

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИДОВОГО СОСТАВА РОДА ПОЛЁВКИ (MICROTUS) В НЕКОТОРЫХ РЕГИОНАХ АРМЕНИИ МЕТОДОМ ГЕНЕТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

Эдуард ЯВРУЯН, Левон ПАПЯН

Ключевые слова – Полевки, *Microtus*, синантропы, генетический анализ, антропогенные факторы.

Բանալի բառեր – Դաշտամկներ, *Microtus*, սինանտրոպներ, գենետիկական անալիզ, մարդածին գործոններ.

Keywords – Voles, *Microtus*, synanthropes, genetic analysis, anthropogenic factors.

ՀՀ ՈՐՈՇ ԵՐԶԱՆՆԵՐՈՒՄ ԴԱՇՏԱՄԿՆԵՐԻ (MICROTUS) ՏԵՍԱԿԱՅԻՆ ԿԱԶՄԻ ՈՐՈՇՈՒՄԸ ԳԵՆԵՏԻԿԱԿԱՆ ԱՆԱԼԻԶԻ ՄԻՋՈՑՈՎ Է. ՅԱՎՐՈՒՅԱՆ, Լ. ՊԱՊՅԱՆ

Սույն հոդվածում ներկայացված են դաշտամկների (*Microtus*) տեսակային կազմի բացահայտմանն ուղղված աշխատանքների արդյունքները: Մեր աշխատանքներում մենք ուսումնասիրում ենք Հայաստանի և Արցախի սինանտրոպ կաթնասունների էկոլոգիային, վարքագծին, տեսակային կազմին և տարածվածությանը վերաբերող մի շարք հարցեր: Մարդածին գործոնների ազդեցության պատճառով դաշտամկների որոշ տեսակներ ևս ձևավորել են սինանտրոպ պոպուլյացիաներ: Ցանկալի արդյունք ստանալու նպատակով 2010-2015 թթ. ընթացքում հավաքագրված նյութը ենթարկվել է գենետիկական մշակման: Ստացված տվյալներն ու դրանցից բխող եզրակացությունները ներկայացված են այս աշխատանքում:

DETERMINATION OF THE SPECIES OF VOLES (MICROTUS) BY GENETICAL ANALYSIS IN SOME REGIONS OF ARMENIA

E. Yavruyan, L. Papayan

The results of researches of the voles are presented in this article. We study the ecology, ethology and other problems of the synanthropic mammals in Armenia and the NKR. Some voles also formed synanthropic populations under the influence of various anthropogenic factors. To achieve the desired result, we have done genetic testing of the material collected by us between 2010 and 2015. The obtained data, results and conclusions are presented in this work.

В данной статье представлены результаты проведенных нами работ по определению видового состава рода полевок (*Microtus*). В наших работах мы изучаем экологию, этологию, видовой состав и распространение синантропных млекопитающих Армении и НКР. Некоторые представители полевок под воздействием различных антропогенных факторов также формировали синантропные популяции. Для достижения желаемого результата мы провели генетический анализ собранного нами материала за период с 2010 по 2015гг. Полученные результаты и выводы изложены в данной работе.

Видовой состав полевок (*Microtus*) на территории Армении остаётся малоизученным. Многие имеющиеся литературные данные устарели и требуют серьезного дополнения. В работе С.К. Даля “Животный мир Армянской ССР” (1954) на территории Армении подробно описаны 6 видов полевок: обыкновенная полевка (*Microtus arvalis*), общественная полевка (*Microtus socialis*), кустарниковая полевка (*Microtus majori*), дагестанская полевка (*Microtus daghestanicus*), полевка Шидловского (*Microtus schidlovski*) снежная полевка (*Microtus nivalis*) [1]. С тех пор многое изменилось как в научной систематике рода *Microtus*, так и в их экологии и распространенности. Надо отметить, что с тех пор сильно изменились и природные ландшафты с ареалами обитания этих зверьков [3]. Почти все описанные ранее виды сформировали синантропные популяции.

