

Исследование голубянок группы *Lysandra corydonius* (Herrich-Schäffer, 1804) (Lepidoptera: Lycaenidae) с использованием маркеров мтДНК

A study of blues butterflies of the group of *Lysandra corydonius* (Herrich-Schäffer, 1804) (Lepidoptera: Lycaenidae) with the use of mtDNA markers

Д.И. Водолажский¹, Б.В. Страдомский²
D.I. Vodolazhsky¹, B.V. Stradomsky²

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

²Ростовское отделение Русского энтомологического общества, ул. Каширская 6-5, Ростов-на-Дону 344091 Россия

¹South Scientific Centre RAS, Chekhov str., 41, Rostov-on-Don 344006 Russia. E-mail: vodolazhski@mmbi.krinc.ru

²Rostov branch of Russian Entomologic Society, Kashirskaya str., 6-5, Rostov-on-Don 344091 Russia. E-mail: bvstr@yandex.ru

Ключевые слова: *Lysandra corydonius*, подвиды, ген COI.
Key words: *Lysandra corydonius*, subspecies, COI gene.

Резюме. Изучение нуклеотидных последовательностей митохондриальной ДНК гена COI показал высокую степень генетической однородности исследованных таксонов. Максимальное отличие между экземплярами различных таксонов не превышало 0.8%. Причем эти незначительные изменения нуклеотидных последовательностей гена первой субъединицы цитохромоксидазы имели явно выраженный клинальный характер в направлении с востока на запад.

Таким образом, необходимо заключить, что исследованные таксоны могут иметь статус лишь подвидов *Lysandra corydonius*:

- *L. corydonius caucasica* (Lederer, 1870).
- *L. corydinius ciscaucasica* (Jachontov, 1914).
- *L. corydonius melamarina* Dantchenko, 2000.
- *L. corydonius sheikh* Dantchenko, 2000.
- *L. corydonius arzanovi* (Stradomsky et Shchurov, 2005).

Особенности морфологии, строения гениталий, биологии этих таксонов обусловлены, по-видимому, спецификой экологических условий обитания отдельных популяций.

Abstract. The study of nucleotide sequence variation of the mitochondrial COI gene has revealed a high genetic homogeneity in taxa examined. The maximum distinction between specimens of different taxa does not exceed 0.8%. At that, these minor variations of nucleotide sequences of cytochrome oxidase subunit I have a distinct stepwise character.

Hence, we come to a conclusion that taxa examined are no more than subspecies of *Lysandra corydonius*:

- *L. corydonius caucasica* (Lederer, 1870).
- *L. corydinius ciscaucasica* (Jachontov, 1914).
- *L. corydonius melamarina* Dantchenko, 2000.
- *L. corydonius sheikh* Dantchenko, 2000.
- *L. corydonius arzanovi* (Stradomsky et Shchurov, 2005).

It seems that the peculiarities of morphology, genital structure and biology of these taxa result from particular characteristics of a population habitat.

Введение

В настоящее время в литературе фигурирует значительное количество кавказских таксонов группы *Lysandra corydonius* (Herrich-Schäffer, 1804): *L. corydinius caucasica* (Lederer, 1870); *L. corydinius ciscaucasica* (Jachontov, 1914); *L. melamarina* Dantchenko, 2000; *L. sheikh* Dantchenko, 2000; *L. arzanovi* (Stradomsky et Shchurov, 2005). Причем существует множество суждений относительно таксономического статуса одних и тех же таксонов – от статуса самостоятельного вида до статуса только формы [Tuzov et al., 2000; Gorbunov, 2001; Tshikolovets, 2003; Страдомский, 2005; Львовский, Моргун, 2007]. В этой связи, в настоящей работе осуществлена попытка уточнения таксономических взглядов на группу *Lysandra corydonius* с применением метода изучения нуклеотидной последовательности ДНК митохондриального гена, кодирующего первую субъединицу фермента цитохромоксидазы (COI).

