

ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНОТИПИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ У ПАРТЕНОГЕНЕТИЧЕСКИХ ЯЩЕРИЦ *DAREVSKIA ARMENIACA* (MEHELY), ИНТРОДУЦИРОВАННЫХ ИЗ АРМЕНИИ НА УКРАИНУ

© 2016 Омельченко А.В.^{1*}, Гирнык А.Е.², Осипов Ф.А.^{2,3},
Петросян В.Г.¹, Вергун А.А.^{2,3**}, Рысков А.П.^{2***}

¹ Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук,
Москва 119071

² Институт биологии гена Российской академии наук, Москва 119334

³ Московский педагогический государственный университет, Москва 119991

E-mail: * omi@bk.ru, ** vermand@mail.ru, *** ryskov@mail.ru

Поступила в редакцию 06.08.2015

В статье приведены данные об аллельном и генотипическом разнообразии украинских и армянских популяций партеногенетической ящерицы *Darevskia armeniaca*. Индивидуальные генотипы исследуемых особей были установлены по сочетанию аллельных вариантов трёх микросателлитных локусов. Предполагается, что в интродуцированной украинской популяции после переселения возникло два новых генотипа. Предложены молекулярные механизмы возникновения этих новых генотипов. Приведены значения наблюдаемой гетерозиготности и генетических расстояний F_{st} для интродуцированной украинской популяции, её исходной армянской популяции и группы других армянских популяций.

Ключевые слова: инвазия, интродукция, Украина, Армения, популяции, ящерицы, партеногенез, *Darevskia*, микросателлиты, генетическое разнообразие, гетерозиготность, генетические расстояния, F-статистика Райта.

Введение

Изменение биологических и генотипических характеристик животных под воздействием новых условий существования представляет большой научный интерес, в частности, для понимания начальных этапов дивергенции и видообразования. В этом отношении особенно перспективно изучение земноводных и пресмыкающихся, которые имеют повышенную реакцию на многие факторы среды, относительно малоподвижны и привязаны к местам своего обитания. При этом преднамеренная интродукция животных с известным началом эксперимента позволяет соотнести во времени любые изменения, происходящие в популяции.

В таком эксперименте особый интерес представляют партеногенетические виды животных с клональным типом наследования.

В 1963 г. И.С. Даревский и Н.Н. Щербак, положили начало эксперименту по интродукции партеногенетического вида ящериц *Darevskia armeniaca* из Закавказья на Украину [Даревский, Щербак, 1967]. Исходная популяция *D. armeniaca* была представлена 126 половозрелыми самками, отловленными на Семёновском перевале в округе г. Степанована Северной Армении (49°56'10" с. ш. и 28°53'10" в. д., высота над уровнем моря 1450 м). Эти ящерицы были выпущены в каньоне р. Тетерев в 22 км выше г. Житомира

(41°01'15" с. ш. и 44°22'54" в. д., высота над уровнем моря 243 м). Выбор района выпуска ящериц определялся сходством скальных биотопов. В частности, в бассейне р. Тетерев был участок, который представлял подобие ущелья Кавказских гор. Интродукция прошла успешно, ареал украинской популяции увеличился к 1998 г. примерно в 10 раз, несмотря на гибель значительной части переселенцев в первую суровую зиму 1963–1964 гг. [Доценко, 2007].

Сравнение исходной и интродуцированной популяций, проведённое через 35 лет по 12 фенотипическим признакам, не выявило у них изменений, за исключением размера тела, который несколько увеличился у особей украинской популяции вследствие более прохладного климата [Доценко и др., 2008–2009]. Молекулярно-генетические методы, – RAPD и ДНК-фингерпринтинг, – также не обнаружили заметных различий между этими популяциями [Даревский и др., 1998]. В настоящей работе представлены данные по генотипированию ящериц *D. armeniaca* исходной популяции (Семёновский перевал, Армения) и переселённой на Украину популяции, для которого использовали три микросателлитных локуса (Du215, Du281 и Du323), а также данные по распределению выявленных генотипов в этих популяциях. Результаты свидетельствуют о наличии генотипических различий между исходной и интродуцированной популяциями *D. armeniaca*.

Материалы и методы

В работе использованы коллекционные образцы ДНК ящериц *D. armeniaca* (1 популяция из Украины 50°11'33.7"N, 28°19'04.3"E – 16 особей; популяция «Семёновский перевал» из Армении (родительская популяция для украинской популяции) 40°39'52.6"N, 44°53'24.4"E – 8 особей; 13 популяций из Армении: «Папанино» 40°42'27.7"N,

44°45'43.9"E – 4 особи; «Лчашен» 40°30'45.9"N, 44°54'3.2"E – 1 особь; «Тэж» 40°42'8.1"N, 44°36'30.8"E – 8 особей; «Кутчак» 40°31'49.8"N, 44°17'3.4"E – 7 особей; «Алаверды» 41°04'50.8"N, 44°39'27.1"E – 3 особи; «Степанаван» 41°03'21.8"N, 44°21'33.5"E – 9 особей; «Пушкинский перевал» 40°54'42.1"N, 44°25'55.6"E – 7 особей; «Медведь-гора» 40°58'45.8"N, 44°24'32.7"E – 12 особей; «Артик» 40°38'25.9"N, 43°54'14.4"E – 18 особей; «Лчап» 40°28'02.4"N, 45°03'43.5"E – 1 особь; «Такярлу» 40°37'20.2"N, 44°34'51.4"E – 21 особь; «Меградзор» 40°36'45.1"N, 44°36'23.5"E – 9 особей; «Сотк» 40°12'43.8"N, 45°52'42.6"E – 3 особи. Локализация популяций представлена на рисунке 1. Молекулярно-генетические методики исследования (выделение ДНК, подбор праймеров и условий ПЦР) соответствуют применяемым нами ранее [Мальшева и др., 2008]. Для генотипирования использовали аллели микросателлитных локусов Du215 (3 аллельных варианта), Du281 (4 аллельных варианта), Du323 (3 аллельных варианта). Все выявленные аллели секвенированы на автоматическом секвенаторе ABI PRISM 3100-Avant и депонированы в GenBank [Мальшева и др., 2008]. С помощью данных процедур установлена аллельная структура генотипа каждой особи. Данные по изменчивости этих аллельных вариантов представлены в таблице 1. Генетические параметры популяций (гетерозиготность и F_{st} значения) определяли с помощью Web-версии компьютерной программы POPTREEW (<http://www.med.kagawa-u.ac.jp/~genomelb/takezaki/poptreew/index.html>). Расчёты по описательной статистике (среднее арифметическое, дисперсии, размах, стандартные отклонения и ошибки) и дисперсионному анализу ANOVA выполнены с применением компьютерной программы STATISTICA 7.

