

УДК 575.22:598.112

ИЗМЕНЧИВОСТЬ МИНИ- И МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ МАРКЕРОВ ДНК В ПОПУЛЯЦИЯХ ПАРТЕНОГЕНЕТИЧЕСКОЙ СКАЛЬНОЙ ЯЩЕРИЦЫ *Darevskia rostombekovi**

© 2002 г. И. А. Мартиросян¹, А. П. Рысков², В. Г. Петросян³, М. С. Аракелян⁴, А. В. Асланян⁴, Ф. Д. Даниелян⁴, И. С. Даревский⁵, О. Н. Токарская²

¹ Государственный научно-исследовательский институт генетики и селекции промышленных микроорганизмов, Москва 113545

² Институт биологии гена Российской академии наук, Москва 117334; e-mail: ryskov@mail.ru

³ Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова Российской академии наук, Москва 117984

⁴ Ереванский государственный университет, Ереван 375000

⁵ Зоологический институт Российской академии наук, Санкт-Петербург 199034

Поступила в редакцию 25.10.2001 г.

Изменчивость и клональное разнообразие в популяциях партеногенетической скальной ящерицы Ростомбекова (*Darevskia rostombekovi*) изучали с помощью мультилокусного ДНК-фингерпринтинга с использованием мини- и микросателлитных (M13, (GATA)₄, (TCC)₅₀) маркеров ДНК. Показано, что исследованные особи характеризуются клонально наследуемым видоспецифическим спектром маркеров ДНК (фингерпринтным профилем), отличным от видоспецифических спектров партеновидов *D. dahli*, *D. armeniaca* и *D. unisexualis*. Среднее значение внутривидового индекса сходства (*S*) для выборки из 19 особей трех изолированных популяций Северной Армении составляет величину 0.950 (0.003), тогда как оценка этого параметра для выборки из 21 особи, включающей двух особей из высокогорной, реликтовой популяции оз. Севан, существенным образом меняет величину *S* и составляет 0.875 (0.001). Сравнительный анализ ДНК-фингерпринтных фенотипов обнаружил степень различия между 21 особью, достигающую 79 фрагментов ДНК из 1801 мини- и микросателлитных маркеров, участвующих в анализе. Полученные данные позволяют утверждать, что внутривидовая изменчивость у *D. rostombekovi* выше по сравнению с уже исследованными партеновидами *D. dahli* (*S* = 0.962) и *D. unisexualis* (*S* = 0.950) (*P* < 0.001). Учитывая, что вид *D. rostombekovi* считался моноклональным по данным аллозимного анализа, обсуждается проблема клональной изменчивости в свете данных ядерных маркеров ДНК. Предполагается, что наиболее нестабильный гибридный кариотип *D. rostombekovi*, по сравнению с *D. dahli* и *D. unisexualis*, приводит к серии хромосомных перестроек (мутаций), а также возможности возникновения географически изолированной хромосомной расы (клона) в популяции на юго-восточном побережье оз. Севан.

Мультилокусный ДНК-фингерпринтинг является в настоящее время наиболее эффективным методом анализа клонального разнообразия и индивидуальной изменчивости в популяциях однополых видов позвоночных [2–5]. Ранее проведенные нами исследования генетической изменчивости у партеногенетических видов скальных ящериц Кавказа *Darevskia dahli*, *D. armeniaca* и *D. unisexualis* [6–9] показали высокую степень внутривидового сходства (приведенные оценки индексов сходства для *D. dahli* и *D. unisexualis* составляют соответственно величины 0.962 и 0.950) и некоторую степень ДНК-фингерпринтных фенотипических различий, в пределах нескольких фрагментов ДНК. В то же время на фоне выраженных видоспецифических профилей особей партеновидов была обнаружена характерная генетическая неоднородность и нестабильность некоторых микросателлитных маркеров ДНК [9].

Ящерица Ростомбекова (*D. rostombekovi*) – один из семи партеногенетически размножающихся видов скальных ящериц рода *Darevskia* – занимает сравнительно небольшой по площади ареал, состоящий из нескольких разных по величине изолированных популяций Северного предгорья Малого Кавказа, в пределах Северной Армении и в прилегающих районах Северо-Западного Азербайджана, и далеко оторванной от основного ареала маленькой высокогорной (2000 м) реликтовой (~12 тыс. лет) популяции на юго-восточном побережье оз. Севан (рис. 1) [10]. Как и другие партеногенетические виды рода *Darevskia*, *D. rostombekovi* имеет гибридное происхождение (родоначальные виды *D. portschinskii* и *D. raddei*), характеризуется диплоидным набором хромосом, высоким уровнем фиксированной гетерозиготности аллозимных локусов и низкой вариабельностью митохондриальной ДНК [11–14]. Исследования аллозимных спектров 35 локусов *D. rostombekovi* (выборка из 65 особей) не обнаружили изменчивости в популяциях этого вида [15]. Та-

* В настоящее время все кавказские виды группы “*Lacerta saxicola*” выделены в новый таксон *Darevskia Agribas* [1].



Рис. 1. Ареал (карта-схема) партеногенетического вида *D. rostombekovi*. Районы отлова ящериц: 1 – Спитак, 2 – Папанино, 3 – Гош, 4 – Загалу.

ким образом, *D. rostombekovi* в отличие от *D. dahli*, *D. armeniaca* и *D. unisexualis* считается моноклональным видом. В свете имеющихся данных представляет интерес сопоставление результатов аллозимных исследований и мультилокусного ДНК-фингерпринтинга и применение комплексного подхода в оценке клонального разнообразия природных популяций партеновидов.

