

УДК 575.174.015.3

ПОЛИМОРФИЗМ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ В ПОПУЛЯЦИЯХ КАВКАЗСКИХ СКАЛЬНЫХ ЯЩЕРИЦ И ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЛЯ ОЦЕНКИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ КОМПЛЕКСА *Darevskia raddei*[§]

© 2024 г. Д. О. Одегов¹, А. А. Валяева¹, М. С. Аракелян², А. П. Рысков¹, В. И. Корчагин¹, И. А. Мартиросян^{1, *}

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

²Ереванский государственный университет, Ереван, 0025 Армения

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

Поступила в редакцию 14.09.2023 г.

После доработки 04.10.2023 г.

Принята к публикации 12.10.2023 г.

Изучение кавказских скальных ящериц комплекса *Darevskia raddei* sensu lato, представленного несколькими подвидами, имеет большой интерес и научную значимость в связи с их участием в межвидовых гибридизациях с образованием пяти из семи известных однополых (партеногенетических) видов рода *Darevskia*. В статье приведены генетические параметры для популяций (подвидов) *D. r. raddei* и *D. r. nairensis*, полученные на основе анализа изменчивости десяти микросателлитных локусов 230 особей из 17 популяций Армении и Арцаха (Нагорного Карабаха). Согласно этим параметрам, популяции *D. r. raddei* характеризуются большим разнообразием по числу аллелей и генотипов по сравнению с популяциями *D. r. nairensis*. Анализ генетической дифференциации показал, что популяции *D. r. raddei* подразделяются на две группы, одна из которых ближе к *D. r. nairensis*, чем к *D. r. raddei*. Анализ индекса ассоциаций показал отсутствие свободной рекомбинации аллелей между подвидами, что говорит об их изоляции и отсутствии скрещивания между особями. Таким образом, на основе расширенной популяционной выборки и разработанной панели микросателлитных маркеров получены новые данные о популяционной структуре вида *D. raddei*, о генетическом разнообразии и дифференциации популяций *D. r. raddei* и *D. r. nairensis*.

Ключевые слова: подвид, популяция, ящерицы *Darevskia*, генетическое разнообразие, популяционная структура, генетическая дифференциация.

DOI: 10.31857/S0016675824030069 EDN: DPBCHD

Кавказские скальные ящерицы *Darevskia raddei* [1] широко распространены на территории Армянского нагорья и представляют комплекс из четырёх подвидов (*Darevskia raddei raddei* [2], *Darevskia raddei nairensis* [3], *Darevskia raddei vanensis* [4], *Darevskia raddei chaldoranensis* [5]). Подвиды различаются по морфологии (фолидоз; верхняя сторона тела может иметь разнообразную окраску в коричневых тонах, полоса вдоль спины состоит из множества темных пятен, образуя сетчатый узор; брюшная сторона может быть окрашена в белые, голубые и зеленые тона), высоте обитания над уровнем моря, а также поведенческим паттерном, например способом

удержания самцом самки во время спаривания. В настоящее время наиболее изученными являются подвиды *D. r. nairensis* и *D. r. raddei*, однако, несмотря на имеющиеся сведения о дивергенции данных подвидов, их таксономическое положение и степень монофилии остаются дискуссионными. Анализ аллельных вариантов ряда аллозимных локусов показал невысокий уровень генетического полиморфизма, а в ходе изучения митохондриальной ДНК было выяснено, что различные популяции *D. r. raddei* имеют разную степень дивергенции с *D. r. nairensis*. Вид *D. raddei* sensu lato является материнским видом для пяти из семи известных партеногенетических представителей рода *Darevskia* — *D. rostombekowi*, *D. unisexualis*, *D. sapphirina*, *D. bendimahiensis* и *D. uzzelli* [6, 7]. Для последних четырех партеновидов отцовским является вид *D. valentini* [8, 9].

[§] Дополнительные материалы для этой статьи доступны по ссылке: doi 10.31857/S0016675824030069 для авторизованных пользователей

Таким образом, изучение внутривидового разнообразия *Darevskia raddei* представляет интерес в связи с его участием в межвидовых гибридизациях с образованием однополых дочерних видов, а также с проблемой естественной гибридизации двуполых и дочерних однополых видов скальных ящериц в зоне симпатрии с образованием триплоидных гибридов [10, 11].

Анализ аллельных вариантов 36 аллозимных локусов из шести популяций *D. r. nairensis* и четырех популяций *D. r. raddei* также показал невысокий уровень генетического полиморфизма — половина из всех 36 локусов оказались моноаллельными [8]. В нашей предыдущей работе [12] при использовании трех тетрануклеотидных микросателлитных локусов был показан высокий уровень генетической дифференциации этих популяций. В настоящей работе для определения генетических параметров были использованы увеличенные выборки *D. r. raddei* и *D. r. nairensis* и новые, более полиморфные, ди- и тринуклеотидные микросателлитные локусы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Сбор материала (фрагменты хвостов) проводили на территории Армении и Арцаха (Нагорного Карабаха) с 1997 г. по 2021 г. Было собрано 225 образцов *D. raddei* из 17 локалитетов (табл. П1). Образцы из Лчапа, Айраванка и Лчашена были объединены в одну популяцию “Лчашен”, таким образом в работе проанализировано 15 популяций *D. raddei*.