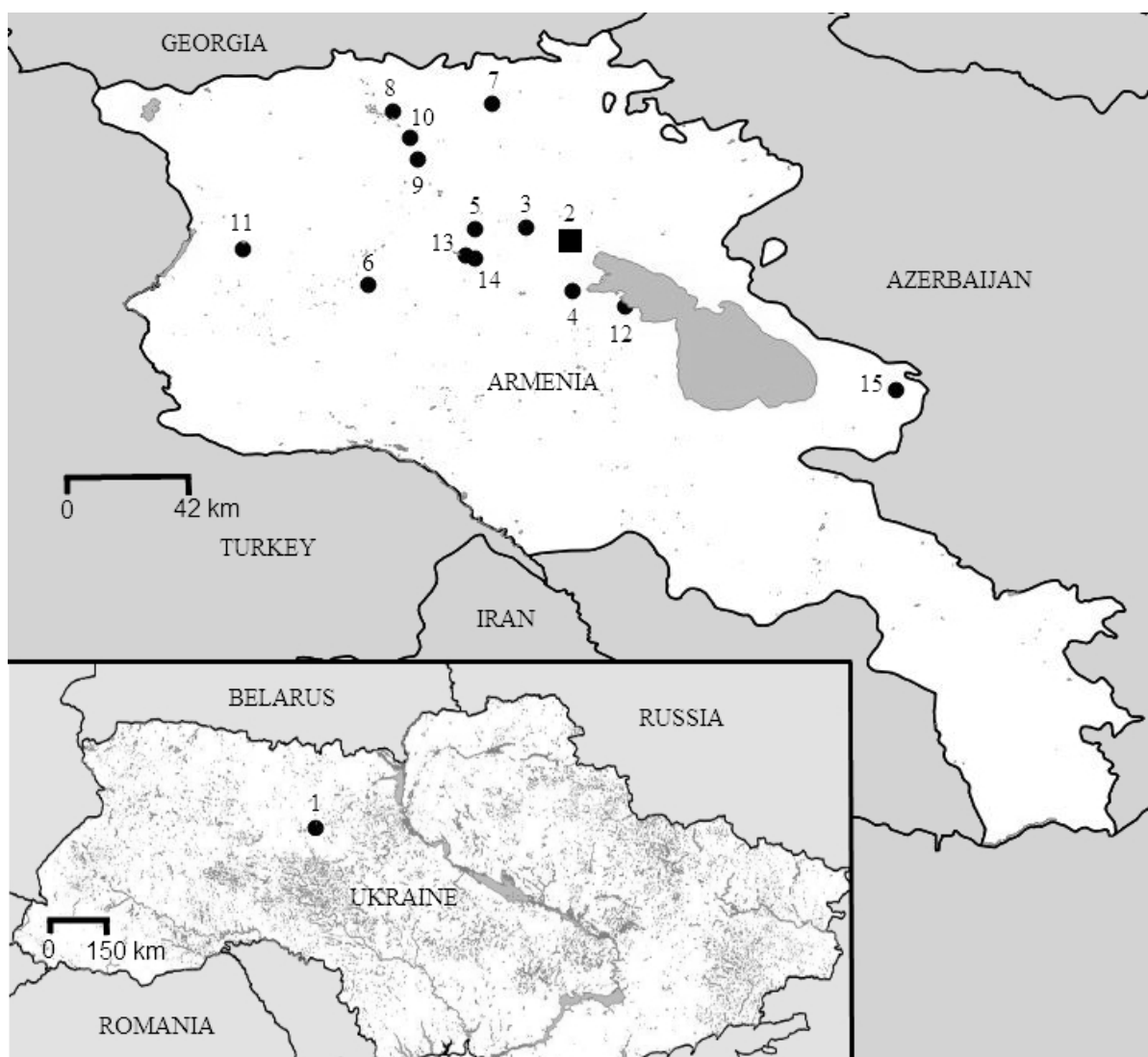


Рис. 1. Локализация популяций *D. armeniaca* на Украине и в Армении: 1 – украинская (перемещённая) популяция, 2 – популяция «Семёновский перевал» (исходная) (показана чёрным квадратом), 3 – популяция «Папанино», 4 – популяция «Лчашен», 5 – популяция «Тэж», 6 – популяция «Кутчак», 7 – популяция «Алаверды», 8 – популяция «Степанаван», 9 – популяция «Пушкинский перевал», 10 – популяция «Медведь-гора», 11 – популяция «Артик», 12 – популяция «Лчач», 13 – популяция «Такярлу», 14 – популяция «Меградзор», 15 – популяция «Сотк».