Цель настоящего исследования – использование мультилокусного ДНК-фингерпринтинга (мини- и микросателлитной ДНК) для анализа изменчивости и генетического разнообразия в популяциях *D. rostombekovi*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Партеногенетических самок *D. rostombekovi* отлавливали в июне 2000–2001 гг. в изолированных популяциях Северной Армении в районе населенных пунктов Гош (2 особи), Папанино (пригород Дилижана) (8 особей) и в окрестностях г. Спитак (10 особей), а также в высокогорной (2000 м над ур. моря) популяции на юго-восточном берегу оз. Севан (Загалу) (рис. 1). Самок *D. rostombekovi* (2 особи), готовящихся к откладке яиц, собирали в популяции Папанино и содержали в лаборатории в отдельных террариумах до получения индивидуальных кладок. Отложенные яйца инкубировали в течение 30 дней, а затем вскрывали и промытых в физиологическом растворе эмбрионов быстро замораживали в жидком азоте. Кровь, полученную от взрослых самок, консервировали в 0.05 М растворе ЭДТА pH 8.0 как описано ранее [6]. ДНК из крови ящериц выделяли по методу

Мэтью [16] с использованием протеиназы К. Замороженные эмбрионы растирали в жидком азоте до образования однородной массы и выделяли ДНК с помощью стандартного фенольно-хлороформного метода также с использованием протеиназы К [16]. Образцы ДНК (~ по 10 мкг в пробе) обрабатывали рестриктазами *BsuRI* и *MvaI* (“Fermentas”) согласно процедуре фирмы изготовителя. Блот-гибридизационный анализ с [³²P]-мечеными ДНК-пробами M13, (GATA)₄ и (TCC)₅₀ проводили в стандартных условиях, как описано ранее [6–8]. Данные фингерпринтного анализа, представленные в виде бинарных матриц типа объект–признак, анализировали по отработанной методике [6] с помощью информационной системы BIOSYSTEM 1.0 [17]. ДНК-фингерпринтные группы определяли с помощью иерархического кластерного анализа [6, 18] как совокупность особей, имеющих 100%-ное сходство по всем трем типам маркеров ДНК.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На рис. 2 представлены данные ДНК-фингерпринтного анализа семей *D. rostombekovi*, состоящих из самки и ее партеногенетического потомства. Потомки особей, взятых из природных популяций, характеризуются клонально воспроизводимым генотипом. Таким образом, как и в случае других однополых позвоночных [2–5, 9] мини- и микросателлитные маркеры ДНК демонстрируют клональное наследование у *D. rostombekovi*.

На рис. 3 представлены варианты мультилокусного ДНК-фингерпринтинга популяций *D. rostombekovi*. У особей из популяций Спитак и Папанино обнаружены идентичные, незначительно различающиеся и умеренно различающиеся спектры фрагментов ДНК в диапазоне размеров от 23.1 до 2 тпн. Однако даже при визуальном анализе фингерпринтных картин заметны впечатляющие различия между двумя особями из популяции Загалу и остальными особями исследованных популяций (рис. 3). Количественные оценки изменчивости по локусам (табл. 1) определяли по средним значениям индексов сходства в пределах от 0.981 (M13/*BsuRI*) до 0.901 ((GATA)₄/*BsuRI*) для индивидуальных вариантов мультилокусного анализа. Оказалось, что средние значения *S* и 95%-ные доверительные интервалы данных объединенных матриц не зависят от используемых рестриктаз (*BsuRI* или *MvaI*; *P* > 0.05) и составляют величины соответственно 0.95 (0.003) и 0.952 (0.002). Таким образом, в дальнейших расчетах мы использовали фингерпринтные данные, полученные только для одной из рестриктаз, *BsuRI*. Сравнительный анализ популяционных параметров у *D. rostombekovi* по трем типам маркеров ДНК – M13, (GATA)₄ и (TCC)_n – представлен в табл. 2. Среднее значение индекса сходства для

