms may indicate a regression in abundance. Consequently, the assessment of the conservation status of the parthenogenetic species seems to be justified.