Результаты и обсуждение

Индивидуальные генотипы для всех исследуемых особей были установлены по сочетанию аллельных вариантов трёх микросателлитных локусов, представленных в таблице 1. Выявленные аллели различались по структуре микросателлитных кластеров и по однонуклеотидным вариациям в прилежащих к микросателлиту участках ДНК.

По нашему мнению, эти аллельные различия отражают гибридное происхождение партеногенетического

вида *D. armeniaca* в результате межвидовой гибридизации двуполовых родительских видов *D. valentini* (отцовский вид) и *D. mixta* (материнский вид) [Moritz et al., 1992], а также возможные мутации (прежде всего в микросателлитной ДНК), возникающие в ходе эволюционной истории партеновида.

В таблице 2 представлены данные о структуре генотипов *D. armeniaca* и их распределении в исследуемых популяциях. Всего у *D. armeniaca* выявлено 7 генотипов. В соответствии

Таблица 1. Аллельные варианты микросателлитных локусов Du215, Du281, Du323 партеногенетического вида *D. Arteniaca*

Аллель	Длина (п.о.)	Последовательность микросателлитного кластера	Фиксированные нуклеотидные замены на флангах*	Gene Bank ас. №
Du215(arm)1	236	5'(GAT)(GACA)(GATA) ₈ (GACA) ₅ (GATA)(GCAA) ₃ '	T (-58), G (-38), C (-19)	GU972533
Du215(arm)2	232	5'(GAT)(GACA)(GATA) ₇ (GACA) ₅ (GATA)(GCAA) ₃ '	T (-58), G (-38), C (-19)	GU972534
Du215(arm)3	192	5'(GAT)(GATA) ₅ 3'	A (-58), C (-38), C (-19)	GU972535
Du281(arm)1	229	5'(CA) ₂ ...(GGTA)(GATA) ₁₀ (GAT)(GATA)(GGTA) ₂ (GAT)(GATA) ₄ 3'	T (+15)	HM070259
Du281(arm)2	225	5'(CA) ₂ ...(GGTA)(GATA) ₉ (GAT)(GATA)(GGTA) ₂ (GAT)(GATA) ₄ 3'	T (+15)	HM070260
Du281(arm)3	187	5'(CA) ₂ ...(GATA) ₉ 3'	C (+15)	HM070261
Du281(arm)4	183	5'(CA) ₂ ...(GATA) ₈ 3'	C (+15)	HM070262
Du323(arm)1	215	5'(AC) ₆ ...(GATA) ₁₁ (GAT)(GATA) ₂ (GA) ₄ 3'	C (-23), T (+39)	HM013992
Du323(arm)2	211	5'(AC) ₆ ...(GATA) ₁₀ (GAT)(GATA) ₂ (GA) ₄ 3'	C (-23), T (+39)	HM013993
Du323(arm)3	184	5'(AC) ₅ ...(GATA)(GGT)(GATA) ₃ (GAT)(GATA)(GA) ₄ 3'	A (-23), C (+39)	HM013994

* Даны расстояния в н.п. до (-) и после (+) микросателлитного кластера. Данные представлены из [Малышева и др., 2008].

с изменчивостью аллельных вариантов, каждый из них характеризуется наличием нескольких микросателлитных кластеров с различным числом звеньев, мутациями внутри звеньев и устойчивыми нуклеотидными заменами во фланкирующих микросателлитных кластерах областей генома. Из таблицы 2 следует, что генотип № 1 является преобладающим в суммарной выборке *D. armeniaca*, а генотип № 2 является преобладающим в популяции «Семеновский перевал» и в украинской популяции. Причем, видимо, преобладание генотипа №2 на Украине наследуется от исходной популяции «Семёновский перевал». Вообще, популяция «Семёновский перевал» по набору генотипов сильно отличается от других армянских популяций – не только наличием уникального для Армении генотипа № 2, но и отсутствием генотипов № 5 и № 6. Генотип № 3, скорее всего, присутствует в популяции «Семёновский перевал», но он не был отобран в процессе отлова особей. Вывод о его наличии в популяции «Семёновский перевал» можно сделать на основании того, что этот генотип есть в украинской популяции и маловероятно его независимое появление на Украине, учитывая сложную комбинацию различных микросателлитных звеньев и нуклеотидных замен во фланкирующих областях локусов, составляющих этот генотип. Исходя из данных таблицы 2, украинская популяция демонстрирует выраженные процессы генетической дифференциации, заключающиеся в появлении новых генотипов и изменении соотношения генотипов, унаследованных от исходной армянской популяции. Так, на Украине появились отсутствующие в Армении генотипы № 4 и № 7, что, видимо, является отражением процесса, приводящего к возникновению мутантных аллелей *de novo*. В украинской популяции сильно уменьшилась доля мажорного генотипа за счёт увеличения доли вновь

возникших генотипов (№ 4 и № 7) и генотипов № 1 и № 3. Такое быстрое изменение соотношения уже существующих генотипов вызвано, по-нашему мнению, эффектом «горлышка бутылки», через который прошла украинская популяция после интродукции. Известно, что значительная часть из 129 переселённых ящериц погибла в первую зиму (1963–1964 гг.) после выпуска из-за отсутствия освоенных зимовальных убежищ [Доценко, 2007]. В следующем 1964 г. на месте выпуска было обнаружено лишь 6 переселенцев, а в 1965 г. было отмечено 6 взрослых особей и две молодые, рождения текущего года. И только на четвёртый год было зарегистрировано 33 взрослых, в том числе, 6 молодых ящериц. Последующие наблюдения ящериц интродуцированной популяции, проведённые сотрудниками зоологического музея НАН Украины, показали, что переселенцы заселили весь скальный участок на берегу р. Тетерев и прилегающие территории [Доценко, 2007; Доценко и др., 2008–2009]. Вся площадь их распространения достигла 3–4 тыс. м². При этом отмечена значительная неравномерность в распространении ящериц на разных участках в зависимости от степени инсоляции. В целом, плотность этой популяции превышала таковую на Кавказе. На сегодня общая численность *D. armeniaca* на Украине составляет несколько десятков тысяч особей. Таким образом, выявленные нами изменения в генотипической (клональной) структуре интродуцентов, по-видимому, связаны со специфическими условиями развития этой популяции, в частности, с погодными факторами, особенностями зимовки и различными факторами воздействия человека.