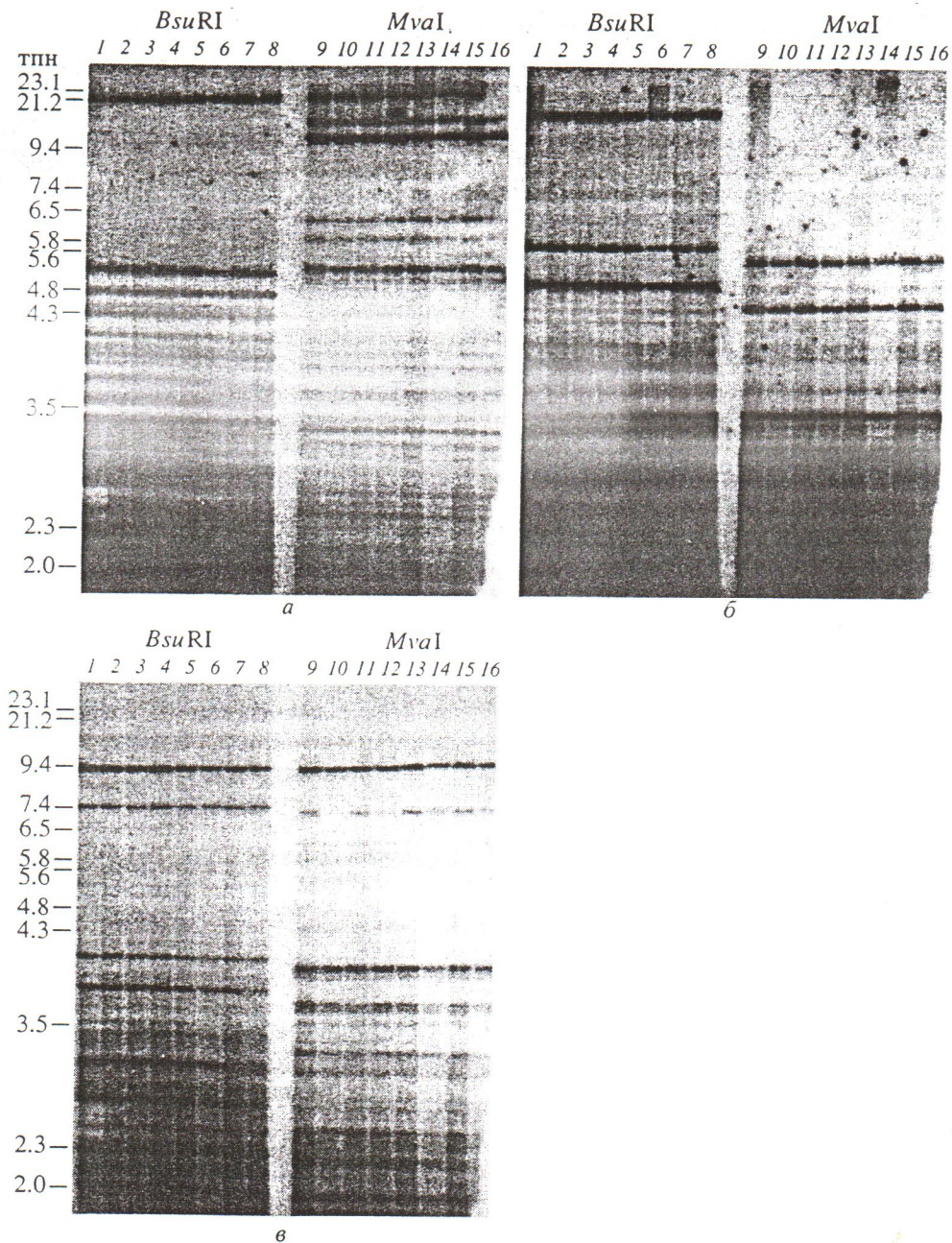


Рис. 2. Клональное наследование мини- и микросателлитных маркеров ДНК в популяциях *D. rostombekovi*. Образцы ДНК ящериц (матери и ее потомков) гидролизovali ферментами рестрикции и последовательно гибридизовали с M13 (а), $(GATA)_4$ (б) и $(TCC)_{50}$ (в). В качестве маркерных фрагментов использовали ДНК фага λ , обработанную *Hind*III + *Eco*RI. Дорожки 1, 6, 9, 14 – самки, 2–5, 7, 8, 10–13, 15, 16 – партеногенетические потомки.

выборки из 19 особей *D. rostombekovi* составляет 0.95 (0.003), что соответствует уровню изменчивости у *D. unisexualis* (0.950; $P > 0.05$), однако выше, чем у *D. dahli* (0.962; $P < 0.05$). Оценка индекса сходства для выборки из 21 особи, включая двух особей из популяции Загалу, существенно меняет величину этого параметра $S = 0.875$ (0.001) и еще более усиливает степень внутривидовой изменчивости у *D. rostombekovi* по сравнению с партеногенетическими видами *D. dahli* и *D. unisexualis* ($P \ll 0.001$).

Иерархический кластерный анализ объединенной матрицы данных показал всего три фингерпринтных фенотипа (8 особей – 42%) среди выборки из 19 особей *D. rostombekovi* (табл. 3). Различия между выделенными группами составили от двух до 15 фрагментов ДНК. В то же время число нетипируемых особей возросло по сравнению с другими партеновидами [9] до 58% и составило 11 особей, а различия между ними достигли 17 фрагментов. Анализ выборки *D. rostombekovi*, включающей особей из популяции Загалу

Таблица 1. Сравнительный анализ геномной варибельности некоторых мини- и микросателлитных локусов у *D. rostombekovi* (для анализа использовали особей из популяций Гош, Спитак и Папанино)

Сочетание зонда и рестриктазы*	Число особей <i>N</i>	Среднее число фрагментов на особь <i>n</i> (SE)	Среднее значение индекса сходства <i>S</i> (SE)	95%-ный доверительный интервал значений <i>S</i>
M13- <i>Mva</i> I	20	23 (0)	0.955 (0.002)	0.950–0.959
(TCC) ₅₀ - <i>Mva</i> I	20	37.5 (0.139)	0.951 (0.003)	0.947–0.955
(GATA) ₄ - <i>Mva</i> I	20	24.1 (0.095)	0.953 (0.002)	0.948–0.958
Объединенные данные по трем матрицам	20	84.6 (0.156)	0.952 (0.002)	0.949–0.956
M13- <i>Bsu</i> RI	19	26.9 (0.174)	0.981 (0.001)	0.98–0.983
(TCC) ₅₀ - <i>Bsu</i> RI	19	37.68 (0.177)	0.962 (0.001)	0.952–0.971
(GATA) ₄ - <i>Bsu</i> RI	19	21.9 (0.221)	0.901 (0.006)	0.891–0.911
Объединенные данные по трем матрицам	19	86.474 (0.396)	0.95 (0.003)	0.944–0.952

* Фингерпринтный анализ с использованием рестриктазы *Mva*I был проведен на 20 особях из трех популяций, тогда как фингерпринты для этой же выборки с использованием *Bsu*RI были получены только для 19 особей.