Работа с животными проводилась в строгом соответствии с правилами Министерства охраны природы Армении (номер разрешения 5/22.1/51043) и этического комитета Московского государственного университета (номер разрешения 24-01). После забора биоматериала ящерицы выпускались в места их обитания. Для сравнения использовали восемь ранее полученных коллекционных образцов ДНК ящериц *D. valentini* из локалитетов Лчашен, Тэж и Адис (табл. П1). Образцы ДНК были выделены стандартным фенольно-хлороформным методом с использованием протеиназы К.

Поиск микросателлитных локусов в геноме ящерицы *D. valentini* [13] проводили с использованием конвейера, включающего несколько программ и скриптов на языке Python. На первом этапе с использованием perl-скрипта MISA [14] в геноме был осуществлен поиск микроса-

теллитных повторов с заданной длиной мономера 2 и 3 нуклеотида и с числом повторов не менее 10. Далее с использованием BedTools v2.30.0 [15] и дополнительных скриптов из генома были выбраны все последовательности, удовлетворяющие следующим критериям: 1) размер последовательностей, прилегающих к 5' и 3' концам микросателлита, составляет не менее 100 пн; 2) микросателлит и фланкирующие области не содержат N; 3) фланкирующие области не содержат повторы и последовательности, затрудняющие гибридизацию праймеров. Аналогичный поиск обнаружил ортологичные локусы в черновых геномных сборках *D. unisexualis* и *D. raddei*, что позволило использовать данные локусы для анализа внутривидового разнообразия комплекса *D. raddei*. Для подбора ПЦР-праймеров использовали программу Primer3 [16, 17] при заданной длине искомого продукта, включающего микросателлитный повтор не менее 100 пн, расстоянии от праймеров до микросателлита не менее 10 пн, длине праймеров 20–25 пн и температуре плавления 58–62°C. Наиболее подходящие пары праймеров были проверены на уникальность амплифицируемого продукта локальным поиском *in silico* в геноме *D. valentini* с помощью BLAST+ 2.12.0 [18]. Для молекулярно-генетического анализа (генотипирования ДНК) было отобрано 11 микросателлитных локусов (табл. П2).

ПЦР проводили в объеме 20 мкл на 50 нг ДНК с использованием набора “GenPakPCRCore” (Isogene Laboratory) согласно протоколу фирмы-производителя при следующих температурных режимах: денатурация при 94°C — 3 мин, амплификация в течение 30 циклов (денатурация 94°C — 1 мин, отжиг 60°C — 40 с, элонгация 72°C — 30 с, последний цикл — 5 мин при 72°C). Концентрация каждого праймера составляла 0.2 мкМ. Один из праймеров для амплификации индивидуальных локусов был помечен флуоресцентным красителем по 5' концу. В табл. П2 приведены характеристики локусов и праймеров, использованных в работе. Продукты ПЦР-амплификации фракционировали в 0.8%-ном агарозном геле с последующим выделением фрагментов ДНК с помощью набора GeneJET Gel Extraction Kit (ThermoScientific). Анализ длин амплифицированных фрагментов проводили с помощью капиллярного электрофореза (фрагментный анализ) в компании “Синтол” с использованием генетического анализатора “НАНОФОР-05”. Для определения размеров амплифицированных фрагментов использовали программное обеспечение Peak Scanner v1.0 (Applied Biosystems).

Каждый продукт амплификации рассматривался как биаллельный локус: гетерозиготный при наличии двух фрагментов разного размера (два пика при анализе длин амплифицированных фрагментов) и гомозиготный (один пик), если обнаруживался единственный фрагмент.

Результаты генотипирования всех локусов сведены в таблицу и конвертированы с помощью функции *df2genind* пакета *adegenet* [19, 20] в объект класса *genind* для последующего анализа в среде R v4.2.0 [21]. Расчеты частоты нуль-аллелей (т.е. отсутствия ПЦР-продукта вследствие мутаций в последовательностях ДНК, фланкирующих микросателлит, на которые гибридизуются праймеры, что приводит к появлению ложных гомозигот) проводились в программе Rstudio с помощью пакета PopGenReport. Оценку частот аллелей, анализ аллельного и генетического разнообразия проводили с помощью пакетов *hierfstat* [22], *pegas* [23] и *poppr* [24]. Степень генетической дифференциации между *D. r. raddei* и *D. r. nairensis* определяли, рассчитывая показатель F_{ST} [25] и модифицированный вариант G_{ST} Хедрика [26, 27], учитывающий тенденцию стандартного критерия G_{ST} недооценивать степень дифференциации между небольшим числом популяций.

Чтобы определить популяционно-генетическую структуру вида *D. raddei* на основании данных микросателлитного анализа был использован дискриминантный анализ главных компонент (DAPC) [28], реализованный в пакете *adegenet* [19, 20]. В качестве внешней груп-

пы была добавлена выборка *D. valentini*, при этом анализ проводили без учета имеющихся сведений о популяционной структуре вида. Оптимальное количество генетических кластеров в популяциях определяли с помощью алгоритма k средних (k -means), использующего байесовский информационный критерий. Далее рассчитывалась вероятность отношения конкретных особей к генетическим кластерам.