Материал и методика. Материал для изучения был собран нами в течении нескольких лет, начиная с 2010 г. в марзах Тавуш, Лори, Гегаркуник, Котайк и Сюник. С целью проведения генетического анализа было собрано 150 экземпляров представителей рода *Microtus*. Для определения видовой принадлежности был выбран метод генетического анализа, так-как чаще всего морфометрические измерения давали не очень точный результат и невозможно было отличать виды друг от друга. Наши исследования по генетике состояли из двух этапов, а именно из лабораторной части и компьютерной обработки полученных данных. Первую часть работы, которая состояла из выделения ДНК, ПЦР анализа и секвенирования, была проведена в лаборатории по молекулярной биологии института и музея зоологии ПАН в Варшаве. Компьютерная обработка была проведена в лаборатории по общей биологии РАУ при поддержке местных и польских специалистов по биоинформатике.

Наша научная группа под руководством д.б.н., профессора Э. Явруяна, провела сбор материала по грызунам с 2010г. в вышеупомянутых регионах Армении, 152 из которых были полевки. Сбор был проведен согласно разрешению Министерства охраны природы по отлову животных. Материал был зарегистрирован, обнумерован и зафиксирован в полевых условиях согласно принятым стандартам. В рамках совместного гранта собранный нами материал был отправлен в институт зоологии ПАН, где совместно был обработан нашими и местными сотрудниками. ДНК было выделено из пальцев задних лап зверьков согласно протоколу “Genomic DNA from tissue NucleoSpin® Tissue kit” по выделению ДНК из ткани животного [4]. Наличие или отсутствие полученного ДНК было проверено спектрофотометром для микрообъемов NanoDrop Thermo 2000. Если ДНК было выделено успешно, мы переходили к проведению ПЦР. В качестве маркера для определения видовой принадлежности экземпляра был выбран ген первой субъединицы цитохром С-оксидазы (COI). После ПЦР был проведен электрофорез на агарозном геле. Он является достаточно общим методом для определения качества препарата ДНК и позволяет оценить целостность ДНК, наличие РНК или примесей хромосомной ДНК. После очистки ДНК (Clean Up) был проведен секвенсинг ПЦР-продуктов. Полученные нуклеотидные последовательности обрабатывали с помощью компьютерных программ, а именно Bioedit и BLAST.

Результаты и обсуждение. В результате очистки ДНК и дальнейшего ПЦР-анализа из всех экземпляров удачными оказались 130, а после повторного анализа получили множественные копии гена COI еще для 7 экземпляров. Для остальных экземпляров результаты оказались отрицательными, и их дальнейшая обработка стала невозможно. Причины тому разные, но в основном это результат неправильного хранения материала в спирте. Также 3 экземпляра не подверглись секвенсингу. Причинами этому могут быть недостаточное или полное отсутствие ДНК/примера, контаминация ингибиторами, потеря продукта в процессе очистки, контаминация солями или же высокая концентрация ДНК. В целом для компьютерной обработки было доступно 134 экземпляра, что составляет примерно 88% всего материала, что довольно высокий показатель.

Компьютерная обработка данных сводилась к определению вида с помощью сравнения наших экземпляров с базой данных. Для этого использовалась программа BLAST. Так же с помощью Bioedit было проведено межвидовое и внутривидовое сравнения маркерного гена.