Материал и методы исследования

Все исследованные экземпляры *Lysandra* хранятся в музее Южного Научного Центра Российской Академии наук (ЮНЦ РАН, г. Ростов-на-Дону). Экземплярам присвоены идентификационные музейные номера.

Материал:

- L. corydinius caucasica*: ♂, Armenia: Ambert vicin. (2700 m), 17-Jul-1999, collector unknown (идентификационный номер ILL105);
- L. corydinius ciscaucasica*: ♂, Russia: near Kislovodsk (700 m), Stavropol area, 29-Jul-2003, B. Stradomsky (ILL103);
- L. corydinius melamarina*: ♂, Russia: Gelendzhiksky distr., Krasnodar area, 26-Aug-2007, V. Shchurov (ILL101);
- L. corydinius sheikh*: ♂, Russia: Levashi vill., Dagestan, 3-Aug-2004, V. Tikhonov (ILL104);
- L. corydinius arzanovi*: ♂, Russia: Gonachkhir (1900 m), Karachaj-Cherkessia, 6-Aug-2007, B. Stradomsky (ILL102);
- L. coridon*: ♂, Russia: Belokalitvensky distr., Rostov-on-Don area, 8-Aug-2008, B. Stradomsky (ILL109).

Обработка материала и амплификация

Образцы тканей *Lysandra* доставляли в лабораторию молекулярной генетики объединённого отдела морских и экосистемных исследований ЮНЦ РАН, где их охлаждали до -20°C и хранили в банке тканей вплоть до проведения

экстракции ДНК.

Обработку образцов тканей *Lysandra*, амплификацию участков ДНК генов изучаемых генов, а также секвенирование амплифицированных фрагментов проводили аналогично процедурам, описанным нами ранее при изучении подрода *Polyommatus* (s. str.) [Водолажский, Страдомский, 2008].

Для получения ПЦР-продуктов гена COI использовали следующие праймеры: прямой (PolF 5'- TAG CGA AAA TGA CTT TTT TCT A -3') и обратный (PolR 5'- TTG CTC CAG CTA ATA CAG GTA A-3').

Анализ первичных нуклеотидных последовательностей проводили с использованием программы BioEdit Sequence Alignment Editor версии 7.0.5.3 [Hall, 1999]. Отличия первичных нуклеотидных последовательностей определялись количественно с использованием параметрической модели Kimura-2 [Kimura, 1980] и графически представлялись в виде NJ - кладограммы. В качестве таксона сравнения был использован *L. coridon*.

Результаты и обсуждение

Изучение нуклеотидных последовательностей митохондриальной ДНК гена COI показал высокую степень генетической однородности исследованных таксонов (рис. 1, color plate 7: рис. 3). Максимальное отличие между экземплярами различных таксонов не превышало 0.8%. Причем эти незначительные изменения нуклеотидных последовательностей гена первой субъединицы цитохромоксидазы имели явно выраженный клинальный характер в направлении с востока на запад.

Высокий уровень сходства строения гена COI свидетельствует в пользу того, что исследованные таксоны могут иметь статус лишь подвидов *Lysandra corydonius*:

- *L. corydonius caucasica* (Lederer, 1870):
"Lycaena corydon caucasica Ld." [Яхонтов, 1935: 153].
- *L. corydonius ciscaucasica* (Jachontov, 1914):
"Lycaena corydon ciscaucasica" [Яхонтов, 1935: 153];
"*Lysandra corydonius ciscaucasica*" [Tuzov et al., 2000: 186].
- *L. corydonius melamarina* Dantchenko, 2000:
"*Lysandra melamarina*" [Tuzov et al., 2000: 187];
"*Polyommatus corydonius* form *melamarina*" [Tshikolovets, 2003: 61];
"*Polyommatus melamarinus*" [Львовский, Моргун, 2007: 276].
- *L. corydonius sheikh* Dantchenko, 2000:
"*Lysandra sheikh*" [Tuzov et al., 2000: 188];
"*Polyommatus corydonius* form *sheikh*" [Tshikolovets, 2003: 61];
"*Polyommatus corydonius sheikh*" [Львовский, Моргун, 2007: 275].
- *L. corydonius arzanovi* (Stradomsky et Shchurov, 2005):
"*Polyommatus arzanovi*" [Stradomsky et Shchurov, 2005: 70].