Таблица 2. Анализ изменчивости мини- и микросателлитных маркеров ДНК в популяциях *D. rostombekovi*

Популяция	Число особей <i>N</i>	Среднее число фрагментов на особь <i>n</i> (SE)	Среднее значение индекса сходства <i>S</i> (SE)	95%-ный доверительный интервал значений <i>S</i>
Гош	2	87.5 (0.7)	0.97	
Папанино	8	86.38 (0.53)	0.953 (0.016)	0.944–0.963
Спитак	9	86.33 (0.729)	0.939 (0.011)	0.926–0.951
Загалу	2	79 (1.41)	0.94	
Гош, Папанино, Спитак	19	86.47 (0.396)	0.950 (0.003)	0.944–0.952
Гош, Папанино, Спитак, Загалу	21	85.76 (0.62)	0.875 (0.001)	0.856–0.893

Таблица 3. Сравнительный анализ внутривидовой изменчивости мини- и микросателлитных маркеров ДНК у позвоночных с клональным типом размножения

Вид	Число популяций	Число особей <i>N</i>	Среднее число фрагментов на особь <i>n</i> (SE)	Среднее значение индекса сходства <i>S</i> (SE)	95%-ный доверительный интервал значений <i>S</i>	Число фингерпринтных фенотипов (различающиеся фрагменты min-max)	Число нетипируемых особей (различающиеся фрагменты min-max)	Литературный источник
<i>Darevskia dahli</i>	2	25	71.6 (0.28)	0.962 (0.001)	0.960–0.964	5 (2–9)	8 (2–11)	9
<i>D. unisexualis</i>	3	40	44.4 (0.125)	0.952 (0.001)	0.950–0.954	4 (1–4)	12 (1–14)	9
<i>D. rostombekovi</i>	4	21	85.76 (0.62)	0.875 (0.001)	0.856–0.893	3 (2–15)	13 (1–79)	Данная статья
<i>Rivulus marmoratus</i>	1	6	79.2 (0.454)	0.844	0.826–0.867	6 (14–45)	0	26
<i>Carassius longsdoffii</i>	1	77	–	0.281 (0.089)	0.185–0.400	3	11	3
<i>Poecilia formosa</i>	1	19	24	–	–	16 (3–14)	0	2