Индекс ассоциации, использующийся для оценки мультилокусного неравновесия по сцеплению, определяли с использованием пакета *poppr* [24, 29].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Характеристика микросателлитных локусов

На выборке *D. raddei* для шести тринуклеотидных и пяти динуклеотидных локусов были получены генетические характеристики, такие как число аллелей и генотипов, наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность, а также выравниенность (степень равномерности распределения генотипов) и индекс Симпсона (табл. 1). В качестве внешней группы была использована небольшая выборка особей вида *D. valentini*. Было обнаружено, что наименьшим числом аллелей и генотипов характеризуется локус *sc12962*, а также для этого локуса характерно наибольшее отклонение наблюдаемой гетерозиготности от ожидаемой. Это связано с неравномерным распределением аллелей в популяциях (рис. 1) и значительным количеством

Таблица 1. Генетические характеристики микросателлитных локусов на выборках *D. raddei* и *D. valentini* (238 особей)

Локус	Число аллелей	Число генотипов	$I - D$	H_{exp}	H_{obs}	Evenness
sc12962	13	28	0.82	0.74	0.26	0.53
sc4525	52	134	0.99	0.96	0.79	0.81
sc1422	33	90	0.98	0.94	0.76	0.79
sc138	27	65	0.96	0.91	0.69	0.68
sc149	41	107	0.98	0.94	0.86	0.76
sc12560	51	139	0.99	0.96	0.82	0.76
sc7287	35	85	0.98	0.93	0.67	0.73
sc1872	73	148	0.99	0.97	0.71	0.86
sc4045	25	56	0.94	0.86	0.71	0.59
sc10877	56	128	0.98	0.95	0.68	0.67
sc6476	53	145	0.99	0.96	0.85	0.80
Среднее	42	102	0.96	0.92	0.70	0.73

Примечание. $I - D$ – индекс Симпсона (Simpson index); H_{exp} – ожидаемая гетерозиготность (Nei's, 1978); H_{obs} – наблюдаемая гетерозиготность; Evenness – выравниенность.

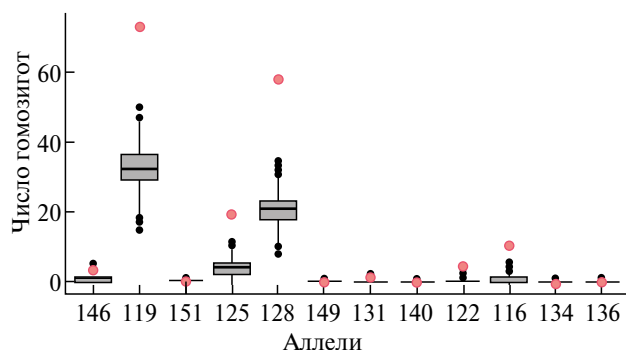


Рис. 1. Число гомозиготных особей по микросателлитному локусу sc12962 на выборках *D. raddei* и *D. valentini*.

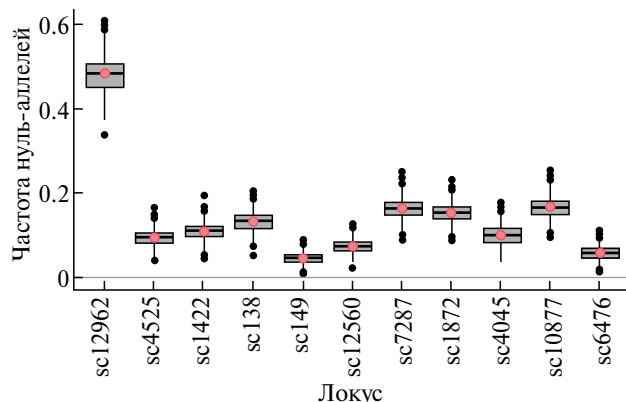


Рис. 2. Частота нуль-аллелей по каждому локусу на выборках *D. raddei* и *D. valentini*.

гомозигот по аллелям “119” и “128” (названия аллелей соответствуют размерам в парах нуклеотидов, полученных при анализе длин амплифицированных фрагментов — фрагментом анализа). Отклонения значений наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности были выявлены по всем проанализированным локусам, в связи с этим мы предположили наличие нуль-аллелей по каждому локусу (рис. 2). Как видно из рис. 2, наиболее вероятно присутствие подобных аллелей в случае локуса sc12962. Так как изучаемые локусы характеризуются высоким уровнем полиморфизма и поскольку данные виды относятся к одному роду кавказских скальных ящериц, была проведена оценка совпадающих аллельных вариантов у проанализированных особей *D. raddei* (оба подвида) и *D. valentini* (табл. ПЗ). Согласно полученным результатам, наибольшее число совпадающих аллелей между разными видами было выявлено по локусу sc12962. На основании полученных данных мы исключили локус sc12962 из дальнейшего анализа, и таким образом оценка внутривидового разнообразия *D. raddei* проводилась на основании полиморфизма десяти микросателлитных локусов.

В табл. П4 приведены генетические параметры (ожидаемая и наблюдаемая гетерозиготность по Нею, выравненность (evenness) и индекс разнообразия Симпсона ($1 - D$)), полученные на основании полиморфизма десяти микросателлитных локусов и характеризующие внутривидовое разнообразие *D. raddei*. Они различаются для *D. r. raddei* и *D. r. nairensis*: *D. r. raddei* характеризуется большим числом аллелей и генотипов по сравнению с *D. r. nairensis*, при этом среднее значение выравненности отличается незначительно. Наиболее полиморфным является локус sc1872 — 71 аллель комбинируется в 142 гено-

типа. Однако значение наблюдаемой гетерозиготности по этому локусу было ниже, чем для большинства локусов. Наименее полиморфным является локус sc138: 27 аллелей образуют 65 генотипов, при этом величина наблюдаемой гетерозиготности составляет 0.72.