Критериями, которыми руководствовались авторы при описании видов группы *L. corydonius*, являлись морфологические особенности габитуса экземпляров

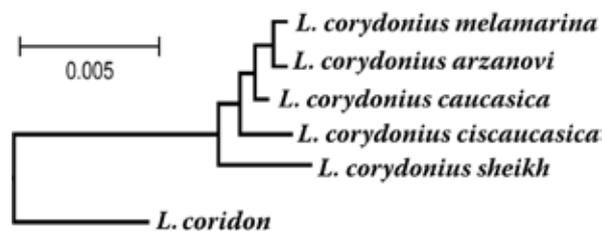


Рис. 1 *Lysandra corydonius*: филогенетическое дерево на основе анализа различий последовательностей ДНК гена COI с применением метода ближайших соседей.

Fig. 1. *Lysandra corydonius*: phylogenetic tree based on the neighbor-joining (NJ) method of analysis of distances for COI DNA sequences.

типовых серий, в некоторых случаях учитывались своеобразие строения гениталий, а также специфика экологических и биологических характеристик. Более детальное изучение этих параметров показало, что в локалитетах описанных таксонов встречаются также особи явно отличающиеся по морфологическим признакам, а зачастую и по строению генитальных структур от экземпляров типовых серий (color plate 6: рис. 2). Эти факты свидетельствуют о том, что обсуждаемые таксоны были описаны только по экземплярам доминирующей в типовой местности формы. Минорные в экологических условиях той или иной типовой местности формы либо во внимание не принимались, либо к моменту описания обнаружены еще не были.

Несомненно, условия обитания в значительной степени оказывают влияние на формирование преобладающей в данной местности специфической морфологической формы. Кроме того, могут появиться различия и в биологических особенностях, присущих локальным популяциям. Так известна бивольтинность *L. corydonius melamarina* при кажущейся моновольтинности *L. corydonius ciscaucasica*, что трактуется как явный видовой признак. Тем не менее, *L. corydonius ciscaucasica* в благоприятных условиях искусственного выращивания дает второе поколение [Львовский, Моргун, 2007], что никогда не происходит у истинно моновольтинных видов, обязательно требующих в своем развитии диапаузы. Т.е., *L. corydonius ciscaucasica* является потенциально бивольтинным или, возможно, даже поливольтинным видом. При этом, по-видимому, специфика условий существования *L. corydonius ciscaucasica* препятствует возможности развития второго поколения у этого таксона в местах его естественного обитания.

Влияет среда и на особенности строения генитальных структур. Для популяций *L. corydonius arzanovi*, локализованных в типовой местности на высоте 2300-2600 м в открытых биотопах, характерным признаком является наличие на ветвях гнатоса шипообразных выростов. Эти выросты являются, по-видимому, локальным идиоадаптивным образованием, повышающим успешность удержания самки самцом во время спаривания. При обследовании популяции, занимающих более низкогорные ландшафты, отмечено снижение частоты встречаемости выростов на гнатосе (у 50% особей - на высоте 1900 м, у 30% - на высоте 1500