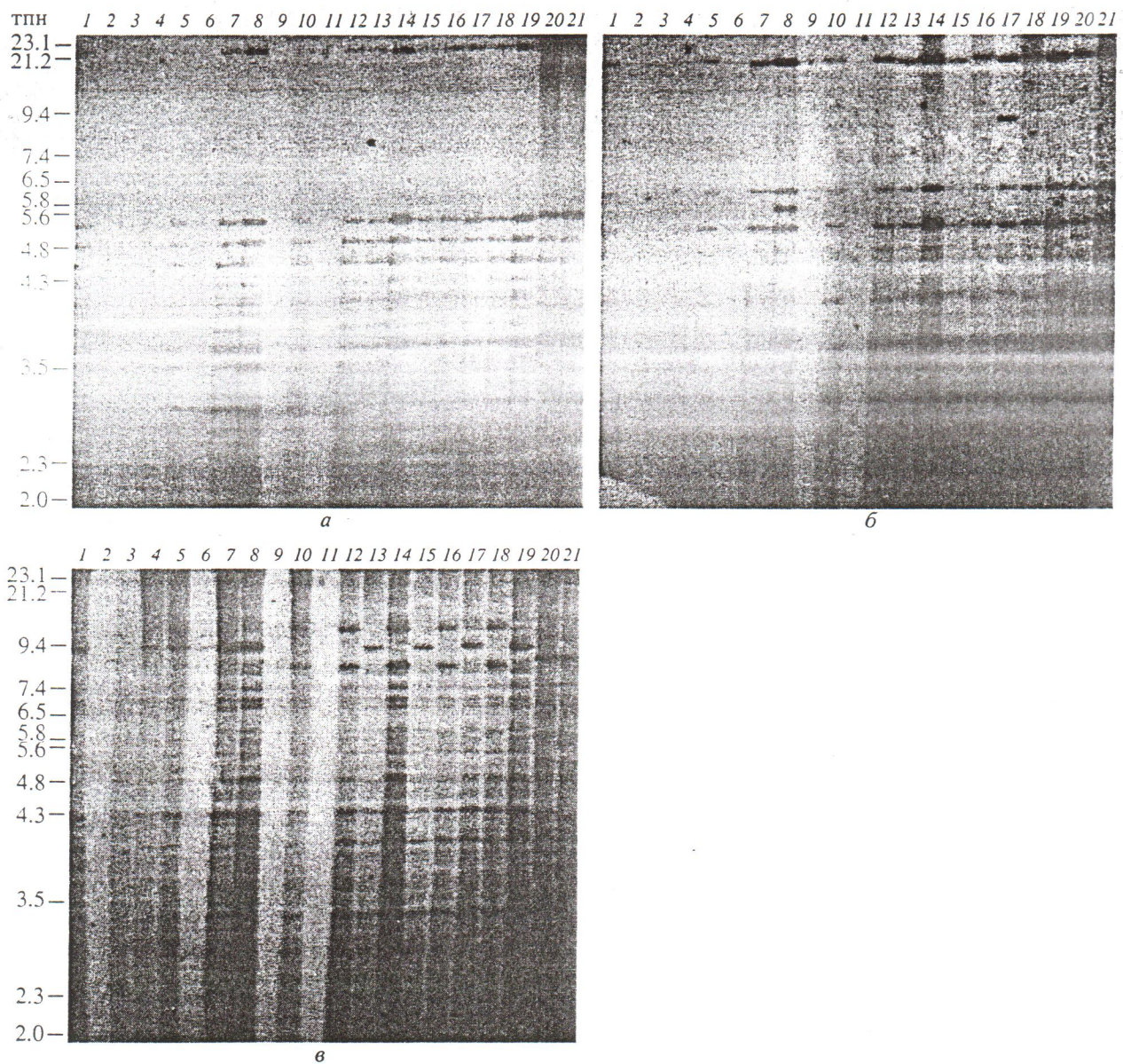


Рис. 3. ДНК-фingerprintный анализ популяций *D. rostombekovi*. Образцы ДНК обрабатывали *Bst*RI и последовательно гибридизовали с M13 (а), $(GATA)_4$ (б) и $(TCC)_{50}$ (в). Особи 1–10 – из популяции Папанино, 11–19 – из популяции Спитак, 20, 21 – из популяции Загалу. Маркерные фрагменты – см. рис. 2.

(21 особь), показал еще большую степень различия между особями, достигающую 79 фрагментов ДНК из 1801 мини- и микросателлитных маркеров, участвующих в анализе и составляющих объединенную матрицу данных. Таким образом, по внутривидовому индексу сходства и по числу отличающихся фрагментов между особями *D. rostombekovi* оказался наиболее варибельным среди исследованных партеногенетических видов лацерт Кавказа.

ОБСУЖДЕНИЕ

Одной из центральных проблем в изучении однополых видов позвоночных является оценка

внутри- и межпопуляционной изменчивости и генетического разнообразия [19]. Возможными источниками изменчивости и клонального разнообразия в популяциях этих видов могут быть происхождение клонов от разных особей основателей, мутации, возникающие в процессе эволюции клонов, а также некоторый уровень генетической рекомбинации, который, по-видимому, имеет место в популяциях однополых [20–22]. Согласно данным электрофоретических исследований белков и митохондриальной ДНК, партеногенетические виды рептилий в разной степени мультиклональны. Высокий уровень варибельности аллозимных локусов был обнаружен, например, у *Heteronotia bionoei* (Gekkonidae) [22] и других

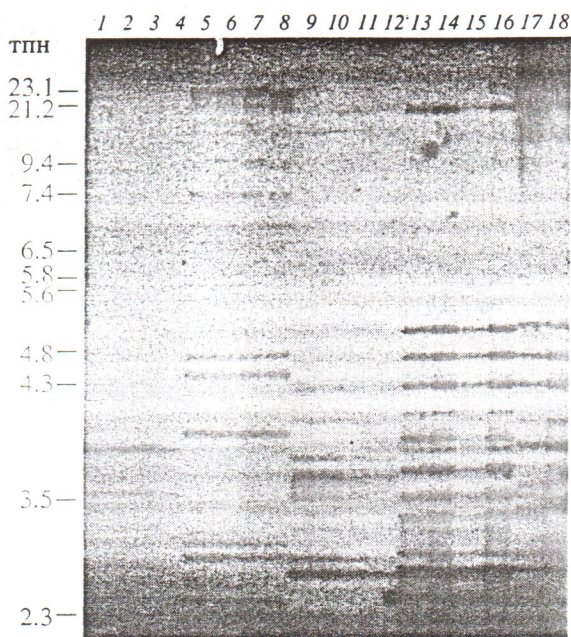


Рис. 4. M13 ДНК-фингерпринтинг особей четырех партеновидов рода *Darevskia*. Особи 1–4 – *D. dahli*, 5–8 – *D. armeniaca*, 9–12 – *D. unisexualis*, 13–18 – *D. rostombekovi* (две последние особи – из популяции Загалу). Образцы ДНК ящериц обрабатывали *Bsu*RI. Маркерные фрагменты – см. рис. 2.

представителей этого семейства (*Nactus pelagicus*) [23]. Генетическая неоднородность показана также для американских партеногенетических ящериц рода *Cnemidophorus*: *C. tessalis* и *C. neomexicanus* (сем. Teiidae) [20, 21, 24]. Партеновиды *D. dahli*, *D. armeniaca* и *D. unisexualis* (сем. Lacertidae) характеризуются повсеместным распротранением одного общего (типового) клона и наличием еще 1–4 редко встречающихся минорных вариантов [11–14]. Недавние исследования популяций *D. armeniaca* обнаружили существование двух типовых клонов и еще двух минорных вариантов [25]. Сравнительные оценки клонального разнообразия с помощью ядерных маркеров ДНК, проведенные на популяциях *Rivulus marmoratus* [26] и *Carassius longsdoffii* [3], показали значительно большую изменчивость “фингерпринтных локусов” у рыб, чем у ящериц *D. dahli* и *D. unisexualis* ($P \ll 0.001$; табл. 3).