Мутации, затрагивающие число микросателлитных звеньев у аллелей исследуемых локусов, нуклеотидный состав звена и нуклеотидные замены во фланкирующих микросателлитных

Таблица 2. Аллельная структура и распределение генотипов в исходной («Семёновский перевал», Армения), перемещённой (Украина) популяциях и в группе других армянских популяций ящериц *D. Arteniaca*

№ п/п	Аллельная структура генотипа	Число особей			Суммарная выборка из группы других армянских популяций (%)
		Перемещённая на Украину популяция (%)	Исходная популяция «Семёновский перевал» (%)		
1	Du215(arm)2+Du215(arm)3+Du281(arm)2+Du281(arm)4+Du323(arm)2+Du323(arm)3	3 (18.75%)	1 (12.5%)	93 (90.29%)	
2	Du215(arm)2+Du215(arm)3+Du281(arm)2+Du281(arm)3+Du323(arm)2+Du323(arm)3	8 (50%)	7 (87.5%)	0	
3	Du215(arm)2+Du215(arm)3+Du281(arm)2+Du281(arm)4+Du323(arm)1+Du323(arm)3	1 (6.25%)	0	7 (6.8%)	
4	Du215(arm)1+Du215(arm)3+Du281(arm)2+Du281(arm)3+Du323(arm)2+Du323(arm)3	3 (18.75%)	0	0	
5	Du215(arm)2+Du215(arm)3+Du281(arm)1+Du281(arm)4+Du323(arm)2+Du323(arm)3	0	0	2 (1.94%)	
6	Du215(arm)1+Du215(arm)3+Du281(arm)2+Du281(arm)4+Du323(arm)2+Du323(arm)3	0	0	1 (0.97%)	
7	Du215(arm)2+Du215(arm)3+Du281(arm)2+Du281(arm)3+Du323(arm)1+Du323(arm)3	1 (6.25%)	0	0	

кластеры областях, по-видимому, имеют различную скорость, время возникновения и молекулярные механизмы происхождения. Так, в нашей предыдущей работе, на примере другого партеногенетического вида рода *Darevskia* – *Darevskia dahli* [Vergun et al., 2014], было установлено, что устойчивые сочетания единичных нуклеотидных замен во фланкирующих микросателлитные кластеры областей соответствуют по времени своего возникновения времени гибридизации исходных в филогенетическом отношении родительских двуполовых видов и устойчиво наследуются в популяциях дочерних видов, образуя гаплотипы, число которых равно числу актов гибридизации родительских видов. Относительно *D. armeniaca*, на основании использования указанных трёх маркерных локусов, можно утверждать, что все особи, как в Армении, так и на Украине принадлежат к одному и тому же гаплотипу и не имеют мутаций в нуклеотидном составе микросателлитных звеньев, отличных от наследуемых аллелей по «отцовской» и «материнской» линиям (табл. 1). Все вариации в генотипах затрагивают лишь число (GATA) звеньев в одних и тех же кластерах для «материнской» и «отцовской» линии наследования, соответственно. Это обстоятельство делает применяемый нами набор локусов удобным для реконструкции процессов происхождения генотипов в исследуемых популяциях. На рисунке 2 представлены филогенетические сети происхождения генотипов в случае гипотезы одновременного закрепления в популяциях возникших мутаций (рис. 2А) и последовательного их закрепления (рис. 2Б). Видно, что нами в качестве исходного генотипа был выбран генотип № 1. Это объясняется следующими соображениями: 1) генотип № 1 является мажорным и самым распространённым в генофонде вида *D. armeniaca*; 2) при выборе генотипа № 1 в качестве исходного,

направления всех мутаций ведут к увеличению ровно на одно GATA звено для каждого микросателлитного кластера во всех генотипах. Это соответствует принципу минимальной эволюции и также термодинамическим критериям молекулярной эволюции микросателлитов, рассмотренных нами в работе [Омельченко, Корчагин, 2009], в которой показано, что микросателлитные кластеры сходного строения имеют сходные направления мутаций, ведущих либо к увеличению, либо к уменьшению числа микросателлитных звеньев, в зависимости от локального минимума энергии Гиббса аллеля.

Из рисунка 2 также следует, что для указанных генотипов возможны различные пути эволюции. В случае принятия гипотезы о том, что мутации в различных локусах происходят одновременно и одновременно закрепляются в популяциях (см. рис. 2А), следует указать, что каждый генотип произошёл из генотипа № 1 путём увеличения микросателлитного кластера на одно GATA звено, кроме генотипов № 4 и № 7, которые образовались в результате двух одновременных однозвеньевых мутаций. По этой модели украинская популяция демонстрирует скорости мутаций в одних и тех же локусах, значительно превышающие скорости мутаций в армянских популяциях. По другой модели, согласно которой мутации в одних и тех же локусах и в одних и тех же микросателлитах происходят с одинаковой скоростью, независимо от популяционной принадлежности особи, следует принять тот факт, что мутации закреплялись в популяциях последовательно (см. рис. 2Б). Кроме того, данное утверждение согласуется с «пошаговой мутационной моделью» (Stepwise mutation (SM) model) микросателлитной изменчивости, в рамках которой мутации в микросателлитах последовательно изменяют микросателлит, уменьшая или увеличивая его только на одно звено

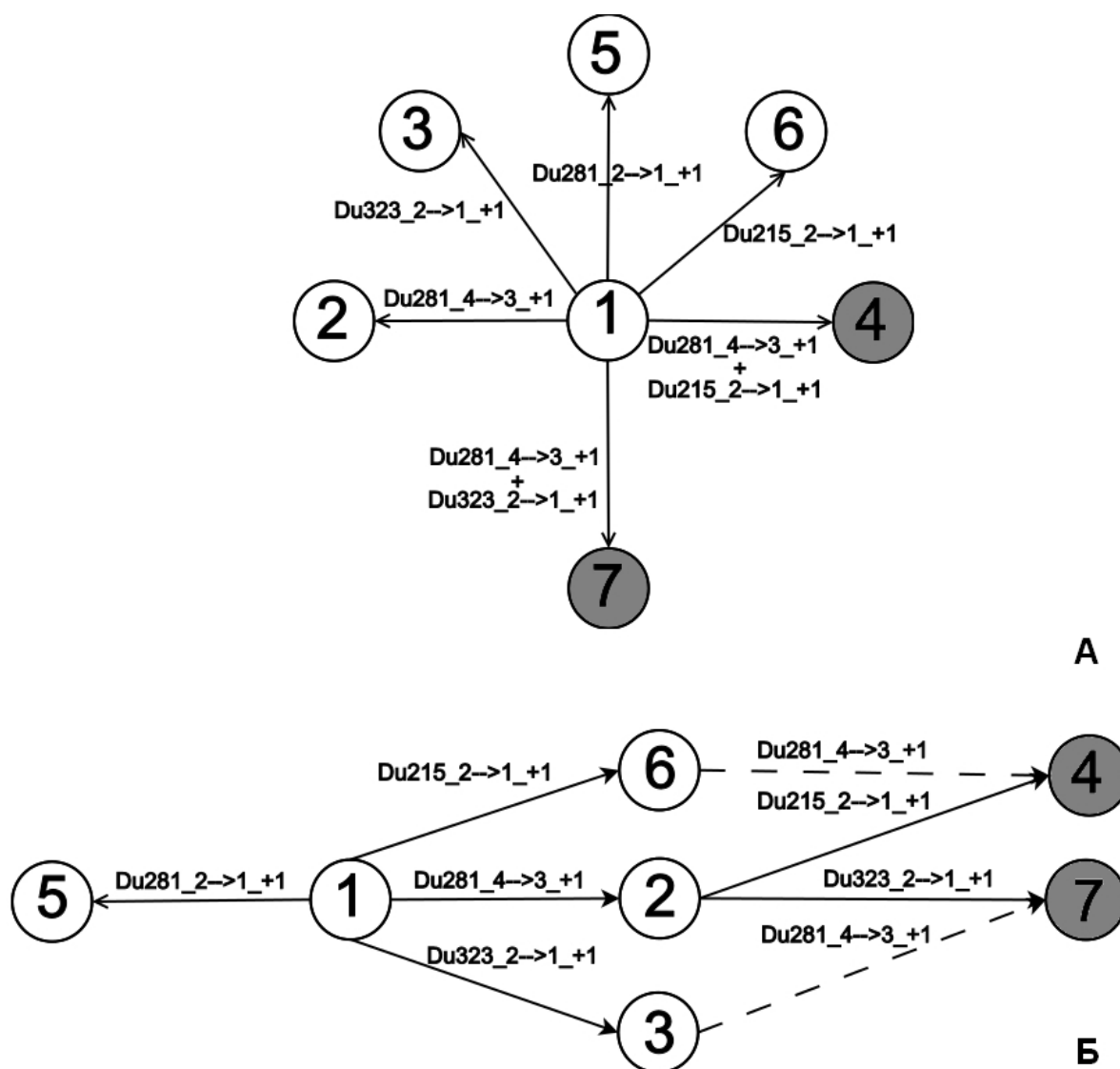


Рис. 2. Филогенетические сети происхождения генотипов в случае гипотезы одновременного закрепления в популяциях возникших мутаций (А) и последовательного их закрепления (Б). Серым фоном закрашены генотипы, возникшие в популяции, интродуцированной на Украину. Пунктирной линией показаны наименее вероятные мутации (см. объяснение в тексте). Подписи над стрелками описывают мутации следующим образом: Локус_Номер исходного аллеля→Номер мутантного аллеля_(+)увеличение/(-)уменьшение GATA-кластера на n звеньев.

за один акт мутации [Oliveira et al., 2006; Badaeva et al., 2008]. В этом случае становятся понятны пути происхождения генотипов № 4 и № 7 в украинской популяции, при которых оба этих генотипа произошли из генотипа № 2. Пути происхождения генотипа № 4 от генотипа № 6 и генотипа № 7 от генотипа № 3 считаются маловероятными, так как генотипы № 3 и № 4 не обнаружены в популяции «Семёновский перевал», при этом генотип № 2 является самым

часто встречаемым как в украинской популяции, так и в популяции «Семёновский перевал». Главный вывод из этой модели состоит в том, что, зная время появления генотипа № 2 на Украине (интродукция 1963 г.), и время обнаружения генотипов № 4 и № 7 в украинской популяции (отлов ящериц в 2001 г.), можно определить верхнюю временную границу мутирования и закрепления этой однозвеньевой микросателлитной мутации в популяции, равную 38 годам.