Генетические параметры популяций *D. raddei*

Популяции *D. raddei* sensu lato характеризуются различным количеством аллелей и выявленных генотипов, однако полиморфизм для каждого локуса случаен для каждой популяции. Наибольшее число аллелей и генотипов выявлено в популяции “Ереван” (табл. П5), в то время как значение параметра выравненности генотипов в этой популяции самое низкое. Наименьшее значение наблюдаемой гетерозиготности выявлено в популяции Горис, а наибольшее — в популяции Гандзасар и соответственно наиболее близкое к значению ожидаемой гетерозиготности. Частоты аллелей и генотипов для каждой популяции послужили основой для подсчета генотипического разнообразия и генетических дистанций.

Графическое выражение внутривидовой дифференциации и популяционной структуры комплекса *Darevskia raddei* sensu lato на основе генетических дистанций по Нею, рассчитанных по данным полиморфизма микросателлитных локусов, представлено на рис. 3. Все популяции разделились на три группы: в одну входят популяции *D. r. raddei* Гегард, Горис, Егегнадзор, Каджаран и Селимский перевал (группа *D. r. raddei* GG); в другую — популяции *D. r. raddei* Зуар, Гандзасар, Тартар, Татев и Нрнадзор (группа *D. r. raddei* TT); в отдельную группу входят все популяции *D. r. nairensis* и популяция *D. r. raddei* Гош.

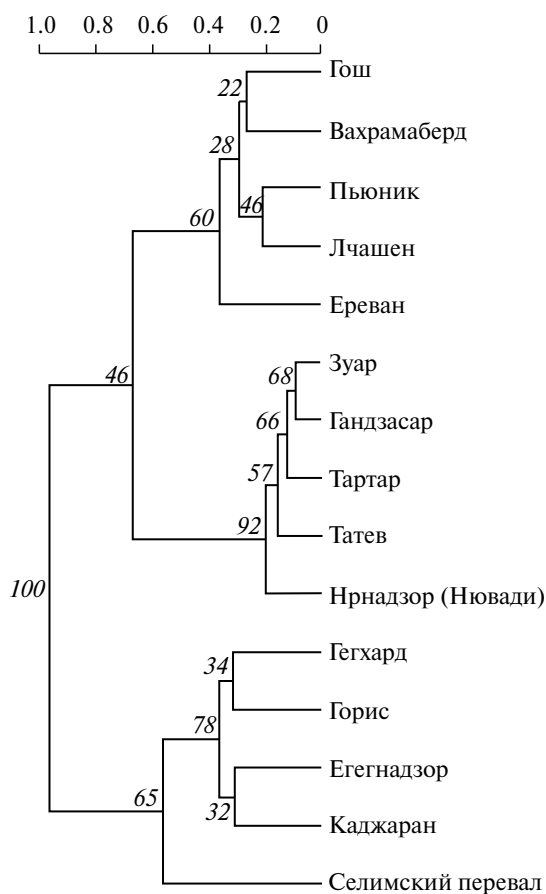


Рис. 3. Неукорененное филогенетическое дерево популяций *D. raddei*, построенное на основании генетических расстояний по Нею с бутстреп-поддержкой в 100 итераций.

Внутривидовую дифференциацию *D. raddei* оценивали с помощью параметра G_{ST} , полученного при попарном сравнении популяций. Значения данного параметра представлены в виде тепловой карты на рис. П1. Все популяции разделяются на те же популяционные группы, как и при использовании генетических дистанций по Нею. Значения G_{ST} , полученные при попарном сравнении популяции *D. r. raddei* Гош и популяций *D. r. nairensis*, варьируют в пределах от 0.31 до 0.6, а при сравнении с популяциями *D. r. raddei* – в пределах от 0.62 до 0.93 (рис. П1). Таким образом, в дальнейшей работе мы объединили популяцию Гош с популяциями *D. r. nairensis*.

В табл. 2 приведены результаты оценки внутривидовой дифференциации *D. raddei* с помощью параметра G_{ST} с разбиением на три группы, описанные выше. Согласно проведенной оценке группы *D. r. raddei* ТТ и *D. r. nairensis* генетически ближе друг другу, нежели группы *D. r. raddei*

Таблица 2. Внутривидовая дифференциация *D. raddei* на основании генетических дистанций G_{ST}

Попарные сравнения	G_{ST}
<i>D. r. raddei</i> – <i>D. r. nairensis</i>	0.36
<i>D. r. raddei</i> ТТ– <i>D. r. nairensis</i>	0.44
<i>D. r. raddei</i> GG– <i>D. r. nairensis</i>	0.65
<i>D. r. raddei</i> GG– <i>D. r. raddei</i> ТТ	0.81

ТТ и *D. r. raddei* GG – в первом случае значение индекса G_{ST} составляет величину 0.44, во втором случае – величину 0.81. Значение параметра G_{ST} при сравнении групп *D. r. raddei* GG и *D. r. nairensis* составляет 0.65. Это может свидетельствовать о более значительной дифференциации этих групп популяций.