В настоящей работе впервые охарактеризована вариабельность мини- и микросателлитных маркеров ДНК у партеногенетической ящерицы *D. rostombekovi*. Полученные данные позволяют утверждать, что внутривидовая изменчивость у *D. rostombekovi* выше по сравнению с *D. dahli* и *D. unisexualis* и сопоставима с межклональной изменчивостью мини- и микросателлитной ДНК у *Rivulus marmoratus* ($P > 0.05$) (табл. 3). В то же время, как и у других партеногенетических лацертид, на фоне общей видоспецифической картины (рис. 4) наблюдаются заметные ДНК-фингерпринтные фе-

нотипические различия, природа которых остается неизученной. Возможно, они возникают в результате RFLP-мутаций [27, 28], мутаций гипервариабельных мини- и микросателлитных локусов [29–36], в том числе и тех, что мы наблюдали у *D. dahli*, *D. armeniaca* и *D. unisexualis* [6–9, 37], а также хромосомных перестроек генетически нестабильных гибридных кариотипов [38, 39].

Особую актуальность данные по изменчивости мини- и микросателлитных маркеров ДНК приобретают в свете исследований аллозимных локусов, показавших, что популяции ящерицы Ростомбекова представляют единый клон [15], а вид *D. rostombekovi* является моноклональным. Объяснением феномена несоответствия данных двух генетических систем анализа может быть разная скорость мутаций кодирующих и повторяющихся участков ДНК, а также по геному в целом. Известно, что скорость мутаций в гипервариабельных мини- и микросателлитах на 2–3 порядка (1.0×10^{-2} , 1.0×10^{-3}) [29–33, 36, 40] выше, чем в среднем для структурных генов (1.0×10^{-5} на гамету) [41], поэтому и степень дифференциации по этим маркерам ДНК выше, нежели по аллозимным локусам. С другой стороны, нестабильность гибридного кариотипа, характерная для партеногенетических видов рода *Darevskia* [38, 29], может быть причиной хромосомных перестроек, приводящих к RFLP-вариациям (мутациям) и наблюдаемому разнообразию фингерпринтных фенотипов.

Перестройки хромосом – пери- и парацентрические инверсии наряду с другими хромосомными аномалиями – часто встречающийся тип структурных нарушений в кариотипах диплоидных и триплоидных партеногенетических видов ящериц (цит. по [39]). Сравнительный цитогенетический анализ показал, например, что для ящерицы Ростомбекова характерен наиболее сложный кариотип, включающий перицентрическую инверсию (SV) в хромосоме третьей пары. В итоге кариотип этого вида ($2n = 38$) состоит из $33A + 1SV + 2m + wZ$, по сравнению с кариотипами *D. dahli* и *D. unisexualis* ($2n = 38$): $34A + 2m + wZ$. Следует отметить, что в кариотипах как однополых, так и двуполых лацертид присутствуют микрохромосомы [38]. Назначение этих структур неизвестно. Однако у *Poecilia formosa* с микрохромосомой связано разнообразие по окраске тела гиногенетических самок – от почти черной до обычной. В этом случае показано, что микрохромосома, определяющая пигментацию тела в гиногенетических популяциях, передается от темноокрашенных самцов двуполого вида (Black Molly) гиногенетическим самкам рода *Poecilia* [42].

С хромосомными мутациями связывают образование новых клонов и/или географически изолированных хромосомных рас. Такие клоны, например, были обнаружены у партеногенетичес-

ких видов рода *Hemidactylus*. Они отличались по цитогенетическим признакам и оказалось, что их появление обусловлено серией хромосомных перестроек в гибридном кариотипе (цит. по [39]). В свете имеющихся данных не исключено, например, что две особи из популяции Загалу, по данным мультилокусного фингерпринтинга отличающиеся от остальных 19 особей *D. rostombekovi* из других популяций ($S = 0.543$; $P = 1.01 \times 10^{-135}$; $t = 128.5$), представляют собой такую географическую хромосомную расу и/или клон, возникший в результате ряда хромосомных мутаций, произошедших в ходе кариологической эволюции вида. С другой стороны, авторы, описавшие моноклональную структуру популяций ящерицы Ростомбекова по аллозимным локусам [15], не исследовали особей из популяции Юго-Восточного Севана. Возможно, совокупные данные анализа с использованием разных систем генетических маркеров позволят по-иному посмотреть на популяционную структуру, происхождение и эволюционную историю этого вида.