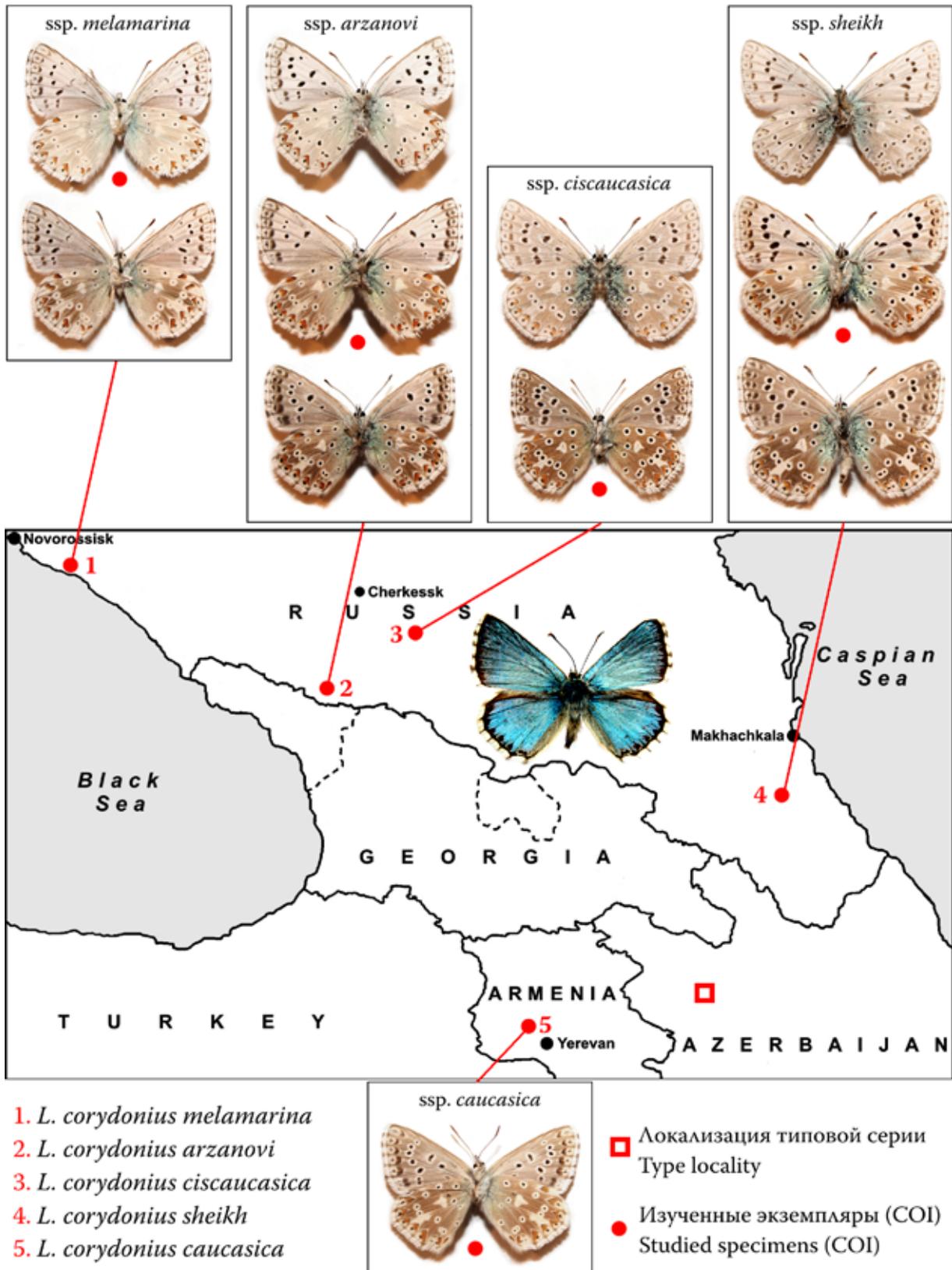


Рис. 2. *Lysandra corydonius*: локализация изученных экземпляров и полиморфизм имаго.
 Fig. 2. *Lysandra corydonius*: the localization of examined specimens and the polymorphism of imagoes.