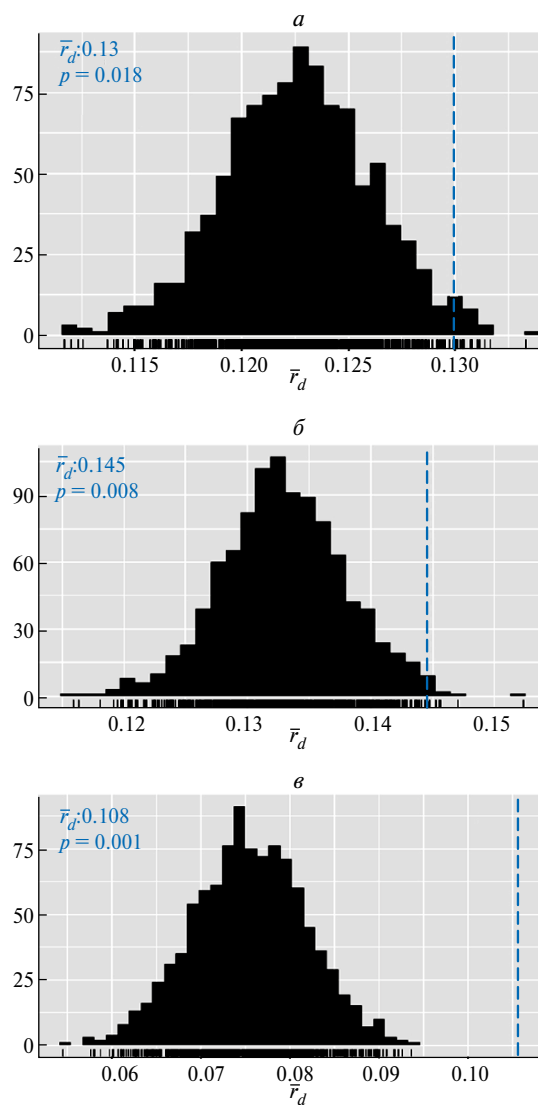


Рис. 4. Индекс ассоциации ($\bar{r}_d$) подвидов *D. raddei*. а – без разделения на подвиды; б – *D. r. raddei*; в – *D. r. nairensis*.

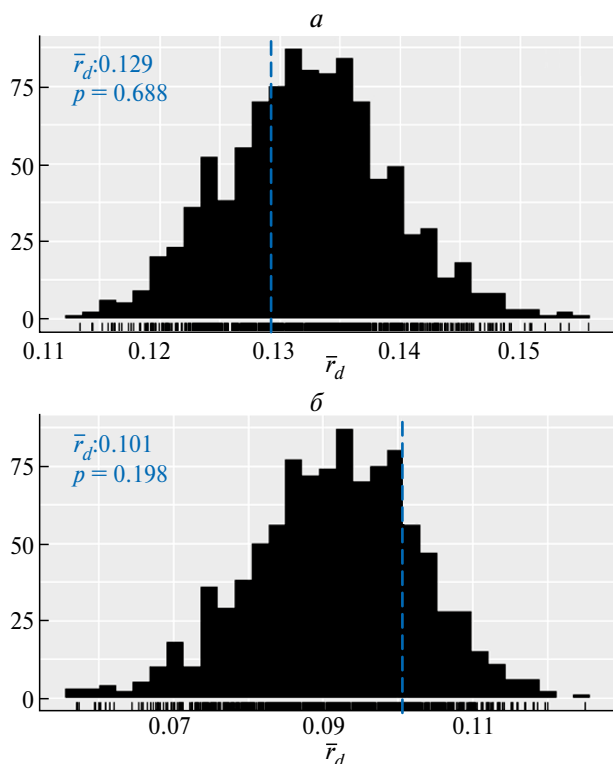


Рис. 5. Индекс ассоциации ($\bar{r}_d$) групп популяций *D. r. raddei* GG (a) и *D. r. raddei* TT (б).

Оценку свободной рекомбинации аллелей в пределах подвидов *D. raddei* проводили с помощью стандартизированного индекса ассоциаций ($\bar{r}_d$). Значение ($\bar{r}_d$) равное 0.13 ($p = 0.018$) для вида *D. raddei* в целом (т.е. для обоих подвидов) указывает на незначительную вероятность рекомбинации аллелей между подвидами (рис. 4,а), т.е. данные подвиды изолированы и скрещивание между их особями отсутствует. Значение индекса ассоциации для подвида *D. r. raddei* (рис. 4,б) составляет 0.145 ($p = 0.008$), а для подвида *D. r. nairensis* – 0.106 ($p = 0.001$) (рис. 4,в), что может свидетельствовать о значительной обособленности популяций в пределах каждого подвида. Анализ значений индекса ассоциаций в пределах групп *D. r. raddei* GG и *D. r. raddei* TT (рис. 5,а и 5,б соответственно) показал высокую вероятность свободного скрещивания между особями популяций внутри каждой группы.

Использование метода дискриминантного анализа главных компонент (DAPC) на всей выборке вида *D. raddei* и внешней группе *D. valentini* позволило определить наличие трех генетических кластеров ($K = 3$), соответствующих виду *D. valentini* (красный цвет) и подвидам *D. r. raddei*