Работа финансировалась грантами РФФИ (№ 01-04-49850, 99-04-48373, 99-04-49334), ФЦНТП "Приоритетные направления генетики" (№ 99-1-079), Ведущих научных школ (№ 00-15-97883).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Arribas O.J. Phylogeny and relationships of the mountain lizards of Europe and Near East (*Archaeolacerta Mertens*, 1921, sensu lato) and their relationships among the Eurasian Lacertid lizards // *Rus. J. Herpetology*. 1999. V. 6. № 1. P. 1–22.
2. Turner B.J., Elder J.F., Laughlin T.H., Davis W.P. Genetic variation in clonal vertebrates detected by simple sequence DNA fingerprinting // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1990. V. 87. P. 5653–5657.
3. Umino T., Arai K., Maeda K. et al. Natural clones detected by multilocus DNA fingerprinting in gynogenetic triploid ginbuna *Carassius langsdorfii* in the Kurose River, Hiroshima // *Fish Sci.* 1997. V. 63. P. 147–148.
4. Elder J.F., Schlosser I.Jr. Extreme clonal uniformity of *Proximus eosneogaeus* gynogens (Pisces: Cyprinidae) among variable habitats in northern Minnesota beaver ponds // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1995. V. 92. P. 5001–5005.
5. Scharl M., Schlupp I., Scharl A. et al. On the stability of dispensable constituents of the eukaryotic genome: Stability of coding sequences versus truly hypervariable sequences in a clonal vertebrate, the amazon molly, *Poecilia formosa* // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1991. V. 88. P. 8759–8763.
6. Кан Н.Г., Петросян В.Г., Мартиросян И.А. и др. ДНК-фингерпринтинг партеногенетического вида ящериц *Lacerta dahli*: выявление генетического полиморфизма мини- и микросателлитных локусов // *Молекуляр. биология*. 1998. Т. 32. № 5. С. 805–812.
7. Рысков А.П., Кан Н.Г., Мартиросян И.А. и др. Повышенная вариабельность (TCC)_n-микросателлитных локусов в популяциях партеногенетического вида ящериц *Lacerta unisexualis* Darevsky // *Генетика*. 2000. Т. 36. № 11. С. 1501–1506.
8. Токарская О.Н., Кан Н.Г., Петросян В.Г. и др. Вариабельность GATA-микросателлитных ДНК в популяциях партеногенетического вида ящериц *Lacerta unisexualis* Darevsky // *Генетика*. 2000. Т. 36. № 5. С. 693–698.
9. Tokarskaya O.N., Kan N.G., Petrosyan V.G. et al. Genetic variation in parthenogenetic Caucasian rock lizards of the genus *Lacerta* (*L. dahli*, *L. armeniaca*, *L. unisexualis*) analyzed by DNA fingerprinting // *Mol. Genetics and Genomics*. 2001. V. 265. P. 812–819.
10. Darevsky I.S., Kupriyanova L.A., Uzzell T. Parthenogenesis in reptiles // *Biology of the Reptilia*. N. Y.: Wiley, 1985. V. 15. P. 412–526.
11. Moritz C., Uzzell 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.
12. MacCulloch R.D., Murphy R.W., Kupriyanova L.A. et al. Clonal variation in the parthenogenetic rock lizard *Lacerta armeniaca* // *Genome*. 1995. V. 38. P. 1057–1060.
13. Murphy R.W., Darevsky I.S., MacCulloch R.D. et al. Old age, multiple formations or genetic plasticity? Clonal diversity in the uniparental Caucasian rock lizard, *Lacerta dahli* // *Genetica*. 1997. V. 101. P. 125–130.
14. Fu J., MacCulloch R.D., Murphy R.W. et al. The parthenogenetic Rock Lizard *Lacerta unisexualis*: An example of limited genetic polymorphism // *J. Mol. Evol.* 1998. V. 46. P. 127–130.
15. MacCulloch R.D., Murphy R.W., Kupriyanova L.A., Darevsky I.S. The Caucasian rock lizard *Lacerta rostombekovi*: a monoclonal parthenogenetic vertebrate // *Biochem. System. Ecology*. 1997. V. 25. № 1. P. 33–37.
16. Mathew C.G.P. The isolation of high molecular weight eukaryotic DNA // *Methods in Molecular Biology* / Ed. Walker J.M. N. J.: Humana Press, Totowa, 1984. V. 2. P. 31–34.
17. Петросян В.Г. Развитие методов оценки динамики обилия и оптимальной плотности крупных растительноядных млекопитающих // *Мониторинг биоразнообразия*. М.: Наука, 1997. С. 105–114.
18. Дюрэн Б., Одделл П. Кластерный анализ. М.: Статистика, 1977. С. 128.
19. Dawley R.M. An introduction to unisexual vertebrates // *Evolution and ecology of unisexual vertebrates* / Eds Dawley R.M., Bogart J.P. // *Bull. N. Y. State Mus.* (Albany, N. Y.). 1989. V. 466. P. 1–18.
20. Parker E.D. Phenotypic consequences of parthenogenesis in *Cnemidophorus* lizards. I. Variability in parthenogenetic and sexual populations // *Evolution*. 1979. V. 33. P. 1150–1166.
21. Cole C.J., Dessauer H.C., Barrowclough G.F. Hybrid origin of a unisexual species of whiptail lizard, *Cnemidophorus neotexicanus*, in Western North America: new evidence and a review // *Amer. Mus. Novitat*. 1988. V. 2905. P. 1–38.
22. Moritz C., Donnellan S., Adams M., Baverstock P.R. The origin and evolution of parthenogenesis in *Heteronotia binoei* (Gekkonidae): extensive genotypic diversity among parthenogens // *Evolution*. 1989. V. 43. P. 994–1003.
23. Donnellan S.C., Moritz C. Genetic diversity of bisexual and parthenogenetic populations of the tropical gecko *Nactus pelagicus* (Lacertilia: Gekkonidae) // *Herpetologica*. 1995. V. 51. P. 140–154.