Lysandra corydonius
subspecies:

	5	15	25	35	45	55	65
<i>melamarina</i>	TGGAATTTGA	GC G GGAATAG	TGGGA A CATC	C T TAAGAATT	TTAATTCGTA	TAGAATTAAG	AACACCTGGA
<i>arzanovi</i>	TGGAATTTGA	GC G GGAATAG	TGGGA A CATC	C T TAAGAATT	TTAATTCGTA	TAGAATTAAG	AACACCTGGA
<i>ciscaucasica</i>	TGGAATTTGA	GC G GGAATAG	TGGGA A CATC	C C TAAGAATT	TTAATTCGTA	TAGAATTAAG	AACACCTGGA
<i>sheikh</i>	TGGAATTTGA	GC A GGAATAG	TGGGA A CATC	C C TAAGAATT	TTAATTCGTA	TAGAATTAAG	AACACCTGGA
<i>caucasica</i>	-----	-----	-----	--TAAGAATT	TTAATTCGTA	TAGAATTAAG	AACACCTGGA

	75	85	95	105	115	125	135
<i>melamarina</i>	TCTTTAATTG	G GATGATCA	AATTTATAAT	ACTATTGTTA	CAGCTCATGC	ATTTATTATA	ATTTTTTTTA
<i>arzanovi</i>	TCTTTAATTG	G GATGATCA	AATTTATAAT	ACTATTGTTA	CAGCTCATGC	ATTTATTATA	ATTTTTTTTA
<i>ciscaucasica</i>	TCTTTAATTG	G GATGATCA	AATTTATAAT	ACTATTGTTA	CAGCTCATGC	ATTTATTATA	ATTTTTTTTA
<i>sheikh</i>	TCTTTAATTG	G GATGATCA	AATTTATAAT	ACTATTGTTA	CAGCTCATGC	ATTTATTATA	ATTTTTTTTA
<i>caucasica</i>	TCTTTAATTG	G GATGATCA	AATTTATAAT	ACTATTGTTA	CAGCTCATGC	ATTTATTATA	ATTTTTTTTA

	145	155	165	175	185	195	205
<i>melamarina</i>	TAGTTATAACC	TATTATAAAT	GGAGGATTTG	GTAAC T GATT	A GTACCTTTA	ATATTAGGAG	CACCTGATAT
<i>arzanovi</i>	TAGTTATAACC	TATTATAAAT	GGAGGATTTG	GTAAC T GATT	A GTACCTTTA	ATATTAGGAG	CACCTGATAT
<i>ciscaucasica</i>	TAGTTATAACC	TATTATAAAT	GGAGGATTTG	GTAAC T GATT	A GTACCTTTA	ATATTAGGAG	CACCTGATAT
<i>sheikh</i>	TAGTTATAACC	TATTATAAAT	GGAGGATTTG	GTAAC T GATT	A GTACCTTTA	ATATTAGGAG	CACCTGATAT
<i>caucasica</i>	TAGTTATAACC	TATTATAAAT	GGAGGATTTG	GTAAC T GATT	A GTACCTTTA	ATATTAGGAG	CACCTGATAT

	215	225	235	245	255	265	275
<i>melamarina</i>	AGCATTCCCT	CGATTAAATA	ATATAAGATT	TTGATTATTA	CCACCATCAT	TAATACT T TT	AATTTCTAGA
<i>arzanovi</i>	AGCATTCCCT	CGATTAAATA	ATATAAGATT	TTGATTATTA	CCACCATCAT	TAATACT T TT	AATTTCTAGA
<i>ciscaucasica</i>	AGCATTCCCT	CGATTAAATA	ATATAAGATT	TTGATTATTA	CCACCATCAT	TAATACT C TT	AATTTCTAGA
<i>sheikh</i>	AGCATTCCCT	CGATTAAATA	ATATAAGATT	TTGATTATTA	CCACCATCAT	TAATACT T TT	AATTTCTAGA
<i>caucasica</i>	AGCATTCCCT	CGATTAAATA	ATATAAGATT	TTGATTATTA	CCACCATCAT	TAATACT T TT	AATTTCTAGA