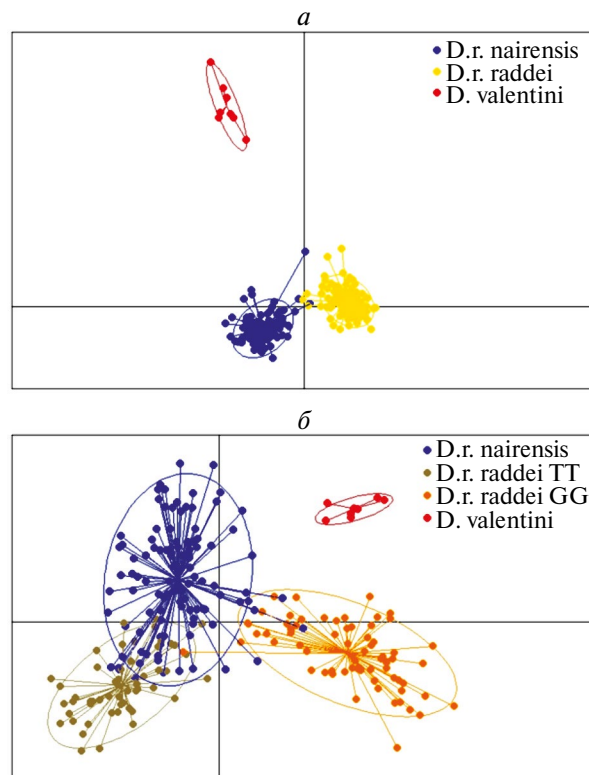


Рис. 6. Кластеризация особей видов *D. raddei* и *D. valentini* на основании дискриминантного анализа главных компонент. а – число кластеров $K = 3$; б – число кластеров $K = 4$.

(желтый цвет) и *D. r. nairensis* (синий цвет) (рис. 6,а). При разделении подвида *D. r. raddei* на две группы GG и TT и соответственно увеличении числа кластеров ($K = 4$) популяции вида *D. raddei* образуют три незначительно перекрывающиеся облака, соответствующих группам популяций *D. r. raddei* GG, *D. r. raddei* TT и *D. r. nairensis* (рис. 6,б).

ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение внутривидового полиморфизма является одной из важных проблем биоразнообразия, особенно для некоторых видов позвоночных, участвующих в сетчатой эволюции. Одним из таких видов является *Darevskia raddei*, структура которого, несмотря на большой объем накопленной информации, до сих пор вызывает много вопросов. Особенностью данного вида является участие в качестве материнского при образовании ряда партеногенетических видов, таким образом имеющих гибридное происхождение и соответственно гибридные кариотипы [30]. При этом популяции *D. r. raddei* относят к материнским для партеновида *D. rostombekowi*, а популяции *D. r. nairensis* – для партеновидов *D. unisexualis* и *D. uzzeli* [6, 7]. В этой

связи особую значимость получила проблема генетической дифференциации и таксономического статуса этих популяций. В разное время популяции *D. r. raddei* и *D. r. nairensis* относили к видам, подвидам или одному виду в зависимости от характера исследования, типа генетических маркеров, ареалов изучаемых популяций [31]. Ранее при использовании трех микросателлитных локусов нами были получены высокие показатели генетической дифференциации *D. r. raddei* и *D. r. nairensis* [12]. В настоящей работе они были подтверждены на расширенной популяционной выборке особей при использовании новой панели из 10 микросателлитных локусов и свидетельствуют о глубокой дивергенции этих популяций, позволяющей разделять их на подвидовые группы. Кроме того, показано, что популяции *D. r. raddei* характеризуются большим разнообразием по сравнению с *D. r. nairensis* и в свою очередь подразделены на две группы с различным составом популяций. Это свидетельствует о сложной популяционной структуре вида *D. raddei* в соответствии с его значительным морфологическим и цитогенетическим разнообразием [32]. В работе впервые проведен анализ индекса ассоциаций, который показал отсутствие свободной рекомбинации аллелей между подвидами, что свидетельствует об их изоляции и отсутствии скрещивания между особями.

Значение параметра $G_{ST} = 0.36$ между подвидами *D. r. raddei* и *D. r. nairensis* относительно невелико (табл. 2), несмотря на высокие показатели данного параметра при попарном сравнении групп популяций *D. r. raddei* GG, *D. r. raddei* TT и *D. r. nairensis*. Это может быть вызвано сходной частотой аллельных вариантов в данных группах, связанной с потоком генов между популяциями до разделения на подвиды [33]. Этим может объясняться частичное перекрывание спектров при дискриминантном анализе главных компонент.

Таким образом, в настоящей работе продемонстрирована возможность использования новых микросателлитных локусов для популяционно-генетических исследований кавказских скальных ящериц. По данным полиморфизма этих локусов подтвержден высокий уровень генетической дифференциации популяций *D. r. raddei* и *D. r. nairensis* на группы подвидового статуса. Кроме этого, отсутствие свободной рекомбинации аллелей позволяет предположить и репродуктивную изоляцию подвидов *D. raddei*, это в совокупности с молекулярно-генетической дифференциацией свидетельствует о глубокой

их дивергенции. Новые характеристики популяционной структуры вида *D. raddei* связаны с обнаружением двух генетически различающихся групп популяций у самого подвида *D. r. raddei*, одна из которых оказалась генетически ближе другому подвиду *D. r. nairensis*. Выявлена достоверная кластеризация особей из популяции Гош с образцами подвида *D. r. nairensis*. Таким образом подтверждено генетическое сходство этих групп, ранее обсуждавшееся в ряде работ [6, 34]. Ящерицы из Южной Армении разделяются на два основных кластера, где имеются видимые различия по окраске и размерным характеристикам. Все ящерицы из популяций Зуар, Гандзасар, Тартар, Татев и Нрнадзор (группа *D. r. raddei* TT) отличаются наличием зеленого цвета в окраске спины и брюха, ярким паттерном рисунка и крупными размерами. В кластере *D. r. raddei* из популяций Гегард, Горис, Егегнадзор, Каджаран и Селимский перевал (группа *D. r. raddei* GG) большая часть ящериц не имеет зеленого цвета в окраске, отличается наличием больше желтого цвета на брюхе и слабым рисунком вдоль хребта, а также более мелкими размерами, особенно среди самок. У большинства из них характер фolidоза преанальной области, рисунок спины и окраска не отличаются от таковых у партеногенетического дочернего вида *D. rostombekowi*, что наталкивает на определенные предположения о локации материнской популяции, давшей начало данному партеновиду.