Рассмотренные нами мутационные процессы привели к тому, что в интродуцированной украинской популяции разнообразие генотипов (5 генотипов) превзошло таковое не только в исходной популяции «Семёновский перевал» (2 генотипа), но и генотипическое разнообразие всего вида на территории Армении (4 генотипа). На уровне аллельного разнообразия это явление подтверждается наблюдаемой гетерозиготностью ($H_{наб.}$) популяций: для украинской популяции $H_{наб.} = 0.575$ ($SE = 0.011$), для популяции «Семёновский перевал» $H_{наб.} = 0.518$ ($SE = 0.018$), для суммарной выборки из других популяций Армении $H_{наб.} = 0.515$ ($SE = 0.010$). С учётом стандартных ошибок можно утверждать, что по такому внутривидовому показателю генетического разнообразия как гетерозиготность исходная для интродукции популяция «Семёновский перевал» равна всем другим армянским популяциям. Это даёт нам основание полагать, что, если бы интродукции подверглась любая другая популяция из Армении, то украинская популяция также бы демонстрировала увеличение внутривидового генетического разнообразия, как на уровне аллелей, так и на уровне генотипов. Таким образом, можно предположить, что высокий уровень аллельного и генотипического разнообразия *D. armeniaca* на Украине достигнут не за счёт того, что исходная популяция была изначально более генетически разнообразна, а по другим причинам.

Следует отметить, что интродукция вида может сопровождаться как уменьшением генетического разнообразия, так и увеличением этого показателя, а, кроме того, гетерозиготность интродуцированной популяции относительно исходной может не измениться. Уменьшение гетерозиготности мы можем наблюдать на примере популяций домового воробья *Passer domesticus*, где значения $H_{наб.}$ для исходных популяций

варьируют от 0.77 до 0.89, а значения для инвазивных популяций – от 0.59 до 0.81 [Schrey et al., 2011]. Значительное уменьшение уровня гетерозиготности в интродуцированных популяциях наблюдается у четырёх видов рыб рода *Neogobius*, обитающих в Понто-Каспийском водном бассейне [Ondrackova et al., 2012]. При этом, значения F_{st} между исходными и инвазивными популяциями варьируют в широком диапазоне от 0.053 до 0.591. Для партеновидов известны случаи, когда успешная инвазия возможна из исходной популяции с низким генотипическим разнообразием и сохранением в интродуцированной популяции низкого уровня генотипического разнообразия, как это показано на примере популяций новозеландской улитки *Potamopyrgus antipodarum* в США [Dybdahl, Drown, 2011]. Тенденция сохранения уровня гетерозиготности в исходной и интродуцированной популяции наблюдается и в случае инвазии обыкновенной скальной ящерицы *Podarcis muralis* из Восточной Франции в Германию [Schulte et al., 2012]. Также одинаковые уровни гетерозиготности наблюдаются в исходных (США – в среднем $H_{наб.} = 0.656$) и интродуцированных (Швеция, Дания, Германия, Великобритания и Франция – в среднем $H_{наб.} = 0.644$) популяциях морских моллюсков *Crepidula fornicata* [Riquet et al., 2013]. На ряду с вышеописанными случаями есть примеры, где интродуцированные популяции демонстрируют высокий уровень гетерозиготности, как в популяциях двух видов крабов – *Hemigrapsus sanguineus* и *Hemigrapsus takanoi*, у которых уровень наблюдаемой гетерозиготности доходит до 0.935 и до 0.781 соответственно [Poux et al., 2015]. Впрочем, как отмечают авторы приведённых работ, повышение уровня гетерозиготности происходит в тех популяциях, где наблюдается гибридизация популяций-вселенцев с уже присутствующими там

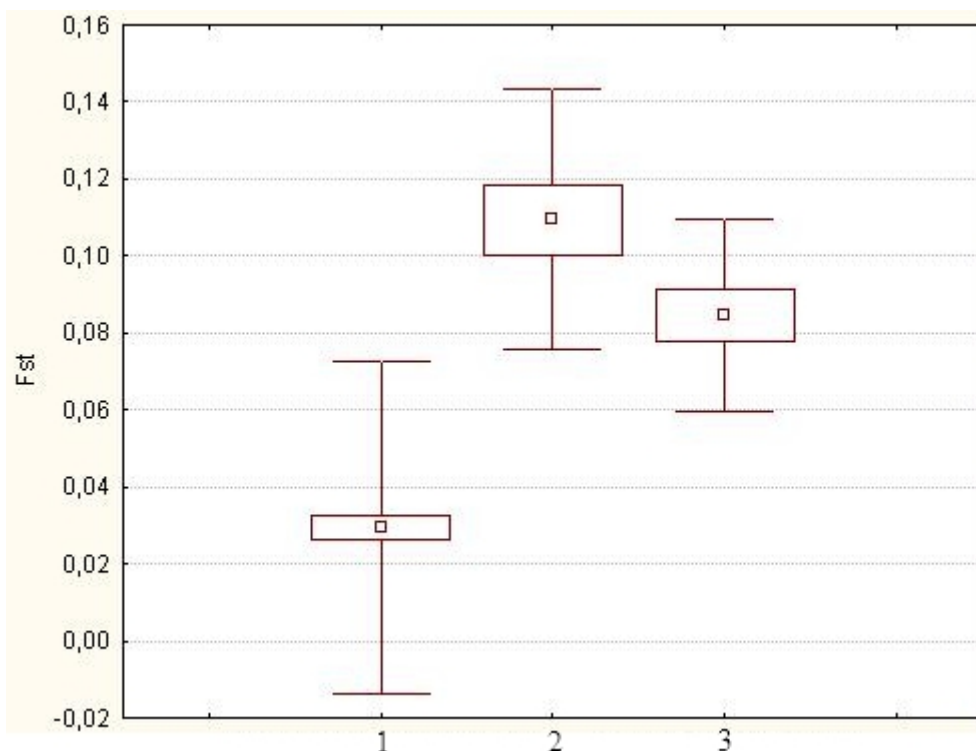


Рис. 3. Результаты дисперсионного анализа значений F_{st} изучаемых групп популяций на основании сравнения с популяциями Армении. Квадратами показаны средние значения F_{st} , прямоугольниками – диапазон стандартных ошибок, прямыми линиями – диапазон стандартных отклонений. 1 – суммарная выборка из популяций Армении, 2 – выборка из исходной популяции «Семёновский перевал», 3 – выборка из интродуцированной на Украину популяции.

