

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК  
Южный Научный Центр

RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES  
Southern Scientific Centre

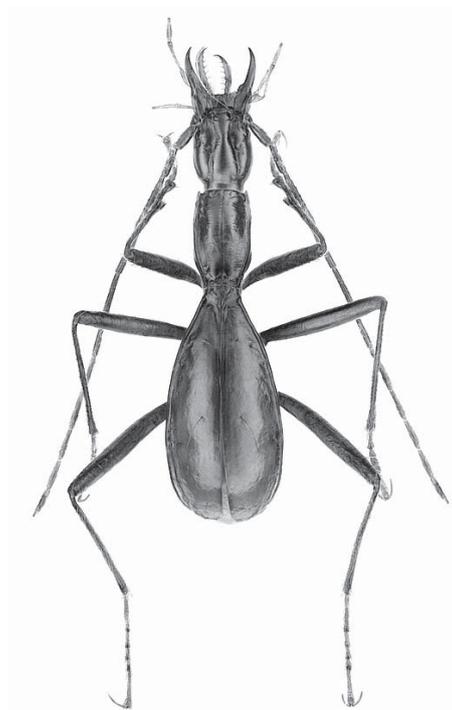


# Кавказский Энтомологический Бюллетень

CAUCASIAN ENTOMOLOGICAL BULLETIN

Том 6. Вып. 2

Vol. 6. No. 2



Ростов-на-Дону  
2010

## Анализ последовательностей митохондриальной и ядерной ДНК некоторых представителей рода *Plebejus* Kluk, 1780 (Lepidoptera: Lycaenidae) юга России

### Analysis of mitochondrial and nuclear DNA sequences in some butterflies of genus *Plebejus* Kluk, 1780 (Lepidoptera: Lycaenidae) of Russian South

Д.И. Водолажский<sup>1</sup>, Б.В. Страдомский<sup>2</sup>  
D.I. Vodolazhsky<sup>1</sup>, B.V. Stradomsky<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Южный научный центр РАН, пр. Чехова, 41, Ростов-на-Дону 344006 Россия

<sup>2</sup>Ростовское отделение Русского энтомологического общества, а/я 3318, Ростов-на-Дону 344092 Россия

<sup>1</sup>South Scientific Centre RAS, Chekhov str., 41, Rostov-on-Don 344006 Russia. E-mail: dvodolazhsky@gmail.com

<sup>2</sup>Rostov branch of Russian Entomologic Society, PO Box 3318, Rostov-on-Don 344092 Russia. E-mail: bvstr@yandex.ru

Ключевые слова: Род *Plebejus*, гены COI и ITS2, юг России

Key words: Genus *Plebejus*, COI and ITS2 genes, South of Russian

**Резюме.** Проведены исследования генетических маркеров (COI и ITS2) представителей рода *Plebejus*. Результаты свидетельствуют о симпатричном обитании на юге Европейской части России *P. maracandicus* и *P. argyrognomon*. Показаны значимые различия между *P. pylaon*, *P. sephirus*, *P. zephyrinus* и *P. zephyrinus ordubadi*. Уровень различий в первичных последовательностях мтДНК не позволяет рассматривать *ordubadi* в качестве подвида *P. zephyrinus* и может свидетельствовать о самостоятельном видовом статусе этого таксона.

**Abstract.** The authors studied COI and ITS2 genetic markers in specimens of genus *Plebejus*. The results reveal sympatric habitation of *P. maracandicus* and *P. argyrognomon* in South of European Russia. Significant differences between *P. pylaon*, *P. sephirus*, *P. zephyrinus* and *P. zephyrinus ordubadi* are shown. Level of distinctions in primary sequences of mtDNA does not allow to consider *ordubadi* as subspecies *P. zephyrinus* and can also testify on the independent specific status of this taxon.

Классические морфологические, а также генитальные методы анализа зачастую не позволяют однозначно обозначить таксономическую принадлежность многих представителей семейства голубянок (Lycaenidae). При характеристике фауны одних и тех же территорий разные авторы зачастую не могут прийти к единому мнению относительно видового состава, либо определяя таксономическую принадлежность одних и тех же популяций к различным видам, либо даже игнорируя самостоятельность отдельных таксонов видового ранга. Например, наличие вида *Plebejus maracandicus* (Erschoff, 1874) на юге Европейской части России [Tuzov et al., 2000; Страдомский, 2005] игнорируется некоторыми авторами [Gorbunov, 2001; Tshikolovets, 2003], которые относят экземпляры *P. maracandicus* к виду *P. argyrognomon* (Bergstrasser, 1779). Также на настоящее время неясен и спорен вопрос статуса ряда таксонов подрода *Plebejides* Sauter, 1968 рода *Plebejus*, обитающих

на юге России и Северном Кавказе: *P. pylaon* (Fischer von Waldheim, 1832); *P. sephirus* (Friedrich, 1835) и *P. zephyrinus ordubadi* (Forster, 1938) [Tuzov et al., 2000; Gorbunov, 2001; Tshikolovets, 2003].

В последнее время активно развиваются молекулярно-генетические подходы к изучению таксономии и филогении биологических объектов, в том числе и голубянок. К сожалению, подобные исследования рода *Plebejus* на настоящий момент в значительной степени малочисленны и фрагментарны. В этой связи, для объективной трактовки таксономической принадлежности некоторых голубянок этого рода, обитающих на юге России, нами был проведен комплексный анализ двух генетических маркеров представителей *Plebejus*: митохондриального – COI и ядерного – ITS2.

### Методы исследования

**Материал.** *P. pylaon*: ♂, Russia, Belokalitvinsky distr., Rostov-on-Don region, 19.05.2009, B. Stradomsky;

*P. sephirus*: ♂, Russia, Gonachkhir (1900 m), Karachaj-Cherkesia, 10.08.2007, B. Stradomsky;

*P. zephyrinus ordubadi*: ♂, Russia, Chach-Chach (720 m), Dagestan, 31.05.2007, V. Tikhonov;

*P. maracandicus caspicus*: ♂, Russia, Dugino, Azov, Rostov-on-Don region, 10.07.2008, B. Stradomsky;

*P. argyrognomon*: ♂, Russia, Belokalitvinsky distr., Rostov-on-Don region, 14.06.2008, B. Stradomsky.

Параметры методов выделения ДНК, амплификации и секвенирования описаны в работах [Водолажский, Страдомский, 2008а, б].

Отличия первичных нуклеотидных последовательностей определялись количественно, с использованием параметрической модели Kimura-2 [Kimura, 1980], и графически представлялись в виде ME - кладограммы.

Полученные последовательности митохондриальной и ядерной ДНК представлены в международной базе GenBank (accession №№ HM159431-HM159435, HM175708-HM175712).

В качестве сравнительных данных использовались последовательности гена COI, приведенные в GenBank: FJ663946, FJ663950, FJ663972, HQ005001.

Внешней группой при построении филогенетических

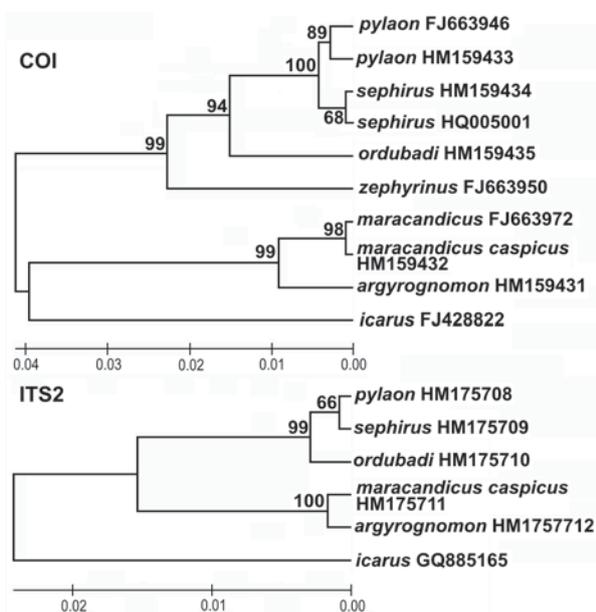


Рис. Подрод *Plebejus*: филогенетические деревья на основе анализа различий последовательностей ДНК генов COI и ITS2 с применением метода минимальной эволюции (ME).

Fig. Subgenus *Plebejus*: phylogenetic trees based on the Minimum Evolution (ME) method of analysis of distances for COI and ITS2 DNA sequences.

моделей служили нуклеотидные последовательности COI и ITS2 экземпляра *Polyommatus icarus* (Rottentburg, 1775), идентификационный музейный номер ILL041 (accession № GenBank FJ428822, GQ885165).

## Результаты и обсуждение

Результаты исследования свидетельствует о том, что изученные таксоны рода *Plebejus* четко разделяются по обоим генетическим маркерам на две обособленные группы, соответствующие под родам *Lycaeides* Hübner, 1819 и *Plebejides* (Рис).

В составе подрода *Lycaeides* отмечено два изученных вида: *P. argyrognomon* и *P. maracandicus*. Эти виды образуют самостоятельные ветви на ME-кладограмме и характеризуются значимыми различиями между собой и по митохондриальному, и по ядерному генетическим маркерам. В то же время, различия в гене COI между номинативным подвидом *P. maracandicus* из Средней Азии и подвидом *P. maracandicus caspicus*, обитающим на территории Европейской части России, незначительны и составляют лишь 0.2%, что свидетельствует лишь о подвидовом статусе *P. maracandicus caspicus*. Наряду с этим, различия в последовательностях гена COI между *P. argyrognomon* и *P. maracandicus* составляют 1.8%, что явно свидетельствует о самостоятельности этих видов. Таким образом, полученные данные однозначно свидетельствуют о симпатричном обитании на территории Европейской части России *P. maracandicus* и *P. argyrognomon*.

Исследование генетических маркеров представителей *Plebejides* убедительно показало, что в составе этого подрода на изученной территории можно различать три самостоятельных таксона – *P. pylaon*, *P. sephirus* и *P. zephyrinus ordubadi*, значимо различающихся между собой как по митохондриальным, так и по ядерным последовательностям ДНК. Напротив, различия по гену COI экземпляров *P. pylaon* из Европейской части России и Средней Азии (северо-восточный Казахстан) весьма незначительны (0.5%) и свидетельствуют о принадлежности этих экземпляров к одному виду. Аналогичные минимальные внутривидовые различия (0.2%) выявлены и между экземплярами *P. sephirus*, обитающими на Северном Кавказе и в Центральной Европе (Румыния).

Весьма неожиданными оказались результаты, характеризующие таксон *ordubadi*. Данный таксон большинство исследователей считает подвидом ирано-среднеазиатского вида *P. zephyrinus* [Tuzov et al., 2000; Львовский, Моргун, 2007]. В то же время, по последовательности ДНК генетического маркера COI *P. zephyrinus ordubadi* значимо отличается не только от *P. pylaon* и *P. sephirus*, но и от экземпляра *P. zephyrinus* из Средней Азии. Отличие от *P. zephyrinus* составляет 3.3%. Такой уровень несовпадений в первичных последовательностях ДНК не позволяет рассматривать *ordubadi* в качестве подвида *P. zephyrinus* и может свидетельствовать о самостоятельном видовом статусе этого кавказского таксона.

## Благодарности

Авторы выражают благодарность В. Тихонову (Пятигорск) за помощь с набором фактического материала.

## Литература

- Водолажский Д.И., Страдомский Б.В. 2008а. Исследование филогенеза подрода *Polyommatus* (s. str) Latreille, 1804 (Lepidoptera: Lycaenidae) с использованием маркеров мтДНК. Часть I // Кавказский энтомологический бюллетень. 4(1): 123-130.
- Водолажский Д.И., Страдомский Б.В. 2008б. Исследование филогенеза подрода *Polyommatus* (s. str) Latreille, 1804 (Lepidoptera: Lycaenidae) с использованием маркеров мтДНК. Часть II // Кавказский энтомологический бюллетень. 4(2): 237-242.
- Львовский А.Л., Моргун Д.В. 2007. Булавоусые чешуекрылые Восточной Европы. М.: Товарищество научных изданий КМК. 443 с.
- Страдомский Б.В. 2005. Голубянки подсемейства Polyommatinae Европейской России, Центрального и Западного Кавказа. Ростов-на-Дону. 148 с.
- Gorbunov P.Y. 2001. The Butterflies of Russia: Classification, Genitalia, Keys for Identification. (Lepidoptera: Hesperioidea and Papilionoidea). Ekaterinburg. 320 pp.
- Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences // Journal of Molecular Evolution, 16: 111-120.
- Tshkolovets V.V. 2003. Butterflies of Eastern Europe, Urals and Caucasus. Kyiv, Brno. 176 pp.
- Tuzov V.K., Bogdanov P.V., Churkin S.V., Dantchenko A.V., Devyatkin A.L., Murzin V.S., Samodurov G.D., Zhdanko A.B. 2000. Guide to the Butterflies of Russia and Adjacent Territories. V. 2. Sofia, Moscow. 580 pp.

## References

- Gorburnov P.Y. 2001. The Butterflies of Russia: Classification, Genitalia, Keys for Identification. (Lepidoptera: Hesperioidea and Papilionoidea). Ekaterinburg. 320 p.
- Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*. 16: 111–120.
- Lvovsky A.L., Morgun D.V. 2007. Bulavousye cheshuekrylye Vostochnoy Evropy [Butterflies of Eastern Europe]. Moscow: KMK Scientific Press Ltd. 443 p. (in Russian).
- Stradomsky B.V. 2005. Golubyanki podsemeystva Polyommatainae Evropeyskoy Rossii, Tsentral'nogo i Zapadnogo Kavkaza [The blues of the subfamily Polyommatainae of European Russia, the Central and West Caucasus]. Rostov-on-Don. 148 p. (in Russian).
- Tshikolovets V.V. 2003. Butterflies of Eastern Europe, Urals and Caucasus. Kiev – Brno. 176 p.
- Tuzov V.K., Bogdanov P.V., Churkin S.V., Dantchenko A.V., Devyatkin A.L., Murzin V.S., Samodurov G.D., Zhdanko A.B. 2000. Guide to the Butterflies of Russia and Adjacent Territories. Vol. 2. Sofia – Moscow: Pensoft. 580 p.
- Vodolazhsky D.I., Stradomsky B.V. 2008. Phylogenetic analysis of subgenus *Polyommatus* (s. str) Latreille, 1804 (Lepidoptera: Lycaenidae) based on mtDNA markers. Part I. *Caucasian Entomological Bulletin*. 4(1): 123–130 (in Russian).
- Vodolazhsky D.I., Stradomsky B.V. 2008. Phylogenetic analysis of subgenus *Polyommatus* (s. str) Latreille, 1804 (Lepidoptera: Lycaenidae) based on mtDNA markers. Part II. *Caucasian Entomological Bulletin*. 4(2): 237–242 (in Russian).