	285	295	305	315	325	335	345
<i>melamarina</i>	AGAATTGTAG	AAAATGGAGC	AGGAACAGGA	TGAACAGTTT	ACCCCCACT	TTCATCTAAT	ATTGCTCATA
<i>arzanovi</i>	AGAATTGTAG	AAAATGGAGC	AGGAACAGGA	TGAACAGTTT	ACCCCCACT	TTCATCTAAT	ATTGCTCATA
<i>ciscaucasica</i>	AGAATTGTAG	AAAATGGAGC	AGGAACAGGA	TGAACAGTTT	ACCCCCACT	TTCATCTAAT	ATTGCTCATA
<i>sheikh</i>	AGAATTGTAG	AAAATGGAGC	AGGAACAGGA	TGAACAGTTT	ACCCCCACT	TTCATCTAAT	ATTGCTCATA
<i>caucasica</i>	AGAATTGTAG	AAAATGGAGC	AGGAACAGGA	TGAACAGTTT	ACCCCCACT	TTCATCTAAT	ATTGCTCATA

	355	365	375	385	395	405	415
<i>melamarina</i>	GAGGATCATC	TGTAGATTTA	GCAATTTTCT	CACTTCATTT	AGCTGGAATT	TCTTCAATTT	TAGGAGCTAT
<i>arzanovi</i>	GAGGATCATC	TGTAGATTTA	GCAATTTTCT	CACTTCATTT	AGCTGGAATT	TCTTCAATTT	TAGGAGCTAT
<i>ciscaucasica</i>	GAGGATCATC	TGTAGATTTA	GCAATTTTCT	CACTTCATTT	AGCTGGAATT	TCTTCAATTT	TAGGAGCTAT
<i>sheikh</i>	GAGGATCATC	TGTAGATTTA	GCAATTTTCT	CACTTCATTT	AGCTGGAATT	TCTTCAATTT	TAGGAGCTAT
<i>caucasica</i>	GAGGATCATC	TGTAGATTTA	GCAATTTTCT	CACTTCATTT	AGCTGGAATT	TCTTCAATTT	TAGGAGCTAT

	425	435	445	455	465	475	485
<i>melamarina</i>	TAAC T TTATT	ACAAC T ATCA	TTAATATACG	AGTAAATAAT	TTATC T TTTG	ATCAAATATC	CITATTTATT
<i>arzanovi</i>	TAAC T TTATT	ACAAC T ATCA	TTAATATACG	AGTAAATAAT	TTATC T TTTG	ATCAAATATC	CITATTTATT
<i>ciscaucasica</i>	TAAC T TTATT	ACAAC T ATCA	TTAATATACG	AGTAAATAAT	TTATC T TTTG	ATCAAATATC	CITATTTATT
<i>sheikh</i>	TAAC T TTATT	ACAAC T ATCA	TTAATATACG	AGTAAATAAT	TTATC T TTTG	ATCAAATATC	CITATTTATT
<i>caucasica</i>	TAAC T TTATT	ACAAC T ATCA	TTAATATACG	AGTAAATAAT	TTATC T TTTG	ATCAAATATC	CITATTTATT

	495	505	515	525
<i>melamarina</i>	TGAGCAGTAG	GAATTACAGC	ATTGTTATTA	T T ACTATCT
<i>arzanovi</i>	TGAGCAGTAG	GAATTACAGC	ATTGTTATTA	T T ACTATCT
<i>ciscaucasica</i>	TGAGCAGTAG	GAATTACAGC	A-----	-----
<i>sheikh</i>	TGAGCAGTAG	GAATTACAGC	A-----	-----
<i>caucasica</i>	TGAGCAGTAG	GAATTACAGC	ATTGTTATTA	T T ACTATCT

Рис. 3. *Lysandra corydonius*: нуклеотидные последовательности митохондриальной ДНК гена COI.
Fig. 3. *Lysandra corydonius*: nucleotide sequences of mtDNA COI.