популяциями этого вида – в случае обыкновенной скальной ящерицы *Podarcis muralis* это явление установлено экспериментально [Schulte et al., 2012].

Однако, при том что по внутрипопуляционным генетическим параметрам (гетерозиготности) популяция «Семёновский перевал» не отличается от других популяций Армении, по такому межпопуляционному параметру как F_{st} эта популяция сильно отличается от группы армянских популяций. На рисунке 3 представлен график значений F_{st} для всех изучаемых нами популяций, демонстрирующих генетические расстояния между ними и популяциями Армении. В случае группы армянских популяций значение F_{st} на рисунке 3 показывает межпопуляционные генетические расстояния внутри группы. Также из этого рисунка видно, что популяция «Семёновский перевал»

($F_{st} = 0.109$, $SE = 0.009$) имеет наибольшее значение F_{st} . Следует отметить, что все три группы популяций статистически значимо отличаются друг от друга по этому параметру: $F(2, 207) = 33.218$ ($p = 0.00000$). Конкретизация этих различий с помощью апостериорного критерия Тьюки показывает, что они обусловлены в основном межпопуляционными отличиями группы армянских популяций от популяции «Семёновский перевал» ($p = 0.000022$) и украинской популяции ($p = 0.000026$), при этом значения F_{st} популяции «Семёновский перевал» от украинской популяции статистически не значимы ($p = 0.252953$). Данные различия соответствуют значению $F_{st} = 0.01$, что существенно меньше, чем среднее значение F_{st} между исходной и интродуцированными популяциями обыкновенной скальной ящерицы *Podarcis muralis* равное 0.275 [Schulte et

al., 2012]. Эти различия можно объяснить, во-первых, тем, что обыкновенная скальная ящерица – двуполовая рептилия и, во-вторых, более ранним, чем на Украине, временем начала инвазии. Таким образом, можно заключить, что изначально F_{st} популяции «Семёновский перевал» сильно отличалось от F_{st} между популяциями Армении ($F_{st} = 0.029$, $SE = 0.010$), при том, что уровень внутривидовой изменчивости у неё соответствовал таковому у популяций Армении. После интродукции на Украину, мутационная активность по изучаемым локусам увеличилась, при этом в популяции закреплялись те мутации, которые уменьшают межпопуляционные генетические дистанции ($F_{st} = 0.084$, $SE = 0.006$) с армянскими популяциями, за счёт мутаций, аналогичных мутациям в армянских популяциях. Данное предположение соответствует гипотезе k-аллелей микросателлитной изменчивости, согласно которой скорость и направления мутаций в микросателлитных кластерах приводят к тому, что в популяции со временем начинают преобладать аллели с определённым, «наиболее выгодным» числом микросателлитных звеньев [Oliveira et al., 2006].

В случае млекопитающих, на примере популяций чёрной крысы *Rattus rattus* интродуцированные популяции имеют схожие значения расстояний F_{st} в диапазоне от 0.132 до 0.228 – в зависимости от географических расстояний между популяциями по пути инвазии [Konesny et al., 2013].

Заключение

В работе показано, что за прошедшее после вселения на Украину ящериц *D. armeniaca* время (38 лет) мутационные изменения в микросателлитных локусах геномов этих ящериц затронули только лишь по одному звену микросателлитных кластеров и не касались их фланкирующих участков генома. Далее,

можно отметить, что на аллельную структуру интродуцированной популяции сильное влияние оказали особенности аллельной структуры исходной армянской популяции. При этом перемещённая популяция за время существования в новых условиях увеличила своё аллельное и генотипическое разнообразие. Однако, общее направление закрепляемых в украинской популяции мутаций соответствует общему направлению закрепляемых мутаций в армянских популяциях *D. armeniaca*, что может указывать на преобладающее влияние молекулярных внутригеномных процессов в микросателлитных локусах над воздействием экологических факторов среды, по крайней мере на изучаемом отрезке времени.

Следует подчеркнуть, что, хотя эксперимент по интродукции партеногенетических ящериц *D. armeniaca* на Украину представляется опасным с точки зрения возможных экологических последствий, он создал базис для проведения важных популяционных и генетических исследований, изучения закономерностей формирования генетического и клонального разнообразия у животных под влиянием новых условий обитания.

Авторы благодарны профессору Ф.Д. Даниеляну и его сотрудникам за помощь в получении биологических образцов, которые были использованы для создания коллекции ДНК ящериц рода *Darevskia*.

Работа частично финансировалась грантами программ Президиума РАН «Молекулярная и клеточная биология», «Живая природа» и грантами Президента РФ по поддержке молодых учёных (№ МК-2349.2014.4 и № МК-6509.2015.4) и РФФИ офи_м №15-29-02550.

Литература

Даревский И.С., Кан Н.Г., Рябинина Н.Л., Мартиросян И.А., Токарская О.Н., Гречко В.В., Щербак Н.Н., Даниелян Ф.Д., Рысков А.П. Биологические

- и молекулярно-генетические характеристики партеногенетического вида ящериц *Lacerta armeniaca* (Mehely), интродуцированного из Армении на Украину // Доклады академии наук. 1998. Т. 363. № 6. С. 846–848.
- Даревский И.С., Щербак Н.Н. Акклиматизация партеногенетических ящериц на Украине // Природа. 1967. № 3. С. 93–94.
- Доценко И.Б. Состояние экспериментальной популяции кавказских скальных ящериц рода *Darevskia* в Житомирской области Украины // Науковий вісник Ужгородського університету. 2007. Серія Біологія. Вип. 21. С. 14–19.
- Доценко И.Б., Песков В.Н., Миропольская М.В. Сравнительный анализ внешней морфологии скальных ящериц рода *Darevskia*, обитающих ныне на территории Украины и их видовая принадлежность // Збірник праць Зоологічного музею. 2008–2009. № 40. С. 129–140.
- Малышева Д.Н., Вергун А.А., Мартиросян И.А., Токарская О.Н., Рысков А.П. Молекулярно-генетическая характеристика аллельных вариантов микросателлитных локусов партеногенетических кавказских скальных ящериц *Darevskia armeniaca* (Lacertidae) // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2008. № 4. С. 30–36.
- Омельченко А.В., Корчагин В.И. Термодинамическая характеристика ди-, три- и тетрануклеотидных микросателлитных локусов у партеногенетических ящериц *Darevskia unisexualis* // Генетика. 2009. Т. 45. № 8. С. 1143–1147.
- 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 (7): e2730. doi:10.1371/journal.pone.0002730.
- Dybdahl M.F., Drown D.M. The absence of genotypic diversity in a successful parthenogenetic invader // Biol. Invasions. 2011. V. 13. P. 1663–1672.
- Konecny A., Estoup A., Duplantier J.M., Bryja J., Ba K., Galan M., Tatar C., Cosson J.F. Invasion genetics of the introduced black rat (*Rattus rattus*) in Senegal, West Africa // Molecular Ecology. 2013. V. 22 (2). P. 286–300.
- Moritz C., Uzzel T., Spolsky C., Hotz H., Darevsky I.S., Kupriyanova L., Danielyan F. The maternal ancestry and approximate age of parthenogenetic species of Caucasian rock lizards (Lacerta: Lacertidae) // Genetica. 1992. V. 87 (1). P. 53–62.
- Oliveira E.J., Padua J.G., Zucchi M.I., Vencovsky R., Vieira M.L.C. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites // Genetics and Molecular Biology. 2006. V. 29 (2). P. 294–307.
- Ondrackova M., Simkova A., Civanova K., Vyskocilova M., Jurajda P. Parasite diversity and microsatellite variability in native and introduced populations of four *Neogobius species* (Gobiidae) // Parasitology. 2012. V. 139 (11). P. 1493–1505.
- Poux C., Gothland M., Holl A.C., Spilmont N., Arnaud J.F. Highly polymorphic microsatellite markers in two species, the invasive shore crabs *Hemigrapsus sanguineus* and *Hemigrapsus takanoi* (Decapoda, Varunidae) // Conservation Genetics Resources. 2015. V. 7 (2). P. 569–572.
- Riquet F., Daguin-Thiebaut C., Ballenghien M., Bierne N., Viard F. Contrasting patterns of genome-wide polymorphism in the native and invasive range of the marine mollusc *Crepidula fornicata* // Molecular Ecology. 2013. V. 22 (4). P. 1003–1018.
- Schrey A.W., Grispo M., Awad M., Cook M.B., McCoy E.D., Mushinsky H.R., Albayrak T., Bensch S., Burke T., Butler L.K., Dor R., Fokidis H.B., Jensen H., Imboma T., Kessler-Rios M.M., Marzal

- A., Stewart I.R.K., Westerdahl H., Westneat D.F., Zehindjiev P., Martin L.B. Broad-scale latitudinal patterns of genetic diversity among native European and introduced house sparrow (*Passer domesticus*) populations // *Molecular Ecology*. 2011. V. 20 (6). P. 1133–1143.
- Schulte U., Veith M., Hochkirch A. Rapid genetic assimilation of native wall lizard populations (*Podarcis muralis*) through extensive hybridization with introduced lineages // *Molecular Ecology*. 2012. V. 21. P. 4313–4326.
- Vergun A.A., Martirosyan I.A., Semyenova S.K., Omelchenko A.V., Petrosyan V.G., et al. Clonal Diversity and Clone Formation in the Parthenogenetic Caucasian Rock Lizard *Darevskia dahlia*. // *PLoS ONE*. 2014. V. 9 (3). e91674. doi:10.1371/journal.pone.0091674.

DETECTION OF GENOTYPIC CHANGES IN THE PARTHENOGENETIC LIZARDS OF *DAREVSKIA ARMENIACA* (MEHELY) INTRODUCED FROM ARMENIA TO UKRAINE

© 2016 Omelchenko A.V.^{1*}, Girnyk A.E.², Osipov F.A.^{2,3},
Petrosyan V.G.¹, Vergun A.A.^{2,3**}, Ryskov A.P.^{2***}

¹ Severtsov Institute of Ecology and Evolution of the Russian Academy of Sciences,
Moscow 119071, Russia

² Institute of Gene Biology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, 119334 Russia

³ Moscow State Pedagogical University, Moscow 119991, Russia

E-mail: * omi@bk.ru, ** vermand@mail.ru, *** ryskov@mail.ru

The article provides data on allelic and genotypic diversity of Ukrainian and Armenian populations of a parthenogenetic lizard of *Darevskia armeniaca*. The individual genotypes of studied specimens were established due to combination of alleles of three microsatellite loci. It is supposed that in the introduced Ukrainian population after the invasion two new genotypes appeared. Molecular mechanisms of the emergence of these new genotypes are suggested. Values of observed heterozygosity and genetic F_{st} -distances for the introduced Ukrainian population, native Armenian population and group of other Armenian populations are provided.

Key words: invasion, introduction, Ukraine, Armenia, populations, lizards, parthenogenesis, *Darevskia*, microsatellites, genetic diversity, heterozygosity, genetic distances, Wright's F-statistics.