Авторы выражают благодарность В.Е. Спангенбергу за помощь в сборе биологического материала.

Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ № 19-14-00083 и с использованием приборов ЦКП ИБГ РАН.

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

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Arribas O.J. Phylogeny and relationships of the mountain lizards of Europe and Near East (*Archaeolacerta* Merttens, 1921, sensu lato) and their relationships among the Eurasian Lacertid lizards // Rus. J. Herpetol. 1999. V. 6. № 1. P. 1–22.

- <https://doi.org/10.30906/1026-2296-1999-6-1-1-22>
2. Boettger O. Kriechthiere der Kaukasusländer, gesammelt durch die Radde-Valentin'sche Expedition nach dem Karabagh und durch die Herren Dr. J. Valentin und P. Reibisch // *Ber Senck Ges.* 1892: 131–150 P.
 3. Даревский И. С. Скальные ящерицы Кавказа (Систематика, экология и филогения полиморфной группы кавказских ящериц подрода *Archaeolacerta*). Л.: Наука, Ленингр. отд., 1967. 214 с.
 4. Eiselt J., Schmidle J.F., Darevsky I.S. Untersuchungen an Felseidechsen (*Lacerta saxicola*-Komplex) in der östlichen Türkei. 2. Eine neue Unterart der *Lacerta raddei* BOETTGER, 1892 (Squamata: Sauria: Lacertidae) // *Herpetozoa*. 1993. V. 6. № 1/2. P. 65 – 70.
 5. Rastegar-Pouyani N., Karamiani R., Oraei H. et al. A New Subspecies of *Darevskia raddei* (Boettger, 1892) (Sauria: Lacertidae) from the West Azerbaijan Province, Iran // *Asian Herpetol. Research*. 2011. V. 2. № 4. P. 216–222. <https://doi.org/10.3724/sp.j.1245.2011.00216>
 6. Moritz C., Uzzel T., Spolsky C. et al. The maternal ancestry and approximate age of parthenogenetic species of Caucasian rock lizards (*Lacerta*: Lacertidae) // *Genetica*. 1992. V. 87. P. 53–62. <https://doi.org/10.1007/bf00128773>
 7. Freitas, S., Rocha S., Campos J. et al. Parthenogenesis through the ice ages: A biogeographic analysis of the parthenogenetic rock lizards (genus *Darevskia*) // *Mol. Phylogenet. Evol.* 2016. V. 102. P. 117–127. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2016.05.035>
 8. Bobyn M.L., Darevsky I.S., Kupriyanova L.A. Allozyme variation in populations of *Lacerta raddei* and *Lacerta nairensis* from Armenia // *Amphibia–Reptilia*. 1996. V. 17. P. 233–246. <https://doi.org/10.1163/156853896X00414>
 9. Yanchukov A., Tarkhnishvili D., Erdolu M. et al. Precise paternal ancestry of hybrid unisexual ZW lizards (genus *Darevskia*: Lacertidae: Squamata) revealed by Z-linked genomic markers // *Biol. J. Linnean Society*. 2022. V. 136. № 2. P. 293 – 305. <https://doi.org/10.1093/biolinnean/blac023>
 10. Carretero M.A., García-Muñoz E., Argaña E. et al. Parthenogenetic *Darevskia* lizards mate frequently if they have the chance: A quantitative analysis of copulation marks in a sympatric zone // *J. Nat. History*. V. 52. № 7–8. P. 405–413. <https://doi.org/10.1080/00222933.2018.1435832>
 11. Гурнык А.Е., Вергун А.А., Рысков А.П. Идентификация гибридных особей скальных ящериц *Darevskia armenica* × *Darevskia valentini* на основе микросателлитного генотипирования // *Генетика*. 2023. Т. 59. № 6. С. 723–727. <https://doi.org/10.31857/S0016675823060073>
 12. Омельченко А.В., Гурнык 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. <https://doi.org/10.1134/S1022795416020083>
 13. Ochkalova S., Korchagin V., Vergun A. et al. First genome of rock lizard *Darevskia valentini* involved in formation of several parthenogenetic species // *Genes*. 2022. V. 13. № 9. <https://doi.org/10.3390/genes13091569>
 14. Thiel T., Michalek W., Varshney R. et al. Exploiting EST databases for the development and characterization of gene-derived SSR-markers in barley (*Hordeum vulgare* L.) // *Theor Appl Genet*. 2003. V. 106. № 3. P. 411–422. <https://doi.org/10.1007/s00122-002-1031-0>
 15. Quinlan A.R., Hall I.M. BEDTools: A flexible suite of utilities for comparing genomic features // *Bioinformatics*. 2010. V. 26. № 6. P. 841–842. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq033>
 16. Untergasser A., Cutcutache I., Koressaar T. et al. Primer3 – new capabilities and interfaces // *Nucl. Acids Res*. 2012. V. 40. № 15. P. 115. <https://doi.org/10.1093/nar/gks596>
 17. Koressaar T., Remm M. Enhancements and modifications of primer design program Primer3 // *Bioinformatics*. 2007. V. 23. № 10. P. 1289–1291. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm091>
 18. Camacho C., Coulouris G., Avagyan V. et al. BLAST+: architecture and applications // *BMC Bioinformatics*. 2009. V. 10. P. 421. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-10-421>
 19. Jombart T. *ade4*: A R package for the multivariate analysis of genetic markers // *Bioinformatics*. 2008. V. 24. № 11. P. 1403–1405. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn129>
 20. Jombart T., Ahmed I. *ade4* 1.3-1: New tools for the analysis of genome-wide SNP data // *Bioinformatics*. 2011. V. 27. № 21. P. 3070–3071. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr521>
 21. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria, 2022. <https://www.R-project.org/>
 22. Goudet J. Hierfstat, a package for R to compute and test hierarchical *F*-statistics // *Mol. Ecol. Notes*. 2005. V. 5. № 1. P. 184–186. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00828.x>
 23. Paradis E. *pegas*: An R package for population genetics with an integrated–modular approach // *Bioinformatics*. 2010. V. 26 № 3. P. 419–420. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp696>
 24. Kamvar Z.N., Tabima J.F., Grünwald N.J. *Poppr*: An R package for genetic analysis of populations with clonal, partially clonal, and/or sexual reproduction // *PeerJ*. 2014. <https://doi.org/10.7717/peerj.281>
 25. Nei M. *Molecular Evolutionary Genetics*, N. Y. Chichester, West Sussex: Columbia Univ. Press, 1987. 514 p. <https://doi.org/10.7312/nei-92038>
 26. Hedrick P.W. A standardized genetic differentiation measure // *Evolution*. 2005. V. 59. № 8. P. 1633–1638. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2005.tb01814.x>
 27. Meirmans P.G., Hedrick P.W. Assessing population structure: F_{ST} and related measures // *Mol. Ecol. Resources*. 2011. V. 11. № 1. P. 5–18. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02927.x>

28. Jombart T., Devillard S. and Balloux F. Discriminant analysis of principal components: A new method for the analysis of genetically structured populations // BMC Genetics. 2010. V. 11. № 94. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-11-94>
29. Kamvar Z.N., Brooks J.K., Grunwald N.J. New R tools for analyzing genome-wide population genetic data with a focus on clonality // Front. Genet. 2015. V. 6. <https://doi.org/10.3389/fgen.2015.00208>
30. Spangenberg V., Kolomiets O., Stepanyan I. et al. Evolution of the parthenogenetic rock lizard hybrid karyotype: Robertsonian translocation between two maternal chromosomes in *Darevskia rostombekowi* // Chromosoma. 2020. V. 129. № 3–4. P. 275–283. <https://doi.org/10.1007/s00412-020-00744-7>
31. Гречко В.В., Банникова А.А., Косушкин С.А. и др. Молекулярно-генетическое разнообразие комплекса ящериц *Darevskia raddei* (Lacertidae: Sauria): ранние этапы видообразования // Мол. биология. 2007. Т. 41. № 5. С. 839–851. <https://doi.org/10.1134/S0026893307050093>
32. Spangenberg V., Arakelyan M., Galoyan E. et al. Extraordinary centromeres: Differences in the meiotic chromosomes of two rock lizards species *Darevskia portschinskii* and *Darevskia raddei* // PeerJ 2019. <https://doi.org/10.7717/peerj.6360>
33. Cota L.G., Moreira P.A., Brandão M.M. et al. Structure and genetic diversity of *Anacardium humile* (Anacardiaceae): A tropical shrub // Genet. and Mol. Research. 2017. V. 16. № 3. P. 1–13. <http://dx.doi.org/10.4238/gmr16039778>
34. Валяева А.А., Мартirosyan И.А. Генетический полиморфизм локуса du47g в популяциях скальных ящериц *Darevskia raddei* Армении // Актуальные вопросы зоологии, экологии и охраны природы. 2021. Вып. 3. С. 30–34.

POLYMORPHISM OF MICROSATELLITE LOCI IN POPULATIONS OF CAUCASIAN ROCK LIZARDS AND ITS USE FOR ASSESSING THE GENETIC DIVERSITY OF *Darevskia raddei*

D. O. Odegov¹, A. A. Valyaeva¹, M. S. Arakelyan², A. P. Ryskov¹, V. I. Korchagin¹,
I. A. Martirosyan^{1,*}

¹Institute of Gene Biology Russian Academy of Sciences, Moscow, 117334 Russia

²Yerevan State University, Erevan, 0025 Armenia

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

The study of Caucasian rock lizards of the *Darevskia raddei* complex, represented by several subspecies, is of great interest and scientific significance in connection with their participation in interspecific hybridizations with the formation of five of the seven known unisexual (parthenogenetic) species of the genus *Darevskia*. Here are presented genetic parameters for populations (subspecies) of *D. r. raddei* and *D. r. nairensis* based on the analysis of the variability of 10 microsatellite loci of 230 individuals from 17 populations of Armenia and Nagorno-Karabakh. According to these parameters, *D. r. raddei* are characterized by greater diversity in the number of alleles and genotypes compared to *D. r. nairensis*. Genetic differentiation analysis showed that *D. r. raddei* populations are divided into two groups, one of which is genetically closer to *D. r. nairensis* than *D. r. raddei*. Analysis of the association index showed the absence of free recombination of alleles between subspecies, which indicates their isolation and the absence of crossing between individuals. Thus, based on the expanded population sample and the developed panel of microsatellite markers, new data on the population structure of *D. raddei* species, genetic diversity and differentiation of *D. r. raddei* and *D. r. nairensis* were obtained.

Keywords: subspecies, population, *Darevskia* lizards, genetic diversity, population structure, genetic differentiation.