м), у популяций *L. corydonius melamarina*, обитающих в типовой местности фактически на уровне моря, этот признак отмечен лишь у 3% особей.

Подводя итог настоящей работы, необходимо сделать вывод о том, что голубянка *L. corydonius* при весьма однородном генотипе на протяжении всего ее ареала обладает высоким потенциалом габитуального полиморфизма и биологической пластичности в зависимости от экологических условий развития отдельных особей и популяций.

Благодарности

Авторы выражают благодарность заведующему объединённым отделом морских и экосистемных исследований ЮНЦ РАН члену-корреспонденту РАН Д.Г. Матишову за всестороннюю помощь и содействие при проведении исследований, а также М. Wiemers (Австрия) за плодотворную дискуссию.

Литература

- Водолажский Д.И., Страдомский Б.В. 2008. Исследование филогенеза подрода *Polyommatus* (s. str) Latreille, 1804 (Lepidoptera: Lycaenidae) с использованием маркеров мтДНК. Часть I // Кавказский энтомол. бюлл. 4(1): 123-130.
- Львовский А.А., 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.
- Яхонтов А.А. 1935. Наши дневные бабочки: Определитель. М.: Учпедгиз. 160 с.

- Gorbunov P.Y. 2001. The Butterflies of Russia: Classification, Genitalia, Keys for Identification. (Lepidoptera: Hesperioidea and Papilionoidea). Ekaterinburg, 320 p.
- Hall T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symp. Ser. 41: 95-98.
- Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences // Journ. Mol. Evol. 16: 111-120.
- Stradomsky B.V., Shchurov V.I. 2005. Notes on the status of the Caucasian taxa of the group *Polyommatus (Meleageria) coridon* (sensu de Lesse) with description of a new species from the highmountain area of West Caucasia (Lepidoptera: Lycaenidae) // Phegea 33(2): 69-75.
- Tshikolovets V.V. 2003. Butterflies of Eastern Europe, Urals and Caucasus. Kyiv, 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. 580 p.

Приложение. *Lysandra coridon*: нуклеотидная последовательность мтДНК гена COI

Appendix. *Lysandra coridon*: nucleotide sequence of mtDNA COI

Lysandra coridon (Poda, 1761)
voucher ILL109
cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, mitochondrial.
sex="male"
Russia: Belokalitvinsky distr., Rostov-on-Don area
collection_date="8-Aug-2008"
collected_by="B. Stradomsky"

```

1 TGGAAATTGA GCGGGAATAG TGGGAACATC CCTAAGAATT TTAATTCGTA TAGAATTAAAG
61 AACCCCTGGA TCTTTGATTG GGGATGATCA AATTATAAT ACTATTGTTA CAGCTCATGC
121 ATTTATTATA ATTTTTTTTA TAGTTATACC TATTATAATT GGAGGATTTG GCAACTGATT
181 ACTACCTTTA ATATTAGGGG CACCTGATAT AGCAATCCCT CGATTAAATA ATATFAGATT
241 TTGATTATTA CCTCCATCAT TAATACTTTT AATTCTAGA AGAATTGTAG AAAATGGAGC
301 AGGAACAGGA TGAACAGTTT ACCCCCACT TTCATCTAAT ATTGTCATA GAGGATCATC
361 TGTAGATTTA GCAATTTTCT CACTTCATTT AGCAGGAATT TCTCAATTT TAGGAGCTAT
421 TAACTTTAAT ACAACTATCA TTAATATACG AGTAAATAAT TTATCTTTTG ATCAAATATC
481 ATTATTATT TGAGCGGTAG GAATTACAGC ATTATTATTA TTATTATC

```