24. Parker E.D., Selanger R.K. The organization of genetic diversity in the parthenogenetic lizard *Cnemidophorus tesselatus* // *Genetics*. 1976. V. 38. P. 1186–1193.
25. Fu J., MacCulloch R.D., Murphy R.W., Darevsky I.S. Clonal variation in the Caucasian rock lizard *Lacerta armeniaca* and its origin // *Amphibia-Reptilia*. 2000. V. 21. № 1. P. 83–89.
26. Turner B.J., Elder J.F. Jr., Laughlin T.F. et al. Extreme clonal diversity and divergence in populations of a selfing hermaphroditic fish // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1992. V. 89. P. 10 643–10 647.
27. Wyman A., White R. A highly polymorphic locus in human DNA // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 1980. V. 77. P. 6754–6758.
28. Уайт Р., Лалуэль Ж.-М. Картирование хромосом при помощи ДНК-маркеров // *В мире науки*. М.: Мир, 1988. Т. 4. С. 6–15.
29. Jeffreys A.J., Royle N.J., Wilson V., Wong Z. Spontaneous mutation rates to new length alleles at tandem-repetitive hypervariable loci in human DNA // *Nature*. 1988. V. 322. P. 278–281.
30. Jeffreys A.J., Allen M.J., Armour J.A. et al. Mutation processes at human minisatellites // *Electrophoresis*. 1995. V. 16. P. 1577–1585.
31. Vergnaud G., Mariat D., Apiou F. et al. The use of synthetic tandem repeats to isolate new VNTR loci: cloning of a human hypermutable sequence // *Genomics*. 1991. V. 11. P. 135–144.
32. Suzuki S., Mitani K., Kuwabara K. et al. Two mouse hypervariable minisatellites: Chromosomal location and simultaneous mutation // *J. Biochem*. 1993. V. 114. P. 135–144.
33. Djian P. Evolution of simple repeats in DNA and their relation to human disease // *Cell*. 1998. V. 94. P. 155–160.
34. Ionov Y., Peinado M.A., Malkhosyan S. et al. Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences revealed a new mechanism for colonic carcinogenesis // *Nature*. 1993. V. 363. P. 558–561.
35. Palsboll P.J., Berube M., Jorgensen H. Multiple levels of single-strand slippage at Cetacean tri- and tetranucleotide repeat microsatellite loci // *Genetics*. 1999. V. 151. P. 285–296.
36. Wells R.D. Molecular basis of genetic instability of triplet repeats // *J. Biol. Chem*. 1996. V. 271. № 6. P. 2875–2878.
37. Кан Н.Г., Мартиросян И.А., Даревский И.А. и др. ДНК-фингерпринтинг партеногенетических семей ящериц рода *Lacerta*: обнаружение генетически нестабильных локусов // *Молекуляр. биология*. 2000. Т. 3. № 5. С. 834–838.
38. Куприянова Л.А. Генетическое разнообразие гибридных однополых видов и форм рода *Lacerta* (Lacertidae, Reptilia): его возможные цитогенетические механизмы, цитогенетика мейоза природных полиплоидных форм // *Цитология*. 1999. Т. 41. № 12. С. 1038–1047.
39. Куприянова Л.А. Некоторые цитогенетические закономерности сетчатого видообразования однополых видов ящериц (Reptilia, Lacertidae) и других групп позвоночных животных // *Цитология*. 1997. Т. 39. № 2. С. 1089–1108.
40. Weber J.L., Wong C. Mutation of human short tandem repeats // *Hum. Mol. Gen*. 1993. V. 2. P. 1123–1128.
41. Айала Ф., Кайгер Д. Мутации генов // *Современная генетика*. М.: Мир, 1988. Т. 3. С. 19.
42. Sclartl M., Nanda I., Schlupp I. et al. Incorporation of subgenomic amounts of DNA as compensation for mutational load in a gynogenetic fish // *Nature*. 1995. V. 373. P. 67–68.

Variation of Mini- and Microsatellite DNA Markers in Populations of Parthenogenetic Rock Lizard *Darevskia rostambekovi*

I. A. Martirosyan¹, A. P. Ryskov², V. G. Petrosyan³, M. S. Arakelyan⁴, A. V. Aslanyan⁴, F. D. Danielyan⁴, I. S. Darevsky⁵, and O. N. Tokarskaya²

¹ State Research Institute for Genetics and Selection of Industrial Microorganisms, Moscow, 113545 Russia

² Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 117334 Russia; e-mail: ryskov@mail.ru

³ Severtsov Institute of Ecology and Evolution, Russian Academy of Sciences, Moscow, 117984 Russia

⁴ Yerevan State University, Yerevan, 375000 Armenia

⁵ Institute of Zoology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, 199034 Russia

Variation and clonal diversity in populations of the parthenogenetic rock lizard *Darevskia rostambekovi* was examined by means of multilocus DNA fingerprinting using mini- and microsatellite DNA markers M13, (GATA)₄, and (TCC)₅₀. The animals examined were shown to exhibit a clonally inherited, species-specific pattern of DNA markers (fingerprint profile) that is different from the species-specific patterns of parthenogenetic species *D. dahli*, *D. armeniaca*, and *D. unisexualis*. The mean intraspecific similarity index *S* was 0.950 (0.003) for a sample of 19 animals from three isolated populations of North Armenia. This significantly differed from the estimate of this parameter for a sample of 21 animals including two individuals from mountainous, relict population from the vicinity of the Sevan Lake, which was equal to 0.875 (0.001). A comparison of DNA fingerprints showed differences between 21 individuals attaining 79 DNA fragments of 1801 mini- and microsatellite markers included in the analysis. The results obtained show that intraspecific variation in *D. rostambekovi* is higher than that in the previously studied parthenogenetic species *D. dahli* (*S* = 0.962) and *D. unisexualis* (*S* = 0.950) (*P* < 0.001). Taking into account that *D. rostambekovi* is considered monoclonal on the basis of allozyme data, the problem of clonal variability is discussed with regard to the evidence on nuclear DNA markers. It is suggested that the hybrid karyotype of *D. rostambekovi*, which is more unstable than that of *D. dahli* and *D. unisexualis*, generates a series of chromosomal rearrangements (mutations). This may lead to the appearance of a geographically isolated chromosomal race (clone) in the population inhabiting the southeastern coast of the Sevan Lake.