Таблица 1. Результаты генетических анализов по определению вида полевок по отдельным регионам

Марзы	Котайк	Тавуш	Гегаркуник	Лори	Сюник
Животные					
<i>Microtus arvalis</i>	79	6	11	6	0
<i>Microtus daghestanicus</i>	8	3	2	7	0
<i>Microtus levis</i>	0	0	0	0	5
<i>Microtus nivalis</i>	2	0	0	0	0
<i>Microtus socialis</i>	3	0	1	0	1

Никакие межпопуляционные отличия не были найдены в пределах одного вида, что, в общем является логичным, так-как маркерный ген нечасто мутирует, а для выявления таких отличий требуются более глубокие исследования по митохондриальной ДНК и генома в целом. Согласно результатам работ по программе BLAST были зарегистрированы 5 видов - *microtus arvalis*, *microtus daghestanicus*, *microtus levis*, *microtus nivalis* и *microtus socialis*. Результаты по отдельным регионам представлены в Таблице 1.

Как видно из приведенных результатов, самым многочисленным среди нашего материала оказалась обыкновенная полевка (*microtus arvalis*) – 102 экземпляра. Чаще всего она встречалась в Котайкском регионе в окрестностях Анкавана, Агавнадзора и Меградзора. Именно у представителей этого вида были замечены признаки полной или частичной синантропности. Были обнаружены большие синантропные популяции вокруг Агавнадзорского пансионата ЕГПУ, в поселках Анкаван и Меградзор, а также Гегаркуникском регионе в деревне Джил. Интересно, что только в Мегри (марз Сюник) была зафиксирована восточноевропейская полёвка (*Microtus levis*), которая является видом-двойником обыкновенной полевки (*Microtus arvalis*) и по внешним признакам ничем от нее не

отличается. В настоящее время основным признаком отличия является их диплоидный набор хромосом: у восточноевропейской полевки — 54, у обыкновенной — 46. Снежная полевка (*Microtus nivalis*) была зарегистрирована нами только в деревне Пюник (марз Котайк), Дагестанская полевка (*Microtus daghestanicus*) зафиксирована во 4-х регионах из 5. Вопреки ожиданиям в малом количестве оказалась Социальная полевка (*Microtus socialis*), хотя тоже была зарегистрирована повсеместно.

Что касается систематики, то тут есть серьезные изменения. Например, Снежную полевку (*Microtus nivalis*) сейчас относят к роду снеговых полёвок (*Chionomys*). Хотя согласно Павлинову (2006), род серые полёвки (*Microtus*, Schrank, 1798) вероятно, является сборной группой и в широкой трактовке сюда включают *Lasiopodomys*, *Chionomys*, *Blanfordimys*, *Volemys* [2].

ЛИТЕРАТУРА

1. Даль С.К. 1954. Животный мир Армянской ССР. Т. 1. Позвоночные животные. Ереван, Изд-во АН СССР, 414 с.
2. Павлинов И. Я. 2006. Систематика современных млекопитающих. 2-е изд. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 297 с.
3. Саакян М.С. Фауна грызунов северо-восточной Армении//Труды Арм. противочумной станции. 1964, Вып. 3. СС. 329–346.
4. A. Fontdevila. 2011. The dynamic genome: a Darwinian approach. Oxford University Press, USA, 248 p.
5. Папян Л.Г., Гамбарян Г.Г. - Исследование поведения и активности мелких млекопитающих методом использования фотоловушек. Ломоносов-2015.
6. Л.Г. Папян - Формирование синантропизма в некоторых северных районах Армении на примере представителей отряда хищных млекопитающих. Вестник Российско-Армянского Университета, Серия: Физико-Математические и Естественные Науки, № 2. 2015. с. 91-94.
7. Л.Г. Папян, А.М. Саргсян - Исследование синантропизма у некоторых представителей млекопитающих методом использования фотоловушек. Вестник Российско-Армянского Университета, Серия: Физико-Математические и Естественные Науки, № 2016. с. 94-97.

Сведения об авторах:

Э.Г. ЯВРУЯН - Российско-Армянский университет

Исследование выполнено в рамках совместного гранта Научного Центра Зоологии и Гидроэкологии НАН РА и Института Зоологии РАН.

Հոդվածը տպագրության է նրաշխարհում խմբագրական կոլեգիայի անդամ, կ.գ.դ. Վ. Տ.Հայրապետյանը: